تقدير هيدروكلوريد الافدرين في المستحضرات الصيدلانية بأستخدام تقنية الامتصاص الجزيئي (UV-Visible)

1- الاء هاني ناصر – كلية العلوم – جامعة واسط
2- حيدر عبد الخالق خضير– المعهد التقني / كوت

Determination of Ephedrine Hydrochloride in its Pharmaceutical Preparations by using molecular absorption (UV-Visible) technique

1-Alaa Hani Nasser – College of Science – Univ. of Wasit
2- Hayder AbdulKhaleq – AlKut Technical Institute

Summary

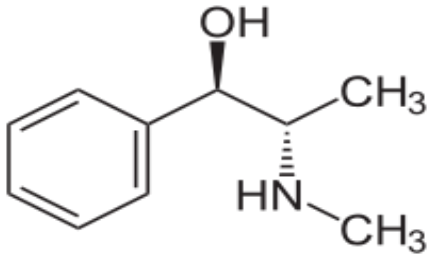
The presented paper aims at using an innovative analytical method to determine the drug ephedrine hydrochloride (EPH), (Usually used for treating different diseases like asthma) in some pharmaceutical preparations using molecular absorption techniques (UV-Visible). Chelate complex is prepared through the reaction between EPH and Co (II). Determination of ephedrine is done as a EPH – Co (II) after extraction by chloroform at λ_{max} 389 nm, and the analytical results are obtained as follows, metal to legend (2:1). Linear dynamic range (1-80µg/ml) for EPH, (RSD%=0,303), D.L= (0, 94 µg/ml), Sandell's sensitivity (S=0.0135), (Erel. %=0, 039), (Rec. %=100, 039)

الخلاصة

يهدف البحث إلى استحداث طريقة تحليلية جديدة لتقدير المركب الدوائي هيدروكلوريد الافدرين EPH (المستعمل في علاج مختلف الأمراض التنفسية وأهمها الربو) في بعض المستحضرات الصيدلانية باستخدام تقنية الامتصاص الطيفي الجزيئي (UV-Visible).المعقد الكلابي حضر من تفاعل المركب الدوائي EPH مع الكوبلت.حيث تم تقدير الافدرين بهيئة EPH–Co(II) بعد استخلاصه بالكلوروفوم و تقديره في المستحضرات الصيدلانية وعند الطول الموجي (λ_{max} 389 nm ، وقد تم الحصول على النتائج الاتية : نسبة الاتحاد المولية بين الافدرين و الكوبلت هي (1:2) . خطية التركيز هي (1-80 مايكروغم/مل) و كان الانحراف القياسي النسبي المئوي (RSD%=0,303)، وحد الكشف (D.L=0,94 µg/ml) و حساسية ساندل(S=0.0135) أما الخطأ النسبي المئوي فكان (Erel. %=0,039) و الاسترادية (Rec. %= 100,039) .

المقدمة

يعد هيدروكلوريد الافدرين احد ادوية امين الكيل فنيل (Amine Alkyl Phenyl) و الذي تركيبه الكيميائي موضح في الشكل رقم (1).



شكل رقم (1) التركيب الكيميائي للأفدرين

يحتوي هيدروكلوريد الافدرين ليس اقل من 99% –(2-methylamino–1–phenyl propane-1–ol Hydroclride) . [1] و من الأمثلة على هذه الأدوية هيدروكلوريد الفنيل فرين، هيدروكلوريد الفنيل بروبانول امين والابنفرين (الأدرينالين) [2].

إن الافدرين وهو مركب قلوي الاصل اكتشف و عزل لاول مرة من نبات Ephedra من قبل العالم Nagai في عام 1887[3]، يسمى المركب كيميائيا ب: ∝-(1-(methyl amino)ethyl) benzyl alcohol ويتم الحصول على مركب الافدرين من مصدرين نباتي أو صناعي أما بالاستخلاص التقليدي بالكحول أو البنزين من احد أصناف الافدرا، أو بتحضيره صناعيا [4-5]

إن المركب الدوائي عبارة عن مسحوق ابيض اللون او بلورات عديمة اللون يذوب في الماء و الكحول و غير ذائب في الايثر و الكلوروفورم و هو بشكل ابر موشورية و بطعم مر جدا و عديم الرائحة و جاف و يتطاير ببطء في الجو الحار، ينصهر في حوالي219 درجة مئوية، وزنه الجزيئي 201.7 [6]. إما بالنسبة لاستعمالاته الكيميائية فتمكن الباحثان Friedrich, Branch [7]، من أكسدة الافدرين باستعمال 50-70% حامض الكبريتيك و بوجود العامل المساعد $ZnCl_2$ وذلك لغرض تحضير مثيل فنيل اسيتون $PhCH_2COMe$ الناتج من التقطير.

و استعمل الباحثUematsu [8]،(dL و L –هيدروكلوريد الافدرين) لتحضير(dL و L – هيدروكلوريد مثيل افدرين) و ذلك بالتسخين معHCHO وHCO_2H و بوجود احد العوامل المساعدة Zn، $CaCO_3$، pyridine في حمام مائي و بدرجة حرارة (100-110) درجة مئوية معطيا 97% من MEH .

ان الطرق الطيفية تم دراستها من قبل عدة باحثين منهم الباحث Sentur [9] حيث وصف طريقة طيفية لتقدير الافدرين EPH و الثايوفلينTHP في اشكال الحبوب الدوائية مستعملا الاطوال الموجية 250.3 و 231.8 نانوميتر لكل من EPH و THP على التوالي، اعطت الطريقة المعطيات التحليلية الاتية: حد الكشف0,73 ،0,92 مايكروغم/مل للمركبين على التوالي، خطية التركيز كانت(20-180) مايكروغم/مل و(10-50) مايكروغم/مل لكل من THP و EPH على التعاقب، والانحراف القياسي النسبي للطريقة اقل من 1,5% مما يدل على التكرارية الجيدة.

واستعمل الباحث Yixp [10] طريقة الهضم التي تتميز بالبساطة و السرعة و عدم التلوث لتقدير الافدرين و يتم هضم النماذج مع HNO_3-H_2O_2 و من ثم القياس باستعمال تقنية الامتصاص الذري اللهبي لتقدير العناصر Mn, Cu, Na, K, Ni, Cd, Pb, Cr, Zn, Mg, Ca, Fe في الافدرين المستخلص، أعطت الطريقة دقة في القيم في مدى(91.1-105 %)، الانحراف القياسي النسبي (0,2-2,3 %)

الجزء العملي

1- المواد الكيماوية المستخدمة

استعملت مواد كيماوية و كواشف تحليلية على درجة عالية من النقاوة و حسب ما مبين في الجدول رقم (1):

الجدول رقم (1):المواد الكيمياوية و جهات تصنيعها

No.	Chemical	Formula	Purity	Supplied from
1	Ephedrine Hydrochloride	$C_{10}H_{15}NO.HCl$	%99.9	S.D.I-Iraq
2	Cobalt standard solution	$CoCl_2$	%100	Merck, Germany
3	Carbon disulfide	CS_2	%99.9	Riedel-dehaenag
4	Chloroform	$CHCl_3$	%99.5	BDH, UK
5	Ammonia solution	$NH_3.H_2O$	%25	BDH, UK
6	Ammonium chloride	NH_4Cl	%98.5	BDH, UK
7	Sulfuric acid	H_2SO_4	%95.0	BDH, UK

2- الأجهزة و الأدوات المستخدمة

استعملت في هذه الدراسة جهاز مطياف الامتصاص الجزيئي نوع UV-Visible 1650 Shimadzu spectrophotometer (double beam) المزود بخلايا من الكوارتز ذات سمك خلية مقداره 0,5 سم.
كما أستخدم مقياس الأس الهيدروجيني pH-meter-inolab pH 720 from WTW–labor-pH-meter

3 - المحاليل المستعملة

3-1 محلول هيدروكلوريد الافدرين القياسي (1000مايكروغم/مل) حضر بإذابة 0,1 غم من المادة النقية (الافدرين) في الماء المقطر و اكمل الحجم الى 100 مل باستعمال قنينة حجمية و منه تم تحضير سلسلة من محاليل العمل الأخرى بالتخفيف.

3 – 2 محلول الكوبلت القياسي (1000مايكروغم/مل)

حضر بتفريغ محتويات حاوية مصنعة من شركةMerck تحتوي على (1.000 غم± 0,002 غم) منCo بهيئة $CoCl_2$ المذاب في الماء الايوني بوجود 5% حامض النتريك، اكمل الحجم الى 1000 مل باستعمال قنينة حجمية و منه تم تحضير سلسلة من محاليل العمل الأخرى بالتخفيف.

3 – 3 المحلول الدارئ

حضر باذابة 0,93 غم من مسحوق كلوريد الامونيوم في كمية من الماء اللايوني، اضيف اليها 67 مل من محلول الامونيا المركزة في قنينة حجمية سعة 100 مل، عدل الرقم الهيدروجيني للمحلول بعد

قياسه بوساطة جهاز قياس الحامضية و ذلك باستعمال محلول الامونيا المركزة، لجعل الرقم الهيدروجيني للمحلول الناتج يساوي 11 .[11]

3 -4 محلول الكلوروفورم الحاوي 2% ثنائي كبريتيد الكاربون

نقل بالماصة 2 مل من ثنائي كبريتيد الكاربون الى قنينة حجمية سعة 100 مل، و نكمل الحجم إلى العلامة بمذيب الكلوروفورم.

4- الفحوصات التمهيدية لتكوين المعقدات

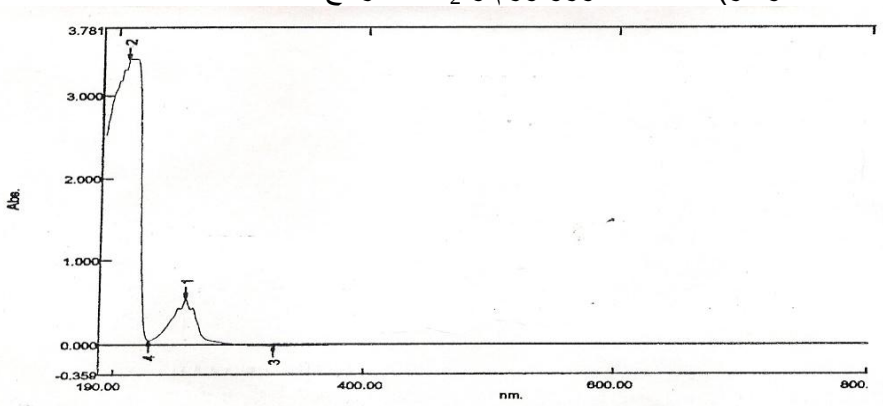
لوحظ انه عند مزج محلول المركب الدوائي هيدروكلوريد الافدرين مع محلول المذيب العضوي الكلوروفورم الحاوي على 2% ثنائي كبريتيد الكاربون، ثم اضافة محلول عنصر الكوبلت و في وسط قاعدي، يتكون معقد ملون أعطى أقصى امتصاص عند الطول الموجي389 نانوميتر، في حين لم يعطي المحلول المرجعي امتصاصا ملحوظا عند الطول الموجي المذكور.

مناقشة النتائج

1- الدراسات الطيفية

1-1 طيف امتصاص الافدرين(EPH)

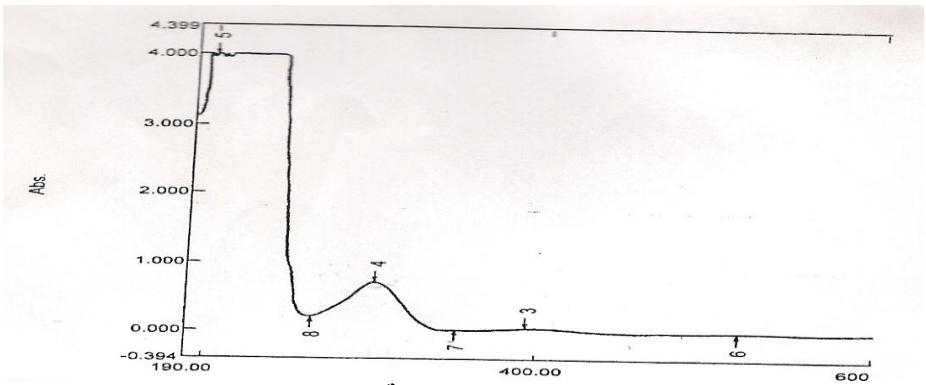
تمت دراسة طيف امتصاص الافدرين و من خلال الشكل الطيفي شكل رقم (2) إن للافدرين قمة امتصاص ملحوظة عند الطول الموجي(257 نانومترا)، علما إن طيف الامتصاص قد رسم ضمن المدى(190-800 نانومتر) مقابل الكلوروفورم و Cs_2 كمرجع.



الشكل رقم (2) طيف الامتصاص الجزيئي لمحلول هيدروكلوريد الافدرين(تركيز 1000 مايكروغم/مل).

2-1 طيف امتصاص الكوبلت

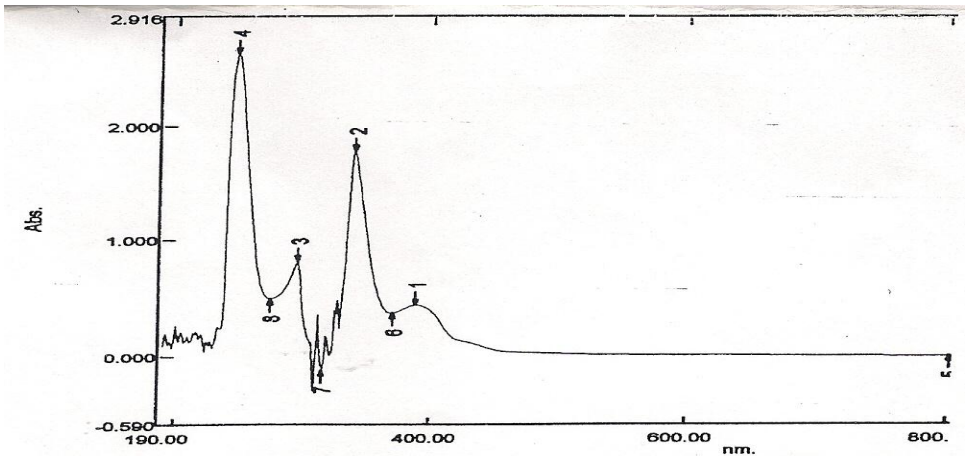
إن طيف امتصاص كلوريد الكوبلت(II) و من خلال الشكل الطيفي رقم (3) يتبين أن للكوبلت قمة امتصاص متميزة عند الطول ألموجي الأعظم (315 نانومترا)،



الشكل (3):طيف الامتصاص الجزيئي للكوبلت على هيئة $CoCl_2$ (تركيز 1000 مايكروغم/مل).

3-1 طيف امتصاص المعقد الكلابي

الشكل الطيفي (شكل رقم (4))للمعقد الكلابي للافدرين مع الكوبلت Co(II) يبين ظهور قمة أمتصاص متميزة عند الطول الموجي الاعظم 389 نانوميتر عند أستعمال الكلوروفورم و Cs_2 كمحلول بلانك.



الشكل (4):طيف الامتصاص الجزيئي للمعقد الكلابي EPH–Co (II).

2- تعيين الافدرين باستعمال الكوبلت(Co(II عن طريق استخلاص المعقد الكلابي باستخدام مطيافية الامتصاص الجزيئي

2–1 انتقاء الظروف الفضلى

1- تسلسل الاضافات

يبين الجدول (2) تأثير تسلسل إضافة المحاليل و تكوين معقدEPH–Co (II) ، و قد أظهرت النتائج أن التسلسل (1) يعطي اعلى ممتصية للمعقد.

الجدول رقم (2): تأثير تسلسل الإضافات على امتصاصية المعقد الكلابي.

رقم التسلسل	تسلسل إضافة المحاليل	الامتصاصية
1	A+B+C	0,390
2	A+C+B	0.365
3	C+A+B	0.314
4	C+B+A	0.287
5	B+C+A	0.253
6	B+A+C	0.224

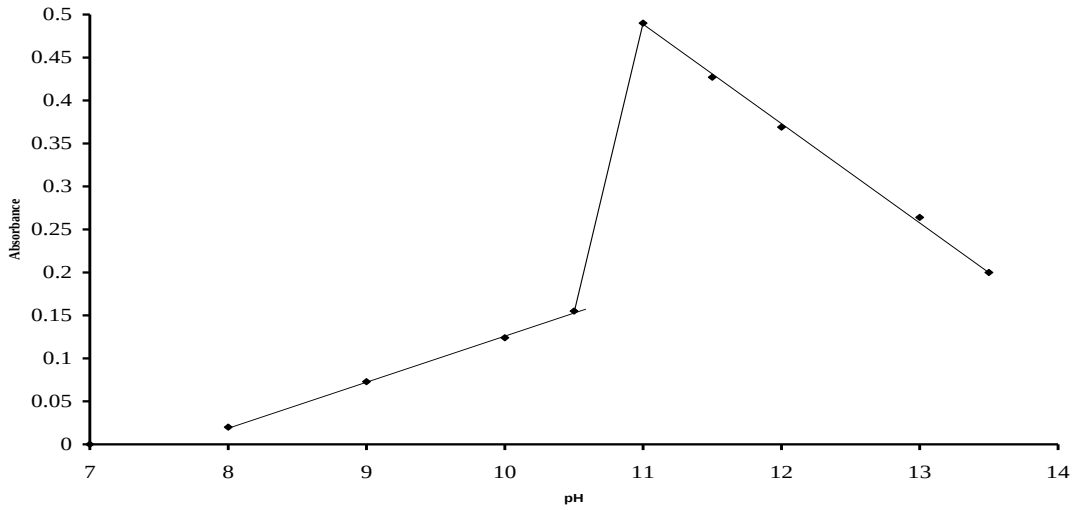
A=محلول المركب الدوائي هيدروكلوريد الافدرين EPH

B=محلول الكلوروفورم الحاوي 2 % من (CS_2%)

C=محلول عنصر الكوبلت

2- الاس الهيدروجيني (pH)

دراسة تأثير الدالة الحامضية PH على عملية تكوين معقد EPH-Co(II) أوضحت ان أفضل قيمة للدالة الحامضية PH هي (11) لتكوين المعقد وكما موضح في الشكل البياني رقم (5).



الشك

ل (5): تأثير تغير الأس الهيدروجيني على امتصاصية المعقد(II) EPH–Co .

3- حجم المحلول الدارئ

درس تاثير حجم المحلول الدارئ على عملية تكوين المعقد بإضافة حجوم مختلفة من اجل الوصول الى اعلى حساسية و مدى واسع لمنحنى المعايرة، اذ بينت النتائج في الجدول (3) أن 1.5 مل من المحلول الدارئ يحقق أعلى قيمة امتصاص للمعقد المتكون.

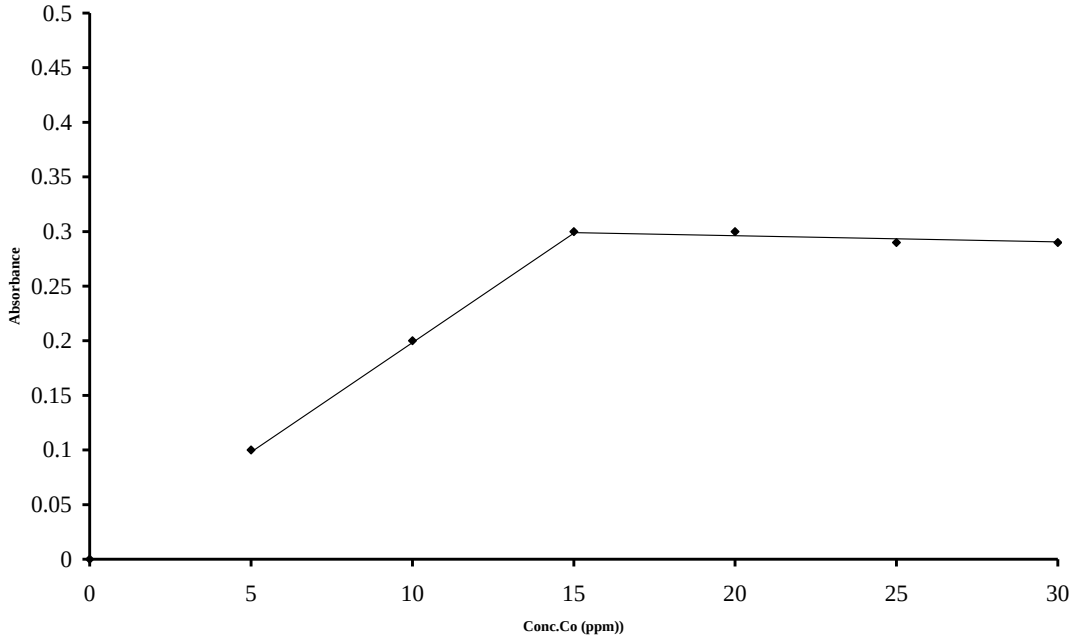
الجدول (3): تأثير حجم المحلول الدارئ على امتصاصية المعقد المتكون.

حجم المحلول الدارئ	الامتصاصية
0.5	0.152

1	**0.263**
1,5	**0.433**
2	**0.333**
2,5	**0.251**
3	**0.210**

4-تركيز ايون الكوبلت Co(II)

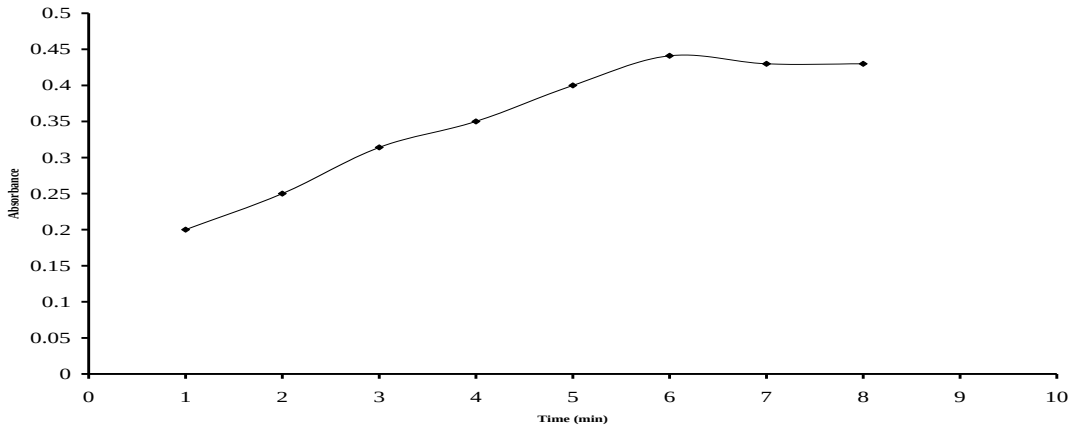
يتضح من الشكل (6) أن زيادة تركيز ايون الكوبلت تحقق لنا زيادة في ممتصية المعقد المتكون وقد بينت النتائج أن التركيز الأفضل للكوبلت والذي أعطى أعلى ممتصية هو (15 مايكروغم/مل).



الشكل (6): تأثير تركيز ايون الكوبلت على امتصاصية المعقد(II) EPH–Co .

5- مدة التفاعل

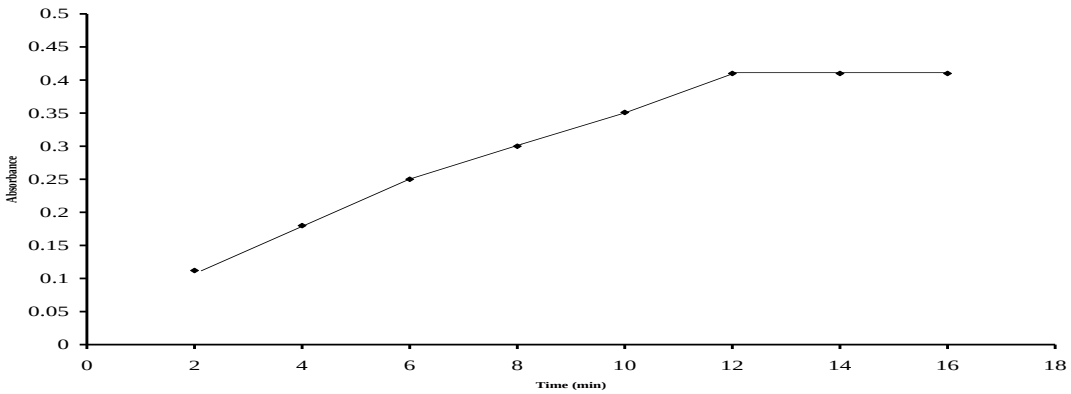
تم دراسة تأثير مدة التفاعل قبل اجراء عملية الاستخلاص للمعقد و يلاحظ من الشكل (7) ان مدة (6 دقائق) تعطي اعلى قيمة امتصاص للمعقد.



الشكل (7): تأثير مدة التفاعل على امتصاصية المعقد(II) EPH–Co .

6- مدة الاستخلاص

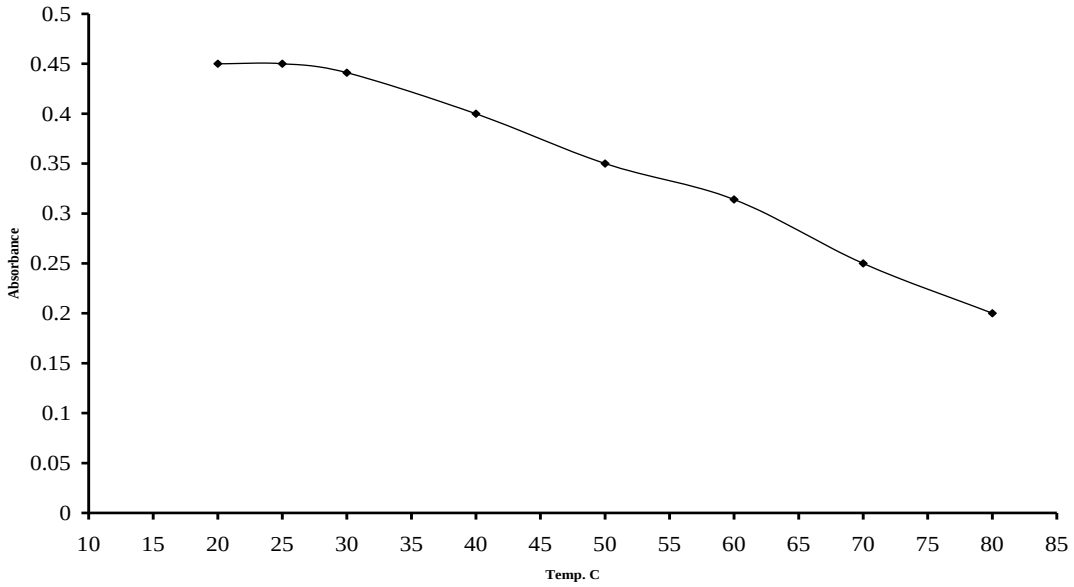
الشكل (8) يبين أن (12 دقيقة) هي مدة كافية لاستخلاص المعقد المتكون.



الشكل (8): تأثير مدة الاستخلاص على امتصاصية المعقد(II) EPH–Co .

7-درجة الحرارة

يبين الشكل (9) تأثير زيادة درجة الحرارة على تكوين المعقد و يتضح ان افضل درجة حرارة تعطي اعلى قيمة للامتصاص هي درجة حرارة الغرفة.



الشكل (9): تأثير تغير درجة الحرارة على امتصاصية المعقد(II) EPH–Co .

8-نسبة الطور

في الخطوة الاولى تم تثبيت حجم الطبقة المائية عند (5 مل) و تغيير حجم الطبقة العضوية من (4-10) مل فوجد ان حجم (5 مل) من الطبقة العضوية هو حجم كاف للحصول على اعلى امتصاصية للمعقد المتكون، وفي الخطوة الثانية تم تغييرحجم الطبقة المائية من (4-10) مل ووجد ان حجم (5 مل) هو حجم كاف من الطبقة المائية للحصول على اعلى امتصاصية، و يلاحظ من الشكل (10) أن قيم الامتصاصية للمعقد المستخلص تزداد بزيادة الطبقة المائية ثم انخفاض في قيمة الممتصيات عند زيادة لاكثر من (5 مل) و كذلك تاثر عملية الاستخلاص بالزيادة العالية من الطبقة المائية. المعادلات الاتية تبين ارتباط نسبة الاطوار بالنسب المئوية للاستخلاص من (E%) و بالتالي نسبة التوزيع (D).

$$E\,\% = \frac{I.C.-F.C}{I.C} \times 100 \quad \rightarrow \quad E\%=85,71 \quad (1)$$

$$E\,\% = \frac{100\,D}{D+(Vw/Vo)} \times 100 \quad \rightarrow \quad D=299 \quad (2)$$

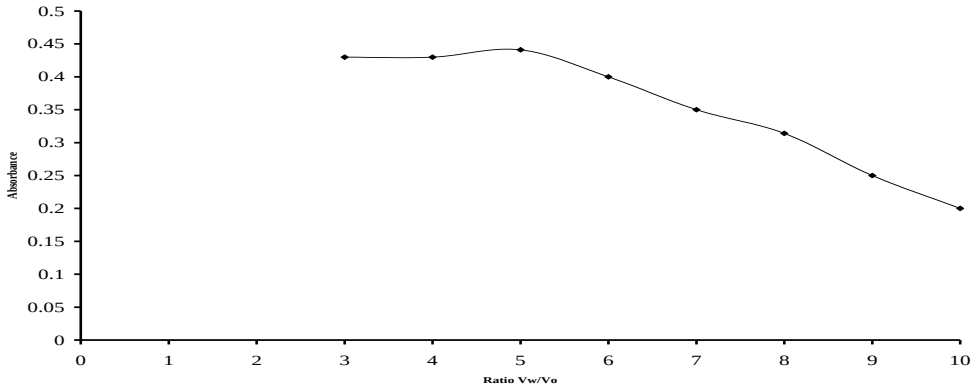
حيث:

I.C= Initial conc. D=Distribution Ratio

F.C=Final conc. E=Extraction Ratio

Vw=Volume of water phase Vo=Volume of organic phase.

و قد تم حساب النسبة المئوية للاستخلاص وفق المعادلة(1) ووجد انها تساوي (E%=85,71), كذلك نسبة التوزيع (D=(299.



الشكل (10): تاثير نسبة الطور على امتصاصية المعقد(II) EPH–Co

9-عدد مرات الاستخلاص (كفاءة الاستخلاص)

يبين الجدول (4) قيم الممتصية للمعقد المستخلص مرة واحدة ومرتين للطبقة المائية المتبقية ومقارنتها مع قراءة المحلول المرجعي وقد تبين أن عملية الاستخلاص مرة واحدة تعطي كفاءة استخلاص ملائمة للمعقد المتكون و يعود السبب في ذلك الى قيمة النسبة المئوية للاستخلاص المرتفعة نسبيا و كذلك نسبة التوزيع المرتفع.

الجدول (4) قيم الممتصية للمعقد (EPH–Co (II

Solution	Absorbance		
EPH+Co (II) 80+15(μ/ml)	Ex.Sol. step 1	Ex.Sol. step 2	Ex.Sol. Blank
	0,345	0,018	0,002

2- 2 حساب نسبة العضيدة (L) الى الفلز(M) في المعقد الكلابي

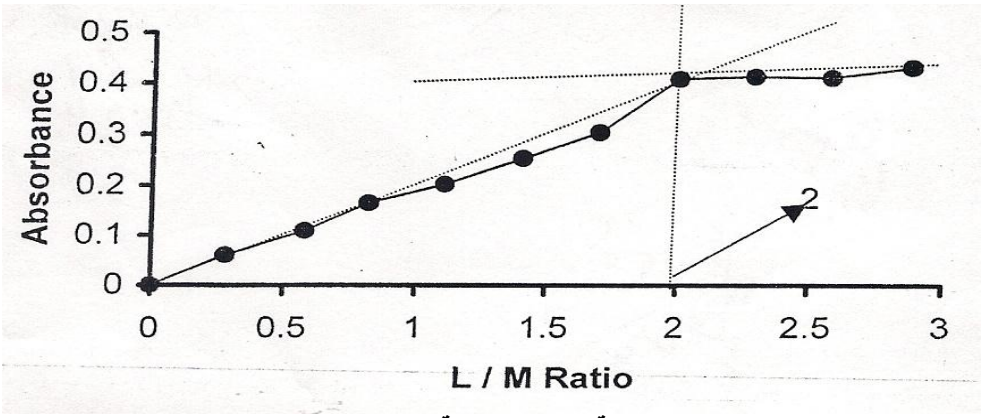
1- طريقة النسب المولية للاتحاد

يبين الشكل (10) نسبة الاتحاد المولية بينEPH وايون Co بكونها (2: 1)على وفق المعادلات الآتية .

$$R_1R_2NH + CS_2 + OH^- \rightleftharpoons R_1R_2NCSS^- + H_2O \qquad (3)$$

$$nR_1R_2NCSS^- + M^{n+} \longrightarrow M(R_1R_2NCSS)_n \qquad (4)$$

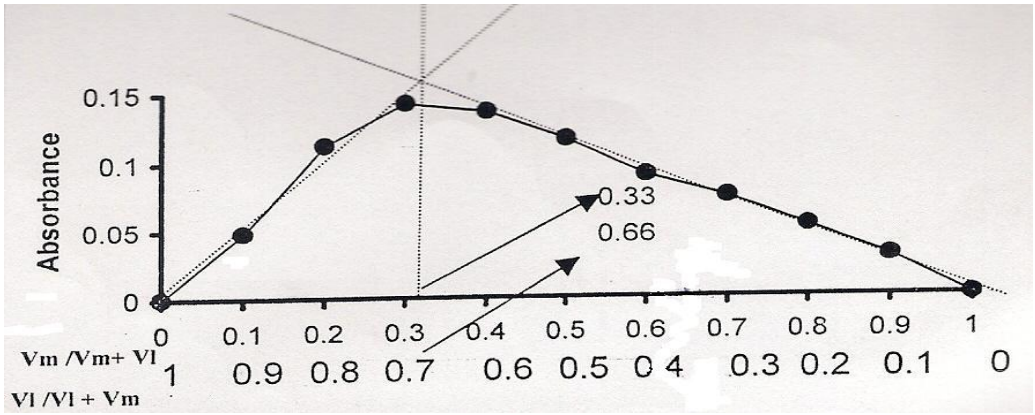
حيث إن $R_1R_2NH = EPH$ و $M = Co(II)$



الشكل (10): نسبة الاتحاد المولية لمعقد(II) EPH–Co

2- طريقة التغيرات المستمرة (الكسر المولي)

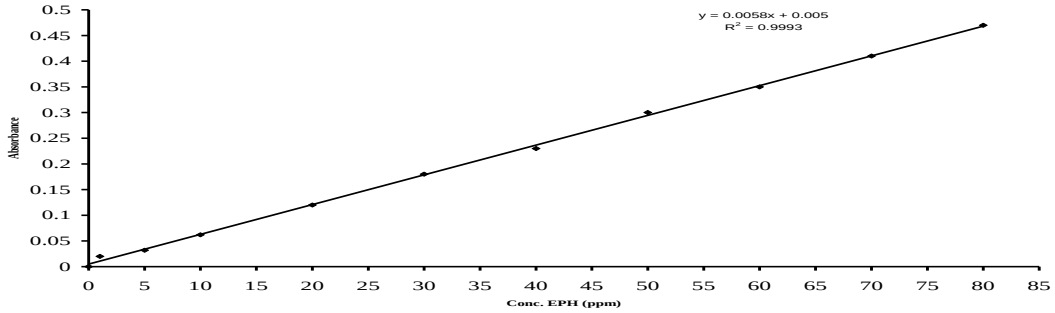
يبين الشكل (11) نسبة الاتحاد المولية بينEPH وايون Co بكونها (2: 1).



الشكل (11): نسبة الاتحاد المولية لمعقد(II) EPH–Co

2–3 منحنى المعايرة المباشر لتعيين الافدرينEPH طيفيا

يبين الشكل (12) منحنى المعايرة المباشر لتعيين الافدرين على هيئة الافدرين –كوبلت (II) EPH–Co ، اذ وجد ان اقصى تركيز يطيع قانون بير يصل إلى(80 مايكرو غم/ مل).



الشكل (12): منحنى المعايرة المباشر لتعيين الافدرين على هيئة معقد(II) EPH–Co

4-2 المعطيات التحليلية الاحصائية

الجدول (5) يبين الطول الموجي لاعظم امتصاص تم عنده قياس المعقد، و مدى التركيز الذي يطيع قانون بير على وفق منحنى المعايرة المباشر و كذلك حد الكشف للطريقة.

الجدول (5): الطول الموجي لاعظم امتصاص للمعقد و الخطية و حد الكشف على وفق منحنى المعايرة المباشر.

Chelating Complex	λ_{max}	Conc. Range (µg/ml)	D.L (µg/ml) n=11
EPH–Co (II)	389	80–1	0,94

و يبين الجدول (6) الانحراف القياسي النسبي المئوي و الاسترادادية المئوية و الخطا النسبي المئوي و حساسية ساندل(S) ومعامل الامتصاص المولاري (ε) للطريقة.

الجدول (6): بعض المعطيات التحليلية و النتائج الاحصائية للطريقة على وفق منحنى المعايرة المباشر.

RSD% n=11	Rec.%	Erel. %	ε L/mol/Cm	S µg/cm
0,303	100,039	0,039	10^3 ×1,4928	0,0135

إن مدى الخطية (1-80 مايكروغم/مل) يدل على المدى الواسع للخطية مما يتيح امكانية التحليل لمدى واسع من العينات كما ان قيم الكشف الواطئة (**0,94** مايكروغم/مل) تدل على الحساسية العالية التي توضحها قيمة معامل الامتصاص المولاري العالية و حساسية ساندل.
اما الجدول (7) فيبين معادلة الخط المستقيم لمنحنى المعايرة المباشر و الميل و نقطة التقاطع عند حدود ثقة 95% و كذلك معامل الارتباط (r)كما يحوي قيمة (t) المجدولة و المحسوبة احصائيا.

الجدول (7): معادلة الخط المستقيم و معامل الارتباط و الفحص(t) ذي الجانبين لمنحنى المعايرة المباشر.

Reg. Eq. Y=a+bx	Corr. Coef. (r)	t-test tabulated (n-2)	t-test statistics (n-2)
Y=0.0058x+0.005	0.9993	2.228	13.54

الاستنتاجات

1- تكوين معقد ثنائي كبريتيد الكاربون الفلزي لهيدروكلوريد الافدرين بتفاعله مع عنصر الكوبلت، إذ تم استغلال هذا النوع من التفاعل الخاص بالأمينات الثانوية لتقدير المركب الدوائي (الافدرين) الذي يعد من الأمينات الثانوية التي تظهر امتصاص ضعيف في منطقة (UV-Visible). إذ أعطى هذا النوع من التفاعل امتصاص قوي في هذه المنطقة.
2- استحداث طريقة تحليلية جديدة لتقدير الافدرين باستعمال تقنية الامتصاص الجزيئي حيث أظهرت النتائج المحصلة تفوق هذه الطريقة على عدد كبير من طرائق تقدير الافدرين الاخرى من حيث المعطيات التحليلية و النتائج الإحصائية كحد الكشف (D.L=0,94 µg/ml) و حساسية ساندل(S=0.0135) .
3-بينت الدراسة أمكانية تقدير المركبات العضوية و الدوائية من صنف الأمينات الثانوية بتقنية مطيافية الامتصاص الجزيئي مما يتيح مرونة في القياس عند توفر التقنية المناسبة.

التوصيات

1- أمكانية تكوين معقدات كلابية لهيدروكلوريد الافدرين باستعمال عناصر أخرى ، مثل: Fe, Ag, Mn, Hg, Pb, Bi and Pd.
2-استعمال تفاعلات هذه الدراسة لتقدير أنواع أخرى من المستحضرات الصيدلانية للافدرين.

المصادر

1-British Pharmacopia on CD-Rom., 3rd Ed., Copyright by System Simulation.Ltd. The Stationary office, London, (2002).
2- P.S.Biley dnd C.A.Biley.,Oraginic Chemistry; 6th Ed, prentice Hall,New Jersey (2000).
3- N.Nagai., Pharm., Vol. 32, pp. 700, (1887).
4-O.A.LAKE, C.Slijkhnis, W.F.Maas, M.E.A.Van Vliet, W.Verdonk-Kleinjan., RIVM Report 670220001/(2001).
5-J.Netrval, V.Vojtisk., Eur. J. Appl. Microbiol Biotechnol., Vol.16, pp.35, (1982).
6-The Merck Index on CD-Rom., Copyright by Merck Co.Inc.Uniteecho., (2000).
7- Brauch and Friedrich., Appl., Vol. 5, (1980).
8- J.Uematsu, K.K. Tokky and J.P.Koho., APPL., Vol. 80, pp.136, (1982).
9-Z.Senturk, N.Erk, S.A.Ozkan, C.Akay, S.Cevheroglus., J. Pharm Biomed. Anal., Vol. 29 (1-2), pp. 291, (2000).
10-Yixp,D.Y.Chen, J.P.Liu., Q.W.Liu., Guangpuxue Yu Guangpu Fenxi., Vol. 1,pp. 81, (2003).
11- M.Moriyasu ,Y.Hashimoto.,Bull.Chem.Soc.,54,3369,(1981)

(تاريخ استلام البحث).....(2010/8/2)
(تاريخ قبول نشر البحث).....(2010/10/26)