

## 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 الآتية:-  
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<sup>-1</sup> وحد الكشف (0.023) مايكروغرام.مل<sup>-1</sup> ومعامل الامتصاص المولاري (29875) لتر.مول<sup>-1</sup>.سم<sup>-1</sup> وحساسية ساندل (0.0134)غم.سم.لتر<sup>-1</sup> 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

Shimadzu Spectrofluorophotometer  
RFI50I

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 القصوى والنمط المقاس المباشر ونوع القياس منفرد ونوع التشيع (AC) وفي درجة الحرارة الغرفة.

### B- المحاليل المستخدمة:

#### 1- المحلول القياس الام للدواء (SP):

حضر (1000) مايكروغرام.مل<sup>-1</sup> من (SP) بإذابة (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 (لوحت ثلون المحلول بلون احمر مع تآلق اخضر مصفر واضح مع انبعاث رائحة مميزة لغاز كبريتيد الهيدروجين) بعدها اكمل الحجم الى 100 مل بالايثانول.

ولغرض الحصول على منحنى المعايير المباشر تم تخفيف حجوم محسوبة من المحلول القياس الام بالايثانول وفي دوارق حجمية مناسبة،

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 (C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>S) 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<sup>(6-1)</sup>.

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

### الجزء العملي

#### A- الاجهزة المستخدمة:

1- مقياس ضوئي طيفي تفلوري من نوع :

للاشارة  $\lambda_{EX}$  والتألق  $\lambda_{EM}$  للمحاليل القياسية ومحلولي العينة.

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

### تقدير الدواء (SP) في المستحضرين الصيدلانيين تألقياً بطريقة الاضافة القياسية

حضرت ستة محاليل تمثل مجموعة المحاليل القياسية للدواء (SP) ضمن المدى التركيزي (1-6) مايكروغرام.مل<sup>-1</sup>، 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<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup> واكمل الحجم الى العلامة بالايثانول، ضبطت جميع الظروف العملية وقيست شدة التألق لكل محلول عند الطول الموجي الاعظم للاشارة  $\lambda_{EX}$  والتألق  $\lambda_{EM}$ .

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

### النتائج والمناقشة

#### 1- تحديد الطول الموجي الاعظم للاشارة $\lambda_{EX}$ والتألق $\lambda_{EM}$

كان الطول الموجي الاعظم للاشارة  $\lambda_{EX}$  (351) نانومتر الشكل (1) في حين كان الطول الموجي الاعظم للتألق  $\lambda_{EM}$  (518) نانومتر الشكل (2).

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

بعد دراسة الظروف العملية الفضلى مثل تأثير الزمن درجة الحرارةية وزمن الترشيح اضافة الى تأثير وجود الماء على طيف التألق.

#### 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 للادوية- 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.

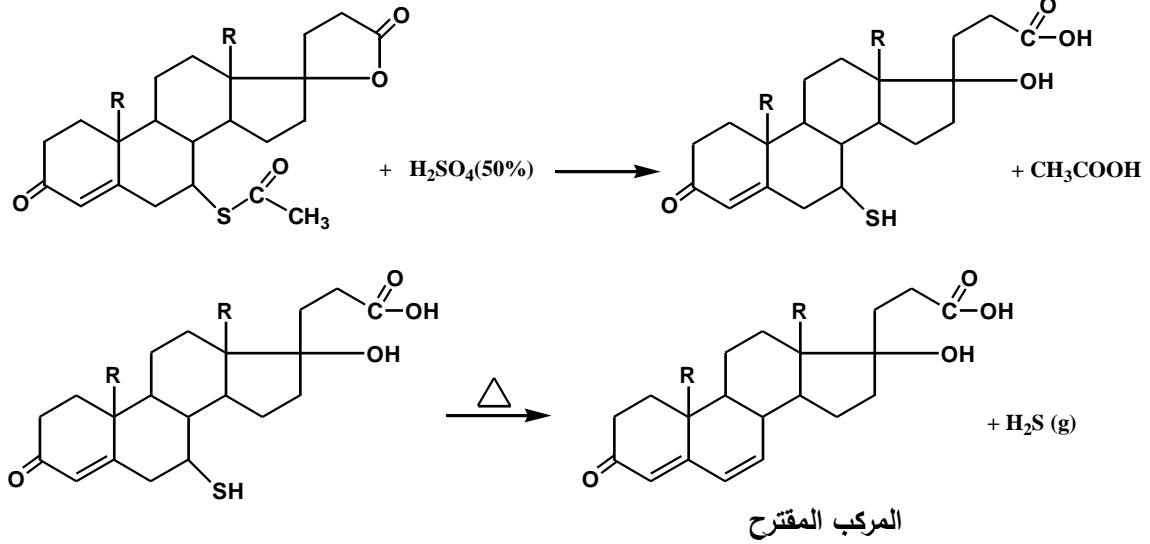
تعامل الكمية الموزونة اعلاه لغرض تحضير (1000) مايكروغرام.مل<sup>-1</sup> من محلول المستحضر (NORACTONE) كما في الفقرة السابقة عند تحضير المحلول القياسي الام.

ولغرض تحضير (1000) مايكروغرام.مل<sup>-1</sup> من محلول المستحضر (ALCTONE) فلقد تم اتباع نفس الاسلوب الذي تم به تحضير المستحضر الاول.

#### تقدير الدواء (SP) في المستحضرين الصيدلانيين تألقياً بطريقة المعايرة المباشرة

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

نقل الحجمان (0.3 مل و0.6 مل) من محلول المستحضر الصيدلاني (NORACTONE) ذي التركيز (100) مايكروغرام.مل<sup>-1</sup> الى دورقين حجميين سعة كل واحد منها (10) مل، اكمل الحجم الى العلامة بالايثانول، ضبطت كل الظروف العملية بعدها قيست شدة التألق عند الطول الموجي الاعظم



الشكل (3): تفاعلات تكوين المادة المتألفة (المركب المقترح)

الجدول (1) يبين المعطيات التحليلية لمنحني المعايرة المباشرة حيث يتضمن الجدول الطول الموجي الاعظم للاثرية  $\lambda_{EX}$  والتألق  $\lambda_{EM}$  ومدى التركيز ومعامل الامتصاص المولاري وحساسية ساندل.

الجدول (1) المعطيات التحليلية لمنحني المعايرة المباشرة

Compound	$\lambda_{EX}$ (nm)	$\lambda_{EM}$ (nm)	Linearity $\mu\text{g.ml}^{-1}$	$\epsilon$ $\text{L.mole}^{-1}.\text{cm}^{-1}$	S $\text{g.cm}^{-2}$
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<sup>-1</sup> وحساسية ساندل (0.0139) ان الطريقة التألق الجزئي المستخدمة لتقدير الدواء (SP) ولاول مرة في هذه الدراسة هي طريقة

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

- 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 تنخفض 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 تبديد 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)<sup>(25)</sup> واخرون، بوجود قوى استقطاب بين المخذ (الماء) والمادة المتألفة او قد يكون عزمًا ثنائي القطب، ان قوى الاستقطاب وقوى ثنائي القطب تعمل على استقرار المركب المتألق، هذا الاستقرار يصاحبه انخفاض من الطاقة.

## منحني المعايرة المباشرة لتعيين الدواء (SP) بطريقة التألق الجزئي

الشكل (8) يبين ان اقصى تركيز للدواء (SP) يطبع قانون بير هو (10) مايكروغرام.مل<sup>-1</sup> بعدها يبدأ المنحني بالانحراف.

ولاحاجة الى استخدام منحني اضافات القياس لعدم وجود تداخلات. يبين الجدول (4) بعض المعطيات التحليلية لمنحني اضافات القياس.

الجدول (4) المعطيات التحليلية لمنحني اضافات القياس

Name of Pharmaceutical	Linearity mg.ml <sup>-1</sup>	Start conc. mg.ml <sup>-1</sup>	Found conc. mg.ml <sup>-1</sup>
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 <sup>-1</sup>	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.

تحليلية دقيقة وحساسة، وان قيمة معامل الارتباط (R) القريب من الواحد الصحيح يدل على وجود علاقة ترابطية عالية بين قيم المتغيرين التركيز وشدة التآلق.

### استخدام منحني المعايرة المباشرة

قيست شدة التآلق لاثنين من المحاليل المخففة من محلول المستحضر الصيدلاني (NORACTONE) عند الطول الموجي الاعظم للآثاره  $\lambda_{Ex}$  والتآلق  $\lambda_{Em}$ .

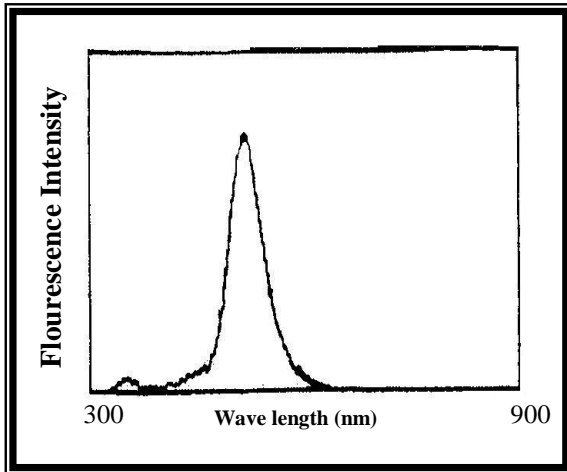
الجدول (3) الخطأ النسبي المئوي والاستردادية المئوية للدواء (SP) المقدر في المستحضر الصيدلاني NORACTONE وفق طريقة المعايرة المباشرة.

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

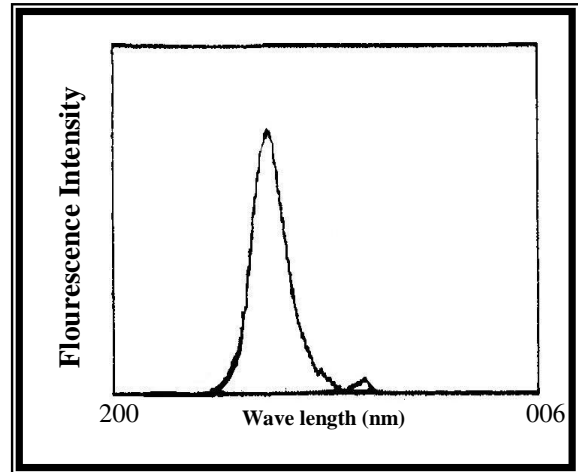
ومن النتائج المستحصلة تم حساب النسبة المئوية للدواء (SP) من المستحضر الصيدلاني وكانت مطابقة لما هو عليه في دستور الادوية البريطانية التي تتراوح بين (98-105)%. كذلك عوملت محاليل المستحضر الصيدلاني الاخر (ALCTONE) بنفس الطريقة للمستحضر الاول لغرض تقدير كمية الدواء (SP) بطريقة منحني المعايرة المباشرة وكانت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

### استخدام منحني الاضافات القياسية

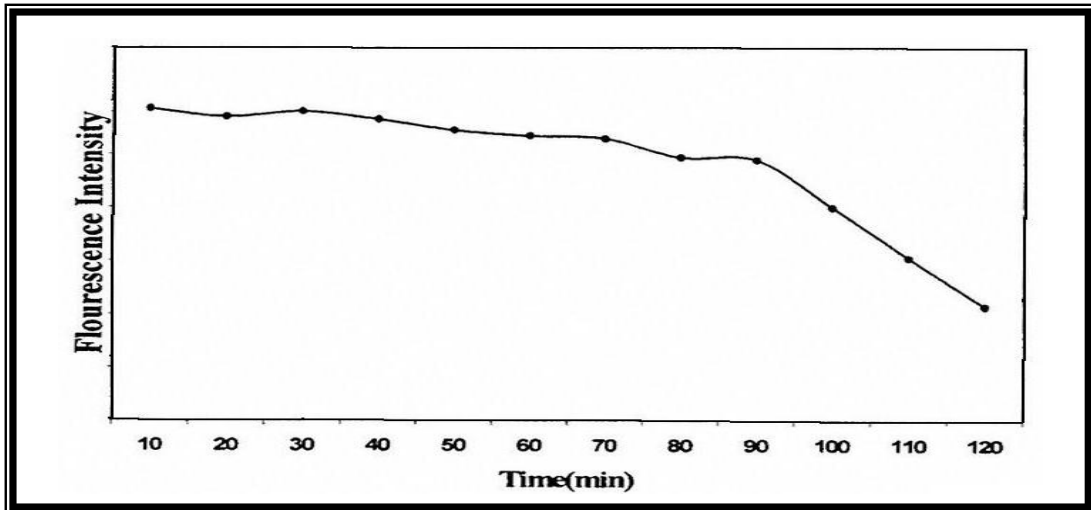
تم رسم منحني الاضافات القياسية وفق الشكل (9) والشكل (10) العائدان للمستحضران الصيدلانيان (NORACTONE) و (ALCTONE) على التوالي. ويلاحظ من الشكلين المشار إليهما عدم وجود تداخلات لمنشأ العينة المقاسة، أي ان المركب (SP) في كلا المستحضرين لا يتأثر بالمواد المضافة. ان ميل منحني اضافات القياس موازي لميل منحني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



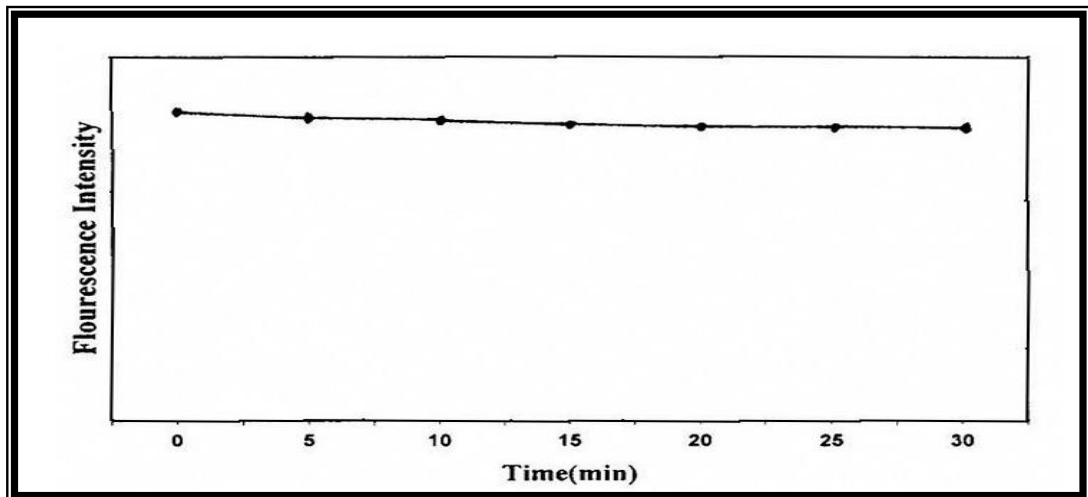
الشكل (2) طيف التألق للمركب



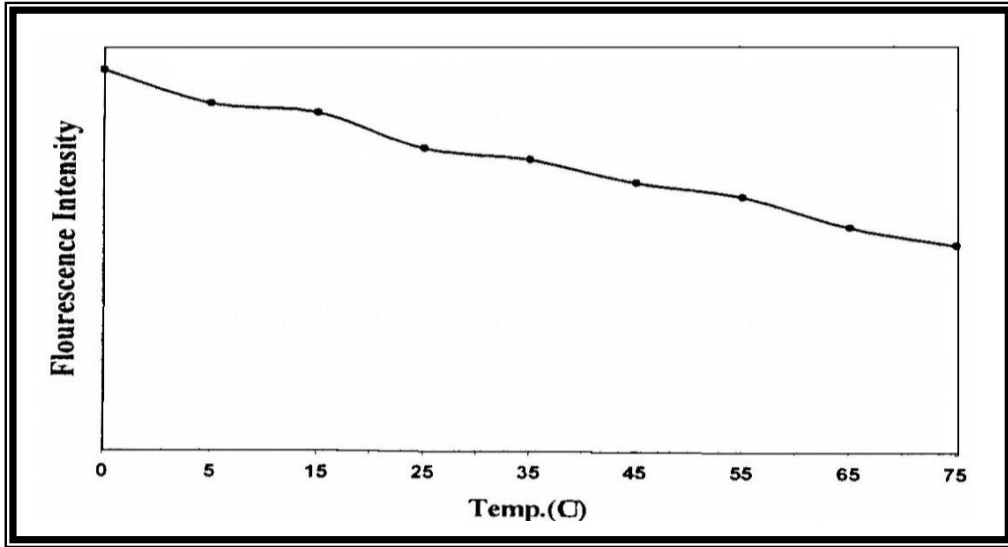
الشكل (1) طيف الاثارة للمركب



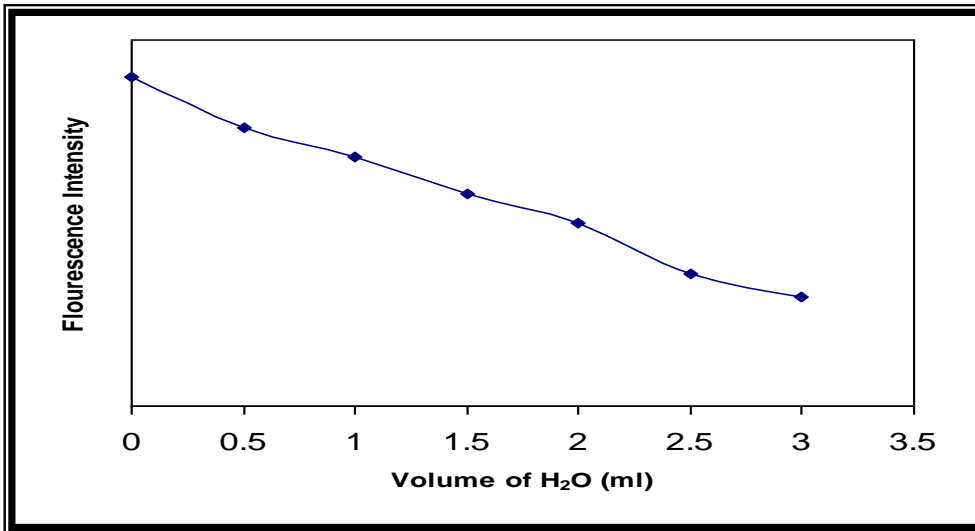
الشكل (4) تأثير الزمن على شدة التألق



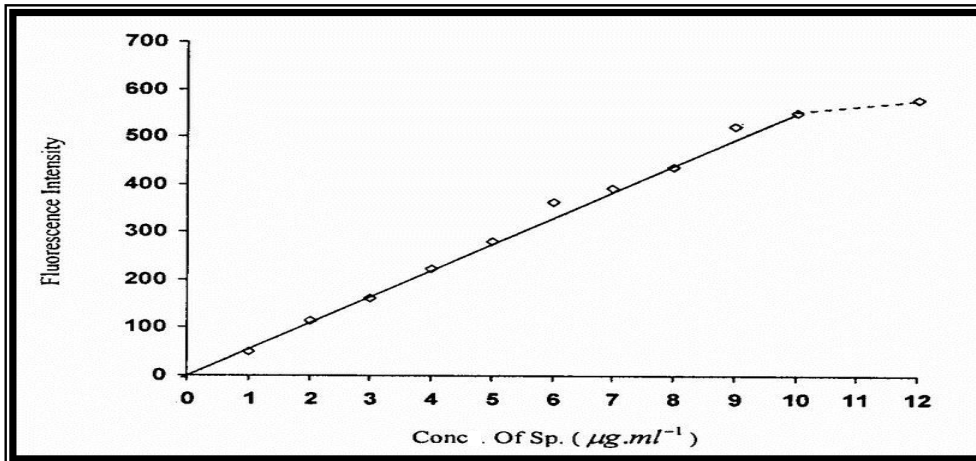
الشكل (5) تأثير التشعيع على شدة التألق خلال 30 دقيقة



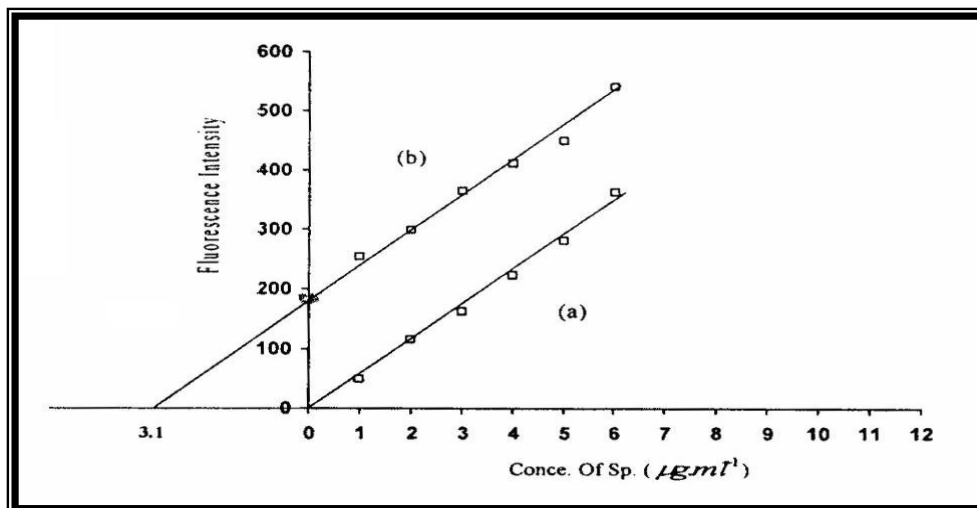
الشكل (6) تأثير درجات الحرارة على شدة التآلق



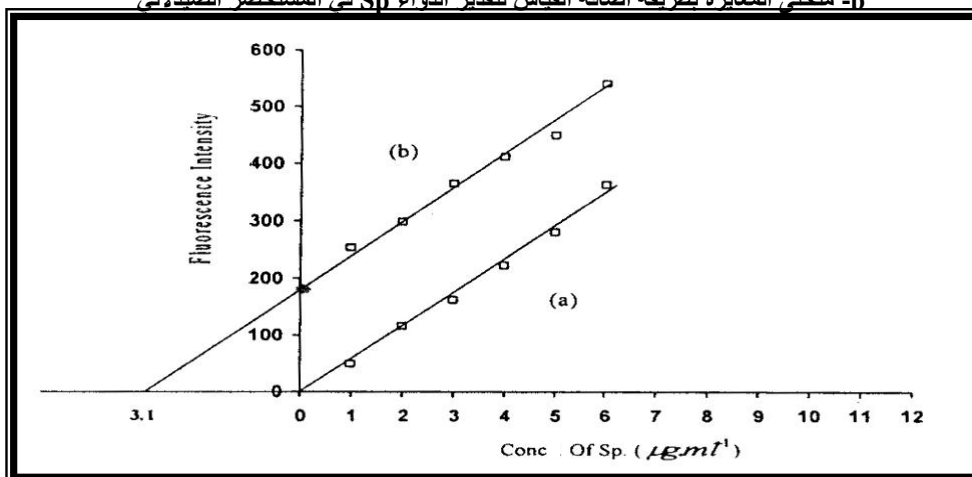
الشكل (7) تأثير الماء على شدة التآلق



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



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



الشكل (10) : a- منحنى المعايرة المباشرة.  
b- منحنى المعايرة بطريقة اضافة القياس لتقدير الدواء Sp في المستحضر الصيدلاني ALCTONE.

6. John, M., Savisonn's Principles and practice of medicine, (1981), 3<sup>rd</sup> 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):
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.

## Reference

1. Didebrg; Dupont -Act crystallogr. Sect., (1972), B28, 3014.
2. Martindal, edited by Kathleen Parfitl, (1999), 32<sup>nd</sup> Ed.
3. Mary, J. M., Rionard, A.H., and Pameia, C. C., (2000), Pharmacology, 2<sup>nd</sup> Ed., Lippincott Williams and Willicins. Pniladelphia, PA @.
4. "The Merk Index on CD-ROM", (2000), 12<sup>th</sup> Ed. Copyright by Merk Co. Inc., Whitehouse Station, NJ, USA.
5. British Pharmacopia on CD-ROM, (2000), Vol.1.

18. Shingbal, D.M., and Barad, U.G., (1984), Indian drugs, 22(3): 163.
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.
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.
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.

## Determination Of Micro Amount Of Spironolactone In Some Of Pharmaceutical Preparete 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<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 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).