

طريقة طيفية لتقدير البروميثازين هيدروكلوريد في المستحضرات الصيدلانية بالاقتران التأكسدي مع الكاشف 2-كلوروانيلين بوجود N-بروموسكسينيميد

محمد سالم عبدالعزيز¹ وشيماء سعود صبري²
جامعة تكريت، كلية التربية للبنات، قسم الكيمياء (1:2)

الخلاصة

تطوير طريقة طيفية بسيطة ودقيقة وحساسة لتقدير كميات ضئيلة من البروميثازين هيدروكلوريد بشكله النقي وفي مستحضراتها الصيدلانية في الوسط المائي. إذ اعتمدت الطريقة على تفاعلات الاقتران التأكسدي ويتم ذلك بأكسدة العقار بواسطة N-بروموسكسينيميد حيث يتكون ناتج أحمر اللون سرعان ما يتحول إلى اللون الاخضر عند اقترانه مع الكاشف 2-كلوروانيلين في الوسط الحامضي، ويعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي 595 نانومتر وبلغ معامل التقدير 0.9974 ويتبع قانون بير في مدى من التراكيز بين 4-24 مكغم/مل، والامتصاصية المولارية تساوي 7765.78 لتر/مول.سم ودلالة ساندل 0.04132 مكغم/سم²، ومعدل الاسترجاعية 99.837%، وحد الكشف 0.0435 مكغم/مل، والانحراف القياسي النسبي لايتجاوز 2.185%. الطريقة المقترحة ذات صلاحية تطبيق جيدة على المستحضرات الصيدلانية.
الكلمات المفتاحية: التقدير الطيفي، الاقتران التأكسدي، البروميثازين هيدروكلوريد، 2-كلوروانيلين.

Spectrophotometric Method for Determination of promethazine Hydrochloride in Pharmaceutical formulation Based on coupling with 2-chloroaniline in Presence of N-BromoSuccinimide

Mohammad Salim Abdulaziz* and Shymaa Saud Sabri*

*Department of Chemistry, College of Education for Women, Tikrit University, Tikrit, Iraq.

Abstract

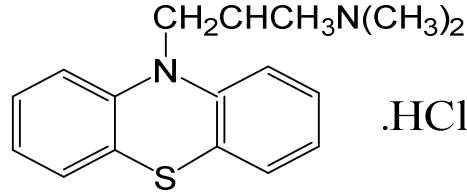
A simple, rapid and sensitive spectrophotometric method for determination of trace amounts of Promethazine hydrochloric in aqueous solution is described. The method is based on using the oxidative coupling reaction of Promethazine hydrochloride with 2-Chloroaniline reagent in acid medium in the presence of N-bromoSuccinimide. The red color product is quickly converted to green colour, water soluble, the product which exhibit maximum absorbance at 595 nm, coefficient of determination 0.9974 Beer's law is obeyed over concentration range of (4-24µg/ml), with a molar absorptivity 7765.78 l/mol.cm, Sandal index of 0.04132 µg/cm². The average recovery is 99.837% and Detection Limit (D.L) of 0.0435µg/ml, relative standard deviation does not exceed 2.185%, The proposed method was applied successfully for determination of PMZH in its pharmaceutical formulations.

1-المقدمة

البروميثيازين هيدروكلورايد اسمه العلمي:

(N,N-Dimethyl-1-(10H-phenothiazin-10-yl)propan-2-amine hydrochloride)

صيغته التركيبية هي (1):



M.wt=320.9 g/mol

يُعد البروميثيازين هيدروكلورايد من ضمن المشتقات الفينوثيازينات (وهو الجيل الاول من مضادات الهستامين H1)⁽²⁾. له تأثير منوم ومضاد للتقي بعد العمليات الجراحية، واهم استخداماته لعلاج اعراض الحساسية في الجهاز التنفسي وسيلان الانف والعطاس وكذلك يستخدم لإزالة الارق والمساعدة على النوم كذلك يجب استخدامه بحذر للمرضى الذين يعانون من تضخم الغدة الدرقية، وامراض القلب، وخلل الوظيفة الكبدية⁽³⁾، الاعراض الجانبية للعقار في الجهاز العصبي المركزي (دوخة- هدوء- نعاس-ارتباك- دوار) وفي الجهاز القلب الوعائي (ارتفاع او انخفاض ضغط الدم -الاعماء- تباطؤ في دقات القلب) وفي الجهاز الهضمي (جفاف الفم)⁽⁴⁾، من الصفات الفيزيائية للبروميثيازين هيدروكلورايد هو عبارة عن مادة بيضاء سريعة الذوبان في الماء والكحول والكلوروفورم وعديم الرائحة ويذوب بصعوبة في الاسيتون والايثر ويتحول الى اللون الازرق اذا تعرض للهواء او الرطوبة ولفترة طويلة ويبلغ اعظم امتصاص لمحلوله المائي عند الطول الموجي 249-297 نانوميتر⁽⁵⁾. يتواجد العقار في المستحضرات الصيدلانية بأشكال حقن، شراب وحبوب بأسماء تجارية حسب الدول المنتجة⁽⁶⁾.

الدول المنتجة	المستحضر الصيدلاني
Poland	Diphergan
Brazil,Portugal	Fenergan
Belgium,France	Phenergan
Spain	Firnova
Hungary	Piplehen

الأهمية العقار الطبية تم تقديره بالعديد من الطرائق التحليلية المختلفة مثل تقنية الكروماتوغرافيا السائل ذات الاداء العالي⁽⁷⁻⁹⁾ HPLC، الطيفية⁽¹⁰⁻¹⁷⁾، الحقن الجرياني⁽¹⁸⁻²⁰⁾، الكهربية⁽²¹⁻²²⁾ والفولتامترية⁽²³⁾.

2-الهدف من البحث: تطوير طريقة طيفية لتقدير البروميثيازين بطريقة الاقتران التأكسدي مـ الكاشف 2-كلوروانيلين وتطبيق الطريقة المقترحة على المستحضرات الصيدلانية.

3-الجزء العملي

الاجهزة المستخدمة

أستخدمت الاجهزة التالية: جهاز مطياف مزدوج الحزمة (Shimadzu UV-1800 Double beam Spectrophotometer)-ياباني، في قياس الامتصاصية مـ خلية زجاجية ذات عرض 1سم. ميزان حساس (Sartorius BL210S)-الماني، pH meter 3310 (Jenway)-الماني، وحمام مائي(Clifton)- امريكي.

الكواشف والمواد الكيميائية المستخدمة:

كانت المواد الكيميائية والكواشف على درجة عالية من النقاوة، من شركات SDI, BDH , Fluka. وأستخدم الماء المقطر في كل التحضيرات.

* محلول البروميثيازين هيدروكلوريد القياسي مايكروغرام $1000\mu\text{g/ml}$ ($3.11 \times 10^{-3}\text{M}$)

خُضر بإذابة 0.1000 غم من مسحوق بروميثيازين هيدروكلوريد في كمية من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100مل بالمذيب نفسه وحفظ في قنينة معتمة بعيدة عن الضوء الشمس ويرمز له (PMZH).

* محلول البروميثازين هيدروكلوريد $500\mu\text{g/ml}$ ($1.55 \times 10^{-3}\text{M}$) تم تحضير هذا المحلول بأخذ 50 مل من المحلول القياسي وتخفيفه في قنينة حجمية سعة 100 مل واكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر.

* محلول العامل المؤكسد N-Bromosuccinimide ($1 \times 10^{-2}\text{M}$) حُضِر بإذابة 0.1779 غم من مسحوق N-بروموسكسينيميد في 2 مل من الاسيتون لأنه لا يذوب في الماء ثم اكمل الحجم الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مل بالمذيب نفسه وحفظ في قنينة معتمة بعيدة عن الضوء، ويرمز له NBS.

* محلول 2-كلوروانيلين ($5 \times 10^{-3}\text{M}$) حُضِر بإذابة 0.064 غم من مسحوق 2-كلوروانيلين في 2.0 مل من ايثانول مـ^١ التسخين قليلا ثم اكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مل.

* محلول المستحضرات الصيدلانية ($500\mu\text{g/ml}$) يوجد هذا المستحضر (Ampoules promethazine oubari –oubari pharam –syria) بشكل حقن تحتوي على 50 ملغم من البروميثازين هيدروكلوريد حيث يتم تفريغ الحقنه في قنينة حجمية سعة 100 مل وتخفيفها بالماء المقطر لحد العلامة للحصول على تركيز $500\mu\text{g/ml}$.

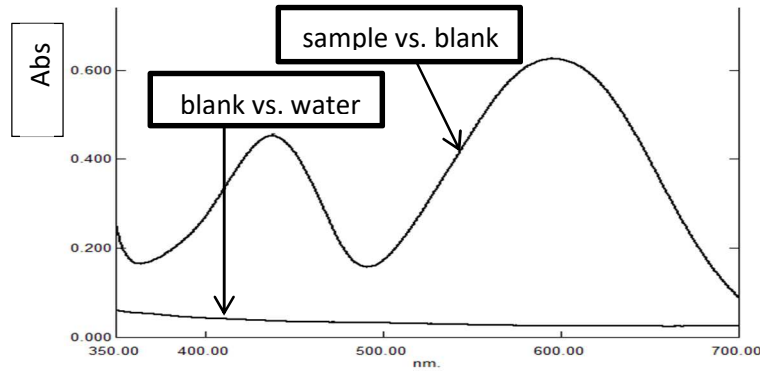
4-النتائج والمناقشة

المبدأ العام للطريقة

مبدأ الطريقة هو اقتران البروميثازين هيدروكلوريد بالكاشف 2-كلوروانيلين بوجود العامل المؤكسد N-بروموسكسينيميد في وسط حامضي إذ يتكون ناتج الأكسدة محلول ذو أحمر اللون وهو عبارة عن جذور حرة سرعان ما يتحول إلى اللون الأخضر، يُعطي أعلى إمتصاص عند الطول الموجي 595 نانومتر.

الاختبارات الاولية

لوحظ عند إضافة 1.0 مل NBS ($1 \times 10^{-2}\text{M}$) إلى 1.0 مل من PMZH بتركيز 500 مايكروغم/مل ثم إضافة 1.0 مل من محلول كاشف 2-كلوروانيلين بتركيز (5×10^{-3} مولاري) بوجود حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1.0 مولاري يتكون ناتج أخضر اللون وتم قياس الامتصاص (بعد أن اكمل الحجم في قنينة حجمية سعة 25 مل بالماء المقطر) مقابل المحلول الصوري وجد أنه أعطى أعلى امتصاص عند الطول الموجي 595 نانومتر في حين أن المحلول الصوري لم يُعطِ امتصاص عند هذه المنطقة الشكل رقم (1).



الشكل رقم (1) طيف الاختبارات الاولية

دراسة ظروف التفاعل المثلى لتقدير البروميثازين هيدروكلوريد

اختيار أفضل كاشف اقتران

تم استخدام عدد من الكواشف الكيميائية ككواشف اقتران بتركيز (5×10^{-3} مولاري) وبحجم 1.0 مل لتقدير البروميثازين هيدروكلوريد بتركيز 500 مكغم/مل وبوجود 1.0 مل من محلول العامل المؤكسد NBS ذي التركيز (1×10^{-2} مولاري) في وسط حامضي (1.0 مل بتركيز 1 مولاري HCl) في قنينة حجمية سعة 25 مل ثم اكمل

الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة وتم قياس الامتصاص لكل نموذج مقابل محلوله الصوري في مدى من الطول الموجي 300-700 نانومتر، والنتائج في الجدول رقم (2) يثبت أن 2-كلوروأنيولين هو أفضل كاشف، لأنه أعطى أعلى امتصاص عند الطول الموجي 595 نانومتر لذلك تم اعتماده في التجارب اللاحقة.

الجدول رقم (2) اختيار أفضل كاشف اقتران

NO	Reagent, $5 \times 10^{-3}M$	Var.	λ_{max} (nm)	Abs.	ϵ , l/mole.cm
1	2-choloraniline	SB	595.00	0.625	10027.27
		BW	307.00	0.277	
2	Acetanilide	SB	517.00	0.160	2566.982
		BW	-----	-----	
3	3-Aminopyridine	SB	533.50	0.425	6818.546
		BW	313.50	0.186	

اختيار أفضل عامل مؤكسد

تمت هذه الدراسة بإضافة 1.0 مل من العوامل المؤكسدة ذي التركيز (1×10^{-2} مولاري) إلى 1.0 مل من محلول PMZH وإضافة 1.0 مل من الكاشف 2-كلوروأنيولين إليها ذي التركيز (5×10^{-3} مولاري) وإضافة 1.0 مل من حامض HCl بتركيز 1 مولاري في قنينة حجمية سعة 25 مل، ثم أكمل الحجم بالماء المقطر إلى حد العلامة وتم قياس الامتصاص عند الطول الموجي 595 نانومتر ومن النتائج المدونة في الجدول رقم (3) يتبين ان NBS أعطى أعلى امتصاص.

الجدول رقم (3) اختيار أفضل عامل مؤكسد

NO	Oxidizing agent, $1 \times 10^{-2}M$	Var.	λ_{max}	Abs.	ϵ , l/mole.cm
1	N-Bromosuccinimide	SB	595	0.625	10027.27
		BW	304	0.278	
2	Potassium Iodate	SB	598	0.560	8984.43
		BW	---	-----	
3	Cerium(IV) sulfate	SB	494.50	0.390	6257.01
		BW	461	0.115	

تأثير نوع المذيب

تمت هذه الدراسة بأخذ ثلاث قناني ذات حجم 25 مل بوضع لكل منها 1.0 مل من محلول PMZH ذي التركيز 500 مكغم/مل وإضافة 1.0 مل من محلول NBS ذي التركيز (1×10^{-2} مولاري) ثم إضافة 1.0 مل من محلول كاشف 2-كلوروأنيولين ذي التركيز (5×10^{-3} مولاري) و 1.0 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1.0 مولاري وأكمل الحجم بمذيبات مختلفة الى حد العلامة، وتم قياس الامتصاص لهذه المحاليل مقابل محاليلها الصورية والنتائج في الجدول رقم (4) يبين ان الماء أعطى أعلى قيمة للامتصاص.

الجدول رقم (4) تأثير نوع المذيب

Solvent	Water	Acetone	Ethanol
Abso	0.626	0.536	0.23

تأثير نوع الحامض

تمت هذه الدراسة باستخدام تراكيز مختلفة تتراوح من (1-0.1 مولاري) من أحماض قوية وضعيفة لمعرفة مدى تأثير نوع الحامض وتركيزه على امتصاص الناتج الملون واختيار أفضل حامض وأفضل تركيز إذ يتم

إضافتها بتسلسل إلى قناني حجمية سعة 25مل تحتوي 1.0مل من PMZH بتركيز 500 مكغم/مل، و1.0مل من 2-كلوروأنيولين و1.0مل من NBS ثم أكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة وتم قياس الامتصاص عند الطول الموجي 595 نانومتر مقابل المحلول الصوري ويتبين من النتائج المدونة في الجدول رقم (5) أدناه أن أعلى امتصاص (0.625) كان عند استخدام حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1.0مولاري لذلك تم اعتماده في التجارب اللاحقة.

الجدول رقم (5) تأثير نوع الحامض على امتصاص الناتج الملون

1ml of acid	Abso.		
	1.0M	0.5 M	0.1 M
HCl	0.625	0.611	0.525
H ₂ SO ₄	0.566	0.599	0.589
CH ₃ COOH	0.585	0.575	0.546

تأثير كمية الحامض

بعد تثبيت تركيز حامض الهيدروكلوريك 1.0مولاري كأفضل حامض، تم دراسة الدالة الحامضية بإضافة أحجام مختلفة من الحامض إلى قناني حجمية سعة 25مل تحتوي على 1.0مل من العقار PMZH بتركيز (5×10^{-3} مولاري) و1.0مل NBS بتركيز (1×10^{-2} مولاري) 1.0مل من الكاشف 2-كلوروأنيولين بتركيز (5×10^{-3} مولاري) و1.0مل من HCl بتركيز 1.0مولاري ثم أكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة وقياس الامتصاص عند الطول الموجي 595 نانومتر، والنتائج كما موضح في الجدول رقم (6) عند استخدام 1.0مل من HCl بتركيز 1مولاري إذ يُعطي أعلى للامتصاص.

الجدول رقم (6) تأثير كمية الحامض

ml of 1M HCl	Without	0.3	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Abs.	0.451	0.557	0.595	0.626	0.554	0.530	0.512	0.507

تأثير كمية العامل المؤكسد

تمت الدراسة تأثير عامل المؤكسد N-بروموسكسنيמיד بتركيز (1×10^{-2} مولاري) من خلال إضافة احجام مختلفة تتراوح (2-0.2مل) منه إلى قناني حجمية سعة 25مل تحتوي على 1.0مل من محلول PMZH ذي التركيز 500 مكغم/مل ثم إضافة 1.0مل من محلول الكاشف 2-كلوروأنيولين ذي التركيز (5×10^{-3} مولاري) ثم إضافة 1.0مل من HCl بتركيز 1مولاري وأكمل الحجم إلى حد العلامة بالماء المقطر ثم تم قياس امتصاص المحاليل مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 595 نانومتر، ومن النتائج المدونة في الجدول رقم (7) يتبين انه عند استخدام 1.0مل من العامل المؤكسد أعطى أعلى قيمة للامتصاص، لذا تم اعتماده في التجارب اللاحقة.

الجدول رقم (7) تأثير كمية العامل المؤكسد

1ml of NBS 1×10^{-2} M	0.3	0.5	0.8	1.0	1.2	1.5	2.0
Abs.	0.442	0.589	0.602	0.626	0.575	0.528	0.520

تأثير كمية كاشف الاقتران

تمت دراسة تأثير كاشف الاقتران 2-كلوروأنيولين بأخذ حجوم مختلفة من محلول الكاشف ذي التركيز (5×10^{-3}) مولاري من (2-0.4 مل) وكميات مختلفة من PMZH ذي التركيز (500مكغم/مل) بوجود 1.0 مل من العامل المؤكسد NBS (1×10^{-2} مولاري) و 1.0 مل من الحامض HCl بتركيز 1.0 مولاري في حجم نهائي 25 مل، وتم قياس امتصاص المحاليل عند الطول الموجي 595 نانومتر مقابل المحلول الصوري، يُلاحظ من النتائج المبينة في الجدول رقم (8) أن استخدام 2.0 مل من الكاشف 2-كلوروأنيولين أعطى أعلى امتصاص للنواتج الملون وأعلى قيمة R^2 ، لذا تم اعتماده في التجارب اللاحقة.

الجدول رقم (8) تأثير كمية كاشف الاقتران

ml Amount of Reagent, $5 \times 10^{-3}M$	Absorbance of ml PMZH			R^2
	0.5	1.0	1.5	
0.4	0.230	0.415	0.502	0.9585
0.8	0.283	0.450	0.563	0.9878
1.0	0.293	0.530	0.740	0.9988
1.5	0.253	0.537	0.848	0.9993
2.0	0.273	0.627	0.862	0.9995

تأثير الزمن على الأكسدة والاقتران

تمت دراسة الزمن اللازم لإتمام التفاعل وذلك بأخذ سلسلة من القناني الحجمية سعة 25 مل، إذ تم اتباع الظروف والكميات المثلى في التجارب السابقة ثم تم قياس الامتصاص للمحاليل عند الطول الموجي 595 نانومتر مقابل محاليلها الصورية، ومن النتائج الموضحة في الجدول رقم (9) يُلاحظ أن 20 دقيقة كافية لإتمام عملية الأكسدة والاقتران، لذلك تم اعتماده لاحقاً.

الجدول رقم (9) تأثير الزمن على الأكسدة والاقتران

Time/min	5	10	15	20	25	30
Abs.	0.580	0.608	0.638	0.644	0.618	0.598

تأثير تسلسل الإضافات

إن لتسلسل الإضافات للمحاليل المستخدمة تأثيراً على شدة لون المركب الناتج لذلك تم اجراء عدد من التجارب ويتسلسل إضافات مختلفة إذ تم اتباع الظروف والكميات المثلى في التجارب السابقة، ومن ثم تم قياس الامتصاص للمحاليل مقابل محاليلها الصوري، ويُلاحظ من النتائج التي تم الحصول عليها في الجدول رقم (10) أن التسلسل (1) يُعطي أعلى امتصاص لذا تم استخدامه في التجارب اللاحقة.

الجدول رقم (10) تأثير تسلسل الإضافات

NO	Order of addition	Abs.
1	D + O + R + A	0.646
2	D + O + A + R	0.471
3	D + R + O + A	0.090
4	D + R + A + O	N.R
5	D + A + O + R	N.R
6	D + A + R + O	N.R

D=Promethazine HCl, O=N-Bromosuccinimide, R=2-chloroaniline and A=HCl

تأثير درجة الحرارة على امتصاص الناتج الملون

تمت دراسة تأثير درجة الحرارة على امتصاص الناتج الملون المتكون باستخدام درجة الحرارة من 10-80م°، إذ تم اتباع الكميات المثلى في التجارب السابقة، ومن ثم تم قياس الامتصاص للمحاليل عند الطول الموجي 595 نانومتر مقابل محاليلها الصورية، ويُلاحظ من النتائج في الجدول (11) أن درجة الحرارة الأمثل هي 20م° ويقل الامتصاص كلما زادت درجة الحرارة.

الجدول (11) تأثير درجة الحرارة على الامتصاص

Temp., °C	10	15	20	25	30	40	50	70	80
Abs.	0.637	0.645	0.658	0.639	0.607	0.590	0.582	0.547	0.526

إستقرارية ناتج التفاعل

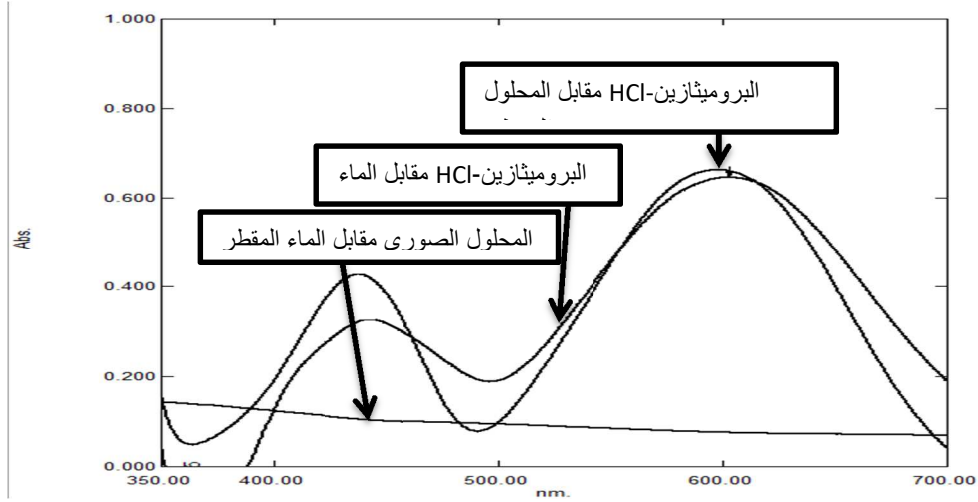
تمت هذه الدراسة بأخذ تراكيز (10 و 20 مكغم/مل) من محلول PMZH ذي التركيز 500 مكغم/مل وإضافة الكميات المثلى في التجارب السابقة، وجد أن قيمة امتصاص الناتج الملون تبقى مستقرة لأكثر من 120 دقيقة، وهذه المدة كافية لإتمام العديد من القياسات والنتائج الموضحة في الجدول رقم (12) يؤكد ذلك.

الجدول رقم (12) إستقرارية ناتج التفاعل

Time (min)	Abs. of µg/ml PMZH	
	10	20
10	0.298	0.657
30	0.298	0.657
50	0.298	0.658
70	0.298	0.658
90	0.298	0.658
110	0.297	0.657
125	0.295	0.655

طيف الامتصاص النهائي

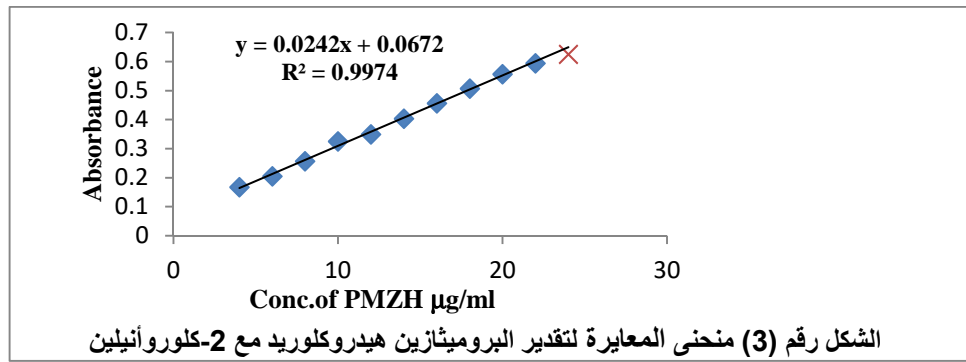
بعد الوصول إلى الظروف المثلى هي استخدام 1.0 مل من PMZH ذي التركيز 500 مكغم/مل و 1.0 مل من العامل المؤكسد NBS ذي التركيز (1×10^{-2} مولاري) و 2.0 مل من 2-كلوروأنيولين و 1.0 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1.0 مولاري وفي درجة حرارة 20م° وتركت المحاليل لمدة 20 دقيقة لاكتمال واستقرار التفاعل وأكمل الحجم بالماء المقطر إلى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 25 مل، ثم تم قياس الامتصاص النهائي للناتج الأخضر المتكون مقابل محلوله الصوري إذ أعطى أعلى امتصاص عند الطول الموجي 595 نانومتر في حين أن محلوله الصوري لم يُعطِ أي امتصاص في هذه المنطقة، كما موضح في الشكل رقم (2).



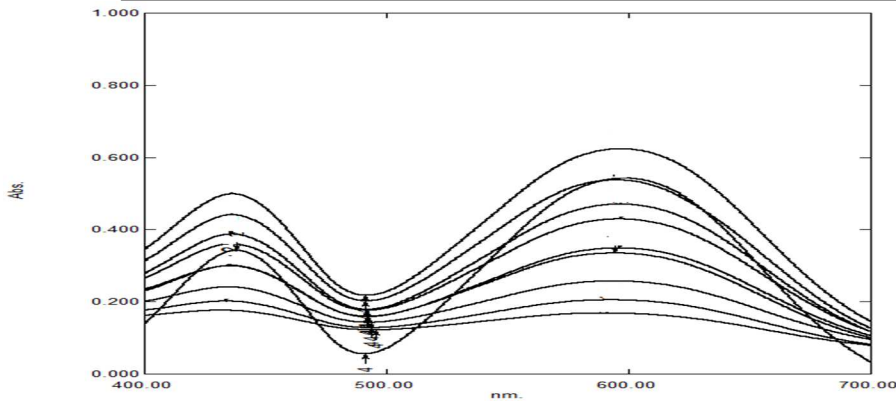
الشكل رقم (2) الامتصاص النهائي لبروميثازين-HCl مع 2-كلوروأنيولين بوجود NBS كعامل مؤكسد

طريقة العمل المعتمدة ومنحنى المعايرة

في سلسلة قناني حجمية سعة 25 مل تم أخذ احجام مختلفة (0.2-1.8 مل) يمثل 4-22 مكغم/مل من محلول البروميثازين هيدروكلوريد ذي التركيز 500 مكغم/مل ثم إضافة 1.0 مل من محلول العامل المؤكسد NBS ذي التركيز (1×10^{-2} مولاري) ثم إضافة 2.0 مل من محلول الكاشف 2-كلوروأنيولين ذي التركيز (5×10^{-3} مولاري) وإضافة 1.0 مل من محلول حامض HCl ذي التركيز 1 مولاري إليها. وتركت المحاليل لمدة 20 دقائق لكي يكتمل التفاعل ويستقر، ثم أكمل الحجم إلى حد العلامة بالماء المقطر، ثم تم قياس امتصاص المحاليل عند طول الموجي 595 نانومتر مقابل المحلول الصوري والشكلان رقم (3 و4) تبينان أن منحنى المعايرة يتبع قانون بير ضمن مدى 4-22 مكغم/مل وهذا يبين مدى خطيه واسعة للمنحنى وهي ميزة حسنة والامتصاصية المولارية 7765.78 لتر/مول.سم ودلالة ساندل 0.04132 مكغم/سم² ومعامل التقدير 0.9974.



الشكل رقم (3) منحنى المعايرة لتقدير البروميثازين هيدروكلوريد مع 2-كلوروأنيولين



الشكل رقم (4) أطيف امتصاص منحنى المعايرة لبروميثازين-HCl لتراكيز من 4-24 مكغم/مل.

الدقة والتوافقية

تم استخدام الظروف المثلى في طريقة العمل لاختبار دقة الطريقة وتوافقيتها، إذ تم أخذ معدل لخمس قراءات لثلاث تراكيز مختلفة من محلول البروميثازين هيدروكلوريد ضمن حدود قانون بير وتم حساب الخطأ النسبي ومعدل الاسترجاعية والانحراف القياسي النسبي، كما موضح في الجدول أدناه رقم (13).

الجدول رقم (13) الدقة والتوافقية

Conc. of PMZH $\mu\text{g/ml}$ Present	Conc. of PMZH $\mu\text{g/ml}$ Measured	%RE	%Recovery	%Average recovery	%RSD
12.0	12.1	0.4	100.40		0.4586
18.0	18.2	1.11	101.11	99.837	1.5935
20.0	19.7	-2.03	98.00		2.1855

حد الكشف

تم حساب حد الكشف (الجدول رقم 14) لتقدير البروميثازين هيدروكلوريد عند الطول الموجي 595 نانومتر وذلك بقياس الامتصاص لأدنى تركيز مأخوذ من منحنى المعايرة 4 مكغم/مل ولست قراءات وعند الظروف المثلى نفسها، ويمكن التعبير عن حد الكشف بتطبيق القانون الاتي(24):

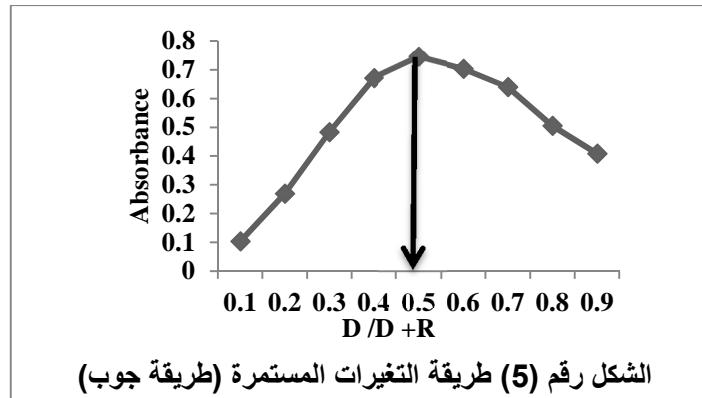
$$D.L. = 3 \times \text{Conc.} \times S/x^{-}$$

الجدول رقم (14) حد الكشف

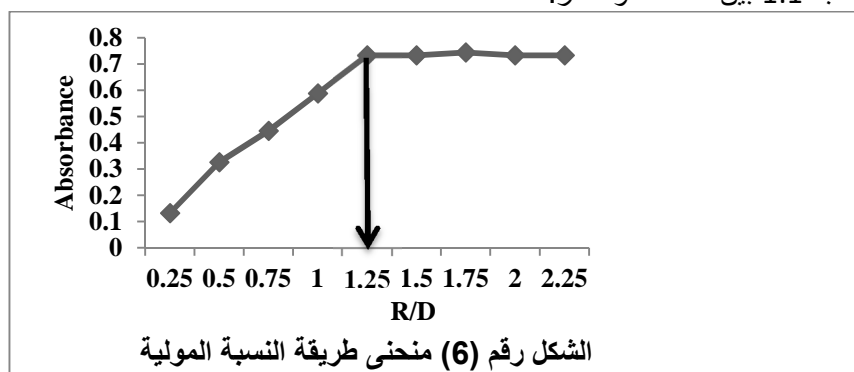
Conc. of PMZH $\mu\text{g/ml}$	\bar{X}	S	D.L $\mu\text{g/ml}$
4	0.245	0.00089	0.0435

تكافؤية الناتج المتكون

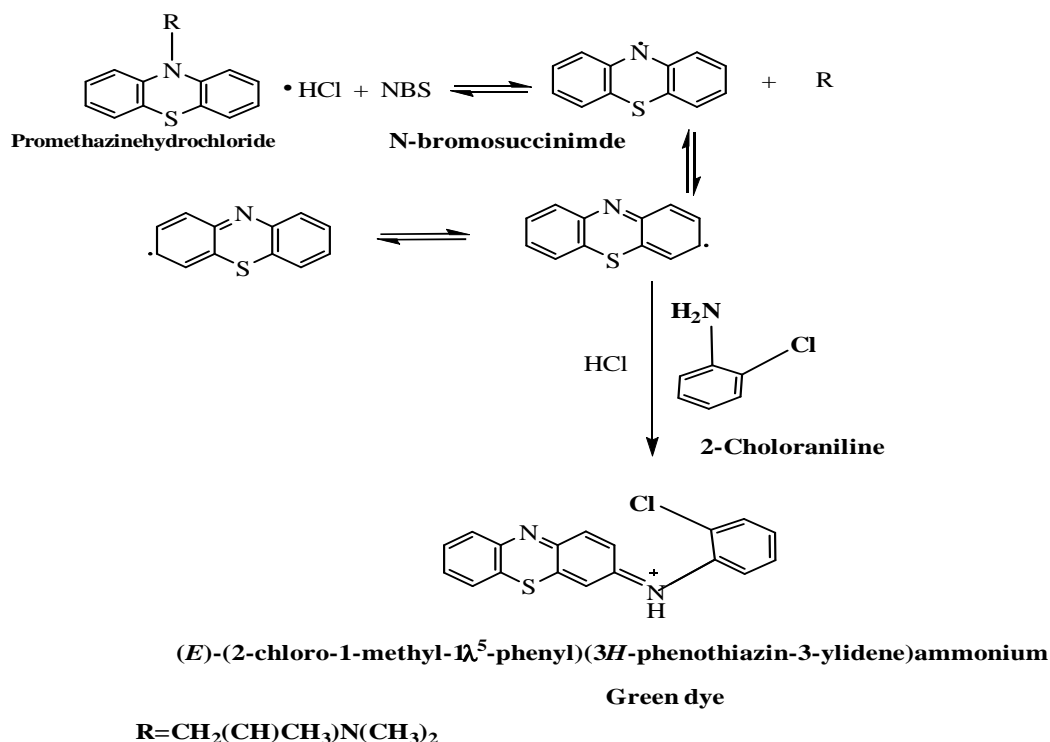
لمعرفة طبيعة الناتج المتكون ونسبة ارتباط الكاشف بالعقار المراد تقديره طبقت طريقتان طريقة التغيرات المستمرة (طريقة جوب) وطريقة النسبة المولية في كلا الطريقتين يكون تركيز محلول العقار المراد تقديره ومحلول الكاشف 2-كلوروأنيولين ثابت (5×10^{-3} مولاري) تم وضع احجام مختلفة في سلسلة قناني حجمية سعة 25مل تتراوح من (4.5-0.5مل) وأضيف مكملات هذه الأحجام إلى 5.0مل من الكاشف 2-كلوروأنيولين ثم إضافة 1.0مل من NBS بتركيز (1×10^{-2} مولاري) و1.0مل من حامض HCl بتركيز 1.0 مولاري ثم أكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة وتم قياس الامتصاص لهذه المحاليل عند الطول الموجي 595نانومتر مقابل محاليلها الصورية، ويوضح الشكل رقم (5) أن النسبة هي 1:1 بين العقار والكاشف.



ولتأكد أن نسبة التفاعل بين العقار البروميثازين هيدروكلوريد والكاشف 2-كلوروأنيلين هي 1:1 طبقت طريقة النسبة المولية إذ تم وضع 1.0 مل من PMZH في سلسلة قناني حجمية سعة 25 مل واضيف إليها من محلول الكاشف 2-كلوروأنيلين بأحجام مختلفة (0.5-4.5 مل) ثم أكملت بقية الإضافات بالأحجام المثلى، وأكمل الحجم بالماء المقطر إلى حد العلامة، وتم قياس الامتصاص لهذه المحاليل عند الطول الموجي 595 نانومتر مقابل محاليلها الصورية لكل منها، وجد أن النسبة المولية تتفق مع طريقة التغيرات المستمرة ويؤكد الشكل رقم (6) إن النسبة 1:1 بين الكاشف والعقار.



وعليه تكون معادلة التفاعل المقترحة كالآتي:



التطبيقات

أمكن تطبيق الطريقة المقترحة على المستحضر الصيدلاني وهو البروميثازين أوبري الذي يوجد بشكل حقن وكل حقنة تحتوي على 50 ملغم من البروميثازين هيدروكلوريد.

الطريقة المباشرة

أخذت ثلاثة تراكيز مختلفة من محلول المستحضر الصيدلاني وهي (12,18,20) مكغم/مل، وعوملت المحاليل بخطوات المتبعة نفسها عند تحضير منحنى المعايرة، وتم قياس الامتصاص لهذه المحاليل مقابل

محاليتها الصورية عند الطول الموجي 595 نانومتر، وتم حساب معدل ست قياسات لكل تركيز وحساب الخطأ النسبي والاسترجاعية ومن النتائج الموضحة في الجدول رقم (15) يؤكد نجاح الطريقة في تقدير البروميثازين هيدروكلوريد في المستحضرات الصيدلانية الحاوية عليه، فقد بلغت قيمة معدل الاسترجاعية 101.334%.

الجدول رقم (15) الطريقة المباشرة

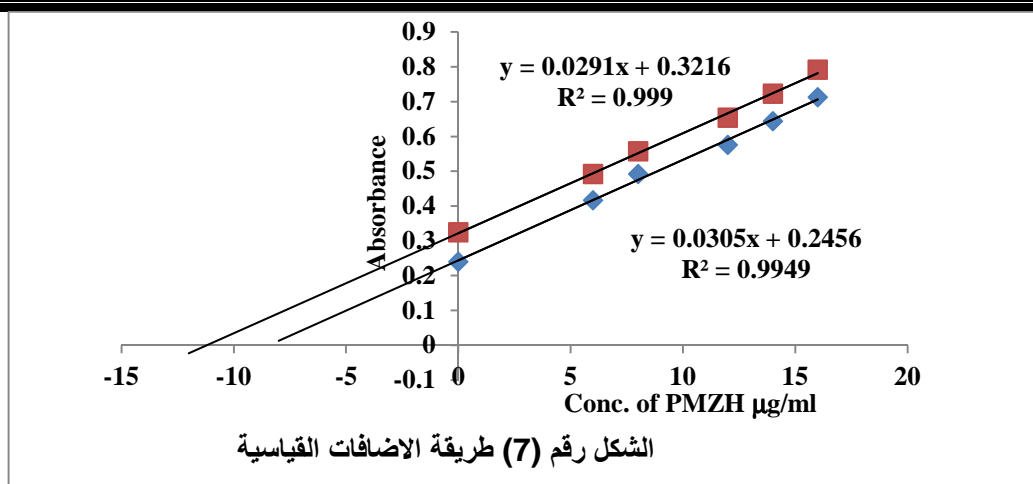
Conc. of PMZH $\mu\text{g/ml}$ present	Con. of PMZH $\mu\text{g/ml}$ measured	RE%	%Recovery	%Average recovery
12.0	12.1	-0.168	99.832	101.334
18.0	18.3	1.67	101.67	
20.0	20.5	2.5	102.5	

طريقة الاضافات القياسية

لمعرفة مدى كفاءة الطريقة المقترحة ودقتها واثبات أن الطريقة خالية من التداخلات، طبقت طريقة الإضافات القياسية في تقدير عقار البروميثازين هيدروكلوريد في المستحضر الصيدلاني، وتضمنت الطريقة إضافة حجوم ثابتة (0.4, 0.6 مل) من محلول المستحضر الصيدلاني بتركيز 500 مكغم /مل، في سلسلتين قناني حجمية سعة 25 مل ثم إضافة احجام مختلفة تتراوح من (0.3, 0.4, 0.6, 0.7, 0.8 مل)، من المحلول القياسي للبروميثازين هيدروكلوريد النقي وتم معاملة المحاليل بالطريقة نفسها عند تحضير منحنى المعايرة، ثم تم قياس الامتصاص (معدل 5 قياسات) لكل محلول مقابل محلوله الصوري عند الطول الموجي 595 نانومتر ويتبين من النتائج في الجدول رقم (16) والشكل رقم (7) أن طريقة الاضافات القياسية متفقة، وبشكل جيد من الطريقة المباشرة ضمن مدى المقبول للخطأ، مما يدل إن الطريقة مرضية وخالية من التداخلات.

الجدول رقم (16) طريقة الاضافات القياسية

Ampoule of drug	Conc. of PMZH $\mu\text{g/ml}$ Present	Conc. of PMZH $\mu\text{g/ml}$ Measured	%RE	%Recovery	%Average recovery
	8.0	8.05	0.625	100.625	99.229
	12.0	11.50	-2.167	97.833	



التقييم الاحصائي لنتائج الطريقة المقترحة

أجريت مقارنة بين الطريقة المقترحة والطريقة القياسية لمعرفة مدى دقة وصلاحيه التطبيق التحليلي للطريقة المقترحة خلال تطبيق t-test و F-test⁽²⁴⁾. وجد أن قيمة t-test التجريبية 0.285 أقل من قيمة t الجدولية 2.571 عند مستوى الثقة 95% ولخمس درجات حرية، مما يدل على مصداقية الطريقة المقترحة. كما وجد أن

F-test التجريبية 1.123 أقل من قيمة **F** الجدولية 5.05 عند مستوى الثقة 95% ولخمس درجات حرية، مما يشير بأنه لا يوجد فرق معنوي بين الطريقتين، وأن الانحراف القياسي للطريقتين ناتج عن أخطاء عشوائية، وبهذا تكون الطريقة المقترحة ذات صلاحية تطبيق جيدة.

مقارنة الطريقة المقترحة مع الطرائق الأخرى

تم مقارنة المتغيرات التحليلية للطريقة المقترحة في تقدير البروميثازين هيدروكلوريد مع طرائق طيفية أخرى، يؤكد النتائج في الجدول رقم (17)، أن الطريقة المقترحة ذات حساسية جيدة.

الجدول رقم (17) مقارنة الطريقة المقترحة مع الطرائق الأخرى

Analytical parameters	Literature method ⁽¹²⁾	Literature method ⁽¹¹⁾	Present method
Reagent	4-Dimethyl aminobenzaldehyde	4-Amino-2-Hydroxy bezoatesodium	2-Choloraniline
Medium	-----	HCl	HCl
Colour	Green	Green	Green
λ_{max}	590nm	605.5nm	595nm
Solvent	water	Water	Water
ϵ (l/mol.cm)	5.3751×10^4	7540.68	7765.78
Beer's law range $\mu\text{g/ml}$	0.481-7.220	2-32	4-24
Sandel Index $\mu\text{g/cm}^2$	0.005970	0.0425	0.04132
D.L $\mu\text{g/ml}$	-----	0.408	0.0435
Average recovery%	101.45	100.77428	99.837
RSD%	2.247-0.632	<1%	<2.2%
R^2	0.9944	0.9966	0.9974
Pharmaceutical preparation	Ampoule	Ampoule	Ampoule

الاستنتاج

تم تطوير طريقة تحليلية طيفية بسيطة وحساسة لتقدير البروميثازين هيدروكلوريد بوساطة تفاعلات الاقتران التأكسدي، وتعتمد الطريقة على اكسدة العقار PMZH بالعامل المؤكسد N-بروموسكسنيמיד إذ يتكون ناتج ذات لون أحمر سرعان ما يتحول إلى اللون الأخضر ذائب في الماء عند اقترانه مع الكاشف 2-كلوروأنيلين في وسط حامضي (HCl)، ويظهر أعلى امتصاص للناتج الملون عند الطول الموجي 595 نانومتر ويتبع قانون بير ضمن مدى من التراكيز 4-22 مكغم/مل وبلغت الامتصاصية المولارية 7765.78 لتر/مول.سم ودلالة ساندل 0.04132 مكغم/سم² ومعامل التقدير 0.9974. ومعامل الاسترجاعية 99.837% ومعامل الانحراف القياسي النسبي لا يتجاوز 2.185%، وحد الكشف 0.0435 مكغم/مل يتبين أن الطريقة ذات دقة وتوافقية جيدة، وتمتاز ببساطتها وتبقى مستقرة لأكثر من 120 دقيقة، تم تطبيق الطريقة المقترحة بنجاح على مستحضراتها الصيدلانية.

المصادر

1. British pharmacopoeia, 6th Ed, London, **2009**, V I and II, pp1-3.
2. Michelle A.Clark,Richard, "Lippinconts illustrated reviews pharmacology", 5th ed., **2012**, pp553.
3. "Middle East Medical Index", 28thEdn., **2007**.
4. Seth D,and Vilmlesh Seth." Textbook of Pharmacology", 3rd Edition, Printed in Inda, **2009**, pp32-33, V1-4-8.
5. The Merk Index, 12th copyright by Merch Co. Inc. White house, **2000**, CD Rom.
6. www.Stabilis.org. (Promethazine Hydrochoride), Revision **2014**, p.1.
7. Thumma,S., Zhango,S.Q and Rekpka, M. ,"Development and Validation of Promethazine hydrochloride in hot-melt extruded dosage forms", Int. J Pharm, sci. **2008**, V63(8), pp.562-567.
8. Borkar,D., Godse,V., Bafana,Y., Bhosale,A. and Talpurandar,D.P., "Simultaneous estimation of Paracetamol and Promethazine hydrochloride in Pharmaceutical formulation by a Rp-HPLC method", Int. J. Chemtech Res., **2009**,V1(3), pp.667-670.
9. Kakadlay,J., Parmar,N. and Shah,N.,"Development and Validation of Rp HPLC Method For Simultaneous Eestimation of Promethazine Hydrochoride and Paracetamol in Combined Liquid Formulation", Asian. J. of Res.in Biological and pharm. sci., **2014**, V 2(1), pp.11-26.
10. Shymaa Saud Sabri and Mohammad Salim Abdulaziz," Spectrophotometric Method for Determination of promethazine Hydrochloride in Pharmaceutical formulation Based on coupling with 4-Aminoacetanilide in Presence of N-BromoSuccinimide", karbala j. of pharmaceutical sci., **2018**,V 14, pp.104-118.
11. البياتي، أسين نعمان شريف، التقدير الطيفي للبروميثازين هيدروكلوريد والترايفلوبيرازين بتفاعل الاقتران التأكسدي في مستحضراتها الصيدلانية، رسالة ماجستير، جامعة تكريت، كلية التربية للبنات، **2018**.
12. AlWard,H.S. "Spectrophotometric micro determination of Promethazine hydrochloride in pharmaceutical Preparations via Oxidative Coupling reaction with Sulphanilamide and in the Presence of ferric chloride", J. of Um salama for sci., **2005**, V 2(1), pp.110-117.
13. AL-Sabha,T.N.,Ahmad,N.R.,and Ibrahim,M,I." Spectrophotometric determination of promethazine hydrochloride via Oxidative Coupling reaction With Sulphanilic acid", J. of pure Applide sci., **2006**, V 3(1), pp1-12.
14. AL-Ayash,A.s., Jasim,F. and Zair,T., "Spectrophotometric micro determination of drug Promethazine hydrochloride in Some Pharmaceutical by Chelating With Rhodium", J. of Um salama for sci., **2008**, V5(4), pp638-645.
15. AL-Talab,S.M. and AL-Sabha,T.A.N., " Spectrophotometric Determination of some Phenothiazines Using N-Chlorosuccinimide", J. Raf. sci., **2009**, V 20(4), pp27-37.
16. Balammal,G., Sagari,N.S.,K., Kumar,B.S. and Jayachandra,R.P., "Spectrophotometric Estimation of Promethazine hydrochloride in bulk and Pharmaceutical Formulation" Intre.J.of pharm Resear&Analysis, **2012**, V 2(1), pp6-8.
17. Qader,H.A., and Fakhre,N.A." Spectrophotometric determination of promethazine hydrochloride in pure and Pharmaceutical Dosage Forms", Zanco. J. of Pure and Applied Scie., **2017**, V 29(4), pp.107-114.
18. Hassan,A.K., Saad,B., G hani,S.A., Adnan,R., Rahim,A.A., Ahmad,N., Mokhtar,M., Ameen,S.T. and AL-Araji,S.M., "Ionophore-based Potentiometry sensors for the flow-

injection determination formulations and human urine", J. Sensors., 2011, V 11(1), pp.1030-1042.

19. Shakir, I.A., and Turkey, N.S., "Flow injection analysis for the Photometric determination of Promethazine-HCl in pure and Pharmaceutical preparation via Oxidation by Persulphate using Ayah 3SX3-3D Solar micro photometer", Baghdad Sci. J., **2013**, V 10(4), pp.1190-1202.

20. Jabbar, H.S. and Falzullah, A.T., "Flow Injection Analysis with Chemiluminescence Determination of two Phenothiazine ", Indian J. of pharm. Sci. and Resear., **2015**, V 6(3), pp474-481.

21. Lara, F.J., Garcia., Campana, A.M., Alesbarrero, F. and Bosque Sends, J. M., "Determination of thiazinamium promazine and promethazine in pharmaceutical formulation using a CZE method", Analytical chim. acta., **2005**, V535, PP.101-108.

22. Badawy, S.S. and El- Said, S.A.E.S., "Promethazine-tetraphenyl Boron(III) Modified Carbon Paste Electrode for the Determination of Promethazine hydrochloride", American J. of Analytical chem., **2013**, V 4, pp.258.

23. Xiao, P.WU.W. and Zhao, F., "Voltammetric sensing of promethazine on a multi-Walled carbon nanotubes coated gold electrode", Int. J. Electrochem. Sci., **2007**, V2, pp.149-157.

24. Christian, G. D., "Analytical Chemistry", 6th ed., John Wiley and Sons, Inc., New York, 2004, p.90.

25. الحيدري، عبدالمحسن عبدالحמיד، التحليل الكيميائي الآلي، المكتبة الوطنية، دار الكتب والوثائق، جامعة بغداد، 1999، ص 174-177.