التقدير الطيفي والفلورومتري للسيناريزين والدايبيريدامول في الاقراص الدوائية باستخدام صبغة الايوسين Y

زينة زهير صالح العبدلي الهام سعد الله صالح

قسم الكيمياء / كلية التربية / جامعة الموصل

ABSTRACT

Spectrophotometric and spectrofluorimetric methods were developed for the determination of cinnarizine and dipyridamole. The spectrophotometric method is based on the formation of ion pair complex between the studied drugs and eosin Y which shows maximum absorbance at 550 nm in the phthalate buffer (pH3.5) for cinnarazine and 547 nm in citrate buffer (pH3) for dipyridamole. Beer's law is obeyed in the concentration ranges of 0.1-8 and 0.1-7 µg/ml with molar absorbitivity values of 4.65×10^4 and 4.90×10^4 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$ for cinnarizine and dipyridamole respectively. The spectroflurimetric method is based on the quantitative quenching effect of cinnarizine and dipyridamole on the native fluorescence of eosin Y. The quenching of the fluorescence of eosin Y was measured at 553 nm after excitation at 350 nm. The fluorescence-concentration plot is rectilinear over the ranges of 0.05-5.2 and 0.1-5.0 µg/ml for cinnarizine and dipyridamole respectively. The two proposed methods were successfully applied for the determination of drugs in pharmaceuticals preparations.

الخلاصة

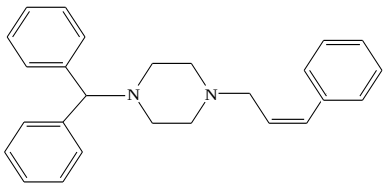
تم تطوير طريقتين طيفية وفلورومترية لتقدير السيناريزين والدايبيريدامول . اعتمدت الطريقة الطيفية على تكوين معقدي التجمع الايوني بين المركبين الدوائيين والايوسينY في وسط الفثالات (pH3.5) المنظم او السترات المنظم (pH3) وقيس أقصى امتصاصهما عند 550 و547 نانوميتر عند تقدير السيناريزين والدايبيريدامول على التوالي. أمكن تقدير كميات مايكروغرامية من السيناريزين (0.1-8 مايكروغرام/مللتر) ومن الدايبيريدامول (0.1-7 مايكروغرام/مللتر) بامتصاصية مولارية 4.65×10^4 و4.90×10^4 لتر.مول$^{-1}$.سم$^{-1}$ للسيناريزين والدايبيريدامول على التوالي. في حين اعتمدت الطريقة الفلورومترية على مبدأ إخماد تفلور صبغة الايوسين Y بتكوين معقد التجمع الايوني غير المتفلور بين الايوسين Y والسيناريزين في وسط الفثالات المنظم اوالدايبيريدامول في وسط الخلات المنظم إذ وجد ان

* *Presented at the second conference on Chemistry, University of Mosul, college of Education, 17-18 Novamber-2013.*

النقصان في شدة تفلور الصبغة المقاس عند 553 نانوميتر بطول موجة اثارة 350 نانوميتر يعطي دالة خطية مع تراكيز السيناريزين والدايبيريدامول ضمن المدى الخطي 0.05-5.2 و0.1-5 مايكروغرام/مللتر لكل من السيناريزين والدايبيريدامول على التوالي. وطبقت الطريقتان الطيفية والفلورومترية بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبين الدوائيين.

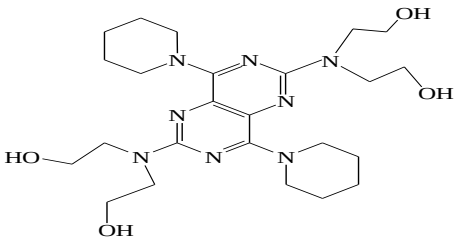
المقدمة

السيناريزين عبارة عن مشتق البيرازين له فعالية مضادة لمستقبل الهستامين- H_1 ويعمل على تثبيط تقلصات الخلايا العضلية الملساء في الاوعية الدموية من خلال تثبيطه لقنوات الكالسيوم. كما يستخدم في علاج القصور الوعائي للمخ ويعد عقار فعال في علاج اعراض امراض الشرايين المحيطية واضطرابات التوازن ودوار الحركة[1] ويمتلك السينارازين التركيب الكيميائي الاتي [2] .



(E)-1-(Diphenylmethyl)-4-(3-phenylprop-2-enyl)piprazine
Molar mass 368.5 gm/mol

الدايبيريدامول عبارة عن عقار موسع للاوعية الدموية وقد استعمل على نطاق واسع لعلاج أمراض القلب التاجية [3]. وان لهذا العقار تأثير مضاد للتخثر وذلك من خلال تحفيزه لتخليق البروستاسايكلين, وتثبيط أنزيم الفوسفوداي استريز في الصفيحات الدموية, كما ويثبط دخول الادينوسين الى خلايا الدم وخلايا الاوعية الدموية مؤدياً الى تراكم المركب المثبط للصفيحات الدموية والموسع للاوعية الدموية[4] يمتلك الدايبيريدامول التركيب الكيميائي الآتي[2]:



2,2',2'',2'''-[[4,8-Di(pipridin-1-yl)pyrimido[5,4-a]pyrimidine-2,6-dyl]dinitrelo]tetraethanol
Molar mass504.6gm/mol

استخدمت طرائق تحليلية مختلفة لتقدير المركبين الدوائيين المدروسين ويتضمن العرض الاتي مراجعة لبعض هذه الطرائق

امكن تقدير السيناريزين طيفيا في المستحضرات الصيدلانية وذلك اما بتكوين معقدات التجمع الايوني باستخدام الكاشف حامض البكريك [5] او صبغتي الثايمول الازرق والكريسول الاحمر [6] او تكوين معقدات الشحنة المنتقلة مع الكاشف dipicrylamine او 2, 6-ثنائي نيتروفينول [7]. وطبقت مطيافية المشتقة في التقدير الاني للسيناريزين في المستحضرات الصيدلانية ثنائية المكون [8, 9]. كما وصفت الطريقة التفلورية – المشتقة الثانية [10] وتقنية البريق الكيميائي – الحقن الجرياني لتقدير العقار في المستحضرات الصيدلانية [11]. وتم تطبيق فولتامتري الدائري [12] وفولتامتري الامتزاز الكاثودي ذي الاتجاه الخطي والدائري [13] وتقنية الهجرة الكهربائية المنطقة الشعرية في تقدير السيناريزين في عينات مختلفة [14], كما حلل العقار

في مصل الدم والمستحضرات الصيدلانية بتقنية HPLC- الطور العكوس والقياس بمكشاف التفلور او UV [15, 16].

ووصفت طرائق طيفية لتقدير الدايبيريدامول في المستحضرات الصيدلانية اعتمدت اما على تكوين معقدي التجمع الايوني مع الكاشفين بارا-كلورومثيل ازو حامض الكروموتروبيك و 2- (بارا-نيتروفنيل ازو)- حامض الكروموتروبيك [17] او تكوين معقد الشحنة المنتقلة مع حامض الكلورانيلك [18]. واستحدثت طرائق تفلورية [19, 20] وتفسفرية [21] والبريق الكيميائي المقترن بالحقن الجرياني [22, 23] في التقدير الحساس للعقار في مستحضراته. وطبقت تقنية HPLC- الطور العكوس المقترنة بمكشاف tandem mass spectrometry [24] او طيف الكتلة [25] او UV[26, 27] في تحليل الدايبيريدامول في العينات المختلفة.

يهدف البحث الى تطوير طريقتين طيفية وفلورومترية حساستين وسريعتين لتقدير السيناريزين والدايبيريدامول بهيئتهما النقية وفي المستحضرات الصيدلانية باستخدام الايوسين Y في محلول منظم.

الجزء العملي

الأجهزة المستخدمة

تمت القياسات الطيفية بواسطة جهاز المطياف مزدوج الحزمة نوع Shimadzu UV-1650 PC Double - beam spectrophotometer واستخدمت خلايا من الكوارتز ذات سمك 1 سم. والقياسات الفلورومترية بواسطة جهاز RF- 5301 PC- Spectrofluorophotometer , Xenon lamp مزود بمصباح الزينون واستخدمت خلايا من الكوارتز شفافة من الجهات الاربعة ذات سمك 1 سم.أجريت عمليات التسخين باستخدام حمام مائي نوع Lab. Companion BS-11. وقيست الدالة الحامضية للمحاليل باستخدام جهاز الدالة الحامضية OAKTON pH 2100 مرتبط بقطب نوع CE 10-12 pH وأجريت عمليات الوزن باستخدام ميزان حساس نوع AND GR – 200 .

المواد الكيميائية المستخدمة

محلول السيناريزين

يحضر المحلول بتركيز100 مايكروغرام/مللتر بإذابة 0.0100 غرام من المركب الدوائي بصيغته النقية في 2.5 مللتر من حامض الهيدروكلوريك (0.1 مولاري) و أكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مللتر ثم حضر منه محلول بتركيزي 20 و 40 مايكروغرام/مللتر.

محلول الدايبيريدامول:

يحضر المحلول بتركيز 100 مايكروغرام/مللتر بإذابة 0.0100 غرام من المركب الدوائي بصيغته النقية في 20 مللتر ايثانول وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مللتر وحضر منه محلول بتركيزي 20 و 40 مايكروغرام/مللتر .

محلول الايوسين Y :

يحضر المحلول بتركيزي 4.5×10^{-4} و 5×10^{-4} مولاري وذلك بإذابة 0.0311 و 0.0346 غرام على التوالي من المادة النقية في 100 مللتر من الماء المقطر.

محلول الفثالات المنظم (pH 3.5) [28]

يحضر بمزج 8.2 و 50 مللتر من محلول حامض الهيدروكلوريك وفثالات الصوديوم الهيدروجينية كلاهما بتركيز 0.1 مولاري ثم يكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مللتر ويتم ضبط الدالة الحامضية للمحلول بواسطة جهاز pH meter.

محلول السترات المنظم (pH 3) [28]

يحضر بمزج 46.5 و 3.5 مللتر محلول حامض الستريك وسترات الصوديوم كلاهما بتركيز 0.1 مولاري ويكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مللتر ويتم ضبط الدالة الحامضية للمحلول بواسطة جهاز pH meter .

محلول الفثالات المنظم pH4.5[28]

يحضر بمزج 8.7 و 50 مللتر من محلول هيدروكسيد الصوديوم وفثالات الصوديوم الهيدروجينية كلاهما بتركيز 0.1 مولاري ثم يكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مللتر ويتم ضبط الدالة الحامضية للمحلول بواسطة جهاز pH meter.

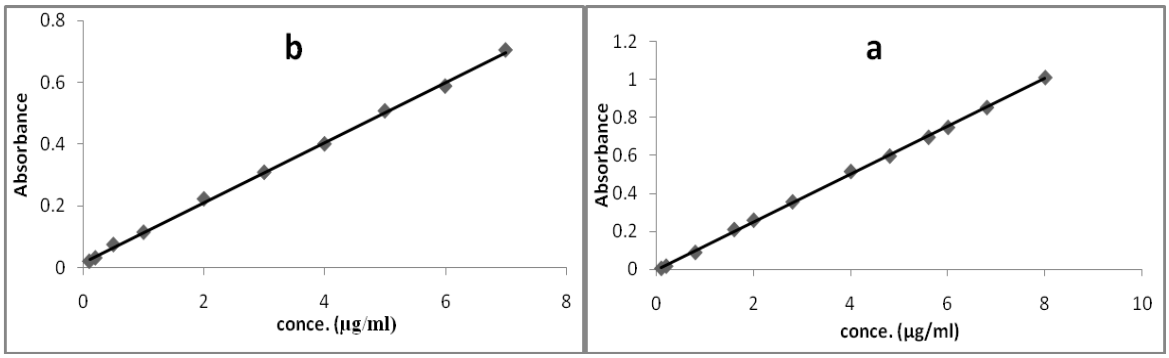
محلول الخلات المنظم pH3.8 [28]

يحضر المحلول بمزج 44 و 6 مللتر من محلولي حامض الخليك وخلات الصوديوم كلاهما بتركيز 0.2 مولاري على التوالي ثم يخفف بالماء المقطر الى حد 100 مللتر ويتم ضبط الدالة الحامضية للمحلول بواسطة جهاز pH meter.

تقدير السيناريزين والدايبريدامول في المحلول المائي

الطريقة الطيفية

تضمنت الطريقة الطيفية اضافة كميات متزايدة 0.1-8 مايكروغرام/مللتر للسيناريزين و 0.1-7 مايكروغرام/مللتر للدايبيريدامول في حجم نهائي الى سلسلة من القناني الحجمية سعة 10 مللتر. ثم إضافة 1.2 مللتر من كاشف الايوسينY بتركيز 5×10^{-4} مولاري و0.7 مللتر من محلول الفثالات المنظم (pH 3.5) عند تقدير السيناريزين أو 1.0 مللتر من محلول السترات المنظم (pH 3) عند تقدير الدايبيريدامول وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة. وقيست امتصاصات المحاليل في حالة تقدير السيناريزين والدايبيريدامول عند 550 و547 نانوميتر على التوالي مقابل محلولهما الصوري في درجة حرارة الغرفة بزمن تكوين 5 دقائق. ويوضح الشكل (1) المنحنيين القياسيين للمركبين الدوائيين وان هناك انحرافاً سلبياً عن قانون بير بعد الحدود التقديرية العليا.



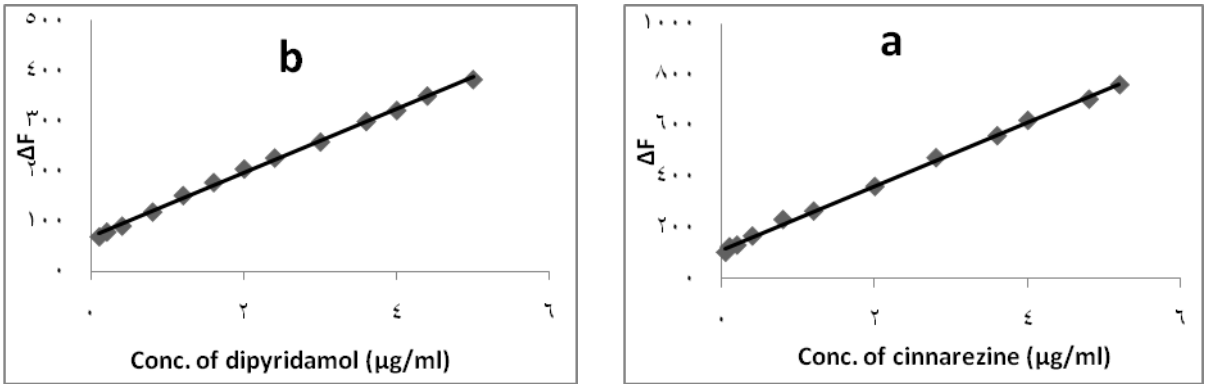
الشكل (1) المنحنيين القياسيين لتقدير المركبين الدوائيين طيفياً

a: السيناريزين b: الدايبيريدامول

الطريقة الفلورومترية

تضمنت الطريقة الفلورومترية إضافة 0.05-5.2 مايكروغرام/مللتر من السيناريزين و 0.1-5 مايكروغرام/مللتر من الدايبيريدامول في حجم نهائي الى قنان حجمية سعة 10 مللتر, ثم أضيف 1.0 مللتر من محلول الايوسين Y بتركيز 4.5×10^{-4} مولاري ثم يتبعها إضافة 1.2 مللتر من محلول الفثالات المنظم (pH 4.5) عند تقدير السيناريزين او1.5 مللتر من محلول الخلات المنظم (pH 3.8) عند تقدير الدايبيريدامول وأكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر ثم قيست شدة تفلور المحاليل (F) عند 553 نانوميتر بطول موجة إثارة 350 نانوميتر بدرجة حرارة الغرفة فضلاً عن قياس شدة تفلور(F°) محلولين من الايوسينY (1.0 مللتر من محلول ايوسين Y بتركيز 4.5×10^{-4} مولاري) احدهما بوجود 1.2 مللتر من محلول الفثالات المنظم

(pH 4.5) عند تقدير السينارizين والآخر بوجود 1.5 مللتر من محلول الخلات المنظم (pH 3.8) عند تقدير الدايبيريدامول ثم احتسبت قيم ΔF (F°-F) لمحاليل المركبين الدوائيين المحضرين. ومن خلال رسم قيم ΔF مقابل التراكيز تم الحصول على المنحنيين القياسيين في الشكل (2)



الشكل (2) المنحنيين القياسين لتقدير المركبين الدوائيين فلورومتريا

a: السينارizين b: الدايبيريدامول

تقدير السينارizين والدايبيريدامول في الاقراص الدوائية

تحليل اقراص السينارizين والستوجيرون

تم وزن 10 أقراص من كل مستحضر دوائي بدقة وبعد طحنها ومزجها جيدا وزن من المسحوق ما يكافئ وزن قرص واحد (25 ملغرام) من السينارizين وأذيب في 7.5 مللتر من حامض الهيدروكلوريك بتركيز (0.1 مولاري) و خفف بالماء المقطر الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 250 مللتر و رشح المحلول للحصول على السينارizين بتركيز 100 مايكروغرام/ مللتر . وأخذت كميات مايكروغرامية من المركب الدوائي وعوملت بخطوات العمل الموصوفة للمحاليل القياسية بالطريقتين الطيفية والفلورومترية ومن ثم حساب تركيز كل قرص من المنحنى القياسي للسينارizين بصيغته النقية.

تحليل أقراص الانتيبلات والسانتين

وزنت ثمانية أقراص من كل مستحضر دوائي (75 ملغرام) بدقة ثم طحنت ومزجت ووزن من المسحوق مايكافئ 0.01 غرام من الدايبيريدامول اذيب في 20 مللتر ايثانول وأكمل الحجم بالماء المقطر الى 100 مللتر ورشح لتحضير محلول بتركيز 100 مايكروغرام/ مللتر ثم حضر منه محلول بتركيز 40 مايكروغرام/ مللتر.وتم ايجاد تركيز الدايبيريدامول بكميات مايكروغرامية باستعمال المنحنى القياسي للمركب الدوائي بصيغته النقية وباتباع طريقة العمل الموصوفة طيفيا او فلورومترياً.

النتائج والمناقشة

تم اجراء التجارب باستخدام 1.0 مللتر من محلول السينارizين أو الدايبيريدامول بتركيز 40 مايكروغرام/ مللتر للطريقة الطيفية و 1.0 مللتر من محلولي المركبين الدوائيين بتركيز 20 مايكروغرام/مللتر للطريقة الفلورومترية في حجم نهائي 10 مللتر.

الدراسة التمهيدية

بينت الدراسة التمهيدية اولاً امكانية استخدام الايوسينY بوصفه كاشفاً كروموجينياً لتقدير السينارizين والدايبيريدامول طيفياً بتكوين معقدي المزدوج الايوني في المحلول المنظم لهما اقصى امتصاص عند 545 نانوميتر للسينارizين و546 نانوميتر للدايبيريدامول وهذا يعني حصول ازاحة باثوكرومية بحدود 26 نانوميتر في طيف امتصاص كاشف الايوسينY (519 نانوميتر). وثانياً وجد وجد تجريبياً امكانية استخدام الايوسينY كصبغة تفلورية فعند مفاعلة

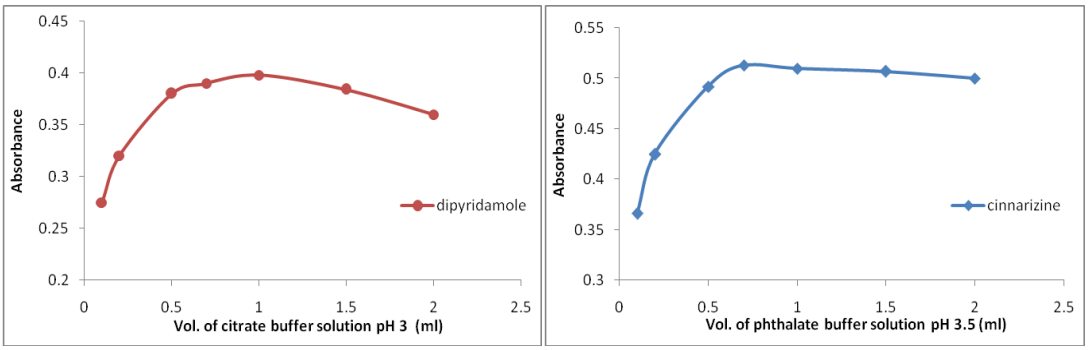
كميات مايكروغرامية من السيناريزين أو الدايبيريدامول في وسط الفثالات المنظم (pH3.5) مع كمية ثابتة من صبغة الايوسينY حدوث إخماد خطي في شدة تفلور الصبغة عند 553 نانوميتر بطول موجة اثارة 350 نانوميتر بزيادة تركيز كل مركب دوائي نتيجة تكون معقد المزدوج الايوني غير المتفلور بين الصبغة والمركب الدوائي , وهذا يشير الى إمكانية تطوير طريقة فلورومترية في تقدير المركبين الدوائيين.

تأثير الدالة الحامضية

دُرس تاثير الدالة الحامضية في شدة امتصاص معقد المزدوج الايوني المتكون عند تقدير السيناريزين والدايبيريدامول او على قيمة إخماد تفلور الايوسينY عند تفاعله مع المركبين الدوائيين بتحضير محاليل منظمة بدوال حامضية بين 2.5 و5 من كل من محلول الفثالات والسترات والخلات المنظم , إذ أضيفت بكميات ثابتة (1.0 مللتر) الى قنانٍ حجمية تحتوي على 4 او 2 مايكروغرام/مللتر من كل مركب دوائي للطريقة الطيفية والفلورومترية على التوالي و1.0 مللتر من محلول الايوسين Y بتركيز 5×10^{-4} مولاري وقيس امتصاص المعقدين المتكونيين مباشرةً بعد التخفيف الى حد العلامة بدرجة حرارة الغرفة وتبين أن أقصى امتصاص للمعقدين الملونين يتكونان في وسط الفثالات المنظم دالته الحامضية 3.5 عند الطول الموجي 550 نانوميتر عند تقدير السيناريزين أو في وسط السترات المنظم دالته الحامضية 3.0 عند 547 نانوميتر عند تقدير الدايبيريدامول طيفياً. وإن أعلى قيمة لـ ΔF [الفرق بين شدة تفلور الايوسينY لوحده (F°) وبعد تفاعله مع المركب الدوائي (F)] كانت عند استخدام محلول الفثالات المنظم بدالة حامضية 4.5 عند تقدير السيناريزين ومحلول الخلات المنظم بدالة حامضية 3.8 عند تقدير الدايبيريدامول, لذلك تم اعتمادهما في الدراسات اللاحقة.

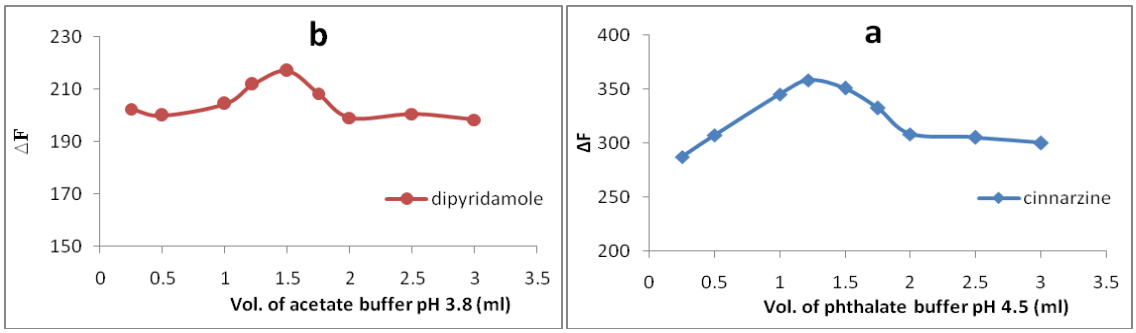
تأثير كمية المحلول المنظم

درس تأثير إضافة كميات متزايدة (0.1-2 مللتر) من محلول الفثالات المنظم للسيناريزين والسترات المنظم للدايبيريدامول في شدة امتصاص معقد المزدوج الايوني المتكون, إذ وجد أن 0.7 مللتر من محلول الفثالات المنظم و 1.0 مللتر من محلول السترات المنظم هما الحجمين المناسبين للسيناريزين والدايبيريدامول على التوالي وكما موضح بالشكل (3)



الشكل (3) تأثير كمية المحلول المنظم في تقدير السيناريزين والدايبيريدامول

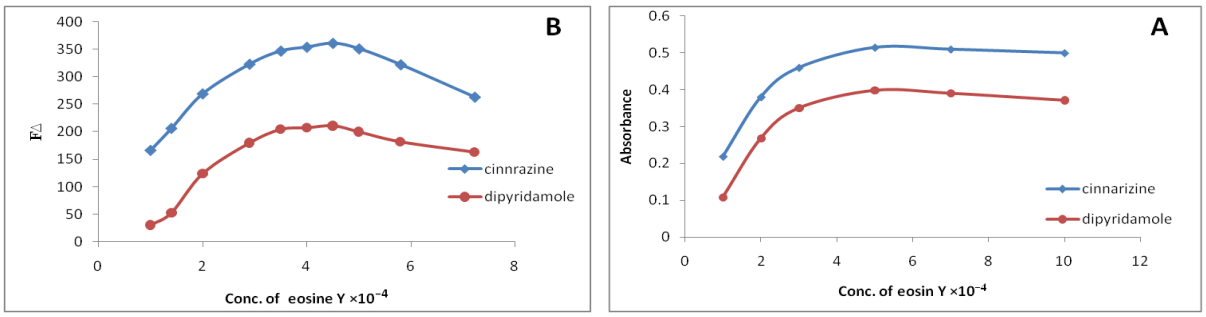
كما تم إضافة حجوم متزايدة (0.25-3.0 مللتر) من محلول الفثالات المنظم أو الخلات المنظم لدراسة تأثيرها في حساسية الطريقة الفلورومترية المطورة, إذ أظهرت نتائج الدراسة في الشكل (4) أن أعلى قيمة لـ ΔF تم الحصول عليها عند اضافة الحجم 1.2 مللتر من الفثالات المنظم عند تقدير السيناريزين والحجم 1.5 مللتر من محلول الخلات المنظم عند تقدير الدايبيريدامول.



الشكل (4) تأثير حجم المحلول المنظم في تقدير السيناريزين والدايبيريداموال

تأثير كمية الايوسين Y

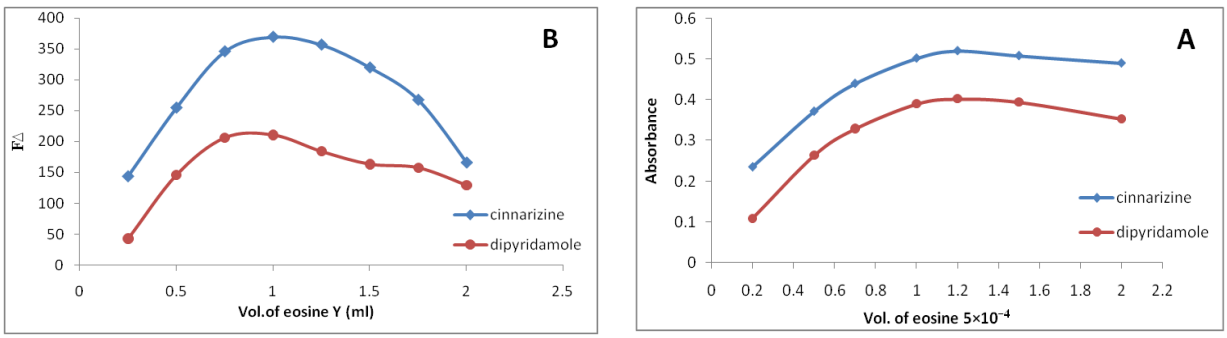
تم تحضير تراكيز مختلفة من صبغة الايوسين Y وتمت مفاعلة 1.0 مللتر من هذه التراكيز مع المركبين الدوائيين (4.0 مايكروغرام/ مللتر) بوجود المحلول المنظم المناسب, وقد تبين من الشكل (A-5) أن التركيز 5×10^{-4} مولاري يعطي أعلى شدة امتصاص للمعقدين الملونين, لذا تم اعتماده عند تقدير السيناريزين و الدايبيريداموال طيفيا. كما اجريت ذات الدراسة في تقدير كلا المركبين الدوائيين فلورومتريا ووجد من النتائج المستحصل عليها من الشكل (B-5) أن التركيز 4.5×10^{-4} مولاري من صبغة الايوسينY الأنسب في الحصول على أعلى قيمة لـ F.



الشكل (5) تأثير تركيز صبغة الايوسينY في تقدير السيناريزين والدايبيريداموال

A: طيفيا B: فلورومتريا

كما تم دراسة تأثير حجوم متزايدة (0.2-2 مللتر) من محلول الايوسين Y بالتركيز المناسب لكل من الطريقة الطيفية والفلورومترية وتبين ان الحجم 1.2 مللتر من الصبغة كان الأمثل لتقدير كلاً من السيناريزين والدايبيريداموال طيفيا و الحجم 1.0 مللتر من محلول الصبغة كان الأمثل للتقدير الفلورومتري للمركبين الدوائيين المدروسين.

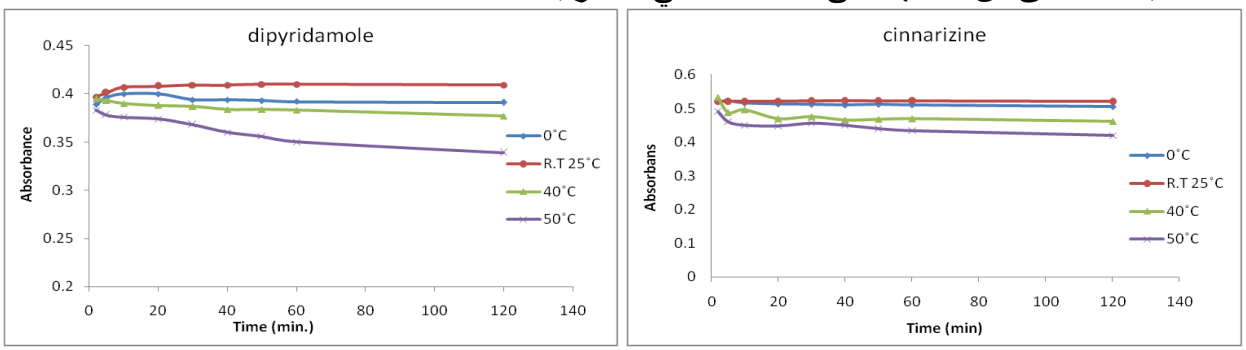


الشكل (6) تأثير حجم محلول صبغة الايوسينY في تقدير السيناريزين والدايبيريداموال

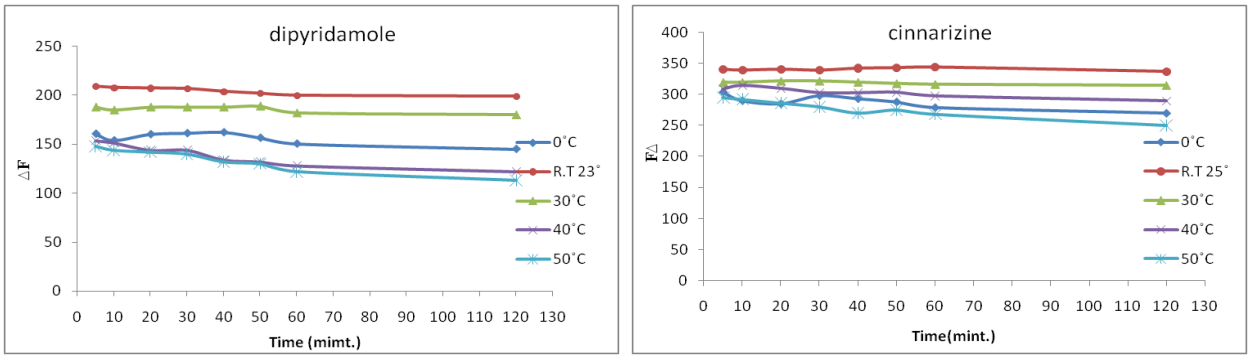
A: طيفيا B: فلورومتريا

تاثير درجة الحرارة في زمن التفاعل واستقرارية الايوسينY

من اجل الحصول على الدرجة الحرارية المثلى التي يتكون عندها معقد المزدوج الايوني بين المركب الدوائي السيناريزين أو الدايبيريدامول وكاشف الايوسينY . تمت دراسة تكوين المعقد في درجات حرارية مختلفة (0- 50 °م) لكلا الطريقتين الطيفية والفلورومترية. وقد أظهرت النتائج في الشكل (7) أن أقصى امتصاص للمعقدين المتكونين عند تقدير المركبين الدوائيين كان عند درجة حرارة المختبر (25 ±2°م) والشكل (8) يوضح ان اعلى قيمة لـ ΔF تم الحصول عليها بعد 5 دقائق من التفاعل وعليه أخذت القياسات عند التقدير الطيفي والفلورومتري بعد 5 دقائق من التخفيف الى حد العلامة في التجارب اللاحقة.



الشكل (7) تأثير درجة الحرارة في شدة امتصاص واستقرارية المعقدين الملونين المتكونين



الشكل (8) تأثير درجة الحرارة في زمن التفاعل و استقرارية صبغة الايوسينY

تأثير تسلسل الإضافة

يبين الجدول(1) تأثير دراسة ثلاثة اختيارات لاضافة المواد المتفاعلة بغية الحصول على أفضل تسلسل عند تقدير السيناريزين والدايبيريدامول بالطريقتين الطيفية والفلورومترية. إذ أشارت النتائج بان التسلسل (I) المتبع في ضبط الظروف المثلى يعطي أفضل النتائج لكلا الطريقتين وعليه اختير في الدراسات اللاحقة لتقدير المركبين الدوائيين.

(S) محلول المركب الدوائي , (R) محلول الايوسينY , (B) المحلول المنظم.

الجدول (1) تأثير تسلسل الاضافة في الطريقتين الطيفية والفلورومترية

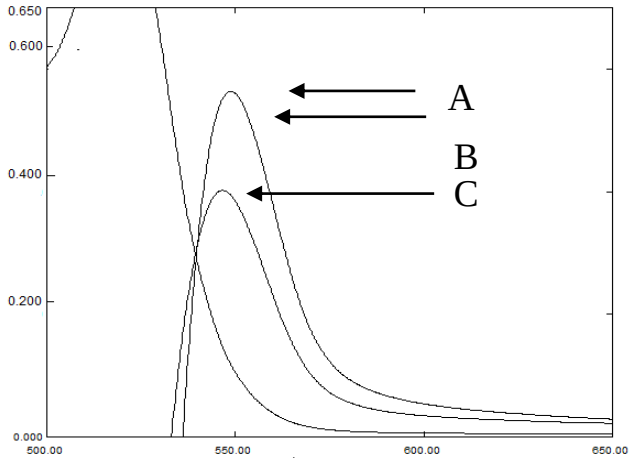
Order number	Reaction components	Absorbance/Drugs		ΔF /Drugs	
		Dipyridamole	Dipyridamole	Cinnarizine	Dipyridamole
I	S+R+B	0.401	0.401	367.5	201.6
II	R+B+S	0.383	0.383	350.3	194.4
III	S+B+R	0.380	0.380	341.2	195.6

الجدول (2) خلاصة الظروف المثلى

Experimental conditions	Spectrophotometric method		Fluorometric methd	
	Cinnarizine	Dipyridamole	Cinnarizine	Dipyridamole
λ_{max} (nm)	550	547	λ_{ex} (nm) 350 λ_{em} (nm) 553	λ_{ex} (nm) 350 λ_{em} (nm) 355
Colour	Red	Red	Red	Red
Buffer type	Phthalate buffer pH 3.5	Citrate buffer pH 3.0	Phthalate buffer pH 4.5	Acetate buffer pH 3.8
Buffer amount(ml)	0.7	1.0	1.2	1.5
Molarity of eosinY	5×10^{-4}	5×10^{-4}	4.5×10^{-4}	4.5×10^{-4}
Eosin Y amount (ml)	1.2	1.2	1.0	1.0
Standing time (min)	5	5	5	5
Stability period (h)	24	24	2	2

اطياف الامتصاص والتفلور النهائية

تم رسم اطياف الامتصاص والتفلور النهائيين لكل من السيناريزين والدايبيريدامول بعد تثبيت الظروف المثلى للتفاعل وذلك بإضافة الكميات المثلى من محلول الايوسينY والمحلول المنظم المناسب لكل مركب دوائي بالطريقتين الطيفية والفلورومترية في قنينة حجمية سعة 10 مللتر واكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة ,إذ يبين الشكل (9) أن أقصى امتصاص لمعقدي المزدوج الايوني عند تقدير السيناريزين والدايبيريدامول كانا عند الطولين الموجيين 550 و 547 نانوميتر على التوالي والشكل (10) يمثل اطياف الاثارة والانبعاث النهائية لتقدير السينارزين والدايبيريدامول عند 553 نانوميتر بطول موجة إثارة 350.

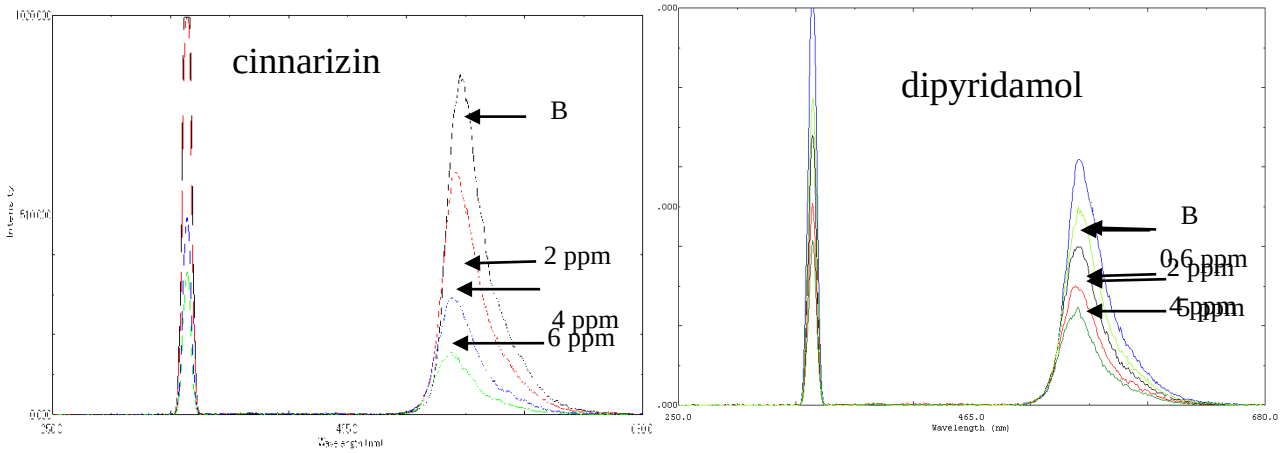


الشكل(9) اطياف امتصاص

A:محلول معقد السيناريزين (4 مايكروغرام/مللتر) والايوسينY في وسط الفثالات المنظم مقابل المحلول الصوري

B:محلول معقد الدايبيريدامول (4 مايكروغرام/مللتر) والايوسينY وسط السترات المنظم مقابل المحلول الصوري

C:المحلول الصوري مقابل الماء المقطر



الشكل (10) أطياف الانبعاث لتقدير السينارزين والدايبيريدامول وبتراكيز مختلفة ويمثل B طيف الانبعاث من دون اضافة المركب الدوائي .

القيم الاحصائية وحساسية الطريقتين الطيفية والفلورومترية

يضم الجدول (3) و(4) القيم الاحصائية للمنحنيين القياسيين للسيناريزين والدايبيريدامول وحساسية الطريقتين الطيفية والفلورومترية على التوالي والتي تشير الى الحساسية العالية للطريقتين.

الجدول (3) القيم التحليلية الاحصائية للمنحنيات القياسية والامتصاصية المولارية وحدود الكشف والتقدير الكمي في تقدير السيناريزين والدايبيريدامول للطريقة الطيفية

Parameters	Value	
	Cinnarizine	Dipyridamole
Linearity range (µg/ ml)	0.1-8	0.1-7
Intercept	-0.56×10^{-3}	17.15×10^{-3}
Slope	0.1262	0.0971
Correlation coefficient (R^2)	0.9993	0.9994
Standard deviation of the intercept	4.21×10^{-3}	4.00×10^{-3}
Standard deviation of the slope	8.55×10^{-3}	1.07×10^{-3}
Molar absorptivity ($l.\ mol^{-1}.cm^{-1}$)	4.65×10^{4}	4.90×10^{4}
LOD*(µg/ml) (3σ/s)	0.034	0.035
LOQ*(µg/ml) (10σ/s)	0.114	0.119

*Average of ten determinations of blank

الجدول (4) القيم التحليلية للمعالجات الاحصائية للمنحنيات القياسية وحدود الكشف والتقدير الكمي عند لتقدير السيناريزين والدايبيريدامول للطريقة الفلورومترية

Parameters	Value	
	Cinnarizine	Dipyridamole
Linearity range (µg/ ml)	0.05-5.2	0.1-5.0
Intercept	111.79	68.53
Slope	125.22	63.85
Correlation coefficient (R^2)	0.9985	0.9981
Standard deviation of the intercept	4.253	2.291
Standard deviation of the slope	1.527	0.839
LOD*(µg/ml) $3\sigma C_{low}/\bar{X}$	0.030	0.071
LOQ*(µg/ml) $10\sigma C_{low}/\bar{X}$	0.058	0.101

*Average of ten determination of C_{low} of drug

دقة الطريقة وتوافقها

لمعرفة دقة الطريقة وتوافقها تم احتساب نسب الاسترجاع والانحراف القياسي النسبي باستخدام أربعة تراكيز مختلفة لكل مركب دوائي اذ تشير النتائج المدونة في الجدول (5) أن الطريقتين ذات دقة وتوافق جيدين.

الجدول (5) دقة الطريقة وتوافقها لتقدير السيناريزين والدايبيريدامول

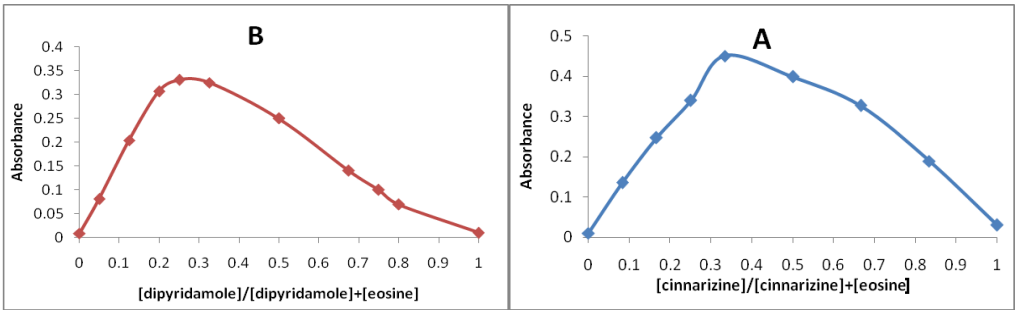
Drug Spectrophotometric method	Amount added (µg/ml)	Recovery* (%)	Average of recovery (%)	RSD* (%)
Cinnarizine	1	104.25	101.95	2.704
	2	103.02		1.086
	4	100.51		0.903
	6	100.00		0.603
Dipyridamole	1	101.05	99.78	3.802
	2	99.63		1.516
	4	100.00		1.007
	6	98.44		0.782
Spectrofluorometric method				
Cinnarizine	0.1	100.37	100.08	1.291
	0.5	99.31		1.345
	2	99.88		0.689
	4	100.75		0.435
Dipyridamole	0.1	96.00	98.81	3.67
	0.5	99.28		1.35
	2	99.82		0.974
	4	100.15		0.557

*Average of five determinations

دراسة طبيعة الناتج والتفاعل الكيميائي المقترح

طبقت طريقة التغييرات المستمرة [29] لمعقد المزدوج الايوني المتكون بين السيناريزين و الايوسينY عند القياس الطيفي بحيث يكون:

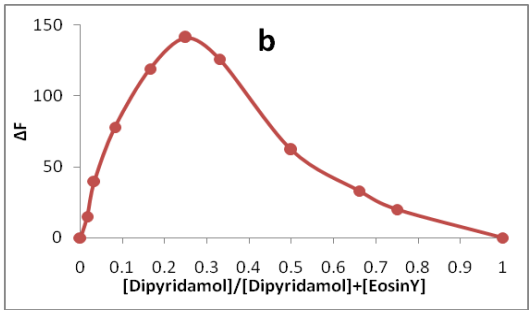
- الحجم الكلي لمحلول السيناريزين والكاشف ايوسينY هو 6 مللتر بتركيز 5×10^{-5}مولاري لكلٍ منهما في حجم نهائي 10 مللتر.
- الحجم الكلي لمحلول الدايبيريدامول وايوسينY هو 4 مللتر بتركيز 1×10^{-4}مولاري لكلٍ منهما في حجم نهائي 10 مللتر.



الشكل (11) رسم التغييرات المستمرة A:السيناريزين B: الدايبيريدامول

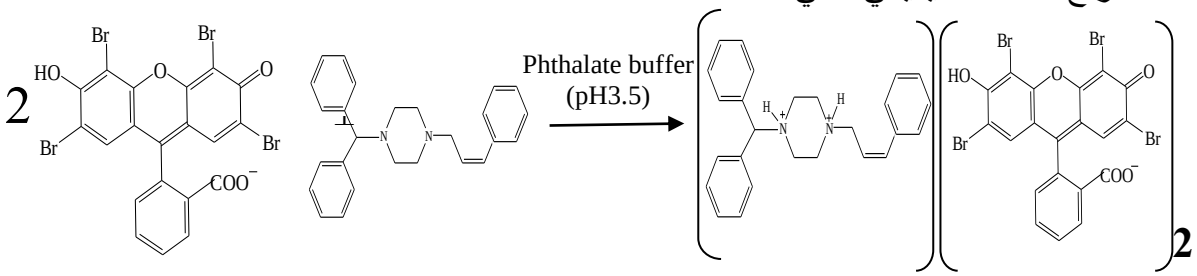
ويبين الشكل (12) رسم التغييرات المستمرة للطريقة الفلورومترية لتخفيفين من المحاليل بحيث يكون:

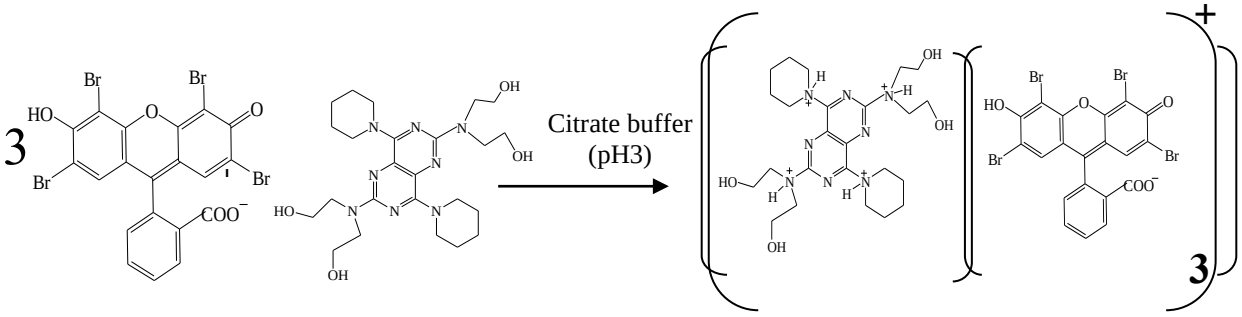
- الحجم الكلي لمحلول السيناريزين و الايوسينY 6 مللتر بتركيز 5×10^{-5}مولاري لكلٍ منهما في حجم نهائي 10 مللتر.
- الحجم الكلي لمحلول الدايبيريدامول والايوسينY 3 مللتر بتركيز 1×10^{-4}مولاري لكلٍ منهما في حجم نهائي 10 مللتر.



الشكل (12) رسم التغييرات المستمرة a: للسيناريزين b: الدايبيريدامول.

وتشير النتائج في الشكلين و (11) و(12) ان النسبة المولية للمعقدين هي 2:1 (سيناريزين: ايوسينY) و 3:1 (دايبيريدامول: ايوسينY) وبناءاً على النتائج المستحصلة من هذه الدراسة تم اقتراح التفاعل الكيميائي الاتي:





بلغ معدل ثابت الاستقرار للمعقدين المتكونين 7.81×10^{10} لتر^2.مول$^{-2}$ و 5.28×10^{16} لتر^3.مول$^{-3}$ عند تقدير السيناريزين والدايبيريدامول طيفياً وهذا يؤكد الاستقرار العالي للمعقدين.

تأثير المتداخلات

من اجل التأكد من انتقائية الطريقة المطورة وإمكانية تطبيقها على عينات مختلفة ولاسيما المستحضرات الصيدلانية , تمت دراسة تأثير مواد السواغ و الاملاح , إذ تمت اضافة زيادة من هذه المواد انفرادياً الى 40 او 20 مايكروغرام/10مللترمن محلول الدايبيريدامول بوصفه أنموذجا وباتباع الظروف المثلى للتقدير في الطرقتين الطيفية والفلورومترية اذ تبين عدم وجود تداخل من قبل مواد السواغ والاملاح لكلا الطريقتين (الجدول 6).

الجدول (6) تأثير المتداخلات

Foreign compound	Recovery (%) of 40 µg dipyridamole per µg of foreign compound added		
	100	500	1000
Acacia	99.80	99.20	97.80
Glucose	98.40	97.21	99.81
Lactose	99.40	100.39	99.20
Sucrose	100.00	100.39	100.99
Starch	100.39	99.60	98.60
Sodium chloride	99.80	99.40	99.80
Potassium chloride	100.00	100.19	100.99

تطبيق الطريقتين في تقدير السيناريزين والدايبيريدامول في مستحضراتهما الصيدلانية

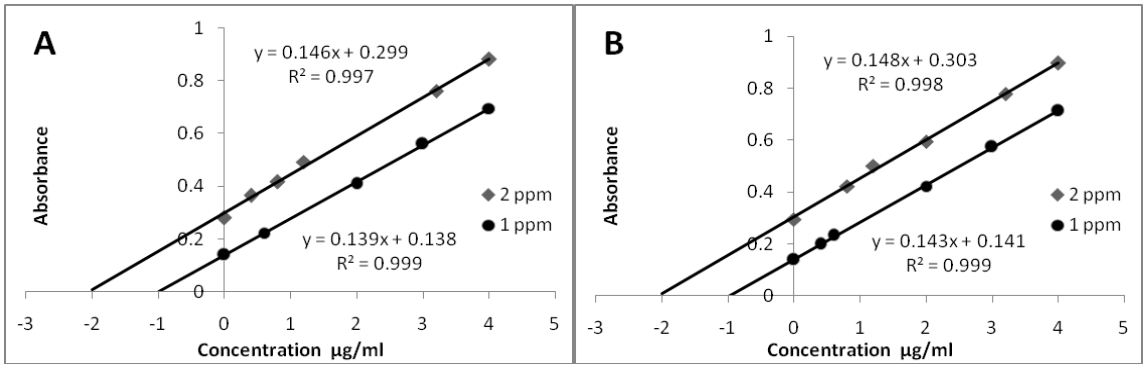
طبقت الطريقتين المطورتين لتقدير المركبين الدوائيين السيناريزين والدايبيريدامول في مستحضراتهما الصيدلانية والتي كانت بشكل حبوب ومن مناشئ مختلفة اذ تبين النتائج المدونة في الجدول (7) ان الطريقتين المقترحتين في تقدير المركبين الدوائيين المدروسين ذات دقة عالية ومتفقة على نحو جيد مع المحتوى الأصيل للسيناريزين والدايبيريدامول في المستحضرات الصيدلانية.

الجدول (7) تقدير السيناريزين وادايبيريدامول في المستحضرات الصيدلانية

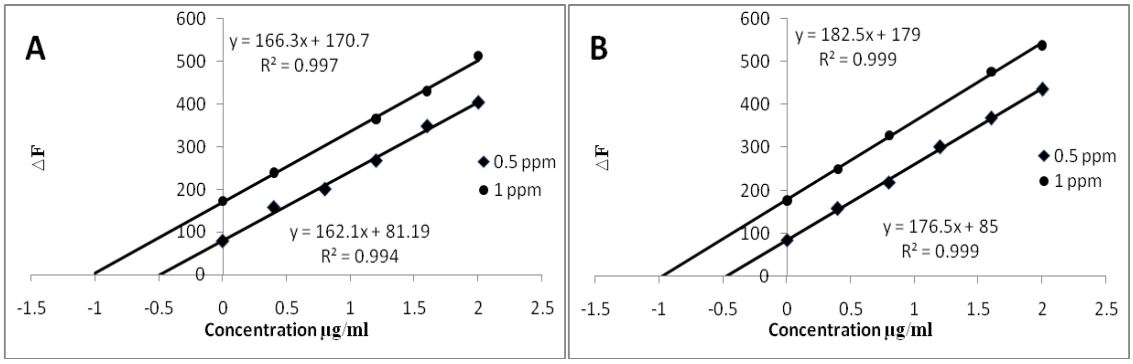
Pharmaceutical preparation	Certified value (mg)	Amount taken (µg/ml)	Drug content found* (mg)	Recovery* (%)	Drug content found* (mg)	Recovery* (%)
Cinnarizine			**Spectrophotometric method**		**Flurometric method**	
Cinnarizine 25 Syria	25	1	24.35	97.40	24.98	99.90
		2	24.82	99.28	25.55	102.18
		4	24.80	99.20	25.21	100.84
Stugeron Belgium	25	1	25.36	101.44	25.01	100.02
		2	25.49	101.96	25.05	100.20
		4	25.25	101.00	25.10	100.40
dipyridamole						
Antiplate Yamane	75	1	76.39	101.85	75.69	100.92
		2	77.20	102.93	74.67	99.56
		4	75.78	101.04	76.40	101.86
Elsantin Syria	75	1	75.00	100.00	74.98	99.97
		2	76.22	101.63	75.09	100.12
		4	74.85	99.80	75.64	100.85

تقييم نتائج الطريقة المقترحة

لإثبات كفاءة الطريقتين الطيفية والفلورومترية ونجاحهما في تقدير السيناريزين والدايبيريدامول وخلوهما من تداخلات المضافات في مستحضراتهما الصيدلانية فقد طبقت طريقة الاضافة القياسية لتقدير السيناريزين في مستحضراته الصيدلانية. إذ يمكن الاستدلال من النتائج المستحصلة في الشكلين (13) و (14) أن طريقة الإضافة القياسية متفقة بشكل جيد مع الطريقة المقترحة ضمن المدى المقبول للخطأ ±5% مما يدل على ان الطريقة المقترحة ذات انتقائية بشكل مرضٍ.



الشكل (13) منحنيات الاضافة القياسية لتقدير السيناريزين طيفياً في مستحضراته الصيدلانية للتراكيز 1 و2 مايكروغرام/مللتر للاقراص ذات المنشأ A: السوري B : البلجيكي



الشكل (14) منحنيات الاضافة القياسية لتقدير السيناريزين فلورومترياً في مستحضراته الصيدلانية للتراكيز 0.5 و1 مايكروغرام/مللتر للأقراص ذات المنشأ A: السوري B : البلجيكي

كما طبقت الطريقة الطيفية القياسية الوارد ذكرها في دستور الأدوية البريطاني لتقدير الدايبيريدامول وأجريت مقارنة وتقييم إحصائي بين الطريقتين التحليليتين المقترحتين لتقدير الدايبيريدامول في مستحضراته الصيدلانية والطريقة القياسية لمعرفة مدى دقة وصلاحية التطبيق التحليلي للطريقتين المقترحتين باستخدام اختباري t و F عند مستوى ثقة 95% وأدرجت النتائج في الجدول (8) والتي تشير الى أن قيمة t التجريبية اقل من قيمة t الجدولية البالغة 2.45 ولستة درجات حرية وهذا يؤكد أن الطريقتين لا تختلفان في المصداقية وصلاحية التطبيق على المستحضرات الصيدلانية. كما وجد أن قيمة F التجريبية اقل من قيمتها الجدولية 9.28 ولثلاث درجات حرية, لذا يمكن أن نحكم بأنه لا يوجد فرق واضح بين دقة الطريقتين وان الانحراف القياسي للطريقتين ناتج عن أخطاء عشوائية . وبهذا تكون الطريقتين المقترحتين في تقدير الدايبيريدامول ذات مصداقية جيدة.

الجدول (8) مقارنة دقة الطريقتين المقترحتين الطيفية والفلورومترية لتقدير الدايبيريدامول في المستحضرات الصيدلانية مع الطريقة القياسية المعتمدة

Pharmaceutical preparation	Recovery* (%) Spectrophotometric method				Recovery* (%) Flurometric method			
	Present method	Standard method[2]	t-test	F-test	Present method	Standard method[2]	t-test	F-test
Antiplate Yamane	101.85	100.62	0.345	6.58	99.43	100.62	1.24	5.80
	102.93	101.54			100.92	101.54		
	101.04	101.08			99.56	101.08		
	100.00	101.69			101.87	101.69		
Elsantin Syria	100.00	101.23	0.670	2.85	99.49	101.23	1.77	1.34
	101.63	100.15			99.97	100.15		
	99.80	101.07			100.12	101.07		
	100.36	100.61			100.85	100.61		

*Average of four determinations

الاستنتاج

طورت طريقتين طيفية وفلورومترية لتقدير السيناريزين والدايبيريدامول من خلال تكوين معقدي التجمع الايوني مع كاشف الايوسين Y في محلول منظم اذ اتفقت الطريقتان في الحساسية والدقة والتوافقية والسرعة في التقدير وعدم الحاجة الى خطوة استخلاص مسبقة للمعقدين مقارنة مع الطرائق الطيفية التي تعتمد على المبدأ ذاته , فضلا عن نجاح الطريقتين في التحليل الدوائي لكلا المركبين في مستحضراتهما الصيدلانية باسترجاعية وانتقائية جيدين

المصادر

1) J. E. F. Reynolds (1999) 32th Edn. The Pharmaceutical Press, London, pp 406.
2) "British Pharmacopeia on CD-ROM"(2007), 5thEdne., system Simulation Lted. The Stationery Office, London.
3) E. A. Swinzard (1985), Mark Publishing Company, pp 1309.
4) K. P. Minneman, L. Wecker, J. Larner and T. M. Brody (1998), 4th Edn, Elsevier Mosey, Philadelphia, pp 302.
5) M.A.Mohammad (2004), Bull Fac. Pharm. Cairo Univ., 42, 27- 39.
6) M. H. Devagondanahalli, S. T. Shaikh and S. Jaldappagari (2007), J. Chin. Chem. Soc., 54, 63- 68.
7) Y. M. Issa, A. A. Youssef, w. f. Al-Hawary and E. A. Abdel-Gharrar (2013), Eur. Chem. Bull., 2, 507-515.
8) S. I. M. A. Zayed (2010), ", J. Anal. Chem. ,65, 943- 949.
9) P. B. Shah and P. U. Patel (2012), J. Pharm. Sci. Bio. Res., 2, 83- 87.
10) M. I. Walash, F. Belal, N. El-Enany and A. A. Abdelal (2008), J. Fluorescence, 18,61- 74.
11) A. Townshend, N. Youngvises and R. A. Wheatley (2003), Anal. Chimca. Acta.,499,223- 233.
12) R. N. Hegde, R. R. Hosamani and S. T. Nandibewoor (2009) Colloids Surf B Biointerfaces, 72, 259- 265.
13) G. O. El-Sayed, S, A. Yasin and A. A. El- Badawy (2008), Anal. Lett., 41, 3021- 3033.
14) A. A. Abdelal, S. Kitagawa, H. Ohtani and N. El-Enany (2008), J. Pharm. Biomed. Anal., 46, 491- 497.
15) H. N. Krukowska, M. Rakowska, K. Neubart and M. Kobylinska (2007), Acta. Polonius Pharm.- Drug Res., 63, 407- 711.
16) A.A. Heda, A. R. Sonawane, G.H. Naranje and P. K. Puranic (2010), J. Chem., 7, 1080- 1084.
17) A. F. Shoukry, N. T. Abdel ghani, Y. M. Issa and O. A. Wahdan (2007), Anal. Lett., 34, 1689- 1701.
18) L. H. Kan and L. S. Yun (2005), Phys. Test. Chem. Anal. B Chem. Anal. ,41, 349- 350.
19) P. Umapathi, P. Parimoo, S.K. Thomas and V. Agarwal (1997), J.Pharm.Biomed.Anal.,15, 1703- 1708.
20) G. Zhu, H. Ju and H. Zheng (2004), ", Clin. Chim. Acta., 348, 101- 106.
21) A. S.Castillo , A. Carretero ,A. F. Gutiérrez (2003), Anl. Bioanal. Chem., 376, 1111- 1114.
22) Z. Rao , W. Zhang, Q. Li, G. Xie and H. Yang (2004), Gung Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi, 24, 278- 280.

23) L.Wang Y. Tang (2011), Luminescence, 26, 703- 709.
24) T. Qin, F. Qin, N. Li, S. Lu, W. Liu and F. Li (2010), Biomed. Chromatogr. BMS,24,268- 273.
25) Y. Yun, C. L. Geng and Y. Libo (2009), Practical Pharm. Clin. Remedies, 12, 416- 417.
26) K. Prakash, R. R. Kalakuntla and J. R. Sama (2011), Int. J. Pharm.& Pharm., 5, 244- 251.
27) A. P. Rajput and M. C. Sonanis (2011), Int. J. Pharm. & Pharm. Sci., 3, 156- 160.
28) D. D. Perrin and B. Dempsey (1974), 1st Edn ,Chapman and Hall Ltd, London, pp 128-139.
29) R. Delevie (1997), McGraw-Hill International Edition, Singapora. pp 498.