

Development analytical method for the determination of hydroxyurea (Hydrea) based on the dissociation of the nickel-chromium-azole-S complex by visible spectrophotometer.

Khalil Ibrahim Alabid *
Dr. Mohammad Haroun **
Dr. Hajar Nasser ***

(Received 22 / 6 / 2021. Accepted 13 / 2 / 2022)

□ ABSTRACT □

This research deals with a new spectrophotometric method for the determination of hydroxyurea (Hydrea) (HU), which is one of the drugs used to reduce the accompanying effects of many pathological conditions, including thalassemia, sickle cell anemia and as an inhibitor or treatment in some cancerous tumors. This research depend on the dissociation of the complex chromium Azrole-S with nickel. the optical spectrum of each of the drug and the complex nickel-chromium azrole-S and of both together, was studied, and it was found that the best wavelength in which the absorption is maximum is at 474nm and at pH = 5. It was also found that there is an inverse linear relationship between the absorbance and the concentration of hydroxyurea, and achieved within a range of concentrations (10-100) µg/mL with a correlation coefficient $R^2 = 0.991$, and the molar absorption coefficient was $0.4071 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$. The study also showed that the rate of dissociation of the complex relative to the drug is 1:1 and the reproducibility of the method was 98.66% with a standard deviation percentage standard deviation RSD%=4.82% The method used is also characterized by its ease, simplicity and accuracy of analysis results, which can be used in the field of drug control.

Keywords: spectrophotometry, hydroxyurea, nickel-chromium azirol-S complex, hematology.

* Lecturer - Faculty of Pharmacy - Al-Manara University - Lattakia – Syria .

Khalil.alobeid@manara.edu.sy

** Assistant Professor - Pharmaceutical Control Specialization - Faculty of Pharmacy, Al-Manara University - Lattakia - Syria.

*** Professor Doctor - Analytical Chemistry - Department of Chemistry - Faculty of Science - Tishreen University - Lattakia, Syria

تطوير طريقة تحليلية لتحديد دواء هيدروكسي اليوريا (هيدريا) بالاعتماد على تفكك معقد نيكل - كروم أزروول-S بطريقة التحليل الطيفي المرئي

خليل إبراهيم العبيد*

د. محمد هارون**

د هاجر ناصر***

(تاريخ الإيداع 22 / 6 / 2021. قُبل للنشر في 13 / 2 / 2022)

□ ملخص □

يتناول هذا البحث تطوير طريقة تحليلية لتقدير دواء هيدروكسي اليوريا (HU) Hydroxyurea وهو أحد الأدوية المستخدمة في تقليل من التأثيرات المرافقة للعديد من الحالات المرضية منها الثلاثيميا ، وفقر الدم المنجلي وكمثبط أو علاج في بعض الأورام السرطانية . يعتمد هذا البحث على تفكك معقد كروم أزروول S- مع النيكل . تم مسح الطيف لكل من الدواء والمعقد نيكل- كروم أزروول S- ولكليهما معاً ، وتبين أن أفضل طول موجة يكون عنده الامتصاص أعظما عند 474nm وعند رقم هيدروجيني pH=5 ، وتبين أيضا أن هناك علاقة خطية عكسية بين الامتصاصية وتركيز هيدروكسي اليوريا ضمن مجال من التراكيز $(10 - 100) \mu\text{g/mL}$ بمعامل ارتباط $R^2 = 0.991$ ، وبلغ معامل الامتصاص المولي $0.4071 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ ، كما بينت الدراسة أن نسبة تفكك المعقد بالنسبة للدواء هي 1:1 وكانت استرجاعية الطريقة 98.66% وقيمة انحراف معياري نسبي مؤوي $RSD=4.82\%$ ، تتميز الطريقة المتبعة بسهولتها وبساطتها ودقة نتائجها وإمكانية تطبيقها في مجال المراقبة الدوائية.

الكلمات المفتاحية : التحليل الطيفي الضوئي ، هيدروكسي اليوريا ، معقد نيكل - كروم أزروول S- ، أمراض الدم.

* عضو هيئة فنية - كلية الصيدلة - جامعة المنارة - اللاذقية - سوريا . Khalil.alobeid@manara.edu.sy

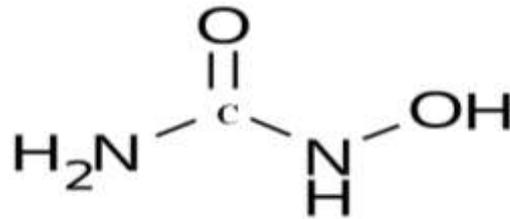
** استاذ مساعد - اختصاص مراقبة دوائية - كلية الصيدلة جامعة المنارة - اللاذقية - سورية .

*** استاذ - اختصاص كيمياء تحليلية - قسم الكيمياء - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية سورية.

مقدمة

يتسابق الباحثون في الآونة الأخيرة لرفد المراقبة الدوائية بطرائق تحليلية جديدة للاستفادة منها في مراقبة جودة المنتجات الدوائية ، كما يسعى الباحثون -أيضاً- لاعتماد طرائقهم كطريقة مرجعية معتمدة في دساتير الأدوية، وذلك لما فيها من خدمة للإنسان وربط العلم بالمجتمع وحل مشاكله.

يعد السرطان السبب الرئيس الثاني للوفاة في البلدان المتقدمة ومن بين الأسباب الثلاثة الرئيسة للوفاة في البلدان النامية، حيث صدر تقرير لمنظمة الصحة العالمية مفاده أن 7.6 مليون شخصاً قد توفوا بسبب السرطان عام 2005م، وهو ما يمثل 13% من جميع الوفيات في جميع أنحاء العالم . تتوفر حالياً الأدوية المضادة للسرطان التي تقلل بشكل كبير معدلات الوفيات لبعض أنواع السرطان [1]، ومن أهم هذه الأدوية دواء هيدروكسي يوريا Hydroxyurea ويرمز له بالرمز (HU) وله أسماء أخرى (يشار إليه أيضاً باسم هيدروكسي كاراميد) Hydroxycarbamide [2] ، وله وزن جزيئي 76.06 g/mol وصيغة مجملة له $CH_4N_2O_2$ [3] أما الصيغة الكيميائية المنشورة له كما في الشكل (1).



شكل(1): الصيغة الكيميائية المنشورة لهيدروكسي اليوريا Hydroxyurea

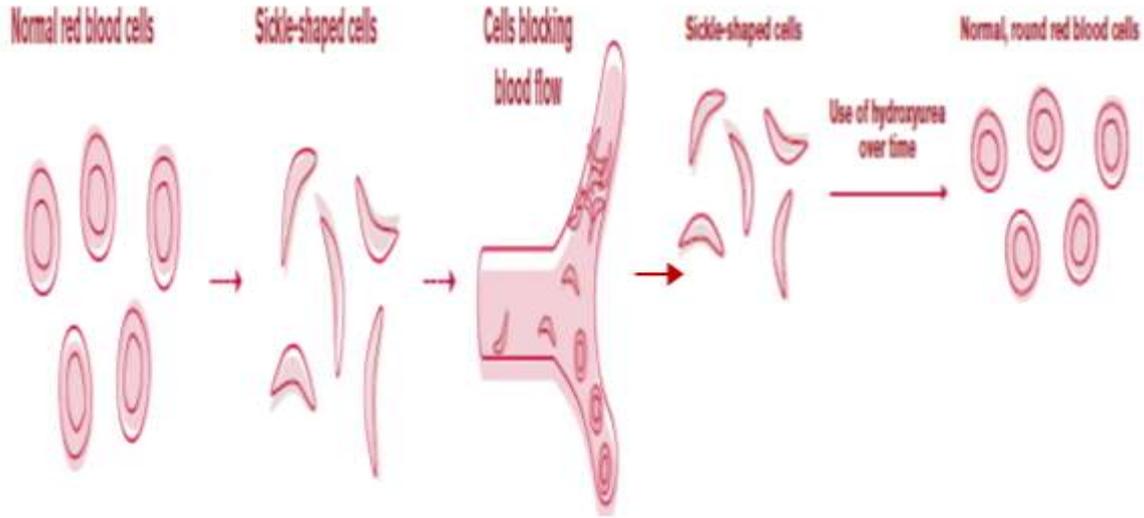
يتصف هيدروكسي يوريا بأنه مسحوق أبيض اللون بلوري قابل للذوبان في الماء [3] وهو أحد أقدم العلاجات المتوفرة للعديد من أمراض الدم، صنع لأول مره في عام 1869 ، يتوفر هيدروكسي يوريا على هيئة كبسولات أو أقراص (هيئة الغذاء والدواء الأمريكية FDA ، 2006). تتوفر الكبسولات بعيار (200, 300, 400, 500, 1000) mg، وله خصائص فيزيائية وكيميائية متعددة كما في الجدول(1)[4] .

جدول(1): بعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية لدواء هيدروكسي اليوريا (هيدريا) (HU)

Melting point	141°C
Log P (octanol-water)	-1.80
Water solubility at 25°C	1.00×10^6 mg/L
Vapor pressure at 25°C	2.43×10^{-3} mm Hg
Henry's law constant	5.42×10^{-11} $\frac{\text{atm} \cdot \text{m}^3}{\text{mol}}$

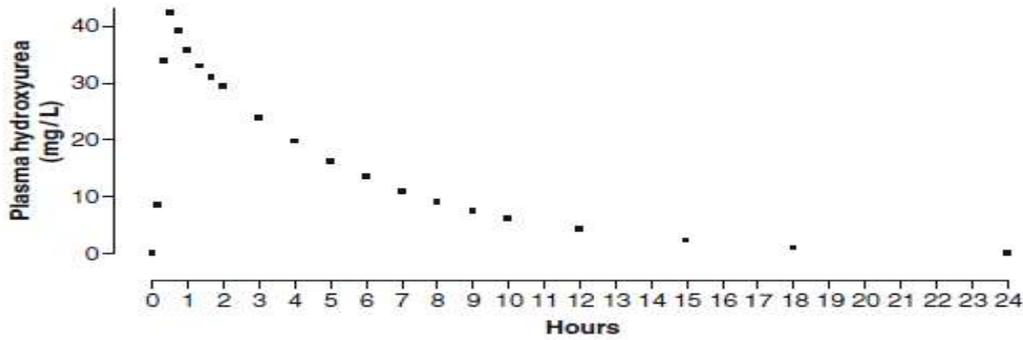
يُعد مركب هيدروكسي يوريا مضاد شائع للاستقلاب ومثبط للخلايا ومضاد للأورام [5] ، تم استخدامه بنجاح لعلاج وتقليل من حدة العديد من الحالات المرضية ، بما في ذلك سرطان الدم النقوي المزمن ، والأورام التكاثرية النخاعية، وكثرة الحمر الحقيقية ، وفيروس نقص المناعة البشرية ، وفقر الدم المنجلي(Sickle cell disease) (SCA) [2] ، وفي معالجة بعض أنواع سرطان الجلدMelanoma [6] ، ولوكيميا وسرطان الخصية والمبيض [1]، كما يستخدم هيدروكسي اليوريا (هيدريا) (HU) ومشتقاته الأنشطة البيولوجية لعلاج مختلف الأمراض الورمية وغير الورمية وفي علاج فيروس نقص المناعة المكتسب ، كما أن عدداً من مشتقاته التي تمارس فعالية أقوى ضد الأورام وتقلل من

السمية الخلوية العامة [1]. هناك بعض الأدلة التي تدل على أن هيدروكسي يوريا (HU) يمكن أن يزيد من جما-غلوبين ، كما يمكنه أن يكون عامل علاجي لمرضى β -ثلاسيميا. يساعد استخدامه في التقليل من احتياجات نقل الدم عند مرضى الثلاسيميا [7]. تميل كريات الدم الحمراء المشوهة عند مرضى فقر الدم المنجلي Sickle Cell Disease (SCA) إلى أن تتعلق في الشعيرات الدموية الضيقة وتمنع تدفق الدم. يعاني المرضى من أزمة انسداد الأوعية الدموية Vaso-Occlusive Crisis (VOC) في مفاصلهم وعظامهم، بالإضافة لوجود آلام شديدة، مما يؤدي إلى تلف أعضاء عدة عند مرضى داء الكريات المنجلية. علاوة على ذلك ، يكون مرضى فقر الدم المنجلي صغار السن يكونون أكثر عرضة للعدوى ومتلازمة الصدر الحادة والسكتة الدماغية ، بينما يكون كبار السن عرضة لاعتلال الشبكية ، وتلف الرئتين والكلية والقلب [8]. يعمل هيدروكسي يوريا (HU) كمحفز فعال وقوي لزيادة مستويات الهيموجلوبين الجنيني (HbF) [9-10-11] ، ويساعد في الوقاية من المنجل داخل الخلايا ، والذي بدوره يقلل من انحلال الدم وانسداد الأوعية الدموية عند الإصابة فقر الدم المنجلي (SCA) [8,12].



شكل(2): يظهر تأثير هيدروكسي اليوريا على تعلق كريات الدم الحمراء المشوهة عند مرضى فقر الدم المنجلي

يتم تناول هيدروكسي يوريا (HU) عادة مرة واحدة يوميًا، وتُظهر الحرائك الدوائية أن تراكيزه في مصل الدم تصل إلى حالته القصوى بعد (15-60)min من لحظة تناوله ، ويتراوح نصف عمره في جسم الإنسان من ساعة إلى ثلاث ساعات ، كما أنه مطرح بصورة أساسية عن طريق التصفية الكلوية في الأطفال المصابين بفقر الدم المنجلي Sickle cell disease (SCA) [2] الشكل (3) [4].



شكل (3). متوسط هيدروكسي يوريا (HU) في البلازما لدى الرجال الأصحاء الذين يتناولون هيدروكسي يوريا.

تم إعطاء هيدروكسي يوريا 2000mg عن طريق الفم مع الماء

اهتمت أغلب الدراسات في تحديد كمية هيدروكسي اليوريا (HU) في مصل الدم بالاعتماد على الطرائق الكروماتوغرافيا مثل كروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء HPLC ومع مطيافية الكتلة HPLC-MS وغيرها ، بصورة مستقلة وبالتزامن أيضا مع أدوية أخرى وحددت فيها الشروط المثلى لكل تقنية كمنوع العمود والطور المتحرك والثابت وأزمنة الإحتفاظ وغيرها من الشروط [2,5,9,13,14] . في حين ركز بعضهم في أبحاثه ودراساته على تأثير هيدروكسي اليوريا في أمراض الدم والأمراض الحبيوية و العوامل الالتهابية [15-16-17-18] . واهتم الباحثون -مؤخرا - بمراقبة تأثير هيدروكسي اليوريا على مكونات الدم خلال وجود كورونا COVID-19 [19]

أهمية البحث وأهدافه:

تكمُن أهمية هذا البحث في:

أهمية علمية: تسليط الضوء والاهتمام بدواء هيدروكسي اليوريا (هيدريا) كأحد الأدوية السرطانية ، و فقر الدم المنجلي ، وثلاسيميا.

أهمية بحثية : تطوير طريقة تحليلية لتحديد دواء هيدروكسي اليوريا بطريقة طيفية ضوئية سهلة الاستخدام .

أهمية اقتصادية : رفق المراقبة الدوائية بطريقة تحليلية سهلة الاستخدام ومنخفضة التكلفة.

هدف البحث:

يهدف هذا البحث إلى تطوير طريقة طيفية لونية سهلة الاستخدام لتحديد دواء هيدروكسي اليوريا (الهيدريا) من خلال:

- 1- إيجاد معقد عضوي أو لا عضوي يتفاعل أو يتأثر بوجود دواء الهيدريا .
- 2- تحديد الشروط المثلى للتعقيد مثل: نسبة الارتباط - درجة الحموضة - درجة الحرارة - مذيب المناسب - زمن التعقيد - ترتيب الإضافات.
- 3- دراسة الشروط التحليلية المثلى مثل: الخطية- حد الكشف التحليلي والكمي - معامل الارتباط.
- 4- إجراء المعالجات الإحصائية الرياضية لنتائج تحليل هذه الطريقة .

2-الأجهزة والأدوات والمواد المستخدمة في البحث:

Devices, tools and materials used in the research:

تم إجراء البحث في جامعة المنارة - مخابر كلية الصيدلة ولانجاز البحث استخدمت الأدوات والمواد الكيميائية الآتية:

الأجهزة والأدوات: جهاز مطيافية الأشعة المرئية وفوق البنفسجية نوع D-LABUV-visible Spectrophotometer ، جهاز قياس الرقم الهيدروجيني pH-meter ، ميزان الكتروني حساس Electronic balance ، خلايا من الكوارتز عرض مسارها الضوئي فيها 1cm ، بالإضافة إلى دوارق حجمية بحجوم مختلفة وغيرها من الأدوات المخبرية .

المواد الكيميائية والكواشف: أن جميع المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة بدرجة عالية من النقاوة، والماء المستخدم ماء ثنائي التقطير ، حمض كلور الماء ، وهيدروكسيد الصوديوم ، وخلات الصوديوم ، وحمض الخل بنقاوة عالية، كاشف كروم أزول S- (Chrome Azrol S) من إنتاج شركة BDH وهو كاشف عضوي له صيغة مجملة $C_{23}H_{13}Cl_2Na_3O_9S$ [20] وصيغة مفصلة كما في الشكل (4) ويسمى وفق اتحاد الكيمياء البحتة والتطبيقية (IUPAC)



[3-Sulpho-2,6-dichloro-3-dimethyl-4-hydroxy fuchson-5,5-dicarboxylic acid]

شكل(4): البنية الفراغية والاسم العلمي لكاشف كروم أزول S-

يذوب هذا الكاشف لدرجة كبيرة في الماء ويتغير لون محلوله بتغير قيم (pH) الوسط فهو أحمر-برتقالي عند (pH=3-4) وأصفر عند (pH=5) وييدي امتصاص أعظمي عند (427 nm). يمكن لكاشف كروم أزول S- (Chromazurol S) أن يشكل معقدات مع الأيونات المعدنية الموجبة مثل النيكل وغيره من الأيونات [21] .

Preparation of standard solutions

تحضير المحاليل العيارية:

- أ- حُضِر محلول عياري للهيدروكسي اليوريا Hydroxyurea بتركيز (1000 mg /L)-بإذابة (0.05 g) من هيدروكسي اليوريا $CH_4N_2O_2$ في (50 ml) من ماء ثنائي التقطير وهو ما يكافئ (0.013148M).
- ب- حُضِر محلول عياري للننكل الثنائي بتركيز (2000 mg /L) بإذابة ما يكافئه من نترات النيكل المائية [Ni(NO₃)₂. 6H₂O] في (50 ml) من ماء ثنائي التقطير وهو ما يكافئ (0.03408M).
- ت- حُضِر محلول قياسي لكاشف (Chrome Azurol S) بتركيز (1000 mg /L) بإذابة (0.05g) من الكاشف في كمية مناسبة من ماء ثنائي التقطير وأكمال الحجم إلى (50 ml) من ماء ثنائي التقطير ، وهو ما يكافئ (0.001655M).

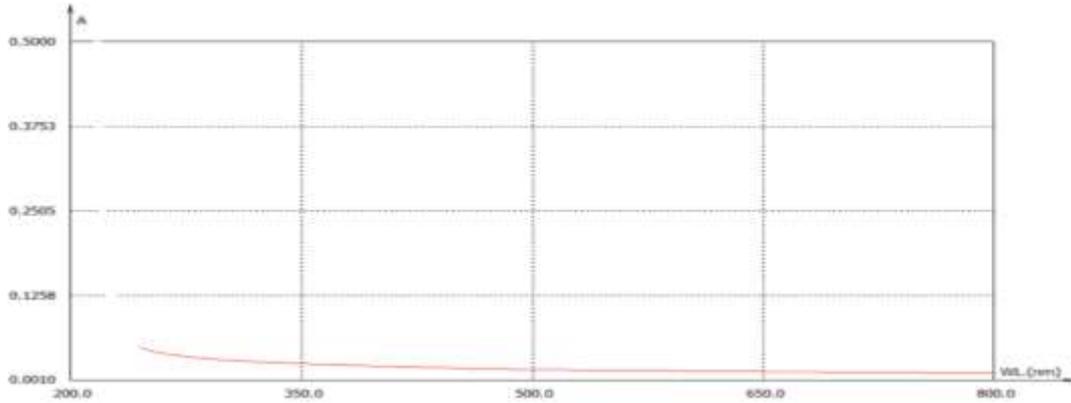
النتائج والمناقشة :

كانت النتائج والمناقشة على النحو الآتي :

التحليل الطيفي الضوئي للهيدروكسي اليوريا و نيكل-كروم أزول S

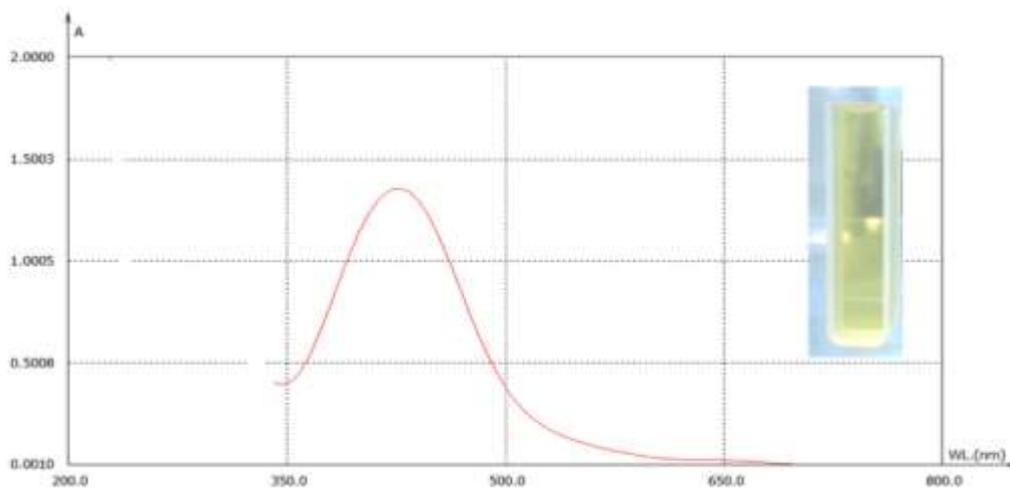
Visible spectrophotometry analysis of hydroxyurea and nickel- Chrome Azorol- s

مسح طيف المادة الدوائية الهيدريا بحالتها النقية بطريقة التحليل الطيفي اللوني ، كما درس طيف الكاشف كروم ازول S بشكل منفرد ومع أيون النيكل ومن ثم مع المادة الدوائية . درس طيف هيدروكسي اليوريا بتركيز $1.3 \times 10^{-2} M$ ضمن مجال للطيف تتراوح ما بين (220-800)nm ، وتبين أنه لا يوجد أي قمة امتصاص أعظمية ضمن هذا المجال كما في الشكل(5).



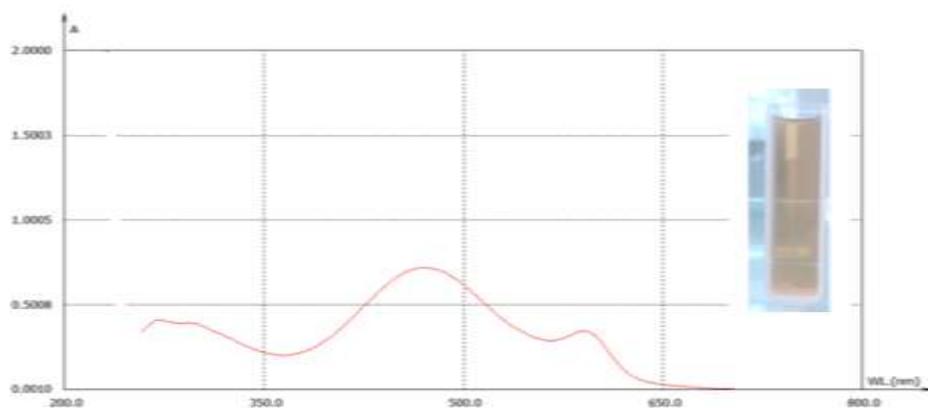
شكل(5): طيف امتصاص دواءهيدروكسي اليوريا بصورته النقية

درس طيف الكاشف كروم أزول S بتركيز $3.3 \times 10^{-5} M$ فتبين أن له قمة امتصاص أعظمية عند طول موجة 427nm كما في الشكل(6).

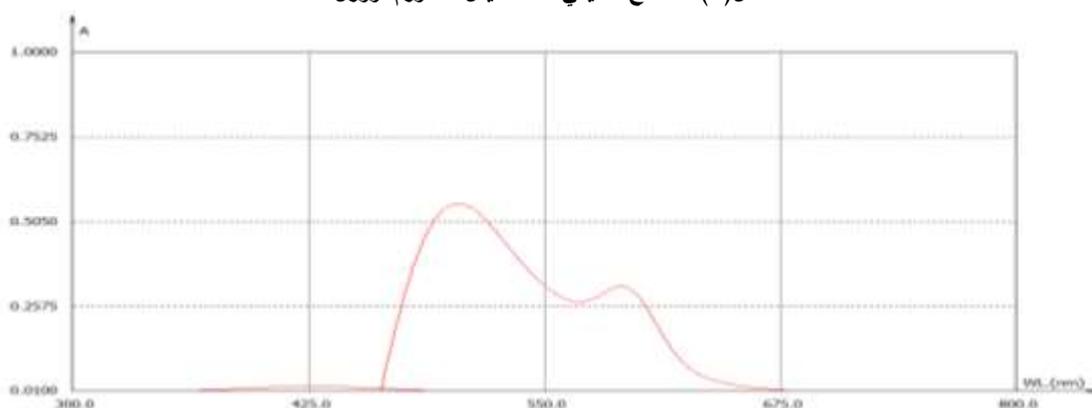


شكل(6): طيف امتصاص كاشف كروم أزول S-

و درس تأثير تشكل معقد النيكل مع الكاشف كروم أزول S- ، بأخذ (1ml) من المحلول العياري لكروم أزول S لحصول على تركيز $3.3 \times 10^{-5} M$ ويضاف إليه (0.5ml) من المحلول العياري لأيون النيكل الثنائي للحصول على تركيز $3.4 \times 10^{-4} M$ من أجل دورق حجمي سعة 50ml ، وذلك ضمن مجال طيف (250-800)nm وتبين أن المعقد يمتلك قمة امتصاص أعظمية ضمن هذا المجال 474nm كما في الشكلين (7-8).



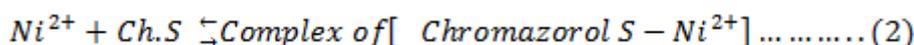
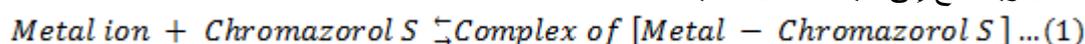
شكل(7): المسح الطيفي لمعقد نيكل - كروم أزول S -



شكل(8): المسح الطيفي لمعقد نيكل - كروم أزول S - بالاعتماد على بلانك كروم أزول S-

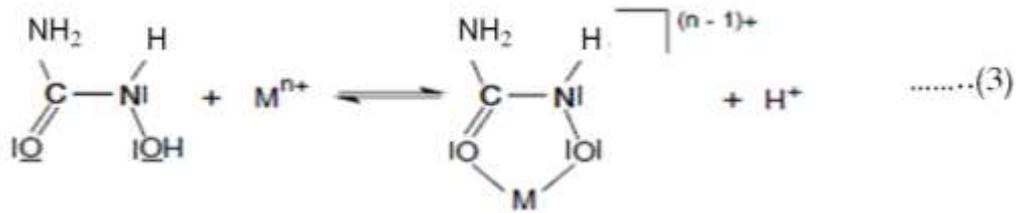
تبين بالرجوع للدراسات المرجعية أن الارتباط في المعقد بين نيكل و كروم أزول S بنسبة (1:2)

[21] ويخضع إلى آلية التفاعل الآتية:

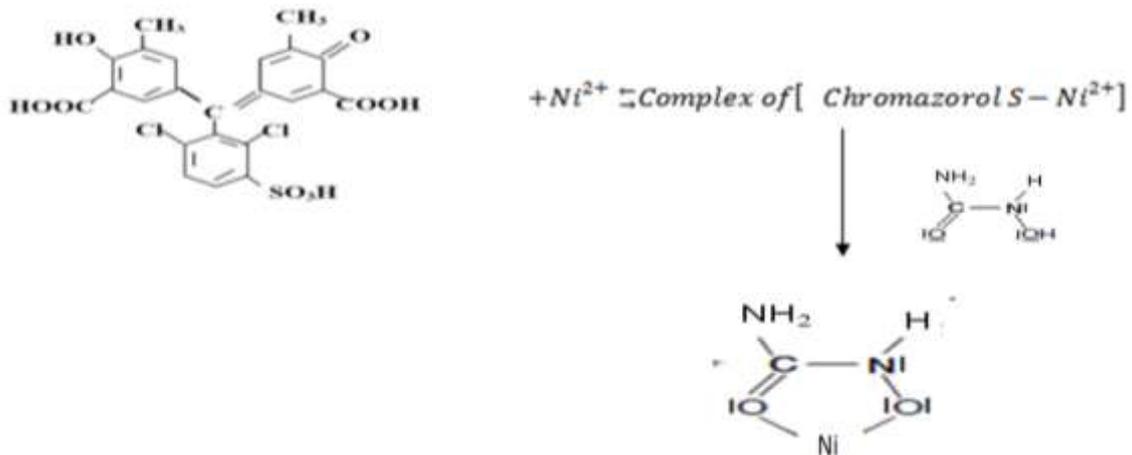


كما تبين من خلال دراسات مرجعية أخرى تفاعل هيدروكسي اليوريا بوجود الأيونات المعدنية الموجبة كما في المعادلة

[22].(3)



يمكن الاستفادة من المعادلات السابقة (2-3) و تفاعل هيدروكسي اليوريا مع الأيونات المعدنية الموجبة . تمت دراسة تأثير إضافة دواء هيدروكسي اليوريا على المعقد المتشكل (نيكل - كروم أزروول - S) ، يمزج كلا من الكاشف كروم أزروول - S مع أيون النيكل الثنائي فيتشكل معقد نيكل - كروم أزروول - S بني اللون ، ثم يضاف إليه دواء هيدروكسي اليوريا ، فيلاحظ تغير لون المعقد وتحوله إلى اللون البرتقالي المائل إلى الأصفر، يعتبر هذا التأثير دليلاً على تفكك المعقد بفعل هيدروكسي اليوريا ، وبناءا عليه يمكن اقتراح آلية لتأثير دواء هيدروكسي اليوريا (HU) على المعقد $\text{Chromazorol S} - \text{Ni}^{2+}$ وفق المخطط الآتي :

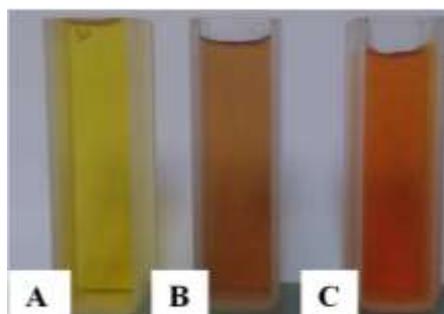


شكل(9): مخطط لآلية المقترحة لتأثير هيدروكسي اليوريا على معقد نيكل - كروم أزروول S-

تأثير هيدروكسي اليوريا على المعقد المتشكل:

Effect of hydroxyurea and nickel- Chrome Azorol- s

درس تأثير تغير تركيز دواء الهيدريا في تشكيل المعقد كروم أزروول -S- النيكل كما في الشكل(10)، حيث تمت مقارنة محلول كاشف كروم أزروول - S بالمعقد الناتج (كروم أزروول - S مع أيون النيكل) ومن ثم بالمعقد مع الدواء .

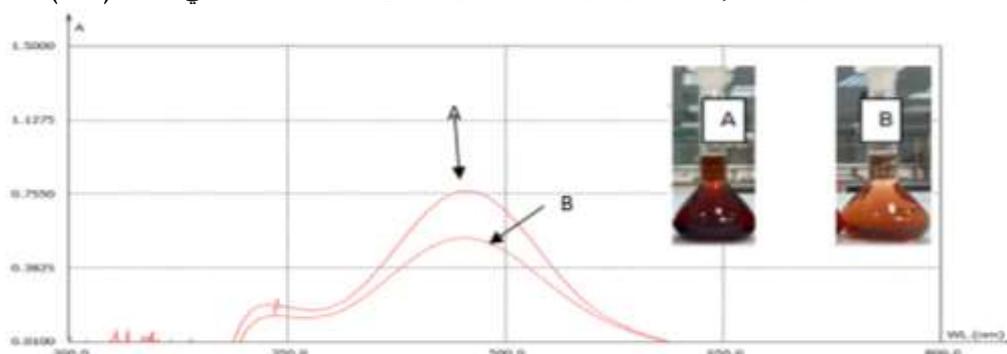


شكل(10) : صورة فوتوغرافية للمكونات الثلاثة

A: محلول كاشف كروم ازروول S B : كروم ازروول S مع النيكل الثنائي

C : محلول الكاشف كروم ازروول S مع النيكل الثنائي ودواء الهيدريا

تم المسح الطيفي لمحلولين هما: المعقد فقط و المعقد مع هيدروكسي اليوريا وذلك بأخذ (1ml) من المحلول العياري لكروم ازروول - S لحصول على تركيز $3.3 \times 10^{-5} M$ ويضاف إليه (1ml) من المحلول العياري لأيون النيكل الثنائي للحصول على تركيز 6.8×10^{-4} من أجل دورق حجمي سعة 50ml ، فيتشكل معقد بني لون من نيكل - كروم ازروول S . أما مكونات المحلول الثاني بالإضافة للمكونات السابقة يضاف إليه (1ml) من المحلول العياري لدواء هيدروكسي اليوريا للحصول على ما يكافئ تركيزه $2.63 \times 10^{-4} M$ من الدواء وذلك من أجل دورق حجمي سعة 50ml ، إذ يلحظ تغير لون المعقد وتحوله إلى اللون البرتقالي ، ويُعد هذا دليلاً على تفكك جزء من المعقد بفعل هيدروكسي اليوريا . تم المسح الطيفي ضمن مجال (250-800)nm، فتبين أن المعقد فقط هو يمتلك قمة امتصاص أعظمية عند طول موجة 474nm ، أما بالنسبة للمعقد مع هيدروكسي اليوريا فقد لُحظ تغير لون المعقد البني وتحوله إلى اللون البرتقالي، ويعتبر هذا دليلاً على تفكك جزء من المعقد بفعل هيدروكسي اليوريا وانخفاض الامتصاصية المحلول بعد إضافة الدواء وذلك عند طول الموجة 474nm كما في الشكل (11).



شكل(11): تأثير دواء الهيدريا (هيدروكسي اليوريا) على معقد نيكل كروم ازروول S

A- معقد نيكل - كروم ازروول S B - دواء الهيدريا (هيدروكسي اليوريا) مع معقد نيكل كروم ازروول S

تأثير الدليل الهيدروجيني pH في تشكل المعقد مع دواء هيدروكسي اليوريا:

Effect of pH on complex formation with hydroxyurea

تم تحضير سلسلة من المحاليل بنسبة ثابتة لكل من الكاشف كروم ازروول - S وأيون النيكل والدواء هيدروكسي ليوريا وذلك بأخذ (1ml) من المحلول العياري لكروم ازروول - S لحصول على تركيز $3.3 \times 10^{-5} M$ ويضاف إليه (1ml) من المحلول العياري لأيون النيكل الثنائي للحصول على تركيز 6.8×10^{-4} يضاف إليه (1ml) من

المحلول العياري لدواء هيدروكسي اليوريا للحصول على ما يكافئ تركيزه $2.63 \times 10^{-4} M$ ثم يدرس تأثير تغير الدليل الهيدروجيني على المحاليل السابقة بالاستعانة بمحلول من حمض كلور الماء بتركيز 0.1M بأخذ حجوم مختلفة منه وإضافتها إلى المحلول المدروس ثم التأكد من قيم الدليل الهيدروجيني بجهاز pH-meter وفي حالة انخفاض قيمة الـ pH تعدل بكميات قليلة جداً من هيدروكسيد الصوديوم 0.1M حتى ضبط الرقم الهيدروجيني عند القيمة المطلوب وذلك من أجل دورق حجمي سعة 50ml ، وقد لُحظ تدرج الألوان بين الأرجواني والأصفر الشكل(12)، وقيست امتصاصية المحاليل باستخدام جهاز التحليل الطيفي الضوئي عند طولي موجتين مختلفتين 427nm و 474nm كما في الجدول (2)، أظهرت النتائج المدروسة في الجدول أن أفضل درجة حموضة سجلت عند $pH = 5$ وذلك كونها تمتلك أكبر قيمة لامتصاصية .



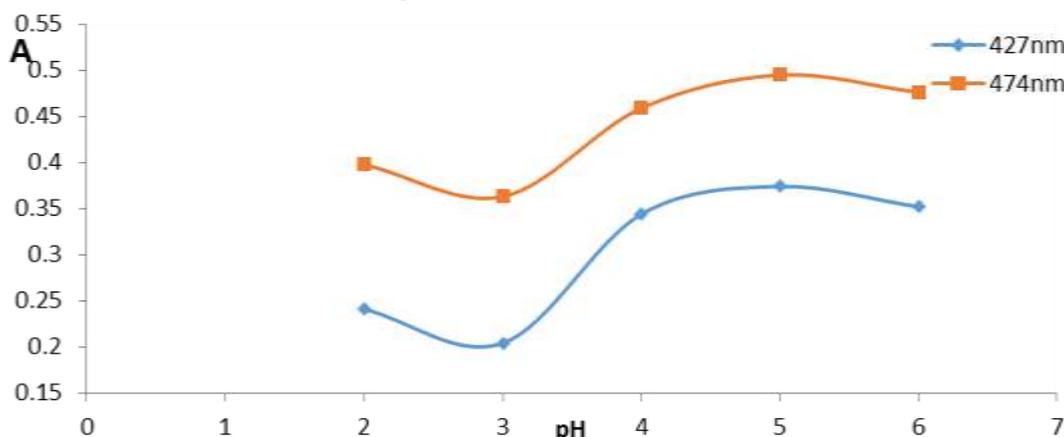
شكل(12): صورة فوتوغرافية لتأثير درجة الحموضة على تشكيل المعقد مع دواء هيدروكسي اليوريا

نتائج الدراسة وضعت في الجدول التالي :

جدول(2):تأثير درجة الحموضة على تشكل المعقد مع دواء الهيدريا :

pH	طول موجة	A at 427nm	A at 474nm
	2		0.241
3		0.204	0.363
4		0.344	0.459
5		0.374	0.495
6		0.352	0.476

تم تمثيل القيم المدروسة في الجدول السابق بيانياً وذلك كما هو موضح في الشكل التالي:



شكل(13) : تأثير الرقم الهيدروجيني في الدواء بوجود المعقد المقترح

Effect of buffer volume:

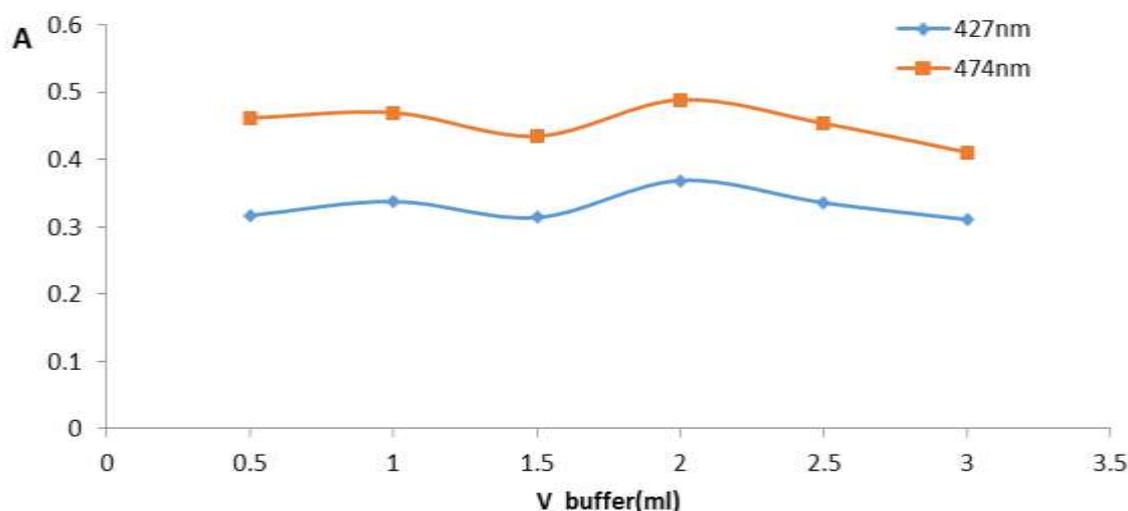
تأثير حجم المحلول الموقى:

جرى تحضير محلول موقى من حمض الخل CH_3COOH وخلات الصوديوم CH_3COONa باستخدام

علاقة هندرسون-هازلباخ ثم التأكد منها من خلال جهاز قياس الحموضة

$$pH = pka + \log \frac{[CH_3COONa]}{[CH_3COOH]} = 4.76 + \log \frac{0.0175}{0.01} = 5$$

حضر المحلول المنظم من أجل قيمة $pH = 5$ بأخذ وزن 0.1436gr من خلالات الصوديوم CH_3COONa ويضاف 57µl من حمض الخل المركز CH_3COOH إلى نفس الدورق من أجل حجم 100ml للحصول على التركيز 0.0175M وتركيز 0.01M لكل منهما على التوالي، علماً أن ثابت تأين حمض الخل $pK_a = 4.76$ ويتم التأكد من قيمته من خلال جهاز قياس الرقم الهيدروجينية $pH-meter$ ، ثم درس تأثير حجم المحلول المنظم المحضر وذلك بدراسة تأثير حجم المحلول المنظم بتابعية الامتصاصية مع ثبات تركيز وحجم كل من المعقد نيكل - كروم ازروول S والدواء وهيدروكسي اليوريا وذلك بأخذ (1ml) من المحلول العياري لكروم ازروول - S للحصول على تركيز $3.3 \times 10^{-5}M$ ويضاف إليه (1ml) من المحلول العياري لأيون النيكل الثنائي للحصول على تركيز 6.8×10^{-4} يضاف إليه (1ml) من المحلول العياري لدواء هيدروكسي اليوريا للحصول على ما يكافئ تركيزه $2.63 \times 10^{-4}M$ ، مع تغيير حجم المحلول المنظم الحمضي المحضر سابقاً في دوارق حجمية ثابتة 50ml وقد لُحظ أن أفضل حجم للمحلول المنظم هو عند 1ml لسببين الأول أولهما تحقيق امتصاصية جيدة وثانيهما عدم تغيير لون اللون البني للمحلول المدروس، أما عند إضافة حجم أكبر من 1.5ml فقد لُحظ تحول لون المحلول إلى اللون الأصفر، مما دليل على تأثير المعقد بفعل المحلول المنظم.



شكل(14): تأثير حجم محلول المنظم الحمضي حمض الخل - خلالات الصوديوم في معقد كروم ازروول S- مع النيكل بوجود دواء هيدريا دراسة تتالي الإضافات على امتصاصية المعقد :

Effect of Addition sequence on complex adsorbance:

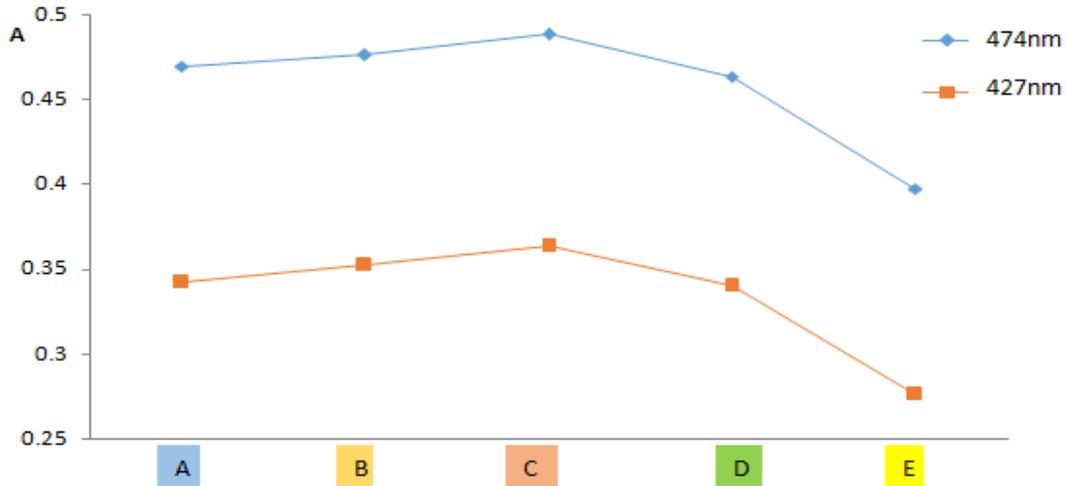
درس تأثير ترتيب إضافة مكونات التفاعل التحليلي في الجملة المدروسة، إذ حضرت مجموعة من المحاليل ذات تراكيز ثابتة وذلك بأخذ (1ml) من المحلول العياري لكروم ازروول - S للحصول على تركيز $3.3 \times 10^{-5}M$

ويضاف إليه (1ml) من المحلول العياري لأيون النيكل الثنائي للحصول على تركيز 6.8×10^{-4} يضاف إليه (1ml) من المحلول العياري لدواء هيدروكسي اليوريا للحصول على ما يكافئ تركيزه $2.63 \times 10^{-4}M$ ، و (1ml) من المحلول المنظم من أجل حجوم دوارق ثابتة 50ml ، مع تغير تتالي الإضافات ، حيث اعتمدت خمسة ترتيبات للإضافات لأيونات النيكل Ni^{2+} ، وكروم أزروول S- ورمزه Ch.S ، المحلول المنظم buffer، ودواء الهدريا HU ودونت نتائج الدراسة وضعت في الجدول الآتي:

الجدول(3): تأثير تتالي الإضافات في امتصاصية جملة معقد كروم أزروول S- مع نيكل والدواء والمحلل المنظم

تعاقب الإضافات					427nm	474nm
A	Ni^{2+}	Ch.S	محلل منظم	HU	0.342	0.469
B	Ch.S	Ni^{2+}	محلل منظم	HU	0.352	0.476
C	Ch.S	Ni^{2+}	HU	محلل منظم	0.363	0.488
D	HU	محلل منظم	Ni^{2+}	Ch.S	0.340	0.463
E	HU	Ni	Ch.S	محلل منظم	0.276	0.397

وتم تمثيل القيم المدرجة في الجدول السابق بيانياً وذلك كما يظهره الشكل الآتي:



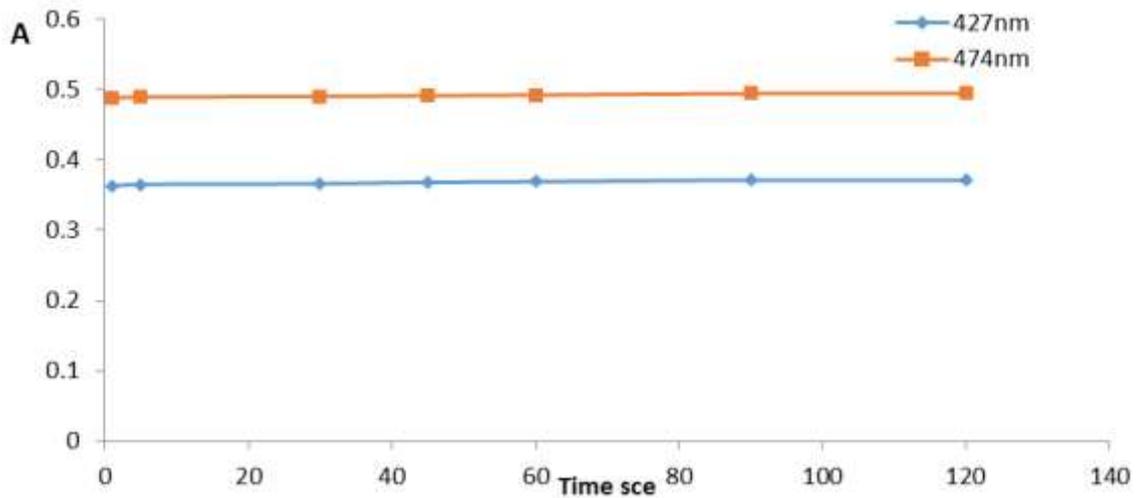
شكل(15): تأثير تتالي الإضافات كروموزم ازروول S- وأيونات النيكل والمحلل المنظم والدواء

تبين من الجدول(3) والشكل(15) السابقين أن أفضل تتالي إضافات هو كروم أزروول S- ثم أيونات النيكل ثم الدواء ثم المحلول المنظم .

Effect of time on complex formation:

تأثير الزمن على تشكل المعقد:

درس تأثير الزمن على الجملة المدروسة مع ثبات درجة الحرارة (حرارة المختبر) وتثبيت الشروط السابقة ، وتظهر نتائج هذه الدراسة موضحة في الشكل الآتي:



شكل(16): تأثير تغير الزمن في ثبات الجملة المدروسة

تبين من الشكل السابق أن الجملة المدروسة ثابتة مع مرور الزمن تفوق الساعتين.

تحديد نسبة تفكك المعقد بتأثير الدواء الهيدريا:

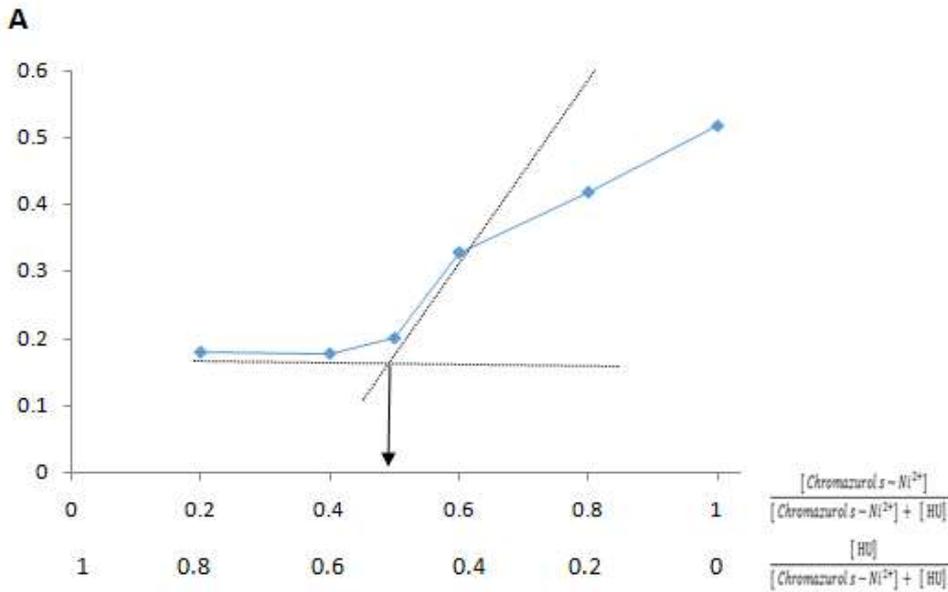
Determination of the rate of dissolution of the complex by the effect of the drug Hydrea:

يتم غالبا تحديد نسبة الارتباط لمقعد ما من خلال طريقة النسب الجزيئية أو طريقة التغير المستمر أو بكليهما معاً؛ إذ تمت في هذه الحالة دراسة طريقة التغير المستمر لكن بالحالة المعاكسة لتحديد نسبة تفكك المعقد بعد تثبيت كل من الشروط السابقة، وفق الآتي:

Continuous change method:

طريقة التغير المستمر:

تعتمد طريقة التغير المستمر على تحضير سلسلة عيارية من المحاليل المتغيرة من المعقد نيكول-كروم ازروول S ودواء هيدروكسي اليوريا بحيث يبقى مجموع تركيزهما ثابت في كل المحاليل كما هو موضح في الشكل(17)، ثم حددت الامتصاصية المقابلة لكل محلول وذلك عند طول موجة الامتصاص الأعظمي 474nm. رسمت تغيرات الامتصاصية للمحاليل المحضرة بدلالة الكسر المولي لكل منهما، ثم حددت نسبة التفكك من تقاطع المستقيمين المماسين للانعطاف.



الشكل (17): تحديد نسبة تفكك معقد $Chromazurol\ s - Ni^{2+}$ مع الهيدريا HU بطريقة التغيرات المستمرة يُلاحظ من الشكل (17) أن :

$$\frac{[Chromazurol\ s - Ni^{2+}]}{[Chromazurol\ s - Ni^{2+}] + [HU]} = 0.5; \frac{[HU]}{[Chromazurol\ s - Ni^{2+}] + [HU]} = 0.5$$

ومنه نجد أن نسبة تفكك المعقد $Chromazurol\ s - Ni^{2+}$ بفعل دواء الهيدريا HU هي 0.5 لكل منهما أي (0.5 من دواء الهيدريا HU و 0.5 من $Chromazurol\ s - Ni^{2+}$) وهذا ما يكافئ نسبة 1:1 ، يمكن تلخيص الشروط المثلى والنتائج التي توصلت إليها هذه الدراسة وضعت في الجدول الآتي:

الجدول(4) : الشروط المثلى التي توصل إليها البحث لتحديد دواء الهيدريا

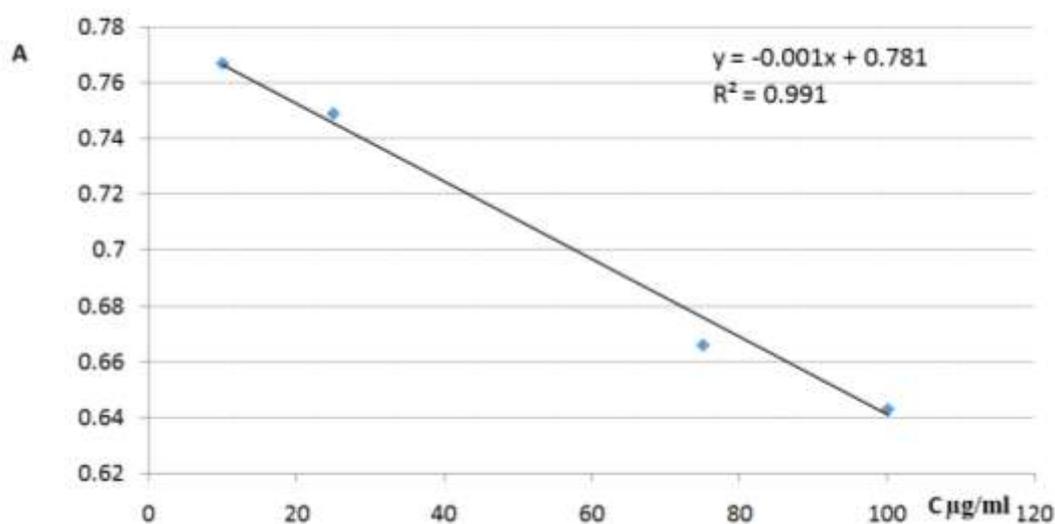
HU	المادة المدروسة
$[Chromazurol\ s - Ni^{2+}]$	المعقد المستخدم في التحليل
474nm	طول الموجة الأعظمي
5	pH
$=0.0175M[CH_3COONa]$	محلول الموقفي وحجمه*
$= 0.01\ M[CH_3COOH]$	
V buffer = 1ml/per 50 ml	
$25 \pm 2^\circ C$	درجة الحرارة (درجة حرارة المختبر)
<i>Chromazurol s then Ni^{2+} then HU then buffer solution then solvent(water)</i>	ترتيب الإضافات
water	المذيب المستخدم
2hour <	زمن الثبات
1: 1	نسبة تفكك المعقد بالنسبة للدواء

* يمكن الاستغناء عنه خلال التحليل

التحديد الكمي لدواء الهيدريا مع المعقد نيكل - كروم ازرول s

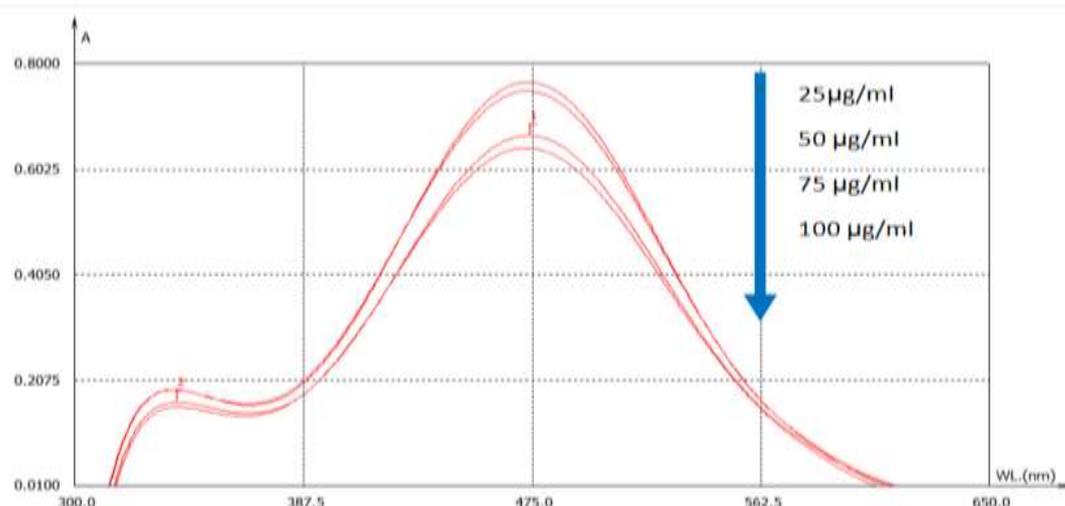
Quantitative determination of drug Hydrea with the nickel-chromium Azrole complex s

يتم التحديد الكمي لدواء هيدروكسي اليوريا (الهيدريا) بالاعتماد على تفكك معقد $\text{Chromazurol s} - \text{Ni}^{2+}$ حيث تبدأ الامتصاصية بالتناقص بزيادة تركيز الدواء ، حضرت سلسلة عيارية من محلول تحتوي على (1ml) من المحلول العياري لكروم ازرول - S للحصول على تركيز $3.3 \times 10^{-5} \text{M}$ ويضاف إليه (1ml) من المحلول العياري لأيون النيكل الثنائي للحصول على تركيز 6.8×10^{-4} يضاف إليه حجم متغيرة من دواء هيدروكسي اليوريا (HU) بتركيز متغيرة ضمن مجال $(10-100) \mu\text{g/ml}$ وهو ما يكافئ تراكيز $(1.3 \times 10^{-4} - 1.3 \times 10^{-3}) \text{M}$ وذلك انطلاقاً من المحلول العياري ، ثم يضاف إليها (1ml) من المحلول المنظم في دوارق حجمية سعة 50ml مع تثبيت الشروط المثلى المختارة على السلسلة المحاليل المدروسة وذلك من أجل تحديد مجال الخطية التي يكون فيها تركيز الدواء والامتصاصية ، وذلك كما هو مبين في الشكل (18)



الشكل(18): تأثير إضافة سلسلة تراكيز من دواء هيدروكسي يوريا في تفكك المعقد المتشكل $\text{Ni}^{2+} - \text{Chromazurol s}$

بلغ معامل الامتصاص المولي $0.4071 \times 10^4 \text{mol}^{-1} . \text{L. cm}^{-1}$ ومعامل ارتباط $R^2 = 0.991$ مما يدل على وجود ارتباط وثيق بين تركيز الدواء وتفكك المعقد وتمثل معادلة الخط المستقيم علاقة عكسية وتعطى بالعلاقة $Y = -0.001x + 0.781$ اجري- أيضا- مسح طيفي للسلسلة المحاليل المذكورة أعلاه فلحظ انخفاض في قيمة الامتصاصية الأعظمية كما في الشكل(18)



الشكل (19) : مسح طيفي لسلسلة المحاليل ضمن تراكيز متغيرة (10-100)µg/ml من الدواء مع ثبات باقي الشروط حسب الاسترجاعية والانحراف المعياري والانحراف المعياري النسبي وحد الثقة وتم وضعها في الجدول الآتي:
جدول (5) المعالجة الاحصائية الرياضية بتثبيت كافة الشروط المثلى وبالاعتماد على السلسلة المحاليل المدروسة

التركيز المأخوذ	n	التركيز المحسوب x̄	SD	RSD	$\bar{x} \pm t.s/\sqrt{n}$	R
50 µg/ml	3	49.33 µg/ml	2.41 µg/ml	4.82 %	[52.6-46.05] µg/ml	98.66 %

قورنت الطريقة المقترحة مع طرائق مرجعية أخرى من حيث مجال الخطية والاسترجاعية وحد الكشف التجريبي والانحراف المعياري النسبي المئوي كما في الجدول الآتي:

جدول (6) مقارنة الطريقة المقترحة مع طرائق تحليلية مرجعية أخرى					
المرجع	التقانة المستخدمة	مجال الخطية	الاسترجاعية	حد الكشف التجريبي	والانحراف المعياري النسبي المئوي
هذه الدراسة	Vis طيبي	10-100 µg/ml	98.66%	10 µg/ml	4.82%
[2]	HPLC	0.5-60 µg/mL	(92.0%105.0)%	0.5 µg/ml	-
[9]	HPLC	7.6-1216 µg/mL	-	3.83 µg/mL	± 20%.
[14]	HPLC-MS	1 - 50 µg/L	(77-108)%	0.013 µg/L	1.35- 0.135%

تبين المقارنة أن الطريقة المقترحة تمتاز بخطية جيدة وحد كشف تجريبي وباسترجاعية مرتفعة مقبولين نسبياً بالمقارنة مع الطرائق المرجعية الأخرى بالإضافة إلى انحراف معياري نسبي مئوي منخفض نسبياً وبذلك تعد هذه الطريقة من الطرائق التحليلية الجيدة إضافة على انها سهلة وبسيطة وغير مكلفة وتحتاج إلى زمن قصير في القياس .

الاستنتاجات والتوصيات

يمكن تحديد تركيز دواء هيدروكسي اليوريا في المجال المرئي بالاعتماد على تفكك معقد نيكيل - كروم ازروول S وتكون العلاقة بينهما علاقة خطية عكسية عند طول موجة اعظمي 474nm كما لحظ وجود ارتباط وثيق بينهما ضمن مجال تراكيز (10-100)µg/ml تمتاز هذه الطريقة ببساطتها وسرعتها وسهولة تطبيقها.

Reference

- 1- HUSSAINM, K. A. ABIID, D. S AND ADAM. G. A ,New Method for synthesis hydroxyurea and Some its polymers supported derivatives as new controlled release drugs, Journal of Basrah Researches ((Sciences)) Vol. (41). No. (1) A (2015), <https://www.researchgate.net/publication/293816524>
- 2- MARAHATTA, A. MEGARAJ,V. P. MCGANN,T . R WARE,E. AND KENNETH, D.R. SETCHELL . Stable-Isotope Dilution HPLC–Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry Method for Quantifying Hydroxyurea in Dried Blood Samples, American Association for Clinical Chemistry(2016). [DOI:10.1373/clinchem.2016.263715](https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.263715)
- 3- RANGEL,V. F. PATARRO, F. ANTONIO, J. M. AND HERMIONE, E.M. Impact of the Medicine Hydroxyurea on Reproduction and Development, Using Drosophila Melanogaster as a Model Organism, The Open Public Health Journal, (2014), 7, 16-23
- 4- LIEBELT,E L. . BALK, S. J. FABER,W. J. .et.al NTP-CERHR Expert Panel Report on the Reproductive and Developmental Toxicity of Hydroxyurea , Birth Defects Research (Part B) (2007)80:259–366
- 5- NAIK,K. M. KOLLI, D. B , NANDIBEWOOR, S.T. Elucidation of binding mechanism of hydroxyurea on serum albumins by different spectroscopic studies. SpringerPlus (2014), 3:360 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>),
- 6- HUANG, Y.J. JIANG WANG, Y. C. YI ZHENG, D.X .WANG,W.H, BAOYUAN AND ZHANG. J. B. Hydroxyurea regulates the development and survival of B16 Melanoma Cells by upregulating MiR-7013-3p. International Journal of Medical Sciences (2021); 18(8): 1877-1885. [doi:10.7150/ijms.52177](https://doi.org/10.7150/ijms.52177)
- 7- HASHEMI, A. ABRISHAMKAR,M. JENABZADE,A.R.,Hydroxyurea Can Reduce or Eliminate Transfusion Requirements in Children with Major and Intermediate Thalassemia IJBC (2009); 4: 147-150
- 8- VERMA ,H.K. LAKKAKULA,S. B LAKKAKULA,V.K.S. Retrospection of the effect of hydroxyurea treatment in patients with sickle cell disease journal homepage: <https://content.sciendo.com/ahp> March (2018) • 1-8 • [DOI: 10.2478/ahp-2018-0001](https://doi.org/10.2478/ahp-2018-0001).
- 9- DIAS ELIAS,D. B. PONTE CARVALHO,T. M JESUS, J. E. Sá Soares, R. P. Standardization method for measurement of hydroxyurea by Ultra High Efficiency Liquid Chromatography in plasma of patients with sickle cell disease Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 50, n. 3, jul./sep., (2014) <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502014000300022>
- 10- DONG , M. MCGANN, P. T. Changing the Clinical Paradigm of Hydroxyurea Treatment for Sickle Cell Anemia Through Precision Medicine, Clin Pharmacol Ther ; 109(1):(. 2021) 73–81. [doi:10.1002/cpt.2028](https://doi.org/10.1002/cpt.2028).
- 11- ASHISH DIXIT , T. C. CHATTERJEE . P. M . DHARMA, et.al , Hydroxyurea in thalassemia intermedia—a promising therapy Ann Hematol (2005) 84: 441–446 [DOI 10.1007/s00277-005-1026-4](https://doi.org/10.1007/s00277-005-1026-4)

- 12- Hydroxyurea for Sickle Cell Disease Treatment Information from the American Society of Hematology (ASH)(2021) www.hematology.org/scd
- 13- NAZON,C. SABO ,A. N . BECKER , G. LESSINGER J.M., KEMMEL,V AND PAILLARD,C. Optimizing Hydroxyurea Treatment for Sickle Cell Disease Patients: The Pharmacokinetic Approach J. Clin. Med. (2019), 8, 1701; [doi:10.3390/jcm8101701](https://doi.org/10.3390/jcm8101701) www.mdpi.com/journal/jcm
- 14- USAWANUWAT,J. BOONTANON,N AND KITPATI, S. B. Analysis of Three Anticancer Drugs (5-Fluorouracil, Cyclophosphamide and Hydroxyurea) in Water Samples by HPLC-MS/MS . Journal of Advances in Agricultural & Environmental Engg. (IJAAEE) Vol. 1, Issue 1(2014) . <http://dx.doi.org/10.15242/IJCCIE.C0114136>
- 15- LANARO, C. F. FRANCO-PENTEADO, D. M. ALBUQUEQUE, S. T. O. SAAD, N. CONRAN, AND F. F. Costa Altered levels of cytokines and inflammatory mediators in plasma and leukocytes of sickle cell anemia patients and effects of hydroxyurea therapy, Journal of Leukocyte Biology Volume 85, (2009), [doi: 10.1189/jlb.0708445](https://doi.org/10.1189/jlb.0708445)
- 16- ANDERS,D. G. FEI TANG, B. LEDNEVA,T. CAGGANA, et.al, Hydroxyurea Use in Young Children With Sickle Cell Anemia in New York State, Prev Med (2016);51(1S1):S31–S38 <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/> .
- 17- MODESTE ,S. C. YAHOUÉ ,A. CONCEIC ,C. GUARDA , C. V. FIGUEIREDO ,et.al Hydroxyurea alters hematological, biochemical and inflammatory biomarkers in Brazilian children with SCA: Investigating associations with β S haplotype and α -thalassemia, PLOS ONE | July 15, (2019) [https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0218040](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218040)
- 18- DARSHANA ,T. REES ,D. AND PREMAWARDHENA. A . Hydroxyurea and blood transfusion therapy for Sickle cell disease in South Asia: inconsistent treatment of a neglected disease, Darshana *et al. Orphanet J Rare Dis* (2021) 16:148 <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01781-w>
- 19- YASARA,N. PREMAWARDHENA .A. AND METTANANDA. SACHITH . A comprehensive review of hydroxyurea for β -haemoglobinopathies: the role revisited during COVID-19 pandemic,Orphanet J Rare Dis (2021)16:114 <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01757w>
- 20- MALEK OKDEH , JUHAINA DIB , MOHAMMAD OBEID, Determination of Naproxene in its pure form and in some Pharmaceuticals by vis-Spectrophotometry using the Chrome Azrol S, Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series, Vol. (14) No.1 (2019) journal.tishreen.edu.sy
- 21- ALLA FRAK HUSSIN , BAN MAHMUD SHAKER , Determination of nickel(II) by vis-Spectrophotometry using Chromazurol S reagent National Journal of Chemistry,(2007),Iraq , Volume 27,377.
- 22- EVIC A, M. G. 'IC A, E. B. BIRUS' , MLADEN, A. Z., ELDIK, R. V. Oxidation of hydroxyurea with oxovanadium(V) ions in acidic aqueous solution Journal of Inorganic Biochemistry 100 (2006) 1606–1613 www.elsevier.com/locate/jinorgbio [doi:10.1016/j.jinorgbio.2006.05.008](https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.05.008)