مجلة الدراسات التربوية والعلمية - كلية التربية - الجامعة العراقية
العدد السادس والعشرون - المجلد السادس - علوم الكيمياء - كانون أول 2025 م
doi.org/10.52866/esj.2025.06.26.07

التقدير الطيفي لعقار السلفانيلاميد باستخدام تفاعل الأزوتة والأقتران

رغد صباح عبد حمادي , اسماء احمد محمد الراشدي
قسم الكيمياء, كلية التربية للعلوم الصرفة, جامعة تكريت
rs230017pep@st.tu.edu.iq asmamohahh@tu.edu.iq

مستخلص:

تم تطوير طريقة طيفية بسيطة وحساسة لتقدير عقار السلفانيلاميد SNA بتفاعل الازوتة والاقتران باستخدام كاشف N-Methyl-1H-benzimidazol-2- وعامل مؤزوت في وسط حامضي وتم استخدام هيدروكسيد الصوديوم كقاعدة لتكوين ناتج ذو لون أصفر والذي أعطى اعلى امتصاص عند الطول الموجي 390 نانوميتر حيث كانت حدود قانون بير (16.25-1.25) مايكرو غرام\مل وكانت قيمة معامل الامتصاص المولاري له 9901.5 لتر.مول.سم-1 وقيمة دلالة ساندل كانت (0.0173) مايكروغرام .سم-2 وقيمة معامل الارتباط 0.9983 وتم حساب قيمتي حد الكشف وحد التقدير الكمي وكانتا تساويان (0,080) و(0,245) مايكرو غرام\مل على التوالي . تم تقدير هذه الطريقة بنجاح لتقدير في المستحضرات الصيدلانية

الكلمات المفتاحية: عقار السلفانيلاميد ، الازوتة والاقتران ، عامل مؤزوت ، وسط حامضي .

Spectrophotometric Determination of sulfanilamide using azolation and coupling reaction

Raghad Sabah Abdul Hammadi , Asmaa Ahmed Mohammed Al-Rashidi
Department of Chemistry, College of Education for Pure Sciences, Tikrit University
rs230017pep@st.tu.edu.iq asmamohahh@tu.edu.iq

Abstract:

A simple and sensitive spectrophotometric method was developed to determine sulfanilamide (SNA) by nitration and coupling using N-Methyl-1H-benzimidazol-2-reagent and a nitrating agent in an acidic medium. Sodium hydroxide was used as a base to form a yellow product. The method yielded the highest absorption at a wavelength of 390 nm, with Beer's law limits being (1.25-16.25) µg/ml. The molar absorption coefficient was 9901.5 L.mol.cm-1, the Sandell's significance value was (0.0173) µg.cm-2, and the correlation coefficient was 0.9983. The detection and quantification limits werecalculated to be (0.080) and (0.245) µg/ml. g/mL, respectively. This method has been successfully used for estimation in pharmaceutical preparations.

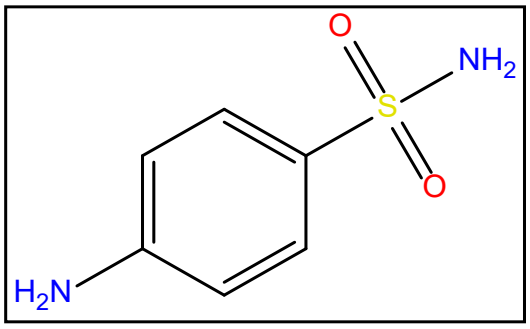
Keywords: sulfanilamide drug, nitrogenation and conjugation, nitrogenous agent, acidic medium.

المقدمة

الاسم الكيميائي للعقار(1):

4-aminobenzenesulfonamide

الوزن الجزيئي لـه172.21 غم\مول والصيغة الجزيئية: $C_6H_8N_2O_2S$ ولـه درجه انصهار 165.5 درجة مئوية مئوية والصيغة التركيبية كما في الشكل (1-3).



الشكل(1): الصيغة التركيبية لعقار السلفانيلاميد

السلفانيلاميدات، هي فئة مهمة من الأدوية المضادة للميكروبات الاصطناعية المستخدمة لعلاج الالتهابات البكتيرية لدى البشر والحيوانات. وتتمتع هذه الأدوية بطيف واسع من الفعالية. يتضمن التركيب الكيميائي للسلفونا ميدات مركبات كبريتية عضوية تتميز بوجود مجموعتي $-SO_2NH_2$ أو $-SO_2NH-$ ، بالإضافة إلى مجموعة السلفانيلاميد، والتي عادةً ما تكون مصحوبة بحلقات حلقية غير متجانسة مميزة(2). السلفونا ميدات فئة مهمة من المضادات الحيوية، معروفة بنطاق فعاليتها الواسع. وهي فعالة بشكل خاص ضد البكتيريا موجبة الجرام وبعض البكتيريا سالبة الجرام. من بين البكتيريا سالبة الجرام التي تتأثر بالسلفونا ميدات: الكلبسيلا، والسالمونيلا، والإشريكية القولونية، والأمعائية. مع ذلك، لا تمنع السلفونا ميدات نمو الزائفة الزنجارية والسراتية بسبب مقاومتها البكتيرية(3). وتُستخدم السلفونا ميدات بشكل شائع لعلاج أنواع مختلفة من العدوى، بما في ذلك التهاب اللوزتين، وتسمم الدم، والتهاب السحايا بالمكورات السحائية، والزحار العصوي، والتهابات المسالك البولية. بالإضافة إلى ذلك، تظهر السلفونا ميدات نشاطًا مثبطًا ضد بعض الفطريات، مثل Pneumocystis carinii، والطفيليات الأولية، بما في ذلك التوكسوبلازما والكوكسيديا(4) وتم تقديره بطرائق تحليلية مختلفة منها التحليل الطيفي (7,6,5) واعتماد طريقة كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء (9,8) وتم تطوير طريقة كهربائية باستخدام الرحلان الكهربائي الشعري(10) وأقطاب كربون ورقية(11) أقطاب معجون كربوني (12).

الجزء العملي

الاجهزة المستخدمة:

تَمَّ استخدام الأجهزة الآتية للقياسات:

1-جهازالمطيافمزدوجالحزمةنوع UV-Visible Spectrophotometer UV-60

2- خلايا كوارتز بعرض مقداره 1 سم.

3- حمام ثلجي

محاليل المواد المستخدمة:

1- المحلول القياسي سلفانيلامايد 1000 ميكروغرام/ مل

تم تحضيره بإذابة 0.1000 غرام من عقار سلفانيلاميد في كمية قليلة من الايثانول ومن ثم أكمل الحجم إلى حدّ العلامة بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مل، وتم تخفيف 25 مل من هذا المحلول الى 100مل بالماء المقطر، للحصول على محلول بتركيز 250ميكروغرام / مل.

2- محلول الكاشف 2-أمينو-N-ميثيل-1H-بنزيميدازول 1000 ميكروغرام/ مل

تم تحضير هذا المحلول بإذابة 0.025 غرام من المسحوق في كمية قليلة من الايثانول ومن ثم اكمال الحجم حتى العلامة بالإيثانول في قنينة حجمية سعة 25 مل.

3- محلول العامل المؤزوت NaNO2 2 - 10×1 مولاري.

تم تحضيره بإذابة 0.069غرام من مسحوق نتريت الصوديوم في كمية معينة من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى حَدّ العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مل بالماء المقطر.

4- محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 - 10×1 مولاري

حضِرَ بإضافة 0.852 مل من محلول حامض الهيدروكلوريك (1.19,36٪) إلى كمية من الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مل وأكمل الحجم إلى حَدّ العلامة بالماء المقطر.

5- محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 - 10×1 مولاري

تم تحضيرهَ بإذابة 0.4 غرام من المادة النقية في كمية قليلة من الماء ثم أكمل الحجم الى 100 مل من الماء المقطر.

6-محاليل(سكروز، لاكتوز، سترات المغنيسيوم، نشأ) بتركيز 1000 مكغم/ مل

تم تحضير المحاليل بوزن 0.100 غرام منها واذابتها في 5 مل من الايثانول من ثم اكمال الحجم الى 100 مل من الماء المقطر.

7-محلول المستحضر الصيدلاني الدوائي(المصنع) 250 مايكروغرام/ مل

نضراً لصعوبة توفر المستحضر الصيدلاني تم تحضير المحلول بوزن 0.025 غرام من مسحوق السلفانيلاميد مع 0.005 غرام من المتداخلات (كلوكوز، سكروز، لاكتوز، نشأ) يخلط المزيج خلطاً جيدا ويذاب في 10 مل من الايثانول ثم يرشح ويتم اكمال الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مل وبذلك نحصل على مستحضر السلفانيلاميد بتركيز 250 مايكروغرام/ مل.

النتائج والمناقشة

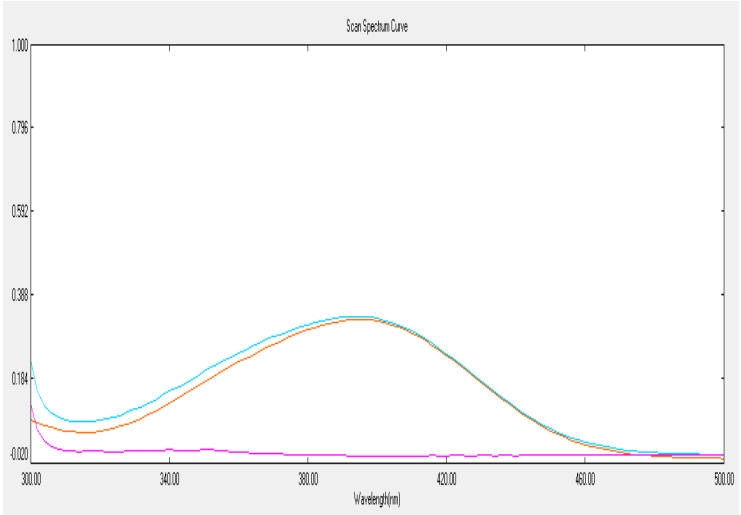
الدراسة التمهيدية

عند أضافة 1.5 مل من محلول نتريت الصوديوم بتركيز2-10مولاري الى 60. مل محلول عقار سلفانيلاميد بتركيز250مايكروغرام/ مل ثم يضاف اليه 0.5 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز1-10 مولاري ويترك لمدة (5) دقيقة في حمام ثلجي بين(5-0) درجة مئوية يتكون ناتج الازوتة مركب وسطي بلون اصفر فاتح ثم يضاف 1.5مل من محلول كاشف 2-أمينو-N-ميثيل-1H-بنزيميدازول بتركيز3-10 ثم يضاف إليه 1.5مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز1-10 وسرعان ما يتحول الى اللون الصفر الغامق وتَم قياس طيف الامتصاص للناتج الملون بعد تخفيفه بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 20 مل إلى حَد العلامة مقابل المحلول الصوري وجد أنه يعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي 390 نانومتر.

طيف الامتصاص النهائي

تَمَّ قياس طيف الامتصاص النهائي بعد الوصول إلى الظروف المثلى وهي استخدام 0.6 مل من محلول العقار سلفانيلاميد بتركيز250مايكروغرام/ مل و2 مل من محلول نتريت الصوديوم ذي

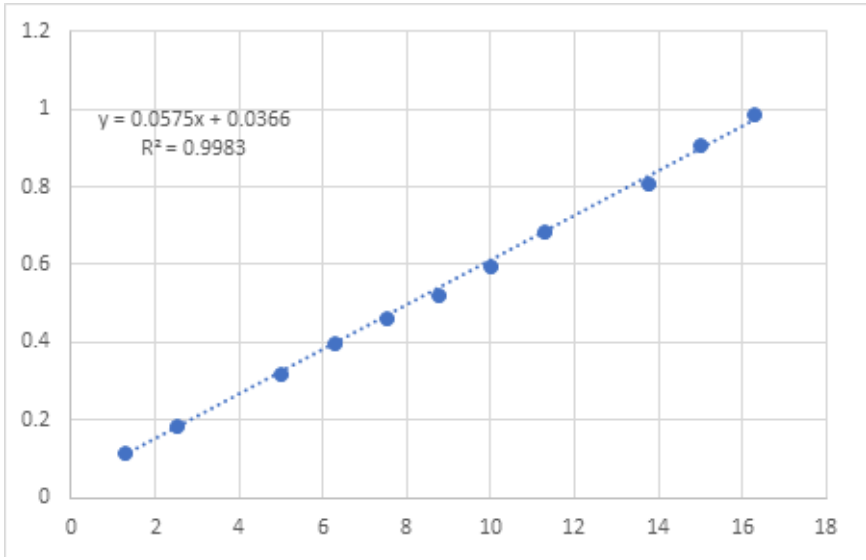
التركيز 2-10 مولاري و0.5 مل من حامض الهيدروكلوريك ذي التركيز 1-10مولاري ويترك لمدة زمنية(20-15) دقيقة بعد وضعها في حمام ثلجي بين (0 - 5) درجة مئوية ثم يضاف 1.5مل من محلول كاشف 2-أمينو-N-ميثيل-1H-بنزيميدازول بتركيز3-10 ثم يضاف إليه 2مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز1-10 وسرعان ما يتحول الى اللون الصفروإكمال الحجم إلى حَدِّ العلامة في قنينة حجمية سعة 20 مل بالماء المقطر، وقياس الامتصاص للناتج الملون مقابل محلوله الصوري الذي يعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي 390 نانومتر في حين أنَّ محلوله الصوري لم يعطي امتصاص في هذه المنطقة .



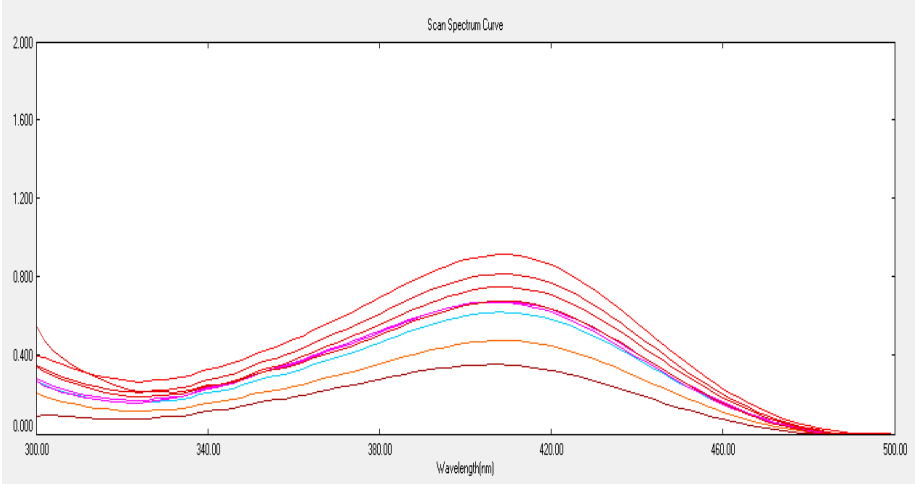
شكل(2) طيف الامتصاص النهائي لتقدير السلفانيلاميد (SNA)

منحني المعايرة

في سلسلة قناني حجمية سعة 20 مل تحتوي على تراكيز متزايدة من (1.25-16.25) مايكروغرام / مل من محلول عقار سلفانيلاميد والتي تكافئ الحجوم من (0.1-1.3) مل بتركيز 250مايكروغرام / مل وأُضيفَ 2 مل من محلول العامل المؤزوت ذي التركيز 2-10 مولاري و0.5 مل من حامض الهيدروكلوريك ذي التركيز 1-10مولاري ويترك لمدة زمنية(20-15) دقيقة بعد وضعها في حمام ثلجي بين (5-0) درجة مئوية ثم يضاف 1.5مل من محلول كاشف 2-أمينو-N-ميثيل-1H-بنزيميدازول بتركيز3-10 ثم يضاف إليه 2مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز1-10 مولاري وبعد التخفيف الى العلامة بالماء المقطر تم قياس امتصاص المحاليل مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 390 نانومتر، وكما في الشكل ادناه يمثل منحني المعايرة الذي يتبع قانون بير في حدود التراكيز من(1.25-16.25) مايكروغرام/ مل من محلول عقار سلفانيلاميد وأعطى معامل ارتباط مقداره 0.9983 وتَمَّ حساب قيمة الامتصاصية المولارية وبلغت قيمتها 9901.5 لتر. مول-1. سم-1 وقيمة دلالة ساندل 0.0173 مايكروغرام / سم2.



شكل(3) يمثل منحني المعايرة لتقدير السلفانيلاميد (SNA)



شكل(4) منحنيات التراكيز المتزايدة لتقدير السلفانيلاميد

الدقة والتوافقية

تحت الظروف المُثلى في منحني المعايرة تم احتساب دقة الطريقة المقترحة وتوافقيتها، وذلك عن طريق حساب الاسترجاعية Rec٪ والانحراف القياسي النسبي (RSD)، اذ تم أخذ ثلاث تراكيز مختلفة (2.5،7.5،10 مكغم/مل) من محلول السلفانيلاميد بتركيز(250 مكغم/ مل). وتم قياس كل منها بمعدل ثلاث قراءات مقابل محاليلها الصورية، وتَبيّنَ أن الطريقة ذات دقة جيّدة وتوافقية جيّدة والنتائج موضحة في الجدول(10-3)، حيث كان معدّل الاسترجاعية (100.73٪). وتم حساب كل من الخطأ النسبي والاسترجاعية و قيمة الانحراف القياسي النسبي المئوي .

جدول(1) الدقة والتوافقية

Conc.of SNA µg/ml	Conc.of SNA (Found) µg/ml	Recovery%	Average of %Recovery	%RSD
2.5	2.633	105.3	100.73	0.531
7.5	7.45	99.3		0.215
10	9.76	97.6		0.167

حَساب حد الكشف النوعي والكمي

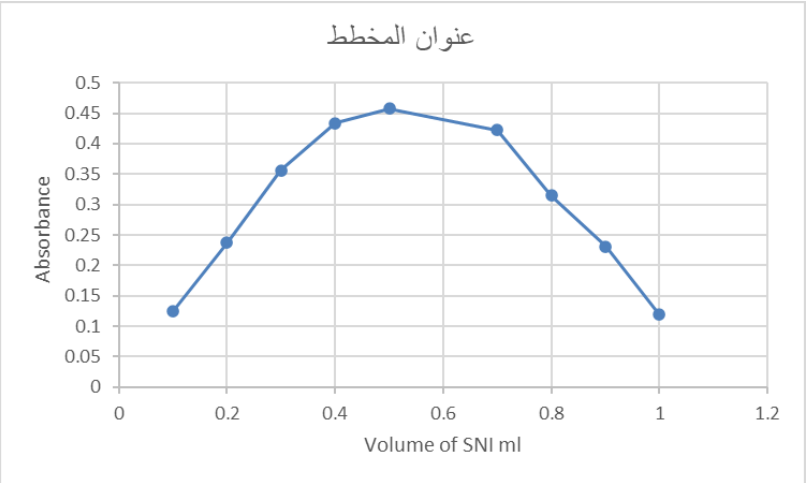
تم احتساب حد الكشف لتقدير السلفانيلاميد عند الطول الموجي 390 نانومتر من خلال قياس المحلول الصوري مقابل الماء بمقدار عشر قراءات حيث كان حَدّيِ الكشف النوعي والكمي كما في الجدول رقم (2).

جدول (2) حد الكشف

Slope	SD	LOD	LOQ
0.0575	0.00141	0.080	0.245

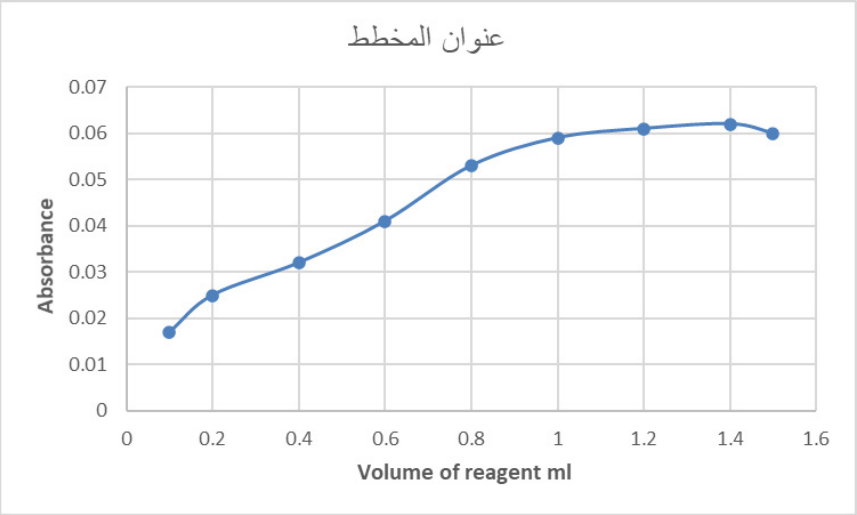
طبيعة الناتج المتكون

لمعرفة طبيعة الناتج المتكون ونسبة ارتباط المركب الدوائي مع الكاشف طبقت طريقة التغيرات المستمرة (جوب) وطريقة النسبة المولية. في كلا الطريقتين يكون تركيز كل من محلول السلفانيلاميد ومحلول كاشف 2-أمينو-N-ميثيل-1H- بنزيميدازول متساوي وهو ($3-10\times1$ مولاري) في طريقة التغيرات المستمرة في سلسلة قناني حجمية سعة 20 مل تم وضع حجوم مختلفة من محلول الدواء تتراوح بين (0.9-0.1) مل ومكملات الحجم لمحلول الكاشف (0.1-0.9) مل ثم اكمل الحجم الى العلامة بالماء المقطر ، بعد قياس الامتصاص هذه المحاليل عند الطول الموجي 390 نانومتر ظهرت النتائج كما في الشكل (5) تبين ان النسبة هي (1:1).



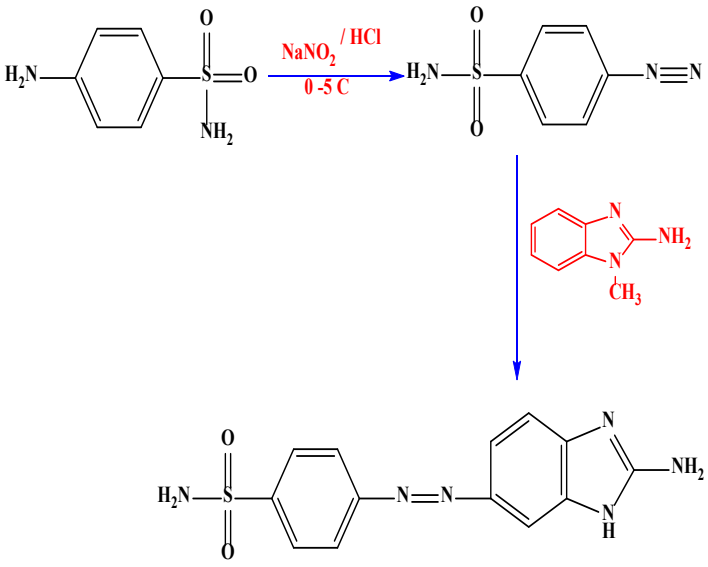
الشكل(5) التغيرات المستمرة (جوب)

اما طريقة النسب المولية، تم اجراء هذه الطريقة بإضافة حجوم متزايدة من الكاشف (0.1-1.5) مل بتركيز (3- 10×1مولاري) الى حجم ثابت من العقار 1 مل وثم يتم اضافة باقي المواد بنفس الحجوم التي تم اعتمادها في التجارب السابقة وثم اكمال الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر وتم الحصول على النتائج ادناه كما في الشكل (6) تبين ان النسبة هي (1:1) .



الشكل(6) النسبة المولية

معادلة التفاعل المقترحة: أكدت أن نسبة ارتباط العقار الى الكاشف هي 1:1
ويمكن أن يكون التفاعل المقترح حسب المعادلة التالية.



شكل(7) يمثل معادلة التفاعل المقترحة بين العقار والكاشف

التطبيقات

تم تطبيق الطريقة بنجاح على المستحضر الصيدلاني (المصنع) الحاوي على السلفانيلاميد.

الطريقة المباشرة

في هذه الطريقة، تم احذ أربع تراكيز مختلفة من محلول التركيبة الصيدلانية المصنع (250 ميكروغرام/ مل) 5,11.25,13.75,16.25 ميكروغرام / مل . عولجت المحاليل بنفس الخطوات المتبعة عند منحني المعايرة ونقلت الى قنينة سعة 20 مل، وتم قياس الامتصاصية عند 390 نانومتر للتراكيز اعلاه بمعدل ثلاثة قراءات لكل تركيز مقابل محلول الصوري، وتم حساب مدى كفاءة ونجاح الطريقة المستحضر الصيدلاني(المصنع).

جدول(3) الطريقة المباشرة

Conc.of SNA µg/ml	Conc.of SNA (Found) µg/ml	Recovery%	Average of %Recovery	%RE
5	4.85	97.18	99.47	-2.81
11.25	11.27	100.23		0.23
13.75	13.60	98.9		-1.04
16.25	16.51	101.6		1.60

جدول(4): مقارنة الطريقة المقترحة مع طريقة طيفية اخرى

Analytical Parameter	Present Method	Method Literature[13]
Reagent	N-Methyl-1H-benzimidaz-ol-2-amine	1,2-napthoquinone-4-sul-phonic acid
Molar absorptivity ($l.mol^{-1}.cm^{-1}$)	9901.5	6.9568
Beers law range. $\mu g.ml^{-1}$	1.25-16.25	5-30
Sandell's Sensitivity µg /cm^{-2}	0.173	2.4753
R^2	0.9983	0.9998
λ_{max} (nm)	390	455
LOD	0.080	0.546
LOQ	0.245	1.654
Color	Yellow	Orange

الاستنتاجات Conclusions

لقد تَمَّ تطوير طريقة طيفية حساسة ودقيقة لتقدير السلفانيلاميد بصورة نقية بواسطة تفاعل الازوتة والاقتران وتعتمد الطريقة على أزوتة السلفانيلامايد بواسطة نتريت الصوديوم في الوسط الحامضي أذ يتكون ناتج وسطي ذي لون اصفر فاتح وسرعان ما يتحول الى لون الأصفر الغامق عند اقترانه بالكاشف في الوسط القاعدي واعطى اعلى امتصاص عند الطول الموجي 390 نانوميتر حيث كانت حدود قانون بير لامبرت (1.25-16.25) مايكرو غرام\مل وكانت قيمة معامل الامتصاص المولاري له 9901.5 لتر.مول.سم-1 وقيمة دلالة ساندل كانت(0.173) مايكرو غرام .سم$^{-2}$ وقيمة معامل الارتباط 0.9983وتم حساب قيمتي حد الكشف وحد التقدير الكمي وكانتا تساويان (0.080) و (0.245) مايكرو غرام\مل على التوالي . تم تطبيق هذه الطريقة بنجاح للتقدير في المستحضرات الصيدلانية .

References:

1. National Center for Biotechnology Information (2025). PubChem Compound Summary for CID 5333, Sulfanilamide. Retrieved April 22,2025
2. Ovung A, Bhattacharyya J. Sulfonamide drugs: Structure, antibacterial property, toxicity, and biophysical interactions. Biophysical reviews. 2021 Apr;13(2):259-72.
3. Lavanya R. Sulphonamides: a pharmaceutical review. International Journal of Pharmaceutical Science Invention. 2017;6(2):1-3.
4. Seneca H. Long-acting sulfonamides in urinary tract infections. JAMA. 1966 Nov 28;198(9):975-80.
5. .Abdullah SH, Al-rashidy AA, Ahmed AM. Spectrophotometric determination of sulfanilamide in pharmaceutical preparations by Schiff reaction. Journal of Education and Scientific Studies. 2024;5(23).
6. Ahmad NM, Mohammed IS. Azo Coupling Reaction for Spectrophotometric Determination of Sulfanilamide Using β-Naphthol as a Reagent.
7. Ait Errayess S, Ait Lahcen A, Idrissi L, Marcoaldi C, Chiavarini S, Amine A. A sensitive method for the determination of Sulfonamides in seawater samples by Solid Phase Extraction and UV–Visible spectrophotometry. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2017 Jun 15;181:276-85.
8. El-Ragehy NA, Hegazy MA, Tawfik SA, Sedik GA. Validated chromatographic methods for the simultaneous determination of a ternary mixture of sulfacetamide sodium and two of its official impurities; sulfanilamide and dapsone. Acta Chromatographica. 2021 Nov 12.
9. Patyra E, Przeniosło-Siwczyńska M, Kwiatek K. Determination of sulfonamides in feeds by high-performance liquid chromatography after fluorescamine precolumn derivatization. Molecules. 2019 Jan 28;24(3):452
10. Yang L, Zhou S, Xiao Y, Tang Y, Xie T. Sensitive simultaneous determination of

three sulfanilamide artificial sweeters by capillary electrophoresis with on-line preconcentration and contactless conductivity detection. Food Chemistry. 2015 Dec 1;188:446-51.

11. Lisboa TP, de Faria LV, Alves GF, Matos MA, Matos RC. Development of paper devices with conductive inks for sulfanilamide electrochemical determination in milk, synthetic urine, and environmental and pharmaceutical samples. Journal of Solid State Electrochemistry. 2021 Sep;25:2301-8.
12. Vanoni CR, Winiarski JP, Nagurniak GR, Magosso HA, Jost CL. A novel electrochemical sensor based on silsesquioxane/nickel (II) phthalocyanine for the determination of sulfanilamide in clinical and drug samples. Electroanalysis. 2019 May;31(5):867-75.
13. Khalaf HS, Al-Haidari AM, Mohammed AK, Dikran SB. Spectrophotometric Determination of Sulfanilamide in Pure and in Synthetic Sample based on Condensation Reaction Method. Vol.34, 2015.