

استخدام الكاشف باثوفينانثرولين للتقدير الطيفي للأسيتيل سيستين في مستحضراته الصيدلانية

سعد حساني سلطان

شهد لقمان حسن

قسم الكيمياء/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

Article information

p-ISSN: 1608-9391

e-ISSN: 2664-2786

Received: 3/ 10/ 2021

Accepted: 13/ 11/ 2021

DOI:

10.33899/rjs.2022.172937

corresponding author:

سعد حساني سلطان

saad.hasani@uomosul.edu.iq

المخلص

يتضمن البحث اقتراح طريقة طيفية حساسة وسريعة لتقدير عقار الأسيتيل سيستين بشكله النقي ومستحضراته الصيدلانية. اعتمدت الطريقة المقترحة على اكسدة المركب الدوائي قيد الدراسة بوساطة أيون الحديد الثلاثي في الوسط المائي ثم مفاعلة ايون الحديد الثنائي الناتج مع الكاشف باثوفينانثرولين لتكوين معقد احمر اللون ذائب ومستقر في الماء والذي يعطي اعلى امتصاص عند الطول الموجي 534 نانومتر. انطبق قانون بير في هذه الطريقة على مدى التركيز من 0.25 الى 10 مايكروغرام. ملتر⁻¹، وبامتصاصية مولارية مقدارها 2.35×10^4 لتر. مول⁻¹ سم⁻¹ وقيمة دلالة ساندل 0.00694 مايكروغرام. سم⁻² بخطأ نسبي بين 4.72- و 4.32% وانحراف قياسي نسبي بين 0.627 و 3.54% اعتمادا على مستوى التركيز. وطبقت الطريقة المقترحة بنجاح لتقدير الأسيتيل سيستين في مستحضراته الصيدلانية بشكل مسحوق وكبسول وحقن.

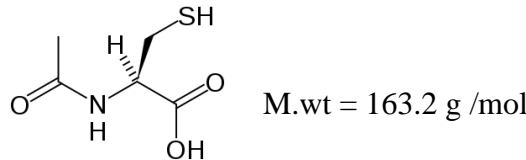
الكلمات الدالة: أسيتيل سيستين، اكسدة- اختزال، باثوفينانثرولين، طريقة طيفية.

المقدمة

يعد الأستيتيل سيستين (AC) من الأدوية المخففة للزوجة المادة المخاطية الموجودة في الجهاز التنفسي حيث يعمل على تسهيل البلغم عن طريق فصل أواصر ثنائي الكبريتيد التي تربط البروتينات الموجودة في المخاط مما يؤدي الى تكسر الأوليغومرات وجعل الميوسين اقل لزوجة (Sadowska, 2012)، بالإضافة الى ذلك يستخدم لعلاج حالات التسمم الناتجة عن الجرعة الزائدة من الباراسيتامول والتي تنتج كميات متراكمة من المادة السامة N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQ) بعد استقلالها في الكبد داخل الجسم وعادة ما يتم تصريفها بوساطة الكلوتاثيون ولكن عند تناول كميات زائدة من الباراسيتامول فان احتياطات الكلوتاثيون في الجسم لا تكفي لتعطيل (NAPQ) السام مما يؤدي الى تفاعله مع الانزيمات الكبدية الرئيسية و اتلاف خلايا الكبد وبالتالي التعرض لخطر الموت بسبب فشل عمل الكبد . ويعمل AC على زيادة احتياطات الكلوتاثيون في الجسم و معالجة التسمم الحاصل بالباراسيتامول (Penugoda *et al.*, 2005). الأستيتيل سيستين هو مشتق للحامض الأميني سيستين ويعد ايضا من مضادات الاكسدة لاحتوائه على مجموعة الثايول التي لها القدرة على تقليل الجذور الحرة (Zhang, *et al.*, 2009)، وقد دخل حيز الاستخدام الطبي في عام 1968 (Fischer and Ganellin , 2006)، وهذا الدواء مدرج في قائمة الأدوية الاساسية لمنظمة الصحة العالمية (Hitchings *et al.*, 2018). يتوفر الأستيتيل سيستين بأشكال صيدلانية مختلفة مثل محلول الاستنشاق (spray) والحقن الوريدية وأقراص فوارة وكبسولات ومسحوق فموي (مغلف) والجرعة القصوى الموصى بها هي 600 ملغم/ يوم (Stockley, 2008). الآثار الجانبية الأكثر شيوعا للمستحضرات الوريدية للأستيتيل سيستين هي الطفح الجلدي والحكة، بينما التأثيرات الضارة للأستيتيل سيستين الاستنشاقية تشمل الغثيان والقيء والطفح الجلدي (Cazzola *et al.*, 2015) .

الاسم النظامي للأستيتيل سيستين هو: 2-(acetylamino)-3-sulfanylpropanoic acid (2R)- و يمتلك الصيغة الجزيئية

(C₅H₉NO₃S) والتركيب الكيميائي له كما في الشكل (1) :



الشكل 1: التركيب الكيميائي للأستيتيل سيستين

وهو عبارة عن مسحوق بلوري ابيض اللون او عديم اللون، كثير الذوبان في الماء و الكحول، وعمليا غير ذائب في كلوريد الميثيلين (British pharmacopoeia , 2013).

تم تقدير الأستيتيل سيستين باستخدام تقنيات تحليلية مختلفة مثل الطرائق الطيفية المرئية- (Xin-rong and Chang qing, 2017) أو باستخدام طيف الكتلة (Siddiqui *et al.*, 2014) أو باستخدام الطرائق الكروماتوغرافية (Krzysztof and Edward, 2008; Chuan *et al.*, 2011) بالإضافة الى الطرائق الكهربائية (Reza *et al.*, 2016; Ebru, 2019) ، وتعد الطرائق الطيفية الأكثر شيوعا لبطاقتها وتوفر اجهزتها في اغلب مختبرات التحليل. التفاعل المستخدم في الطريقة الحالية يصنف ضمن تفاعلات الأوكسدة وهي من التفاعلات المهمة في التحليل الدوائي، فقد استخدمت في تقدير عدد من الادوية مثل هيدروكسي يوريا (EL-Samman, 2018) وهيدروكلورايد البروموهكسين (Mohammed and Almukhtar, 2018).

نظرا لأهمية الأستيتيل سيستين الطبية والعلاجية، فقد تضمن البحث تطوير طريقة طيفية سهلة وسريعة وحساسة لتقديره في المحلول المائي وذلك بأكسده بوساطة ايون الحديد الثلاثي ومن ثم مفاعلة ايون الحديد الثنائي الناتج مع كاشف باثوفينانثرولين وتكوين معقد احمر اللون يتناسب امتصاصه مع تركيز المركب الدوائي الموجود فعلا في المحلول ثم تطبيق الطريقة الحالية على مستحضراته الصيدلانية المتوفرة في الاسواق المحلية.

الجزء العملي

الاجهزة المستخدمة:

تمت القياسات الطيفية ورسم اطياف الامتصاص بوساطة جهاز المطياف مزدوج الحزمة نوع Jasco V-630 UV-Vis وباستخدام خلايا من البلاستيك ذات سمك مقداره 1سم، بينما قيست الدالة الحامضية بجهاز قياس الدالة الحامضية نوع BP 3001 TRANS واستخدام ميزان حساس نوع KERN لإجراء عمليات الوزن الدقيقة. اما عملية التسخين فقد اجريت في حمام مائي نوع .Memmert.

الكواشف والمواد الكيميائية المستعملة:

محلول الأسيتيل سيستين (AC) (50 مايكرو غرام. مللتر⁻¹)

حضر هذا المحلول بإذابة 0.0050 غرام من المادة الدوائية النقية (BDH) في 100 مل ماء مقطر وتم حفظه في قنينة معتمة.

محلول كبريتات الحديدك (1.87×10^{-3} مولاري)

حضر هذا المحلول بإذابة 0.0749 غرام من كبريتات الحديدك اللامائية (BDH) في 3 مل من محلول حامض الكبريتيك 0.25 مولاري مع اضافة الماء بشكل تدريجي والتحرك لا تمام الاذابة و يكمل الحجم الى 100 مل بالماء المقطر.

محلول الكاشف باثوفينانثرولين (1.68×10^{-3} مولاري)

حضر محلول هذا الكاشف بإذابة 0.0558 غرام من المادة النقية (BDH) في كمية كافية من الايثانول المطلق ثم يكمل الحجم الى 100 مللتر باستخدام قنينة حجمية.

محلول المستحضر الدوائي (مسحوق 600 mg/sachet) (50 مايكروغرام. مللتر⁻¹)

حضر هذا المحلول بوزن محتوى 3 اكياس (مسحوق) من المستحضر الصيدلاني (معدل وزن الكيس الواحد=2.98663 غرام)، ثم يمزج المسحوق جيدا ويوزن 0.0248 غرام منه والذي يكافئ 0.0050 غرام من المركب الدوائي النقي ثم يذاب في كمية كافية من الماء المقطر ويرشح باستخدام ورق الترشيح Whatman No.1 و يكمل الحجم الى 100 مللتر بعد غسل ورقة الترشيح بكمية كافية من الماء المقطر.

محلول المستحضر الدوائي (كبسول) (50 مايكروغرام. مللتر⁻¹)

حضر هذا المحلول وذلك بوزن محتوى 10 كبسولات من المستحضر الدوائي (معدل الكبسولة الواحدة) وبعد المزج الجيد للمسحوق الذي بداخلها يتم وزن 0.0064 غرام منه والذي يكافئ 0.0050 غرام من الاسيتيل سيستين النقي ثم يذاب في كمية كافية من الماء المقطر ويرشح المحلول الناتج باستخدام ورقة الترشيح Whatman No.1 ويجمع الراشح في قنينة حجمية سعة 100مللتر مع غسل ورقة الترشيح بكمية كافية من الماء المقطر ويكمل الحجم الى حد العلامة.

محلول المستحضر الدوائي (الحقن) (50 مايكروغرام. مللتر⁻¹)

حضر هذا المحلول بتخفيف محتوى الحقنة (300 ملي غرام / 3 مللتر) بالماء المقطر الى حجم 100 مللتر باستخدام قنينة حجمية، ومن المحلول الناتج يحضر محلول ذو تركيز 50 مايكروغرام. مللتر⁻¹ بإخذ 1.7 مللتر منه ويخفف الى 100 مللتر بالماء المقطر.

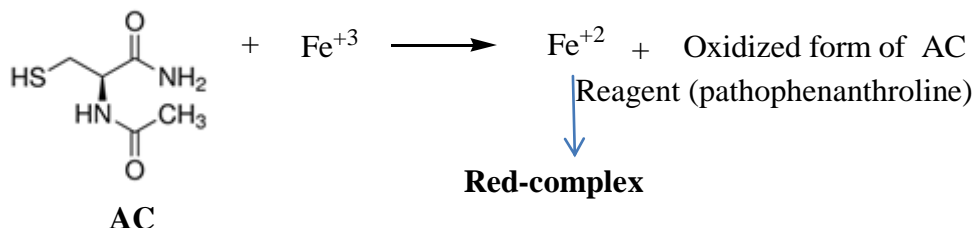
محاليل مواد السواغ (1000 مايكروغرام. مللتر⁻¹)

حضرت هذه المحاليل بإذابة 0.1000 غرام من المواد المضافة في الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية سعة 100 مللتر.

النتائج والمناقشة

المبدأ العام للطريقة

يعتمد مبدأ الطريقة المقترحة على اكسدة المركب الدوائي بوساطة ايونات الحديد الثلاثي في المحلول المائي، ثم مفاعلة ايونات الحديد الثنائي الناتجة من التفاعل مع الكاشف لتكوين معقد احمر اللون له اعلى امتصاص عند الطول الموجي 534 نانومتر.



دراسة الظروف المثلى للتفاعل

لغرض الحصول على افضل النتائج من حيث الدقة والحساسية فقد تمت دراسة مختلف العوامل المؤثرة على امتصاص المعقد المتكون ما بين ايون الحديد الثنائي والكاشف باثوفينانثرولين باستخدام 1 مليلتر من محلول الاسيتيل سيستين (50 مايكروغرام. مللتر⁻¹) في حجم نهائي 10 مللتر.

تأثير الدالة الحامضية

لغرض ايجاد الدالة الحامضية المناسبة لتكوين معقد مستقر وذو امتصاص عال فقد تم اختيار اضافة كميات مختلفة من بعض الحوامض القوية والضعيفة والقواعد القوية والضعيفة وبتركيز 0.1 مولاري وكما موضح في (الجدول 1).

الجدول 1: تأثير اضافة بعض الحوامض على الامتصاص

Acid used (0.1 M)	Variable	Amount added (ml)				
		0.0	0.2	0.4	0.6	1.0
HCl	Absorbance	0.642	0.601	0.610	0.558	0.569
	pH	3.13	2.88	2.77	2.66	2.42
CH ₃ COOH	Absorbance	0.638	0.603	0.623	0.612	0.614
	pH	3.08	2.54	2.61	2.65	2.60

نلاحظ من النتائج المدونة في (الجدول 1) ان اضافة حامض الهيدروكلوريك وحامض الخليك لم يحسن من قيمة الامتصاص للمعقد الناتج في حين ان اضافة القواعد هيدروكسيد الصوديوم وكاربونات الصوديوم ادت الى تعكر المحاليل لذلك فقد تم استبعاد استخدام الحوامض والقواعد في التجارب اللاحقة.

تأثير المحاليل المنظمة

تمت دراسة تأثير استخدام حجوم مختلفة من محلولين منظمين مختلفين وذلك للحفاظ على الدالة الحامضية (pH=3.13) والتي اعطت اعلى قيمة لامتناس المعقد الناتج وكما موضح في (الجدول 2).

الجدول 2: تأثير اضافة المحاليل المنظمة على الامتصاص

Buffer solution used					
Formic acid + Sodium hydroxide (pH=3.04)			Acetic acid + Sodium acetate (pH=3.28)		
Volume(ml)	Absorbance	Final pH	Volume (ml)	Absorbance	Final pH
0	0.6522	3.15	0	0.6522	3.15
0.5	0.6211	3.30	0.2	0.5930	3.26
1.0	0.6328	3.31	0.4	0.5199	3.28
1.5	0.6492	3.30	0.6	0.5496	3.32
2.0	0.6102	3.30	1.0	0.5778	3.36
2.5	0.5962	3.29

النتائج المدونة في (الجدول 2) تدل على ان اضافة المحاليل المنظمة المستخدمة ادى الى نقصان في قيمة الامتصاص للمعقد الملون الناتج، لذلك فقد تم استبعادها في التجارب اللاحقة.

تأثير كمية العامل المؤكسد

ان دور العامل المؤكسد (ايون الحديدك) هو اكسدة المركب الدوائي مما يحرر ايون الحديد الثنائي الذي يتفاعل مع كاشف الباثوفينانثرولين مكونا معقدا احمر اللون، لذلك فقد تمت دراسة تأثير اضافة كميات مختلفة من كبريتات الحديدك اللازمة لإتمام عملية الاكسدة والحصول على اعلى امتصاص للمعقد الناتج وكما موضح في (الجدول 3).

الجدول 3: تأثير كمية العامل المؤكسد على الامتصاص

mL of Fe ⁺³ solution (1.87×10 ⁻³ M)	0.1	0.25	0.5	1.0	1.5
Absorbance	39590.	6720.8	6770.8	65530.	3520.4

نلاحظ من النتائج المسجلة في (الجدول 3) ان حجم 0.5 مللتر من محلول كبريتات الحديدك قد اعطى اعلى قيمة للامتصاص لذلك فقد تم اختياره للتجارب القادمة.

تأثير كمية الكاشف

تمت دراسة تأثير كمية الكاشف اللازمة لتكوين المعقد الملون الناتج مع ايونات الحديد الثنائي واعطاء اعلى امتصاص له وذلك بإضافة كميات مختلفة من الكاشف باثوفينانثرولين وكما موضح في (الجدول 4).

الجدول 4: تأثير كمية الكاشف على امتصاص المعقد الناتج

mL of reagent solution 10 ⁻³ M)×(1.68	0.25	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Absorbance	7480.0	1610.2	2630.5	0410.8	84550.	86250.	3080.8

توضح النتائج في (الجدول 4) ان استخدام حجم 2.5 مللتر من الكاشف باثوفينانثرولين قد اعطى اعلى قيمة لامتصاص للمعقد الناتج ولذلك تم اختياره للتجارب التالية.

تأثير درجة الحرارة وزمن التفاعل

تمت دراسة تأثير درجة الحرارة على سرعة التفاعل وامتصاصية المعقد الناتج ما بين الحديد الثنائي والكاشف باثوفينانثرولين وبأزمنة مختلفة وذلك باستخدام حمام مائي وحمام ثلجي وكذلك في درجة حرارة المختبر والنتائج المستحصلة مدونة في (الجدول 5).

الجدول 5: تأثير درجة الحرارة وزمن التفاعل على الامتصاص

Time (min)	Absorbance / Temperature C		
	0 C	R.T ±1 C)18(40 C
After addition	0.4354	0.6902	0.6989
5	0.4699	0.8041	0.8701
10	0.5322	0.8347	0.8569
15	0.4854	0.8454	0.8959
20	0.5360	0.8470	0.9008
25	0.5417	0.8543	0.9087
30	0.5500	0.8647	0.9088
35	0.5583	0.8614	0.9115
40	0.6018	0.8655	0.9180

تشير النتائج في (الجدول 5) ان اجراء التفاعل بدرجة حرارة المختبر (18±1 م) يحتاج الى 10 دقائق لا كمال التفاعل، بينما اجراء التفاعل بدرجة 40 م اعطى امتصاصا اعلى بقليل من الامتصاص المقاس عند اجراء التفاعل بدرجة حرارة المختبر، اما عند اجراء التفاعل بدرجة الصفر المئوي ادى الى ابطاء التفاعل واعطاء امتصاص اقل للمعقد الناتج، لذلك فقد تم اختيار درجة حرارة المختبر لإجراء التجارب اللاحقة وذلك لأن التفاعل عند هذه الدرجة كان ذو حساسية جيدة فضلا عن سهولة العمل بدرجة حرارة المختبر الاعتيادية دون الحاجة الى عملية التسخين.

تأثير المواد الفعالة سطحيا

تمت دراسة اضافة 2 مليلتر من ثلاثة انواع من المواد الشد السطحي (موجبة وسالبة ومتعادلة) الى مكونات التفاعل لغرض معرفة تأثيرها على امتصاص المعقد الناتج وكما في (الجدول 6).

الجدول 6: تأثير اضافة المواد الفعالة سطحيا على الامتصاص

Surfactant's solution	Absorbance
Cetylpyridinium chloride (1×10^{-3} M)	0.8317
Sodium dodecyl sulphate (1×10^{-3} M)	Turbid
Triton X-80 (2%)	0.7888

نلاحظ من النتائج الموضحة في (الجدول 6) ان اضافة مواد الشد السطحي لم تؤد الى تحسين قيمة الامتصاص للمعقد الناتج ولذلك فقد تم استبعاد استخدامها في التجارب القادمة.

تأثير تسلسل الإضافات

تمت دراسة تأثير تسلسل اضافة مكونات التفاعل على قيمة الامتصاص للمعقد الناتج وكما هو موضح في (الجدول 7).

الجدول 7: تأثير تسلسل الإضافات على الامتصاص

Serial	Order of addition	Absorbance
I	S+ O + R	0.8644
II	S+ R + O	0.8310
III	O + R + S	0.8133

S = Sample (Acetylcystine); O = Oxidant (Fe⁺³); R = Reagent

نلاحظ من النتائج المدونة في (الجدول 7) ان اعلى امتصاص للمعقد المتكون كان باتباع التسلسل الاول لذلك فقد تم الاستمرار في استخدامه في التجارب اللاحقة.

زمن استقرار المعقد المتكون

تمت دراسة زمن استقرارية المعقد الناتج وتركيزين مختلفين من الأستيل سيستين وكما موضح في (الجدول 8).

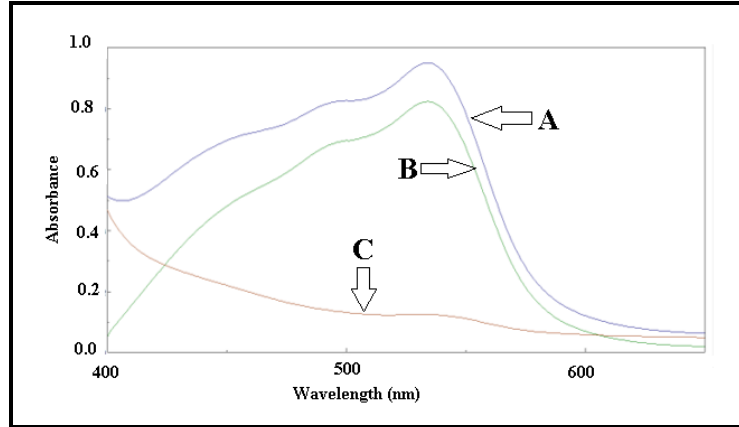
الجدول 8: زمن استقرارية المعقد المتكون

Time (min.)	Absorbance / μg of AC	
	25	50
0	.33220	0.6812
5	0.3767	0.7935
10	0.3942	0.8237
15	0.3949	0.8344
20	0.3989	0.8358
25	0.4024	0.8431
30	0.4139	0.8534
35	0.4167	0.8501
40	0.4186	0.8541
45	0.4216	0.8655
50	0.4186	0.8596
55	0.4195	0.8616
60	0.4098	0.8576

النتائج المدونة في (الجدول 8) تشير الى ان المعقد المتكون ما بين الحديد الثنائي والكاشف باثوفينانثرولين يحتاج الى عشر دقائق لإكمال التفاعل ويكون مستقرًا لمدة 50 دقيقة وهي فترة كافية لإجراء عدة قياسات مخبرية.

طيف الامتصاص النهائي

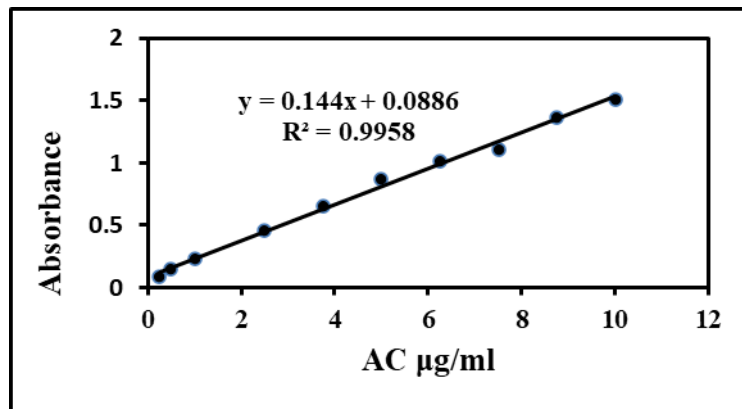
عند مزج محلول الأستيل سيستين مع كبريتات الحديد الذي يتفاعل مع الكاشف باثوفينانثرولين مكونا معقدا احمر اللون ذائبا في الماء وله اعلى امتصاص عند الطول الموجي 534 نانومتر. الشكل (2) يوضح طيف الامتصاص النهائي للمعقد الناتج مقابل المحلول الصوري ومقابل الماء المقطر وكذلك طيف امتصاص المحلول الصوري مقابل الماء المقطر، ويظهر الشكل ان الطول الموجي الأعظم للمعقد الناتج هو 534 نانوميتر.



الشكل 2: طيف الامتصاص لـ 50 مايكروغرام/10 مللتر من الاسيتيل سيستين مقاساً (A): مقابل الماء المقطر، (B) مقابل المحلول الصوري، (C) المحلول الصوري مقابل الماء المقطر

طريقة العمل المعتمدة والمنحني القياسي

تم تحضير المنحني القياسي لتقدير الاسيتيل سيستين بعد تثبيت الظروف المثلى وكما يأتي:
تضاف حجوم متزايدة من محلول الاسيتيل سيستين بتركيز 50 مايكروغرام. مليلتر⁻¹ الى قناني حجمية سعة 10 مليلتر ثم يضاف 0.5 مليلتر من محلول كبريتات الحديدك بتركيز 1.87×10^{-3} مولاري ويضاف 2.5 مليلتر من محلول الكاشف باثوفينانثرولين بتركيز 1.68×10^{-3} مولاري و يكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة وبعدها تترك القناني الحجمية لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة المختبر ثم يقاس امتصاص المعقد لمحلول النموذج مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 534 نانو متر و الشكل (3) يمثل المنحني القياسي لتقدير الاسيتيل سيستين الذي يتبع قانون بير في مدى التركيز من 0.25 الى 10 مايكروغرام. مليلتر⁻¹ وهناك انحراف سالب عند التراكيز الاعلى من 10 مايكروغرام / مليلتر ومن معادلة الخط المستقيم تم حساب قيمة الامتصاصية المولارية للمعقد الناتج وتساوي 2.35×10^4 لتر. مول⁻¹. سم⁻¹ وقيمة دلالة ساندل 0.00694 مايكروغرام. سم⁻².



الشكل 3: المنحني القياسي لتقدير الاسيتيل سيستين وفقا للطريقة المقترحة

ولغرض حساب قيم كل من حد الكشف (LOD) وحد التقدير الكمي (LOQ) (Valcarcel,2000) فقد تم قياس امتصاص عشرة محاليل صورية مقابل الماء المقطر عند الطول الموجي 534 نانوميتر وحسب الظروف المثلى للطريقة المقترحة، حيث كانت قيمة حد الكشف 0.03542 مايكروغرام. مللتر⁻¹، بينما بلغت قيمة حد التقدير الكمي 0.11806 مايكروغرام. مللتر⁻¹

تأثير مواد السواغ

تمت دراسة تأثير اضافات كميات مختلفة من بعض المواد ذات العلاقة في تصنيع المستحضرات الصيدلانية على امتصاص المعقد الناتج وكما موضح في (الجدول 9).

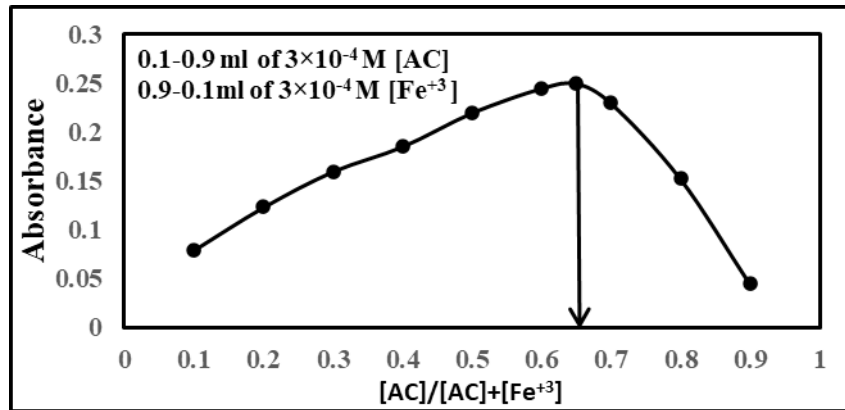
الجدول 9: تأثير بعض المضافات على تقدير الأسيثيل سيستين

Additives	Recovery (%) of 50 µg AC/ µg of foreign compound		
	100	500	1000
NaCl	96.45	97.09	95.92
Starch	95.99	95.67	95.76
Lactose	95.33	95.83	95.70
Dextrin	94.91	96.10	97.34
Sorbitol	96.97	96.70	96.37

نلاحظ من النتائج المبينة في (الجدول 9) انه لا يوجد تداخل مؤثر لهذه المواد على تقدير المركب الدوائي قيد الدراسة حسب الظروف المثلى للطريقة المقترحة.

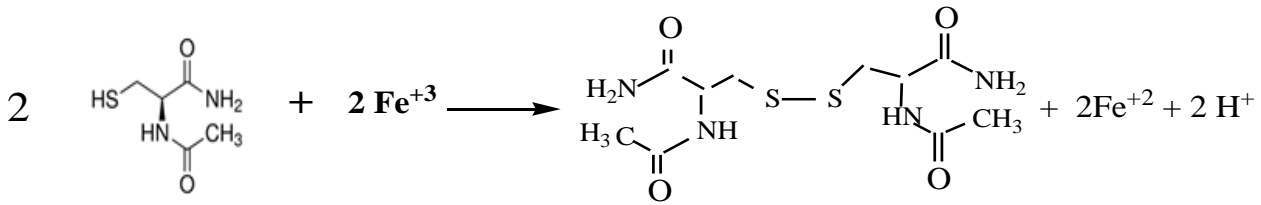
طبيعة ونسبة التفاعل بين المركب الدوائي والعامل المؤكسد

لحساب نسبة التفاعل بين العامل المؤكسد (ايون الحديدك) والاسيتيل سيستين فقد تم تطبيق طريقة التغيير المستمر (طريقة جوب) (Delevie, 1997) وذلك بإضافة حجوم مختلفة لكل من الاسيتيل سيستين بتركيز (3.0×10^{-4}) مولاري وأيون Fe^{+3} بنفس التركيز (3.0×10^{-4}) مولاري ثم اضافة الكاشف باثوفينانثرولين (1.68×10^{-3}) مولاري وحسب خطوات طريقة العمل المثبتة ومن ثم يقاس الامتصاص للمعقد الناتج مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 534 نانومتر وترسم العلاقة بين الامتصاص والنسبة بين تركيز الاسيتيل سيستين و مجموع تركيز الاسيتيل سيستين وأيون الحديدك وكما هو موضح في الشكل (5).

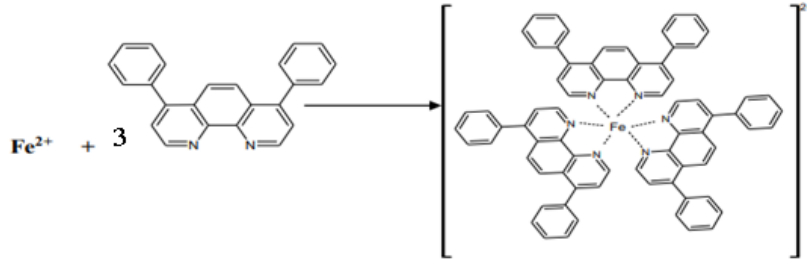


الشكل 5: منحنى طريقة جوب لتفاعل الحديد الثلاثي مع الاسيتيل سيستين

ومن الشكل (5) يتبين أن نسبة تفاعل العامل المؤكسد (eF^{+3}) الى الاسيتيل سيستين هي 1:2 وبما ان المول الواحد من كبريتات الحديدك يحتوي على مكافئين من الحديد الثلاثي فان النسبة الفعلية لتفاعل Fe^{+3} مع الاسيتيل سيستين هي 1:1 وكما في المعادلة المقترحة الاتية:



ونسبة التعقيد بين الكاشف باثروفينانثرولين مع الحديد الثنائي هي نسبة معروفة (Unnisa et al., 2011) وهي (1:3) وكما في المعادلة الآتية:



الجزء التطبيقي

طبقت الطريقة المقترحة لتقدير الأسيثيل سيستين في مستحضراته الصيدلانية بشكل كبسول ومسحوق وحقن وذلك بأخذ تركيزين مختلفين (25 و 50) مايكروغرام من المركب الدوائي وحسب الطريقة المعتمدة للظروف المثلى والنتائج في (الجدول 10) تبين ان الطريقة المقترحة اعطت قيمة استرجاعية جيدة، وخطأ نسبيا وانحرافا قياسيا نسبيا جيدين لتقدير الأسيثيل سيستين في مستحضراته الصيدلانية المطبقة عليها.

الجدول 10: قيم الاسترجاعية والدقة والتوافقية لتقدير الأسيثيل سيستين في المستحضرات الصيدلانية حسب الطريقة المقترحة

Pharmaceutical preparation	Amount taken (µg)	Amount measured (µg)	Recovery* (%)	Relative error (%)	Relative standard deviation (%)
N-A-C 600 mg/capsule (AMS-USA)	25	24.76	99.04	-0.96	2.03
	50	49.62	99.24	-0.76	3.54
Asist plus 600 mg/sachet (Bilim-Turkey)	25	23.82	95.28	-4.72	2.42
	50	48.18	96.36	-3.64	1.31
Asist 300 mg/ampoule (Bilim-Turkey)	25	26.08	104.32	+4.32	0.627
	50	50.73	101.46	+1.46	3.44

*Average of five determinations.

كفاءة الطريقة المقترحة

لغرض اختبار مدى كفاءة الطريقة المقترحة في تقدير الأسيثيل سيستين في مستحضراته الصيدلانية فقد طبقت الطريقة القياسية المعتمدة في دستور الأدوية البريطاني (British pharmacopoeia, 2013) وإيجاد القيمة التجريبية لاختبار t من خلال حساب النسبة المئوية لاسترجاع خمسة نماذج من محاليل المستحضرات الصيدلانية بالطريقة المقترحة والقياسية وذلك بتطبيق العلاقات الرياضية لاختبار t (Christian, 2004) وكما موضح في (الجدول 11).

الجدول 11: نتائج اختبار t للطريقة المقترحة والقياسية لتقدير الاسيتيل سيستين في مستحضراته الصيدلانية

Pharmaceutical preparation	Recovery* (%)		t (exp.)
	Present method	Standard method	
N-A-C 600 mg/capsule (AMS-USA)	99.26	100.00	0.12
Asist plus 600 mg/sachet (Bilim-Turkey)	96.35	95.00	0.43
Asist 300 mg/ampoule (Bilim-Turkey)	101.44	101.5	0.01

*Average of five determinations

تدل النتائج المدونة في (الجدول 11) ان قيم t التجريبية المستحصلة عمليا هي اقل من قيمة t الجدولية (2.306) عند مستوى ثقة 95% ولثمان درجات حرية، ما يعني ان الاختلاف بين الطريقة المقترحة والقياسية يعد غير معنوي وهذا يؤكد صلاحية الطريقة المقترحة لتقدير الاسيتيل سيستين في المستحضرات الصيدلانية التي طبقت عليها.

مقارنة الطريقة الحالية

لغرض استبيان مميزات الطريقة الحالية تمت مقارنتها مع طريقة طيفية اخرى من خلال عرض بعض المتغيرات التحليلية لكلتا الطريقتين وكما هو موضح في (الجدول 12).

الجدول 12: المميزات التحليلية للطريقة الحالية وطريقة طيفية أخرى

Analytical parameters	Proposed method	Literature method*
Reagent	Bathophenanthroline	Sulfosalicylic acid
Medium of reaction	Aqueous	Aqueous
pH	3.13	3.0
Temperature	R.T	80.0
Time of reaction (min.)	10	30
λ_{max} (nm)	534	478
Beer's law range (ppm)	0.25-10.0	0.5-60.0
Molar absorptivity ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)	$\times 10^4$ 352.	-----
Color of complex	Red	Pink
Stability of complex (min..)	50	-----

* (Xin-rong and Chang-qing 2017)

يظهر (الجدول 12) ان الطريقة المقترحة سريعة وحساسة وذات مدى تطبيق واسع فضلا عن كونها لا تحتاج الى تسخين وكذلك فان زمن التفاعل اقل المعقد المتكون مستقر لمدة كافية لإجراء عدد من التحليلات.

الاستنتاجات

تم اقتراح طريقة طيفية غير مباشرة سهلة ودقيقة لتقدير الاسيتيل سيستين في المحلول المائي بالاعتماد على اكسدته بوساطة ايونات الحديد الثلاثي ومن ثم مفاعلة ايونات الحديد الثنائي الناتجة من التفاعل مع الكاشف باثوفينانثرولين وتكوين معقد احمر اللون ذائب ومستقر في الماء وله اعلى امتصاص عند الطول الموجي 534 نانوميتر. الطريقة المقترحة لا تحتاج الى عملية استخلاص تسخين كما تم تقييمها احصائيا باستخدام اختبار t الذي دل على عدم وجود فرق معنوي بينها وبين الطريقة القياسية، وقد تم تطبيق الطريقة المقترحة بنجاح لتقدير هذا العقار في مستحضراته الصيدلانية بشكل كبسول ومسحوق وحقن.

المصادر

- British Pharmacopoeia (2013). "On CD-ROM, System Simulation Ltd". The Stationary Office, London.
- Cazzola, M.; Calzetta, L.; Page, C.; Jardim, J.; Chuchalin, A.G.; Rogliani, P.; Matera, M.G. (2015). Influence of N-acetylcysteine on chronic bronchitis or COPD exacerbations: a meta-analysis. *Eur. Resp. Rev.*, **24**(137), 451-461.
- Chuan L.; Gangyi, L.; Jingying, J.; Yuzhou, G.; Yanmei, L.; Menggi, Z.; Yun, L.; Shuijun, L.; Chen, Y. (2011). Liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of N-acetyl cysteine in human plasma using an isotope – labeled internal standard. *Biomed. Chromatogr.*, **25**(4), 427-431.
- Ebru, K. S. (2019). Electrochemical determination of N-acetyl cysteine in the presence of acetaminophen at multi –walled carbon nanotubes and nation modified sensor. *Sens. Act. B: Chemical.*, **281**, 500-506.
- EL-Samman, F. M. (2018). Spectrophotometric determination of hydroxyurea in pharmaceutical preparations. *Raf. J. Sci.*, **27**(4), 29-36.
- Fischer, J.; Ganellin, C. R. (2010). Analogue-based drug discovery. *Chem. Inte. Newsma. IUPAC*, **32**(4), 12-15.
- Hitchings, A.; Lonsdale, D.; Burrage, D.; Baker, E. (2018). "The Top 100 Drugs: Clinical Pharmacology and Practical Prescribing". Elsevier Health Sciences.
- Krzysztof, K.; Edward, B. (2008). Determination of N-acetyl cysteine and thioglycolic acid in human urine. *Chromatographia.*, **67**(1), 23-29.
- Mohammed, A. S.; Almukhtar, F. R. (2018). Indirect spectrophotometric method for determination of bromhexine-HCL in pharmaceutical preparations. *Raf. J. Sci.*, **27**(2), 116-126.
- Penugonda, S.; Mare, S.; Goldstein, G.; Banks, W. A.; Ercal, N. (2005). Effects of N-acetylcysteine amide (NACA), a novel thiol antioxidant against glutamate-induced cytotoxicity in neuronal cell line PC12. *Brain Res.*, **1056**(2), 132-138.
- Delevie, R. (1997). "Principles of Quantitative Chemical Analysis". McGraw-Hill, International Ed., Singapore, 498 p.
- Reza, M.; Hassan, K.; Mehdi, H.; Mohamad, A.; Sedighe, A.; Hasan, S. (2016). Synergic effect of Pt-CO nanoparticles and adopamine derivative in a nanostructured electrochemical sensor for simultaneous determination of N-acetyl cysteine, facetamol and folic acid. *Microchemical. Acta.*, **183**(11), 2957-2964.
- Sadowska, A. M. (2012). N-Acetylcysteine mucolysis in the management of chronic obstructive pulmonary disease. *Ther. Advan. Resp. dis.*, **6**(3), 127-135.
- Siddiqui, M. R.; Wabaidur, S. M.; Alothman, Z. A.; Rahman, H.; Alam, S.; Ali, S. (2014). Iodate oxidation of N-acetyl l-cysteine: application in drug determination and characterization of its oxidation and degradation product by mass spectrometry. *J. Chil. Chem. Soc.*, **59**(1), 2303-2307.
- Stockley, R.A. (2008). "Chronic Obstructive Pulmonary Disease, A practical Guide to Management Chichester". John Wiley and Sons, inc., New York, 750 p.
- Unnisa, A.; Dirisala, R.; Arun, Y.; Hemalatha, B. (2011). Novel spectrophotometric methods for estimation of metadoxine in bulk and pharmaceutical formulations based on oxidative coupling reactions. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.* **2**, 280-291.
- Valcarcel, M. (2000). "Principles of Analytical Chemistry". Springer Verlag, Berlin, pp.67-68.

- Xin-rong, W.; Chang-qing, T. (2017). Indirect spectrophotometric determination of acetylcysteine in pharmaceutical sample using Fe (III)-sulfosalicylic acid system. *Adv. Biol. Sci. Res.* **4**,465-470.
- Zhang, X.; Banerjee, A.; Banks, W.A.; Ercal, N. (2009). N-Acetylcysteine amide protects against methamphetamine-induced oxidative stress and neurotoxicity in immortalized human brain endothelial cells. *Brain Research*, **1275**, 87-95.

Using of Bathophenanthroline Reagent for Spectrophotometric Estimation of Acetylcysteine in its Pharmaceutical Preparations

Shahad L. Hasan

Saad H. Sultan

Department of Chemistry/College of Science /University of Mosul

ABSTRACT

A sensitive and rapid spectrophotometric method was suggested for the estimation of acetylcysteine in its pharmaceutical formulations. The proposed method was depended on the oxidation of the studied drug compound by iron (III) in aqueous medium, and then reaction of produced iron (II) with bathophenanthroline reagent to form a red color complex, which is stable and soluble in water and exhibits a maximum absorption at 534 nm. Beer's law is obeyed over the concentration range of 0.25 to 10.0 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ of acetylcysteine. The apparent molar absorptivity value is $2.35 \times 10^4 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ and Sandall's sensitivity index of $0.00694 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$, a relative error of -4.72 to 4.32% and a relative standard deviation of 0.627 to 3.54% depending on the concentration level. The proposed method was applied successfully to the determination of acetylcysteine in its pharmaceutical preparations as sachet (powder), capsule and injection.

Keywords: acetylcysteine, oxidation-reduction, bathophenanthroline, spectrophotometric method.