Simultaneous determination of Amiloride hydrochloride by Ion Selective Membrane Electrodes

تقدير هيدروكلوريد الاميلورايد بواسطة الأقطاب الغشائية الانتقائية الأيونية

عماد طارق حنون عباس
قسم الكيمياء – كلية التربية – جامعة سامراء

الملخص:

يتضمن البحث تقدير عقار هيدروكلوريد الاميلورايد (Amiloride Hydrochloride (AMY باستعمال الطريقة الجهدية ببناء أقطاب غشائية انتقائية سائلة لعقار AMY مع المادة الفعالة رنيكات الامونيوم (Ammonium Rineckate) وباستخدام مواد ملدنة عضـوية ثنائي بيوتيل فثالات (Di - n - butyl phthalate , (DBPH)) مـع متعدد كلوريد الفينيل (Polyvinyl chloride , (PVC) كركيزة لهذه الأقطاب حيث حقق قطب AMY - AMR مع المادة الملدنة DBPH مواصفات جيدة يمكن الاعتماد عليها في تقدير المادة الدوائية بصورة دقيقة إذ أعطى القطب استجابة جيدة عند قياس التراكيز الواطئة للمادة الدوائية وكان أفضل تركيز لمحلول الملء الداخلي هو 0.01 مولاري وبمدى pH يتراوح بين 5.0 - 2.0 ومدى درجة حرارة 25 درجة مئوية وكانت الاستجابة الخطية هي للتراكيز من 10^{-5}- 10^{-1} مولاري بانحدار مقداره 58.0 وبمعامل ارتباط قيمته 0.992 وكان عمر القطب 40 يوم. وتضمن هذا البحث أيضاً قياس انتقائية هذه الأقطاب بوجود مركبات وأيونات أحادية وثنائية وثلاثية الشحنة باستخدام طريقة المحاليل الممزوجة حيث كانت قيم معامل الانتقائية لجميع الايونات أقل من واحد.

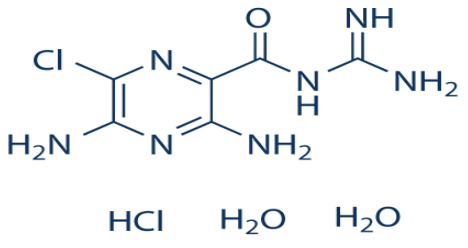
Abstract

The potentiometric method for determination of Amiloride Hydrochloride AMY was developed . The method based on constraction of Liquid Ion Selective Electrode from AMY , Ammonium Rineckate (active material) , Di-n- butyl phthalate (DBPH) (Stabilizer) and Poly Vinyl Chloride (PVC) (Basic).

The electrode gave good properties can depending to determination of AMY since it give good response to the low concentration , The ooptimum conditions of the determination wife . Concentration of fully internal solution was 0.01M at pH range 2.5-5 , Temperature 25C , linearity was 10^{-5}-10^{-1} M ,Slop was 58 , R^2=0.992 electrode age was 40 days and the selectivity was less than 1 .

المقدمة

ألاميلوريد هو أحد العقاقير المستعملة كمدرر للبول وحافظ للبوتاسيوم من الانخفاض الذي يمنع الجسم من امتصاص الكثير من الملح [1] كما ويمارس تأثيره الحافظ للبوتاسيوم من خلال تثبيط إعادة امتصاص الصوديوم في الأنبوبة الملتوية البعيدة والانبوبة الجامعة القشرية [2] ويستعمل العقار لعلاج احتباس السوائل ويمنع نقص البوتاسيوم عند استعمال مدررات البول الأخرى للعلاج [3] ويسمى علميا diamino-6-chloro-*N*-(diaminomethylene) pyrazine -2,3,5-carboxamide [4]، ويظهر الشكل (1) التركيب الكيميائي للعقار:



الشكل (1): التركيب الكيميائي لعقار ألاميلوريد هيدروكلورايد

اما الصيغة الجزيئية للعقار $C_6H_8ClN_7O.HCl.2H_2O$ والوزن الجزيئي 302.12 g / mole [3].

ونلاحظ ان هنالك اهتمام كبير من قبل الباحثين في تقدير هذا العقار بسبب اهميتة الطبية وعلى الرغم من ان الطرائق التي توصل اليها الباحثون كانت دقيقة وحساسة، مثلا تم تطبيق طريقة المربعات الجزيئية الصغرى [5] وايضا من خلال تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء [6] وكذلك الطرائق الطيفية المباشرة [7] وايضا تم تقدير هذا العقار من خلال مشتقة الطيف [8، 9] وكذلك من خلال التبادل الايوني باستعمال بعض الراتنجات الموجبة [10] وايضا تم استعمال القياسات الجهدية للتقدير [11] وتقنية البولارغرافي [12]. ولنفس الاهمية التي دفعت الباحثين للتقصي والبحث وايجاد الطرائق التي من خلالها يتم تقدير العقار كميا تم تطوير طريقة جديدة اذ تم الاستعانة بتقنية الاقطاب الانتقائية الغشائية لما لها من اهمية في تقدير العديد من العقاقير بصورة دقيقة.

الجزء العملي

الأجهزة

تم في هذا العمل استعمال العديد من الاجهزة لغرض اجراء القياسات، اذ تم استعمال جهاز قياس الدالة الحامضية نوع JENWAY PH Meter 3310 بالاضافة الى جهاز الاذابة بالموجات الفوق الصوتية نوع Ultrasonic with water bath UNISONICS model fxp12 وميزان حساس نوع Sartorius BL 210Sومسخن حراري نوع Hot Plat with Magnetic Stirrer BIOSAN MSH 300كما واستخدم قطب الكالوميل المشبع وقطب مرجعي داخلي نوع (Silver - silver chloride Electrode).

المحاليل

جميع المواد السائلة والصلبة التي استعملت في هذه الدراسة هي مواد على درجة عالية من النقاوة ومجهزة من قبل شركة Fluka، وحضرت المحاليل التي استعملت على وفق ما تم الحاجة له لإكمال هذه الدراسة وكما مبين في ادناه:

1- محلول المادة الدوائية هيدروكلوريد الاميلورايد 0.1مولاري.

حضر 100 مل من المحلول القياسي الخزين بتركيز 0.1 مولاري من إذابة 3.0212 غم من AMYالنقي في حجم من الماء الخالي من الأيونات وأكمل الحجم بالماء المقطر الخالي من الأيونات إلى حد العلامة.

2 - محلول مادة رنيكات الأمونيوم 0.1 مولاري.

حضر 100مل من محلول مادة رنيكات الأمونيوم بتركيز 0.1 مولاري من إذابة 3.5444 غم منها في الماء الخالي من الأيونات ومن ثم أكمل الحجم إلى حد العلامة بالماء الخالي من الأيونات.

3 - محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.1 مولاري.

تم نقل 5 مللتر من حامض الهيدروكلوريك 5 مولاري بوساطة ماصة مدرجة سعة 5 مللترالى قنينة حجمية سعة 250 مللتر وأكمل الحجم إلى العلامة بالماء المقطر.

4 - محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.1 مولاري.

حضر بإذابة 1.0000 غرام من المادة في الماء في بيكر صغير وأضيف إلى قنينة حجمية سعة 250 مللتر وأكمل الحجم بالماء الى العلامة

5- محاليل المتداخلات بتركيز 0.1 مولاري

وتضمنت هذه الطريقة إضافة املاح لأيونات K^+, Mn^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} Zn^{2+} Ce^{3+}, Cl^-, SO_4^{2-} , CO_3^{2-} ، Na^+ Glucose ,Starch (0.5%) الى العقار وإزالة اللون وإضافة بعض المواد المضافة في تحضيرها لكل عقار مثل البوفدون (PVP) وبنزوات الصوديوم وسترات الصوديوم والميثايل برابين(.MH) والبروبايل برابين (PHB) وحضرت بتراكيز 10^{-1} مولاري في قناني حجمية سعة 100 مللتر وأكملت بالماء المقطر إلى العلامة.

6- محلول المستحضر الدوائي بتركيز 10ppm

تم سحن عشرون قرص من مستحضر الاميلورايد هيدروكلوريد 5 ملغم. وكان معدل وزن الحبة الواحدة 0.1513 غم. حيث وضع المسحوق في قنينة حجمية سعة 50 مللتر تحتوي على 20 ملليلتر ميثانول و2 مللتر من 0.1 عياري حامض الهيدروكلوريك وننتظر على جهاز الموجات فوق الصوتية لمدة عشرة دقائق وبعدها خففنا حتى الحصول على تركيز نهائي 10ppm.

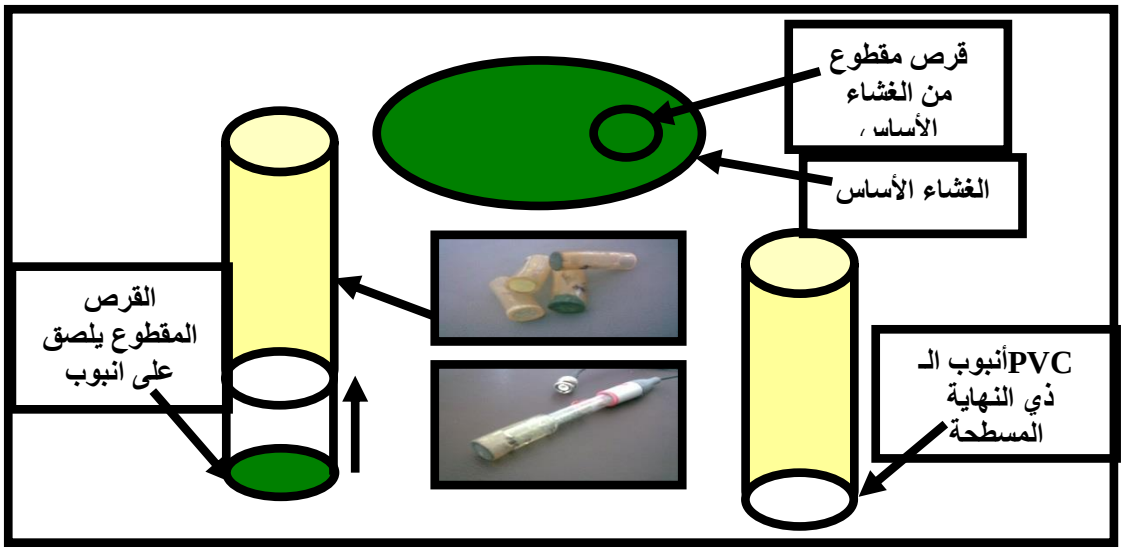
طريقة العمل

تحضير معقد AMY مع محلولي AMR بوجود DBPH

حضر المعقد AMY - AMR - DBPH بإضافة 50 مل من محلول المادة الدوائية AMY مع 50 مل من محلول AMR وبنفس التركيز 0.1 مولاري ومع التحريك المستمر يتكون راسب أحمر.

تحضير الأغشية السائلة لقطبي العقار AMY - AMR

باستعمال ثنائي بيوتيل الفثالات (Di - n - butyl phthalate , DBPH)[13] كمادة ملدنة حضر الغشاء الانتقائي عن طريق مزج 0.1 غم من المعقد AMY - AMR مع 0.45 غم من PVC (المذاب في 10 مل أسيتون + 10 مل THF) وبعد أن تمت إذابة المعقد جيدا أضيف إليه 0.43 مل من DBPH ومزجت باستعمال الحمام المائي بالأمواج فوق الصوتية (بدرجة حرارة المختبر 25° م) لإتمام الإذابة حتى تكون مزيجا متجانسا ، صب المحلول في طبق بتري زجاجي (glass petri dish) ذو قطر 10 سم ووضعت أوراق الترشيح فوق الطبق و ترك المحلول بهذه الحالة لمدة 48 ساعة للسماح للمذيب بالتبخر تدريجيا بدرجة حرارة الغرفة 25° م، رفع الغشاء بعناية بوساطة ملقط وحفظ في وعاء مغطى في الثلاجة وكان سمك الغشاء يساوي 0.3 ملم ، وإن مساحة هذا الغشاء كافية لتجهيز ثمانية أغشية لصناعة أقطاب لهذه الدراسة كما في الشكل (2) .



الشكل (2): كيفية تركيب القطب

تركيب الأقطاب الانتقائية الأيونية

1 - قطع جزء من أنبوب الـ PVCطوله 2.5 سم وقطره الخارجي 1.5سم. ولمست إحدى نهايته في مذيب الـ THF ثم أخرج ومسك بوضع عمودي وحرك بحركة دائرية على صفيحة زجاجية لأجل تسويته.

2 - قطع قرص دائري من الغشاء المحضر سابقاً وبقطر أكبر قليلاً من القطر الخارجي لأنبوب الـ PVC ولصق بنهايته المصقولة وبعناية تامة بعد وضع لاصق مكون من THFو PVC.

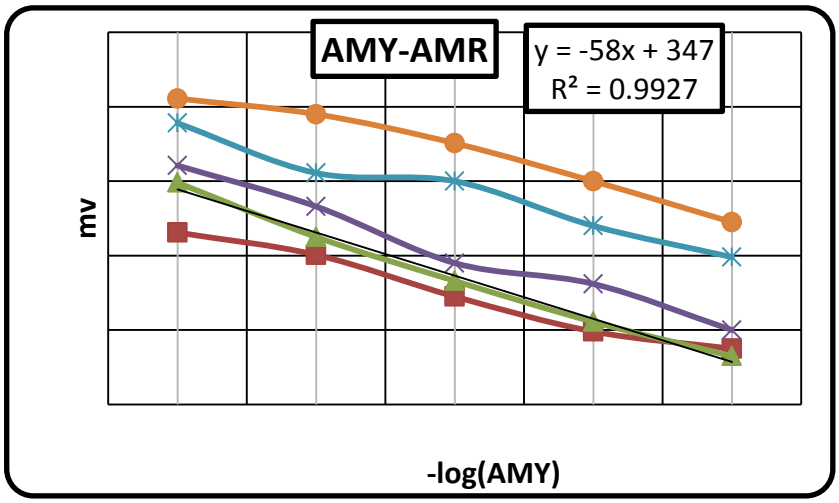
3 - وصلت النهاية الأخرى لأنبوب PVC بأنبوب زجاجي لقطب مستعمل مفتوح النهاية يحتوي على سلك الفضة كلوريد الفضة (Ag / AgCl).

4 - ملئ الأنبوب الزجاجي المتصل بأنبوب الـ (PCV) إلى ثلثيه بمحلول ملء داخلي للمادة الدوائية HMT وغمر القطب في محلول الملء الداخلي و لمدة 12 ساعة لمجانسة غشاء القطب وتشبيعه ولإتمام عملية التبادل الأيوني بصورة منتظمة من المحلول الخارجي إلى الغشاء ثم إلى المحلول الداخلي و بالعكس[14]

النتائج والمناقشة

1- دراسة تأثير تركيز محلول المليء الداخلي

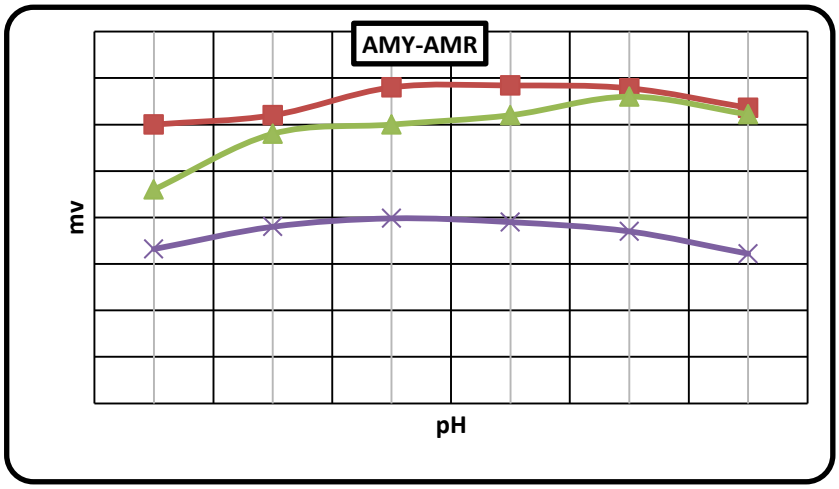
أجريت دراسة للقطب عند تغير تركيز محلول المليء الداخلي كل مرة. وسجل فرق الجهد المقاس للمحاليل الدوائية الخارجية بتركيز 10^{-5} – 10^{-1}. وكان أفضل تركيز محلول مليء داخلي هو 10^{-2} مولاري الذي أعطى أفضل استجابة نرنتسية، وقد أهملت التراكيز الاقل من 10^{-5}مولاري في التجارب اللاحقة لأنها لم تظهر أي استجابة خطية. كما في الشكل (3).



الشكل (3): يوضح دراسة تأثير تركيز محلول المليء على القطب المصنع اذ ان:
(■، ▲، ×، *، ●) تمثل تراكيز المحاليل الدوائية الخارجية (10^{-1} -10^{-5}) على التوالي.

2- تأثير ألدالة الحامضية

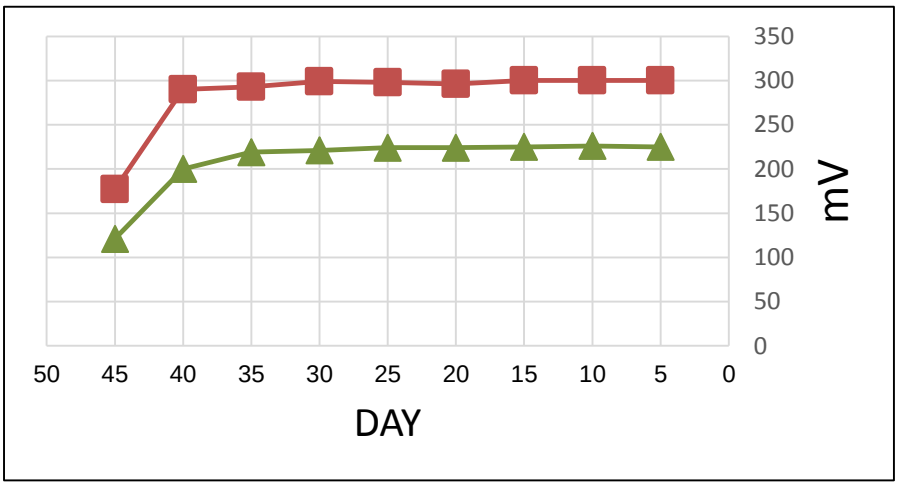
تمت دراسة تأثير الدالة الحامضية في استجابة قطبي AMY-AMR-DBPH بعد تغير قيمة الدالة الحامضية لمديات من 6.0-1.0 باستعمال حامض HCl بتركيز0.1 ولاري. ووجد أن أفضل دالة حامضية يمكن أن يعمل بها القطب AMY هي بمدى 2.0-5.0، وكما مبين في الشكل (4).



الشكل (4): دراسة تأثير الدالة الحامضية على القطب اذ ان: (* ، ▲ ، ■) تمثل تراكيز محلول المليء الداخلي (10^{-1} -10^{-3}) على التوالي.

3- العمر الزمني للقطب

تم تقدير عمر القطب عن طريق تسجيل فرق الجهد باستعمال محلول العقار القياسي بتركيز 10^{-1} -10^{-3} مولاري في كل خمسة ايام وقد كان العمر الزمني للقطب بحدود 45 يوم، وكما مبين في الشكل (5).



الشكل (5): دراسة تأثير العمر الزمني على القطب اذ ان:(▲، ■) تمثل تراكيز محلول المليء الداخلي(10^{-1}،10^{-3}) على التوالي.

4- قياسات الانتقائية

قيست انتقائية قطب AMY-AMR مع المادة الملدنة DBPH بطريقة المحاليل الممزوجة ، حيث قيس جهد المحلول الدوائي القياسي10^{-3}-10^{-1} مولاري بعد تثبيت الظروف المثلى أولا وبدون إضافة الأيون المتداخل ، ثم قيس جهده بعد إضافات مختلفة من الأيون المتداخل تتراوح بين 10^{-1} و10^{-3} مولاري مع الاحتفاظ بالحجم النهائي للمحلول 20 مل، وقد أظهر القطب قيد الدراسة انتقائية عالية تجاه العقار دون ان يتأثر جهده بالايونات المتداخلة المختارة ويتضح ذلك من خلال قيم معامل الانتقائية التي هي اقل من واحد [15] وكما مبينة في الجدول (1).

الجدول رقم (1): قيم معامل الانتقائية

الايون المتداخل	قيم معامل الانتقائية $K^{Pot}_{i,J}$		
	AMY-AMR-DBPH		
	مولاري10^{-1}تركيز المتداخل	مولاري10^{-2} تركيز المتداخل	مولاري10^{-3} تركيز المتداخل
Na^{+1}	-0.0971	-0.0695	-0.0504
K^{+1}	-0.0879	-0. 0157	-0.3870
Ba^{+2}	0.0078	-0.0171	-0.4072
Pb^{+2}	0.0061	-0.0221	-0.0371
Br^{-1}	-0.0032	-0.0176	-0.0381
Cl^{-1}	-0.0687	-0.0489	-0.0210
SO_4^{-2}	0.0011	-0.0183	-0.0307
PO_4^{-3}	0.0004	0.0012	-0.0075
Glucose	-0.0107	-0.1042	-0.0374

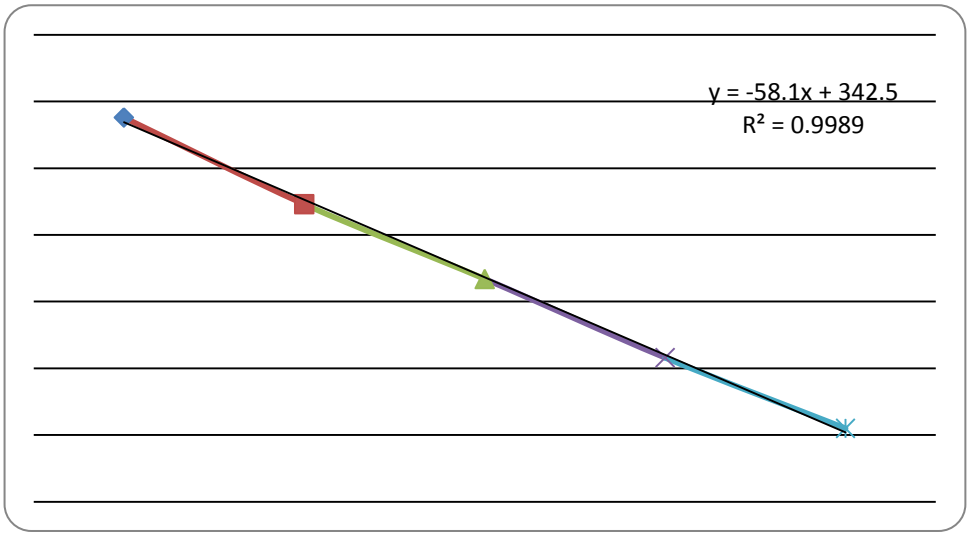
ويبين الجدول (2) الظروف المثلى للقطب المستخدم في الدراسة

الجدول رقم (2): قيم الظروف المثلى

الظروف المدروسة	النتائج المثلى لمعقدAMY – AMR
التركيز الأمثل لمحلول الملء الداخلي	10^{-2} M
الدالة الحامضيـــة	2.0 -5.0
العمر الزمني	45 Day

منحني المعايرة

بعد تحديد الظروف المثلى من التركيز الأمثل لمحلول الملء الداخلي والدالة الحامضية والعمر الزمني تم رسم منحني المعايرة وكان مدى التراكيز (10^{-1}-10^{-5}) مولاري، وكما مبين في الشكل (6)



الشكل (6): منحني المعايرة للقطب

التطبيقات

تم تطبيق الطريقة على أحد المستحضرات الصيدلانية وكانت النتائج جيدة، اذ بلغت الاستردادية بين (98.1-105.8) وكما وبلغ الانحراف النسبي القياسي بين (0.3424- 1.1128)، وكما مبينة في الجدول(3).

الجدول رقم (3): تقدير عقار هيدروكلوريد الاميلورايد في بعض المستحضرات الصيدلانية حسب الطريقة المقترحة

تركيز العقار مولاري	استجابة القطب* (ملي فولت)	الانحراف القياسي النسبي RSD%	استجابة القطب من معادلة الخط المستقيم	الاستردادية %
10^{-1}	288	0.5491	284.4	101.2
10^{-2}	223	0.3424	226.3	98.5
10^{-3}	167	1.0832	168.2	99.3
10^{-4}	108	0.9255	110.1	98.1
10^{-5}	55	1.1128	52.0	105.8

الاستنتاجات

أثبتت النتائج أن القطب AMY - AMRمع المادة الملدنة DBPH هو قطب مثالي وذلك لكونه أطول عمرا كما أن ميل هذه الأقطاب يكون أقرب إلى القيم النرنستية 59.5.

References

1- Gennaro, A. and Chairman, A, Remington's pharmaceutical sciences 17th Ed., Printed in The United State of America by Mack printing company Easton, Pennsylvania, 1985: 904.
2- Laurence, D and Bennett, P, Clinical pharmacology 6th Ed., Churchill Livingstone, Edinburgh London & New York 1987.
3- Reynolds, J and Martindale, The Extra pharmacopoeia, 29th Ed, The pharmaceutical press, London, 1989: 977.
4- United States Pharmacopeia, XXth Revision, National Formularg, 15th Ed., Mack Easton, 1980.
5- Ferraro MC1, Castellano PM, Kaufman TS, Chemometric determination of amiloride hydrochloride, atenolol, hydrochlorothiazide and timolol maleate in synthetic mixtures and pharmaceutical formulations, J Pharm Biomed Anal. 2004, 34(2): 305-14.
6- Croo F, Bossche W, Moerloose P, Simultaneous quantitative determination of amiloride hydrochloride and hydrochlorothiazide in tablets by high-performance liquid chromatography, Chromatographia August, 1985, 20(8): 477-8.
7- Eglal A, Ibrahim A, Hala E and Mohammed E, Spectrophotometric methods for quantitative determination of binary mixture of hydrochlorothiazide and amiloride hydrochloride without prior separation, Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences,2014, 4(34): 27-33.
8- Khaleda, H, Suhad A and Sahar S, simultaneous determination of amiloride hydrochloride and hydrochlorothiazide in pharmaceuticals by derivative spectrophotometry, Journal of Al-Nahrain University, 2010, 13(4): 52-61.
9- Rui A, José L and João L, Dual-stopped-flow spectrophotometric determination of amiloride hydrochloride in a multicommutated flow system, Analytica Chimica Acta, 2000, 407: 225–31
10- Inés T, Pope S and Richter P, Simultaneous determination of amiloride and furosemide in pharmaceutical formulations by first digital derivative spectrophotometry, International Journal of Pharmaceutics, 2002, 249:117–26.
11- Pilar O, Pellerano G, Francisco A and Molina A, rapid and sensitive determination of amiloride by cation exchange preconcentration and direct solid-phase uv detection, Analytical Letters, 2002, 35(9): 103-7.
12- El-Hefnawy G, El-Hallag I, Ghoneim E and Ghoneim M, Electrochemical behavior and determination of amiloride drug in bulk form and pharmaceutical formulation at mercury electrodes, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2004, 34(5): 899–907.
13- Caraggs; G.T. Moody and J.D.R. Thomas, J. chem. Edu, 1979, 51(8): 541.
14- U. Fiedler, J. Ruzicka, Avalinomycin-based Potassium inner reference system Anal.chim.Acta, 1973, 67: 179.
15- Yoshio, U, Phillippe, B, Kayoko, U, Koji, T and Shigeru A, Pure Appl. Chem, 2000, 72(10): 1851-2082.