

تقدير كميات مايكروية من الدواء SPIRONOLACTONE في بعض المستحضرات الصيدلانية باستخدام تقنية التآلق الجزيئي

فاطمة علي حسين*

تاريخ قبول النشر 2007/9/10

الخلاصة

يتضمن البحث استحداث طريقة تحليلية جديدة لتقدير الدواء Spironolactone (SP) في بعض المستحضرات الصيدلانية ذات الاستخدام الواسع وذلك باستخدام تقنية التآلق الجزيئي، وقد تم تقدير الدواء بعد دراسة الظروف العملية الفضلى وأمكن استحصا النتائج الاتية:-
الطول الموجي الاعظم للاثارة كان (351) نانومتر والطول الموجي الاعظم للتآلق (518) نانومتر، الرقم الهيدروجيني (pH=1) اما درجة الحرارة المناسبة للتفاعل فكانت (60) درجة مئوية والزمن الذي يحقق افضل النتائج يجب ان لا يتجاوز الثلاث دقائق.
المعطيات التحليلية الاحصائية كانت كما يلي:-
مدى الخاصية (1-10) مايكروغرام.مل⁻¹ وحد الكشف (0.023) مايكروغرام.مل⁻¹ ومعامل الامتصاص المولاري (29875) لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ وحساسية ساندل (0.0134)غم.سم.لتر⁻¹ والانحراف القياسي النسبي المئوي (0.78) والخطأ النسبي المئوي (3.3).
تم تحديد المركب (SP) في المستحضرات الصيدلانية بشكل حبوب وفق اسلوبين:-
الاول: باستخدام المعايير المباشرة وكان معامل الارتباط (R = 0.9880) القريب من الواحد والذي يدل على وجود علاقة ترابط عالية بين المتغيرين التركيز وشدة التآلق، وطبقت الطريقة بنجاح حيث كانت الاستردادية المئوية للمركب (SP) (97.4%).
الثاني: باستخدام منحنى الاضافات القياسي حيث كان معامل الارتباط (R = 0.9880) وكانت الاستردادية المئوية للمركب (SP) (96.6%).

المقدمة

1- مقياس ضوئي طيفي تفلوري من نوع : Shimadzu Spectrofluorophotometer RF150I
2- ميزان رقمي حساس من نوع: Sart Oriul-BL-2105
وكانت الظروف الالية الفضلى للتحليل التآلقي لطيف التآلق وطيف الاثارة كما يلي:- جو العينة ساكن وسرعة المسح القصى والنمط المقاس المباشر ونوع القياس منفرد ونوع التشبع (AC) وفي درجة الحرارة الغرفة.

B- المحاليل المستخدمة:

1- المحلول القياس الام للدواء (SP):

حضر (1000) مايكروغرام.مل⁻¹ من (SP) باذابة (0.1) غرام من مسحوق (SP) في كمية قليل من الايثانول ثم اضيف (4) مل من المحلول (1:1) حامض الكبريتيك بعدها سخن المحلول عند درجة حرارة (60) مئوية لمدة لا تتجاوز ثلاث دقائق (لوحظ تلون المحلول بلون احمر مع تآلق اخضر مصفر واضح مع انبعاث رائحة مميزة لغاز كبريتيد الهيدروجين) بعدها اكمل الحجم الى 100 مل بالايثانول.

المركب (SP) استر حلقي يكون بشكل مسحوق ابيض او ابيض مصفر عديم الرائحة غير ذائب في الماء وقليل الذوبان من الايثر ولكنه يذوب في الايثانول والميثانول والكلوروفورم.
ان الطول الموجي الاعظم للامتصاص (238) نانومتر اما الصيغة الجزيئية فهي (C₂₄H₃₂O₄S) يصنف الدواء (SP) علاجياً ضمن صنف المدررات وهي الادوية التي تزيد افراز وطرح الادرار ويستعمل (SP) كمصدر لمعالجة الاستسقاء وقصور القلب الاحتقاني وتليف الكبد وكمضاد لارتفاع ضغط الدم(1-6).

ونظراً لاهمية الدواء وتأثيراته على الفعاليات البالوجية فقد اهتم الباحثون بايجاد طرائق تحليلية متعددة لتقديره منها طرائق الكروماتوغرافية(7-15) وكذلك بطرائق طيفية(16-24).
ملاحظة: ان المادة الفعالة للمركب (SP) هي مادة قياسية نقية تم الحصول عليها من معمل الادوية في سامراء.

*قسم الكيمياء- كلية العلوم- جامعة بغداد- بغداد، العراق

الجزء العملي

A- الاجهزة المستخدمة:

بعدها قيست شدة التآلق عند الطول الموجي الاعظم للآثاره λ_{Ex} والتآلق λ_{Em} للمحاليل القياسيه ومحلولي العينة.

اما بخصوص المستحضر الصيدلاني (ALCTONE) فلقد اتبع نفس الاسلوب المبين اعلاه في المستحضر الاول.

تقدير الدواء (SP) في المستحضرين الصيدلانيين تأقياً بطريقة الاضافة القياسية

حضرت ستة محاليل تمثل مجموعة المحاليل القياسية للدواء (SP) ضمن المدى التركيزي (1-6) مايكروغرام.مل⁻¹، ثم حضرت ستة محاليل اخرى لغرض بناء منحني المعايرة بطريقة اضافات القياس اذ نقلت حجوم تتراوح (0.1-0.6) مل من المحلول القياس الام للدواء ذي التركيز (100) مايكروغرام.مل⁻¹ الى دوارق حجمية سعة (10) مل ثم اضيف لكل دورق حجم ثابت مقداره (0.3) مل من محلول المستحضر الصيدلاني (NORACTONE) ذي التركيز (100) مايكروغرام.مل⁻¹ واكمل الحجم الى العلامة بالايثانول، ضبطت جميع الظروف العملية وقيست شدة التآلق لكل محلول عند الطول الموجي الاعظم للآثاره λ_{Ex} والتآلق λ_{Em} .

اما بخصوص المستحضر الصيدلاني (ALCTONE) فلقد اتبع نفس الاسلوب الذي حضر به المستحضر الاول.

النتائج والمناقشة

1- تحديد الطول الموجي الاعظم للآثاره λ_{Ex} والتآلق λ_{Em}

كان الطول الموجي الاعظم للآثاره λ_{Ex} (351) نانومتر الشكل (1) في حين كان الطول الموجي الاعظم للتآلق λ_{Em} (518) نانومتر الشكل (2).

ان الشكل (3) يوضح التفاعلات المؤدية الى تكوين المادة المتآلفة، ان الوسط الحامض القوي الذي يوفره حامض الكبريتيك المركز والحرارة المناسبة تؤدي الى تغير في تركيب جزيئة (SP) (غير المتآلق) تنتهي بتكوين مركب جديد (متآلق) يحوي في تركيبه على اواصر مزدوجة متبادلة المسؤولة عن ظاهرة التآلق.

ولغرض الحصول على منحني المعايره المباشر تم تخفيف حجوم محسوبة من المحلول القياس الام بالايثانول وفي دوارق حجمية مناسبة، بعد دراسة الظروف العملية الفضلى مثل تأثير الزمن درجة الحرارةية وزمن الترشيح اضافة الى تأثير وجود الماء على طيف التآلق.

2- محاليل المستحضرات الصيدلانية:

تم استخدام اثنين من المستحضرات الصيدلانية لغرض تقدير الدواء (SP) فيهما. المستحضر الاول: (NORACTONE) المنتج من قبل الشركة الاردنية لانتاج الادوية المساهمة المحدودة بشكل حبوب حيث تحتوي كل حبة على (100) ملغم (SP).

المستحضر الثاني: (ALCTONE) المنتج من قبل منتجات ميديكو للدوية- سوريا بشكل حبوب تحتوي كل حبة على (100) ملغم (SP).

تم وزن (5) حبات من المستحضر الصيدلاني (NORACTONE) وطحنت في هاون املس حيث تحولت الى مسحوق فكان الوزن الكلي لـ (5) حبات (1.6415) غرام ومعدل وزن الحبة الواحدة (0.3341) غرام فأذا كانت الحبة الواحدة تحتوي على (0.1) غرام من (SP) فإن الوزن المؤخوذ من المسحوق المكافئ لـ (0.1) غرام من الدواء (SP) يكون (0.3341) غم.

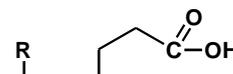
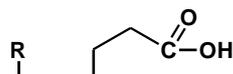
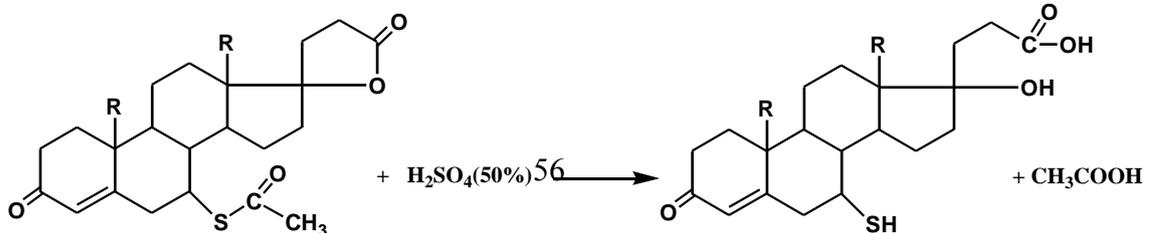
تعامل الكمية الموزونة اعلاه لغرض تحضير (1000) مايكروغرام.مل⁻¹ من محلول المستحضر (NORACTONE) كما في الفقرة السابقة عند تحضير المحلول القياسي الام.

ولغرض تحضير (1000) مايكروغرام.مل⁻¹ من محلول المستحضر (ALCTONE) فلقد تم اتباع نفس الاسلوب الذي تم به تحضير المستحضر الاول.

تقدير الدواء (SP) في المستحضرين الصيدلانيين تأقياً بطريقة المعايرة المباشرة

حضرت عشرة محاليل تمثل مجموعة المحاليل القياسية للدواء (SP) ضمن المدى التركيزي (1-10) مايكروغرام.مل⁻¹.

نقل الحجمان (0.3 مل و0.6 مل) من محلول المستحضر الصيدلاني (NORACTONE) ذي التركيز (100) مايكروغرام.مل⁻¹ الى دورقين حجميين سعة كل واحد منها (10) مل، اكمل الحجم الى العلامة بالايثانول، ضبطت كل الظروف العملية



الطول الموجي الاعظم للاثارة λ_{EX} والتألق λ_{EM} ومدى التركيز ومعامل الامتصاص المولاري وحساسية ساندل.

الجدول (1) المعطيات التحليلية لمنحني المعايرة المباشرة

Compound	λ_{EX} (nm)	λ_{EM} (um)	Linearity $\mu\text{g.ml}^{-1}$	ϵ L.mole ⁻¹ .cm ⁻¹	S g.cm ⁻²
Sp.Standar d*	351	518	1-10	29875	0.0139

Sp* Standard (SP) يمثل المركب المتألق الناتج من تفاعل Standard (SP) في الوسط الحامضي

الجدول (2) يبين المعطيات الاحصائية لمنحني المعايرة المباشرة ويتضمن قيم الخطأ النسبي المئوي والاستردادية المئوية والانحراف القياسي والانحراف القياسي النسبي المئوي وحد الكشف ومعامل الارتباط.

الجدول (2) المعطيات الاحصائية للطريقة التحليلية بتطبيق لمنحني المعايرة المباشرة

%Erel	%Rec.	S.D	%RSD	D.L $\mu\text{g.ml}^{-1}$	R
3.3	96.6	3.6	0.78	0.023	0.9880

نستنتج من قيم هذا الكشف (0.023) مايكروغرام.مل⁻¹ وحساسية ساندل (0.0139) ان الطريقة التألق الجزئي المستخدمة لتقدير الدواء (SP) ولاول مرة في هذه الدراسة هي طريقة تحليلية دقيقة وحساسة، وان قيمة معامل الارتباط (R) القريب من الواحد الصحيح يدل على وجود علاقة ترابطية عالية بين قيم المتغيرين التركيز وشدة التألق.

2- انتقاء الظروف العملية الفضلى لتعيين الدواء (SP) بطريقة التحليل التألق

- تأثير الزمن: كانت شدة التألق ثابتة خلال ساعة ونصف عند درجة الحرارة الغرفة. الشكل (4)
- تأثير التشعيع: لوحظ وجود تأثير طفيف يكاد لا يذكر للاشعة فوق البنفسجية على شدة تألق المحلول المحقق للدواء (SP)، مما يعني ان المركب المتألق مستقر خلال فترة زمنية قدرها (30) دقيقة. الشكل (5).

- تأثير درجات الحرارة: ان شدة التألق تتخفض تدريجياً بارتفاع درجات الحرارة ضمن المدى (75-0) درجة المئوية الشكل (6)، ان درجات الحرارة العالية تزيد من الطاقة الحركية للجزيئات وبالتالي تزداد عدد التصادمات بين الجزيئات مما يؤدي الى تبدد طاقة التألق وهذا ما يسمى بالاحماد الحراري.
- تأثير الماء: ان اضافة حجوم مختلفة من الماء المقطر الى تركيز ثابت من الدواء يؤدي الى احماد طيف التألق وان مقدار الاحماد يزداد بازدياد حجم الماء المضاف. الشكل (7).

لقد فسرت ظاهرة الاحماد هذه من قبل (Donald) (25) واخرون، بوجود قوى استقطاب بين المخذ (الماء) والمادة المتألقة او قد يكون عزمًا ثنائي القطب، ان قوى الاستقطاب وقوى ثنائي القطب تعمل على استقرار المركب المثار، هذا الاستقرار يصاحبه انخفاض من الطاقة.

منحني المعايرة المباشرة لتعيين الدواء (SP) بطريقة التألق الجزئي

الشكل (8) يبين ان اقصى تركيز للدواء (SP) يطيع قانون بيرر هو (10) مايكروغرام.مل⁻¹ بعدها يبدأ المنحني بالانحراف. الجدول (1) يبين المعطيات التحليلية لمنحني المعايرة المباشرة حيث يتضمن الجدول

وجود تداخلات. يبين الجدول (4) بعض المعطيات التحليلية لمنحني اضافات القياس.

الجدول (4) المعطيات التحليلية لمنحني اضافات القياس

Name of Pharmaceutical	Linearity mg.ml ⁻¹	Start conc. mg.ml ⁻¹	Found conc. mg.ml ⁻¹
NORACTONE	1-6	3	3.1
ALCTONE	1-6	3	3.1

ان الجدول(5) يبين بعض المعطيات الاحصائية لمنحني الاضافات القياسية مثل الخطأ النسبي المئوي والاستردادية المئوية والانحراف القياسي النسبي المئوي وحد الكشف ومعامل الارتباط.

الجدول (5) المعطيات الاحصائية لمنحني اضافات القياس

%Erel	%Rec	%RSD	D.L µg.ml ⁻¹	R
3.3	96.67	0.78	0.024	0.988

الاستنتاجات

- 1- يمكن اعتماد الطريقة المستخدمة (طريقة التآلق الجزيئي) لتعيين كمية المادة الفعالة (SP) من حبوب المستحضر الصيدلاني من منحني المعايرة المباشرة.
- 2- تمتاز الطريقة بسرعتها ودقتها وعدم الحاجة الى تحضيرات معقدة واعطت تكرارية ودقة عاليتين اوضحها النتائج المستحصلة.
- 3- قلة كلفة الطريقة بسبب توفير المواد المستخدمة (حامض الكبريتيك والايثانول والماء المقطر).
- 4- لم تحصل تداخلات بين المادة الفعالة (SP) والمواد المضافة في المستحضر الصيدلاني، هذا ما اوضحه منحني اضافات القياس.

استخدام منحني المعايرة المباشرة

قيست شدة التآلق لاثنين من المحاليل المخففة من محلول المستحضر الصيدلاني (NORACTONE) عند الطول الموجي الاعظم للثارة λ_{Ex} والتآلق λ_{Em} .

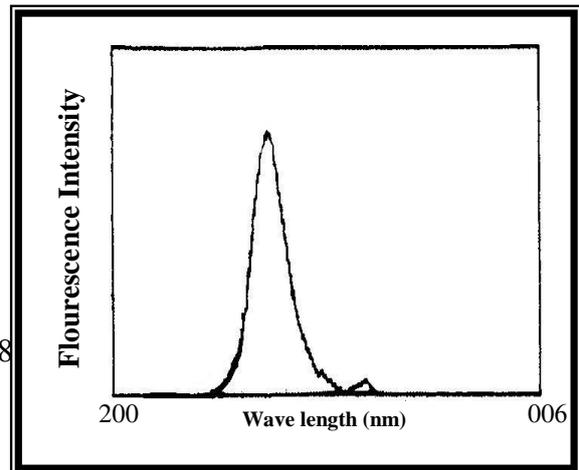
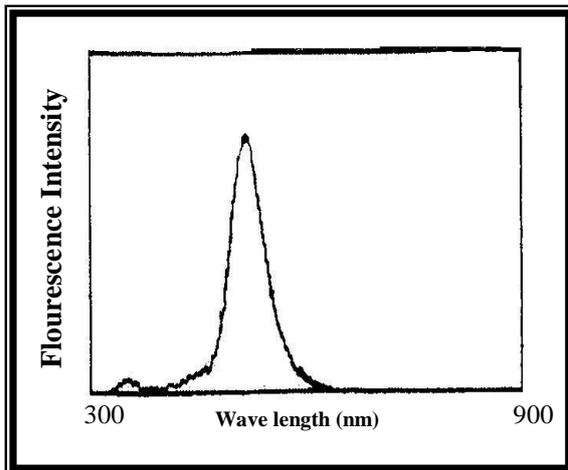
الجدول(3) الخطأ النسبي المئوي والاستردادية المئوية للدواء (SP) المقدر في المستحضر الصيدلاني NORACTONE وفق طريقة المعايرة المباشرة.

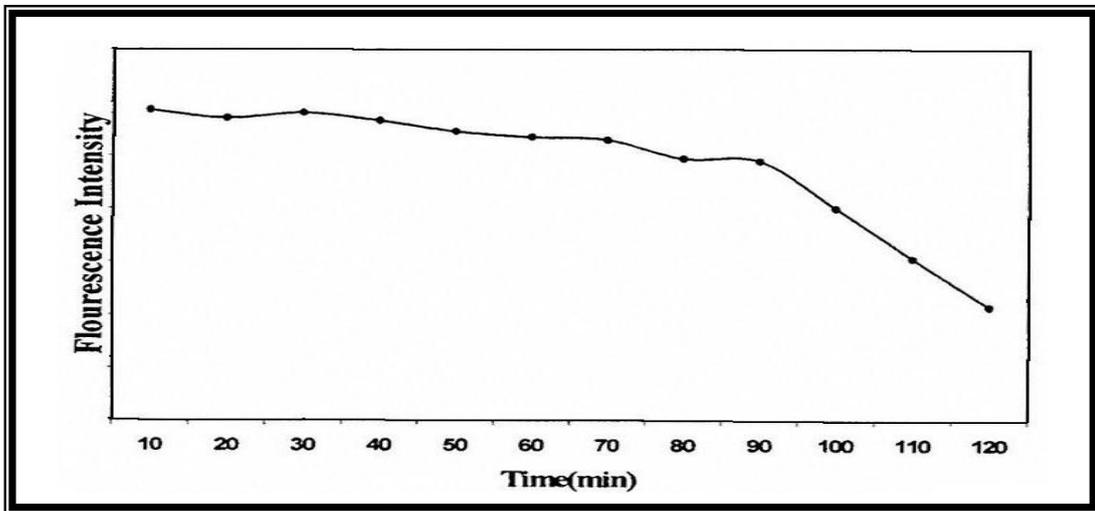
(SP) Taker µg.ml ⁻¹	(SP) Found µg.ml ⁻¹	%Erel	%Rec	Average
3	3.1	3.3	96.76	%Rrel=2.49
6	6.1	1.66	98.34	%Rec=97.48

ومن النتائج المستحصلة تم حساب النسبة المئوية للدواء (SP) من المستحضر الصيدلاني وكانت مطابقة لما هو عليه في دستور الادوية البريطانية التي تتراوح بين (98-105)%. كذلك عوملت محاليل المستحضر الصيدلاني الاخر (ALCTONE) بنفس الطريقة للمستحضر الاول لغرض تقدير كمية الدواء (SP) بطريقة منحني المعايرة المباشرة وكانت النتائج متساوية لكلا المستحضرين الصيدلانيين.

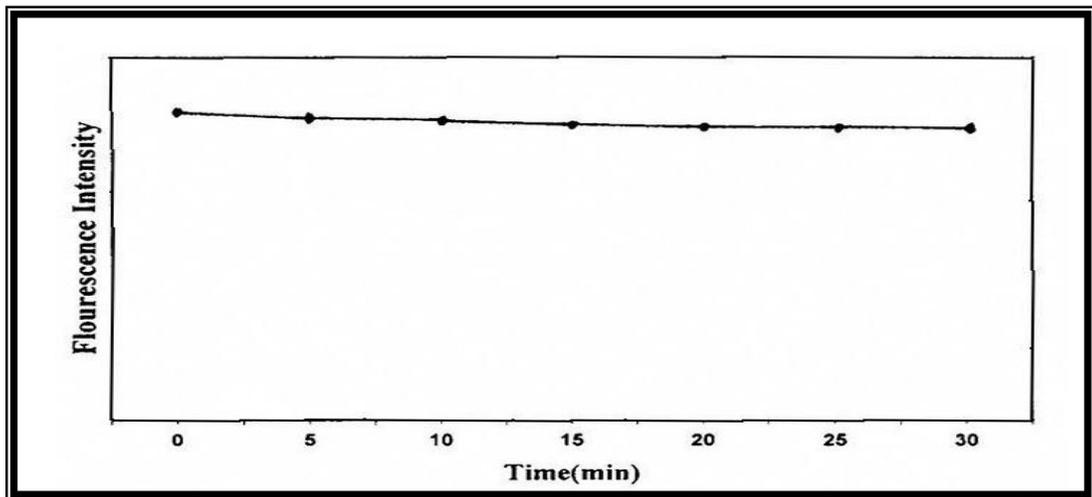
استخدام منحني الاضافات القياسية

تم رسم منحني الاضافات القياسية وفق الشكل(9) والشكل(10) العائدان للمستحضران الصيدلانيان (NORACTONE) و (ALCTONE) على التوالي. ويلاحظ من الشكلين المشار إليهما عدم وجود تداخلات لمنشأ العينة المقاسة، أي ان المركب (SP) في كلا المستحضرين لا يتأثر بالمواد المضافة. ان ميل منحني اضافات القياس موازي لميل منحني المعايرة المباشرة مما يدل على ان تقدير (SP) بواسطة منحني المعايرة المباشرة كاف ولا حاجة الى استخدام منحني اضافات القياس لعدم

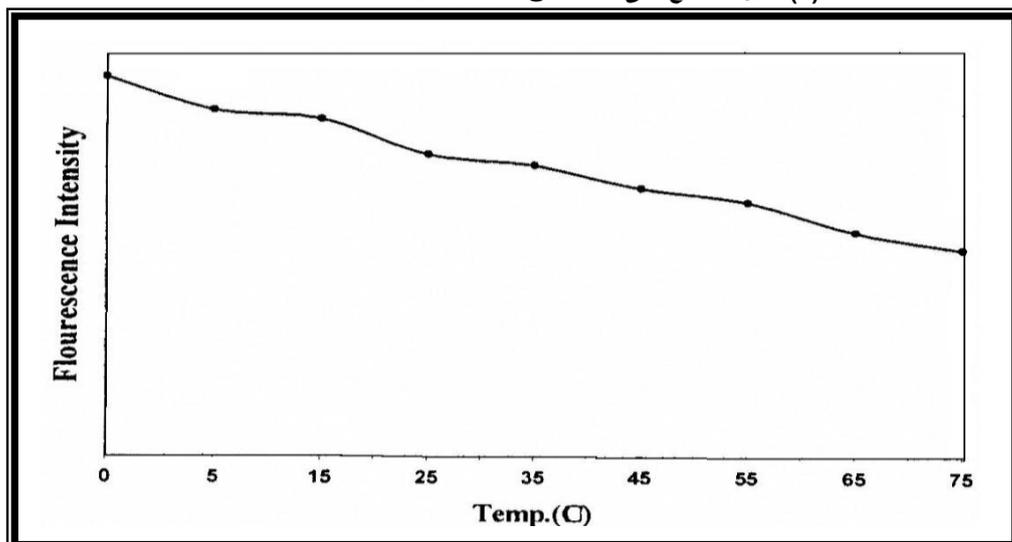




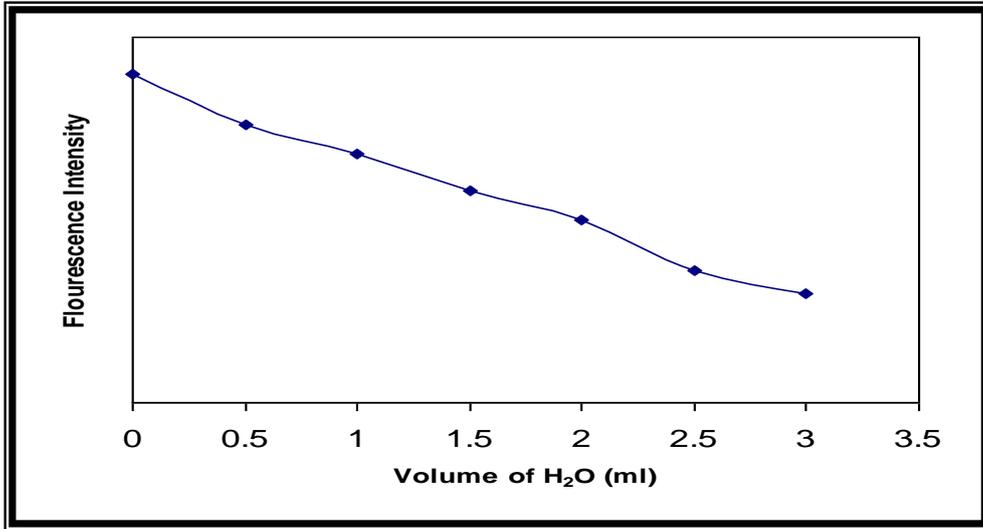
الشكل (4) تأثير الزمن على شدة التالف



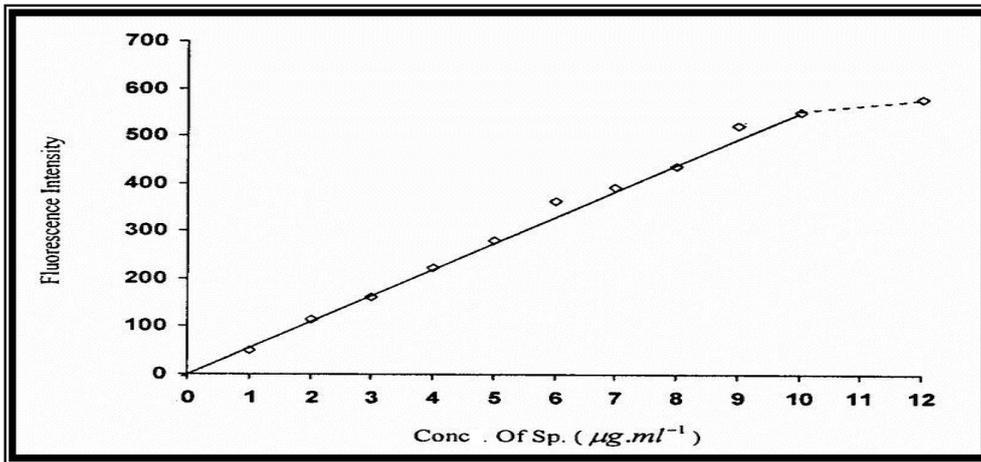
الشكل (5) تأثير التشعيع على شدة التالف خلال 30 دقيقة



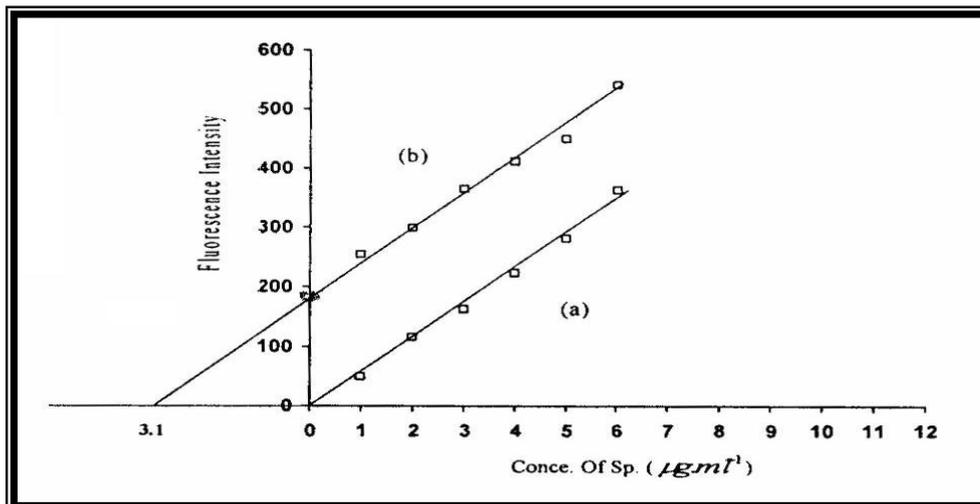
الشكل (6) تأثير درجة الحرارة على شدة التالف



الشكل (7) تأثير الماء على شدة التآلق

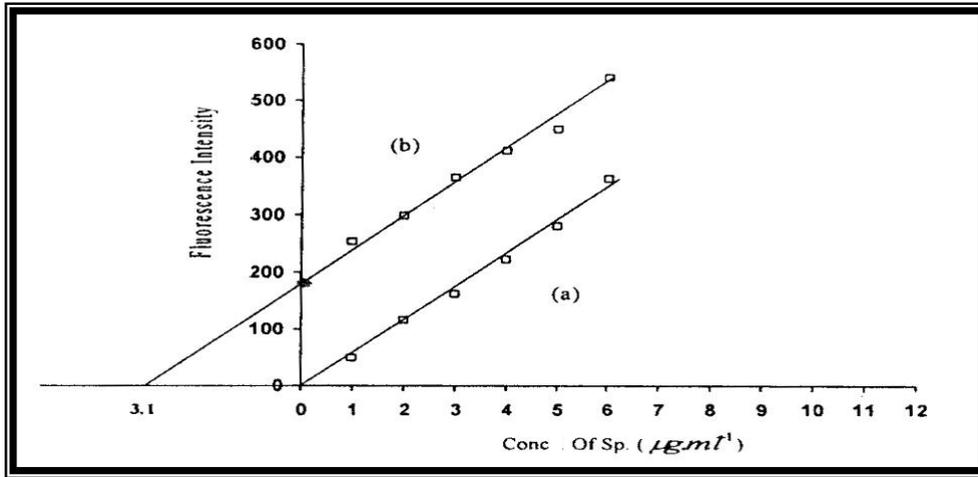


الشكل (8) منحنى المعايرة المباشرة لتعيين الدواء Sp بطريقة التآلق الجزيني



الشكل (9) -a منحنى المعايرة المباشرة. -b منحنى المعايرة بطريقة اضافة القياس لتقدير الدواء Sp في المستحضر الصيدلاني

NORACTONE



الشكل (10) : a- منحنى المعايرة المباشرة.

b- منحنى المعايرة بطريقة اضافة القياس لتقدير الدواء Sp في المستحضر الصيدلاني ALCTONE.

10. Besendelder, E. and Endete, R.J., (1981), J., High. Resolut. Chromatogr. Commun, 4(8): 419-421.
11. Decroo, F., Vander Bossche, W., De Moerloose, P., (26 Jul.1985), J. Chromatogr., 329(3): 422-427.
12. Shrry, J. H., O'Dannell, J. P. and Colby, H.D., (10 Jun.1986), J. Chromatogr., Biomed Appl., 47(1): 183-190.
13. Prased, T.N.V., Roa, E.V., Sastry, C.S.P. and Roa, G.R., (Apr 1987), Indian drugs, 24(7): 346-350.
14. Bonet-Domingo-E., Medina-Hernandez-MJ, Garcia Alvarez-Coque-MC., (1993), J. Pharm. Biomed Anal., 711-716.
15. Alexsander-KS., Vangala-SS., Dollimore-D., (1998), Drug Development and Industrial Pharmacy, 24(2): 101-107.
16. Wessinger, W. and Anterhoff, H.A., (1979), 119(35): 1377-1380.
17. Lodge, B.A., and Lanonetle, M.C., (1979), J.Pharm. Sci., 14(2): 53.
18. Shingbal, D.M., and Barad, U.G., (1984), Indian drugs, 22(3): 163.

Reference

- 1.Didebrg; Dupont –Act crystallogr. Sect., (1972), B28, 3014.
- 2.Martindal, edited by Kathleen Parfitl, (1999), 32nd Ed.
- 3.Mary, J. M., Rionard, A.H., and Pameia, C. C., (2000), Pharmacology, 2nd Ed., Lippincott Williams and Willicins. Pniladelphia, PA @.
- 4.“The Merk Index on CD-ROM”, (2000),12th Ed. Copyright by Merk Co. Inc., Whitehouse Station, NJ, USA.
- 5.British Pharmacopia on CD-ROM, (2000), Vol.1.
- 6.John, M., Savisonn’s Principles and practice of medicine, (1981), 3rd Ed., Churchill living stone.
- 7.Das Gupta, V., and Ghaneker, A.G., (1978), J. Pharm., Sci., 67(6), 889-891.
- 8.Boreham, D.R, Vose, C.W., Brooks, C. J. W., and Balasubramanian, V. J., (1978), J., Chromatogr., 153(1):63-75.
- 9.Neurath, G.B. and Ambrosins, D.J., (1979), J. Chromatogr., 163(2):

23. Parimo. P., Bharathi.A., and Padima.K., (33 Apr. 1996), Indian drugs, 160-162.
24. Fadi. J. J., (2002), Higher Diploma in Pharm. and Chem. Anal., Thesis, Baghdad University.
25. Donald R.J. and Selinger B.K., (1972), Aust. J. Chem., 25: 897.
19. Moussa, B.A., El Kousy, N., (1985), M-Pharm. Weekbl, Sci. Ed, 7(2): 79 – 82 .
20. Kamal Purlcar, O.S., and Merezes, C., (1985), Indian drugs, 22(7):389 – 390.
21. Shinghal, D.M., and Roa.V. R., (1986), Indian drugs, 23(4), 232-233.
22. Shinghal, D.M., (1987), Indian drugs, 24(9): 450-451.

Determination Of Micro Amount Of Spironolactone In Some Of Pharmaceutical Preparate By Using a Molecular Luminescence Technique.

*Fatima Ali Hossain**

*Department of Chemistry, College of Science, University of Baghdad, Jadriya, Baghdad, Iraq.

Abstract

The present study include a new developed method of analysis for determination of drug Spironolaction (SP) in some Pharmaceuticals by Spectrofluorometric method.

Spironolaction was determined under optimal experimental condition that follows :-

The excitation spectrum was ($\lambda=351$ nm), the emmetion spectrum was ($\lambda=518$ nm), pH=1, the suitable temperature for reaction 60°C and the optimal time less than (3) minute. The analysis and rang statistical data was:-Linear dynamic rang (1-10) $\mu\text{g.ml}^{-1}$, the detection limit (D.L = 0.023 $\mu\text{g.ml}^{-1}$), Molar absorptivity ($\epsilon = 29875$ liter mole⁻¹ cm⁻¹), Relative standard deviation (%RSD = 0.78), (%Erel = 3.3) and recovery (Rec = 96.6) percentage.

Determination of Spironolactone was accomplished by two methods

(A) Using direct calibration curve method, Corr. Coef. (R = 0.988 and %Rec = 97.4).

(B) Using standard additional methods Corr. Coef (R =0.988 and %Rec= 96.6).