



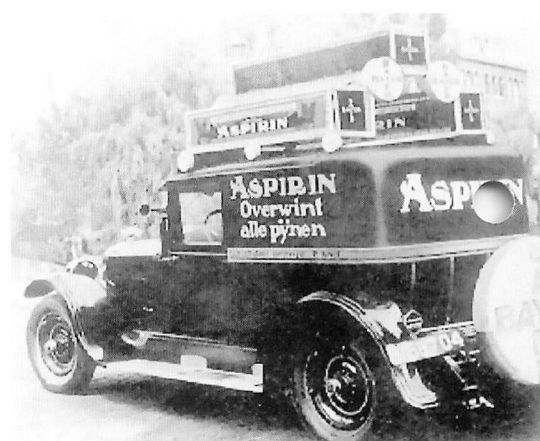
Salicylzuur met Trinder reagens

R. Langen, E. Olijslager en T. Egberts.
Laboratorium Ziekenhuisapotheek
Midden-Brabant
Dr. Deelenlaan 5
5042 AD Tilburg
RLangen@zamb.tsz.nl

Inleiding

Salicylzuur is de metaboliet van acetylsalicylzuur, beter bekend als Aspirine®. Het effect van aspirine-achtige stoffen is al sinds de tijd van het oude Romeinse Rijk bekend. In die tijd werd de bast van wilgenbomen (*salix alba*) gebruikt als koortsverlagend middel. In de bladeren van deze bomen komt salicine voor, een natuurlijke stof. Salicine is het gluconide van salicylzuur, de werkzame verbinding. Salicylzuur heeft een irriterende werking op het maagslijmvlies en een onaangename smaak. Deze smaak was voor veel patiënten moeilijk te verdragen,

waaronder Herr Hoffman wiens zoon bij Bayer werkte. In die tijd was Bayer nog een kleurstoffenfabriek. Felix Hoffman, een chemicus, besloot in 1887 zijn vader te hulp te schieten bij diens pijnlijke jicht en synthetiseerde door de fenolgroep van salicylzuur te acetyleren het acetylsalicylzuur. Hoffman ontwikkelde een product dat geïntroduceerd werd als Aspirine®. Bayer leverde dit product aan artsen om hun patiënten hiermee te behandelen. Aspirine® werd in eerste instantie gebruikt als pijnstiller bij reuma. Nu 100 jaar later is het nog steeds in gebruik als pijnstiller en als koortsverlagend middel, maar ook voor het voorkomen van bloedstolsels. Om die reden wordt het in een lage dosering vaak gebruikt door patiënten die een hartinfarct of een herseninfarct (beroerte) hebben gehad.

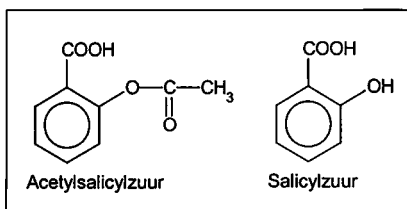


Bij een overdosering kan salicylzuur zeer toxisch zijn: toxische verschijnselen kunnen optreden vanaf 250 mg/L. In het algemeen is het verstandig een paar uur na de eerste spiegel een tweede spiegel af te laten nemen. Er kan dan beter beoordeeld worden of er bijvoorbeeld ook retard preparaten zijn ingenomen. [1,2,3]

Trinder's test

In de literatuur wordt een toxicologische voorproef beschreven volgens Trinder's test: voeg aan 1 mL monster (urine, serum of maaginhoud) 5 druppels Trinder's reagens toe. Een paarse kleur duidt op de aanwezigheid van salicylaat of salicylamide. Een positief resultaat wordt verkregen na een therapeutische dosis salicylzuur, acetylsalicylzuur of aminosalicylzuur. [4] De methode is alleen geschikt om de aanwezigheid van salicylaten aan te tonen. Acetylsalicylzuur (tabletten of tabletresten Aspirine®) als zodanig reageert niet met Trinder's reagens omdat zure hydrolyse tot salicylzuur vereist is (zie figuur 1 voor structuurformules).

Figuur 1: Structuurformules.



Deze toxicologische voorproef vindt zijn oorsprong in 1954. P. Trinder beschreef toen de toepassing van het naar hem vernoemde reagens voor de spectrofotometrische bepaling van salicylaten. [5,6,7]

De extinctie van een salicylzuur oplossing (Fe^{3+} vormt een complex met salicylzuur) wordt spectrofotometrisch gemeten bij 522 nm. De gevonden extinctie is evenredig met de hoeveelheid salicylzuur in de oplossing volgens de wet van Lambert-Beer (vergelijking 1). Met hetzelfde principe kan een toxi-

Vergelijking 1:
Wet van Lambert-Beer.

$$E = \epsilon \cdot c \cdot l$$

waarbij ϵ = molaire
extinctie
coëfficiënt
 c = concentratie
 l = lengte van het
cuvet.

100 Years of Aspirin [1]

400 BC Greek physician Hippocrates prescribes the bark and leaves of the willow tree (rich in a substance called salicin) to relieve pain and fever.

1832 A German chemist experiments with salicin and creates salicylic acid (SA).

1897 Felix Hoffmann chemically synthesizes a stable form of ASA powder that relieves his father's rheumatism. The compound later becomes the active ingredient in aspirin named – "a" from acetyl, "spir" from the spirea plant (which yields salicin) and "in," a common suffix for medications.

1899 Bayer distributes aspirin powder to physicians to give to their patients. Aspirin is soon the number one drug worldwide.

1900 Bayer introduces the first aspirin in water-soluble tablets – the first medication to be sold in this form. This new product cut costs in half.

1915 Aspirin becomes available without a prescription. Manufactured in tablet form.

1948 Dr. Lawrence Craven, a California general practitioner, notices that the 400 men he prescribed aspirin to hadn't suffered any heart attacks. He regularly recommends to all patients and colleagues that "an aspirin a day" could dramatically reduce the risk of heart attack.

1952 Children's Chewable Aspirin is introduced.

1969 Bayer Aspirin tablets were included in the self-medication kits taken to the moon by the Apollo astronauts. Aspirin proved

very effective in combating the headaches and muscle pains that frequently resulted from long periods of immobility.

Early 1970s Medical world began to understand how aspirin works when scientists discovered that it inhibits the production of chemicals, called prostaglandins, that are involved in inflammations.

1988 The use of aspirin expands beyond pain relief to that of a potential lifesaver. The FDA approves aspirin for reducing the risk of recurrent MI (myocardial infarction) or heart attack and preventing first MI in patients with unstable angina. The FDA also approved the use of aspirin for the prevention of recurrent transient-ischemic attacks or "mini-strokes" in men and made aspirin standard therapy for previous strokes in men. In addition to its role in heart attack and stroke prevention, research continues to explore aspirin's possible role in prevention of colon, esophageal cancer and other diseases.

1996 The FDA proposes new labeling for the use of aspirin during a suspected heart attack. Twice as many people choose aspirin over the personal computer as an invention they couldn't live without in a national survey on inventions conducted by MIT.

1998 The FDA made a ruling that could potentially save thousands of lives each year – expanding the use of aspirin. The new lifesaving uses include: reducing the risk of death during a suspected heart attack (as directed by a doctor); preventing a recurrent stroke or TIA in men and women; using aspirin in lower doses to reduce the risk of recurrent heart attack and stroke.

cologische voorproef op salicylzuur in serum worden uitgevoerd.

Materiaal en methode

De analyses zijn uitgevoerd met een Varian Cary 1^E UV/VIS spectrofotometer. De volgende grondstoffen worden gebruikt bij de analyse van salicylaten met Trinder's reagens: ijzer(III)chloride, verzadigd ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Merck), kwik(II)chloride (HgCl_2 , Merck), zoutzuur 2 M en acidum salicylicum pulv. 90 (salicylzuur, OPG).

Trinder's reagens:

Weeg 4 gram kwik(II)chloride af in een bekglas van 250 mL.

Voeg 80 mL demi water toe en los op onder verwarmen. Voeg 2,672 gram ijzer(III)chloride toe en los op. Voeg 6 mL 2 M zoutzuur toe.

Meng en filtreer door een 0,45 μm filter in een maatkolf van 100 mL.

Standaarden:

De standaarden worden gemaakt in blanco plasma en hebben een concentratie van 50, 100 en 250 mg/L. Neem bij de analyse ook altijd een blanco plasma mee.

Monstervoorbereiding:

Pipetteer in reageerbuis 1: 0,50 mL blanco plasma en 2,00 mL Trinder's reagens.

Pipetteer in de overige reageerbuizen 0,25 mL standaard of monster en 1,00 mL Trinder's reagens.

Vortex gedurende 15 seconden.

Centrifugeer 10 minuten bij 4000 tpm.

Pipetteer ongeveer 1 mL van de bovenlaag over in polystyreen micro cuvetten. Vul 2 cuvetten met 1 mL blanco. Meet de extinctie bij 522 nm tegen de blanco.

Bereken, door middel van interpolatie van de extinctiewaarde van het monster op de lineaire regressielijn de concentratie salicylzuur van het monster.

Validatie

De methode is gevalideerd zoals omschreven in de op dit moment geldende regelgeving. [8]

De validatieparameters zijn gegeven in tabel I.

Conclusie

In het kader van het themanummer over oude, maar nog steeds bruikbare bepalingen, mag de analyse van salicylaten met Trinder's reagens niet ontbreken. Het door Bayer groots gevierde eeuwfeest van de ontdekking van Aspirine[®] ligt nog vers in het geheugen. Zoals in het bijgevoegde kader (100 Years of Aspirine[®]) te lezen is, is salicylzuur zelfs nog ouder. Aspirine[®] vindt ook nu nog steeds nieuwe toepassingen en maakt dat het hierdoor een bijzonder waardevol geneesmiddel is. Soms zijn er uitdrukkingen die een eigen leven gaan leiden. 'Trinder's reagens' is er zo een. Nieuwsgierig als we zijn, zijn we op zoek gegaan naar de oorsprong van Trinder's

reagens. Surfend op het internet is wel veel informatie te vinden maar een verwijzing naar de oorsprong van Trinder's reagens konden we niet vinden. Ten einde raad is één van de auteurs lekker ouderwets – hoe toepasselijk voor dit themanummer – de bibliotheek in gedoken en heeft daar al bladerend van referentie naar referentie toch bijna het doel bereikt. Bijna, omdat het na een middag stof snuiven wel genoeg was. Mijn speurtocht reikte terug tot 1961. In de mededelingen van de groep van ziekenhuisapothekers en in het boek Toxicology, Mechanisms and Analytical Methods [5,7] vonden we de eerste verwijzingen naar het originele artikel van Trinder [6]. P. Trinder publiceerde zijn methode voor de bepaling van salicylaten in 1954. Bijna 50 jaar na dato wordt zijn bepaling nog steeds op de juiste waarde geschat.

Literatuur

1. http://www.bayeraspirin.com/questions/hundred_aspirin.htm
2. KNMP, Informatorium Medicamentorum. 1998:37-39, 261-263, 282-284, 591-593.
3. <http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/aspirin.htm>
4. Clarke's Isolation and Identification of Drugs. The Pharmaceutical Press, 2th ed, 1986:4.
5. Stewart, CP. and Stolman, A. Toxicology, Mechanisms and Analytical Methods, Volume II. Academic Press, 1961:197-198.
6. Trinder, P. Biochem. J. 1954;57:301.
7. Glerum, JH. Harders, CL. en Kutsch Lojenga JC. Bepaling van salicylzuur in serum/plasma en urine. Mededelingen van de groep van ziekenhuisapothekers; 1972:(28);24.
8. FDA. Guidance for Industry; Analytical procedures and methods validation; chemistry, manufacturing and controls documentation. <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.

Tabel I: Validatieparameters.

Parameter	Concentratie salicylzuur	
Lineariteit	0 – 400 mg/L	
Detektielgrens	3,6 mg/L	
Bepalingsgrens	12 mg/L	
Juistheid en Herhaalbaarheid (VC %) (n=6)	50 mg/L	104,6% (VC 1,3%)
	200 mg/L	99,6% (VC 0,4%)
	400 mg/L	99,5% (VC 0,6%)
Reproduceerbaarheid (n=6)	50 mg/L	2,9%
	200 mg/L	0,6%
	400 mg/L	0,6%