بناء قطب غشائي إنتقائي لتقدير عقار البروكائين هيدروكلوريد بواسطة قواعد شف

ا. د . سهام توفيق امين ا.م.د.فائز محسن حامد عبيد عبدالله جاسم

كلية العلوم / جامعة تكريت , صلاح الدين , العراق

ABSTRACT

This project including synthesis of selective membrane electrode ,consisting of electrically active material produced from Schiff base reaction of (procaine hydrochloride , m-hydroxyl benzeldehyde) with phosphomolybdic acid and dibutyl phthalate as blastilyzer material and used poly phenyl chloride as asupport material ,
The electrode gave liner response in the range (10^{-5}-10^{-1} M) with slope 19.3mv\decade r^2=0.9973 and LOD =1.72 ×10^{-7} M, The Optimum concentration of the inner solution was (10^{-4}) M at temperature (25-35 C°)and pH (6-8) .The Life time of the electrode was105 days.

الخلاصة:

تضمن البحث صناعة قطب غشائي انتقائي مؤلف من مادة فعالة كهربائيا ناتجة من تفاعل قاعدة شف(البروكائين هيدروكلورايد (PRO) والميتا هيدروكسي بنزالديهايد) مع حامض الفوسفوموليبدك(PMA) بوجود ثنائي بيوتيل فثالات كمادة ملدنة و بولي فنيل كلورايد كمادة سانـــدة وقد حقق القطب Schiff PRO –PMA–DBPH مدى استجابة خطية (10^{-1}– 10^{-5}) مولاري وبانحدار مساوٍ لـ 19.3 mv/ decade وبمعامل ارتباط 0.9973 وحد الكشف 1.72× 10^{-7} مولاري وكان أفضل تركيز لمحلول المليء الداخلي 10^{-4}مولاري عند (25–35) م° ودالة حامضية من (6–8) وقد بلغ عمر القطب 105 يوما .

الكلمات الدالة : بروكائين , قواعد شف , أقطاب الأغشية الانتقائية الأيونية .

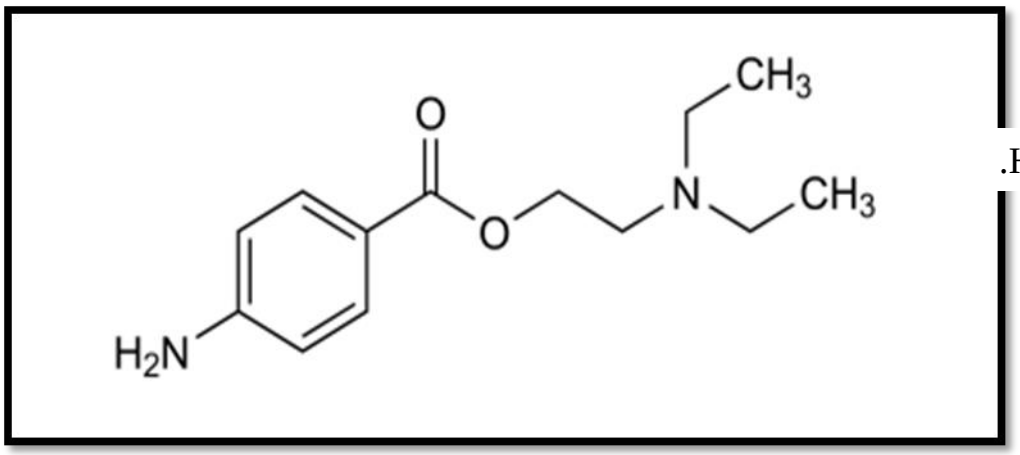
المقدمة:

البروكائين هيدروكلورايد (PRO) الشكل(1). أسمه العلمي(2-diethyl aminoethyl-4-aminobenzoate hydrochloride) واسمة التجاري Novocain وصيغتة

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

الجزيئية $C_{13}H_{20}N_2O_2.HCl$ ووزنة الجزيئي(272.8)غم/مول. يستخدم لوحدة كمخدر موضعي لتخفيف آلام حقن البنسلين داخل الخلايا وفي قلع الاسنان وآلام اسفل الظهر وفي عمليات الولادة ومع البنسلين كمضاد للجراثيم [1]. صنع لاول مرة في عام 1905 من قبل العالم الالماني Albert Einhorn واستبدل بدلا عن الكوكائين لفعاليتة السريعة وقلة اثاره الجانبية.وانه غير مسبب للادمان [2].

قدر البروكأئين هيدروكلورايد بعدة تقنيات منها تقنية كروماتوكرافيا السائل عالي الاداء [4,3], الفولتامتري النبض التفاضلي والتحليل الكهروكيميائي [6,5] الالكتروفورسز [8,7], الامتصاص الذري [9], التسحيح الايوني [10], كروماتوكرافي الغاز [11], الفلومتري [13,12], تحليل الحقن المستمر[15,14], تحليل حقن الجريان [17,16]. البريق الكيميائي [18], الطرق الطيفية الضوئية واللونية [20,19] , الدفعة والحقن الجرياني بأستخذام تفاعلات الازوتة والاقتران [21]. تتضمن الدراسة الحالية بناء اقطاب غشائية ايونية انتقائية لتقدير البروكائين هيدروكلورايد بواسطة قواعد شف.



.HC

الشكل (1)procaine hydrochlorid

المواد وطرائق العمل

A-الأجهزة المستخدمة Instruments

- جهاز قياس الدالة الحامضية والجهد JENWAY pH Meter 3310 .
- قطب الكالوميل Calomel Electrode Siwss Source .
- ميزان حساس (بأربع مراتب عشرية) Sartorius BL 210S .
- مسخن حراري ذو محرك مغناطيسي Hot Plate with Magnetic Stirrer BIOSAN MSH 300 .

-حمام مائي بالأمواج فوق الصوتية Ultrasonic with water bath UNISONICS model Fxp12 .

-قطب مرجعي داخلي (فضة – كلوريد الفضة)
(Silver- Silver chloride Electrode) as Internal Reference Electrode

- فرن تجفيف Drying Oven / Soyokaze Isuzu Seisakusho Com Ltd .

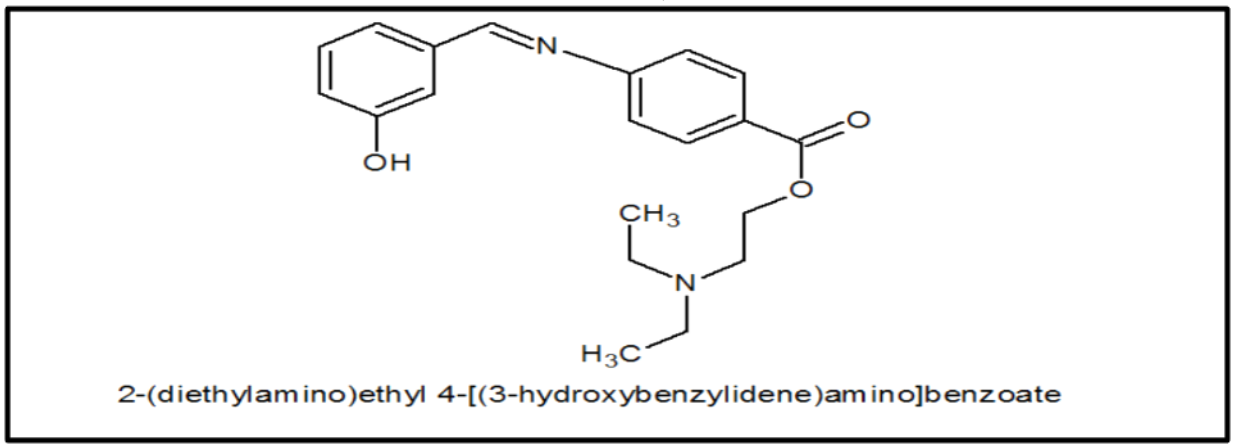
-جهاز مايكروويف Micro Wave CLATRONIC MW771 .

B-المواد الكيميائية المستخدمة Chemical Materials Uses

استخدمت مواد كيميائية على درجة عالية من النقاوة المجهزة من شركة Fluka , BDH و استعمل الماء المقطر اللايوني .

1-تحضير قاعدة شف المشتقة من عقار البروكائين هيدروكلورايد

تم تحضير قاعدة شف عن طريق مزج 0.01 مول من meta hydroxylbenzaldehyde مع 0.01 مول من عقار بروكائين هيدروكلورايد في بيكر صغير ثم وضع البيكر في جهاز الmicro wave بدرجة حرارة مرتفعة لمدة تتراوح بين (6-8) دقائق .وبعد عملية إعادة البلورة عن طريق إذابة قاعدة شف في كمية قليلة من الايثانول المطلق ثم ترشيح المحلول وأخذ الراشح وتركه في درجة حرارة الغرفة لمدة يومين لحين تبخر المذيب وجفاف الراسب; والصيغة التركيبية للمعقد موضحة كما في الشكل (2)



الشكل (2) الصيغة التركيبة للمعقد

2- محلول المادة الدوائية بروكائين هيدروكلوريد 0.1 مولاري

حضر 100 مل من المحلول القياسي بتركيز 0.1 مولاري من إذابة 2.7280 غم من البروكائين هيدروكلوريد النقي في حجم قليل من الماء الخالي من الأيونات ثم أُكمِلَ الحجم إلى حد العلامة, وحضرت المحاليل القياسية الأخرى 10^{-5}-10^{-2} مولاري بالتخفيف من المحلول القياسي .

3- محلول مادة حامض فوسفومولیبديك 0.1 مولاري

حضر 100 مل من محلول مادة حامض فوسفومولیبديك بتركيز 0.1 مولاري من إذابة22.576غم منها في الايثانول المطلق ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالايثانول المطلق.

4- محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز تقريبي 0.1 مولاري

نقل 0.83 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز(12عياري) إلى قنينة حجمية سعة 100 مللتر حاوية على الماء وأُكمِلَ الحجم بالماء الخالي من الأيونات إلى حد العلامة .

5- محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز تقريبي 0.1 مولاري

حضر بإذابة 0.4 غرام من هيدروكسيد الصوديوم في حجم مناسب من الماء الخالي من الأيونات وبعد إتمام الإذابة نُقل المحلول إلى قنينة حجمية سعة 100 مللتر وأُكمِلَ الحجم بالماء الخالي من الأيونات إلى حد العلامة .

6- تحضير معقد قاعدة شف مع حامض الفوسفومولبدك

حُضر المعقد بإضافة 10 مل من محلول قاعدة شف$^{-1}$ 10مولاري مع 20 مل من محلول PMA وبالتركيز نفسه 10^{-1} مولاري مع التحريك المستمر، فتكون راسب اخضراللون، ثم رُشح الراسب وغسل عدة مرات بالايثانول المطلق، وترك مدة يومين في درجة حرارة المختبر لحين الجفاف.

7- محلول مستحضر Procaine Penicillin

تم أذابة (0.4) غم من هذا المستحضر التي تحتوي كل حقنة على (400) ملغم من مادة PROم من أنتاج شركة MEHECOالصينية , في حجم مناسب من الماء المقطر اللا ايوني واكمل الحجم في قنينة حجمية سعة (100) مل بالماء المقطر اللاايوني الى حد العلامة فكان الناتج عنه محلول يحوي على ال PRO بتركيز (0.01) مولاري

تصنيع القطب الغشائي الانتقائي لعقار البروكائين هايدروكلورايد بوجود المادة الملدنة ثنائي- بيوتيل فثالات.

حضر الغشاء الانتقائي بمزج مكوناته وفقا لنسب وزنية معينة والتي أعطت أفضل الأغشية وكما يلي :-

a- أذيب 0.4500 غم من مسحوق مادة PVC في مزيج مكون من 10 مل من الاسيتون و20 مل من رباعي هيدروفيوران .
b- أضيف الى المزيج 0.100 غم من المعقد الدوائي المحضر مع التحريك المستمر لحين الإذابة التامة باستخدام جهاز الإذابة بالموجات فوق الصوتية.
c- أضيف 0.4300 غم من المادة الملدنةDBP H مع التحريك المستمر لحين التجانس .
d- تم صب المزيج في طبق زجاجي (Petri dish) بقطر 10سم وبشكل مستوي وغطي المحلول بأوراق ترشيح فوق الطبق الزجاجي وترك لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة

المختبر للسماح للمذيب بالتبخر تدريجيا ومن ثم رفع الغشاء بعناية بواسطة ملقط (Tong) ذي السمك 0.27 مليمتر والذي تم قياسه بواسطة micrometer.

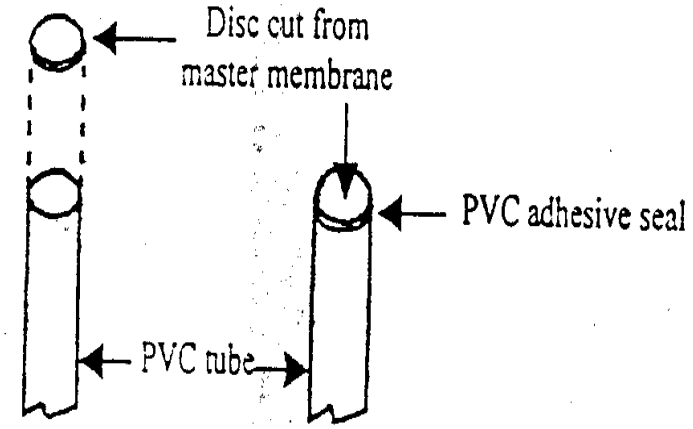
تركيب القطب الغشائي

a- تم قطع جزء من أنبوب الـ(PVC) طوله 5.0 سم وقطره الخارجي1.5 سم وغُمرت إحدى نهايتيه في مذيب الـ(THF) ومُسِك بوضع عمودي على صفيحة زجاجية وحُرك بحركة دائرية لأجل تسويته .

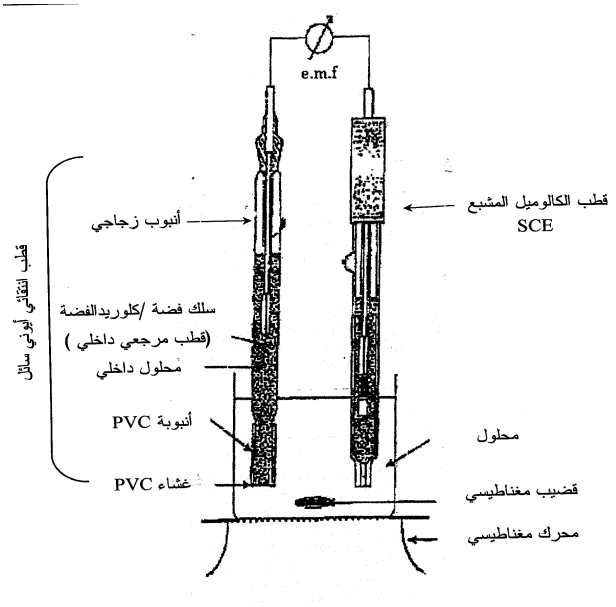
b- ثم لصق قرص (Disk) دائري من الغشاء بقطر اكبر من القطر الخارجي لانبوب الPVC بلاصق مكون من الTHF وبعناية تامة على احد نهايتي انبوب PVC.

c- ايصال النهاية الأخرى لأنبوب الـ (PVC) إلى أنبوب زجاجي يحتوي على قطب الفضة .كلوريد الفضة (Ag/AgCl)، وربُط بجهاز فرق الجهد بسلك معزول .

d- مُلئ انبوب الPVC بحدود ثلثيه بمحلول ملئ داخلي للمادة الدوائية (PRO) وغمره لفترة زمنية قدرها 3 ساعات في محلول المادة الدوائية القياسية وبنفس تركيز محلول الملىء الداخلي لمجانسة غشاء القطب وتشبعه بالمحلول وإتمام عملية التبادل ألايوني بصورة منتظمة من المحلول الخارجي إلى الغشاء ثم إلى المحلول الداخلي وبالعكس [22] والشكل رقم (3) يوضح مراحل تركيب القطب الغشائي الانتقائي ، أما الشكل (4) فيمثل تركيب الدائرة الكهربائية.



الشكل رقم (3) مراحل تركيب القطب الغشائي الانتقائي



الشكل (4) تركيب الدائرة الكهربائية

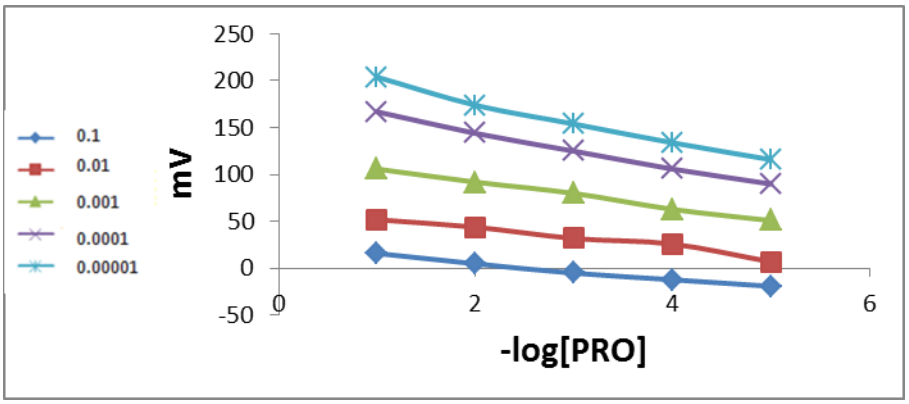
النتائج والمناقشة:

دراسة الظروف المثلى:-

1- تـأثير تركيـز محلـول الملـئ الـداخلي Effect of internal solution Concentration

كان أفضل تركيز محلول ملئ داخلي للقطب هو 10^{-4} مولاري والذي يعطي أفضل استجابة طبقا لمعادلة نرنست

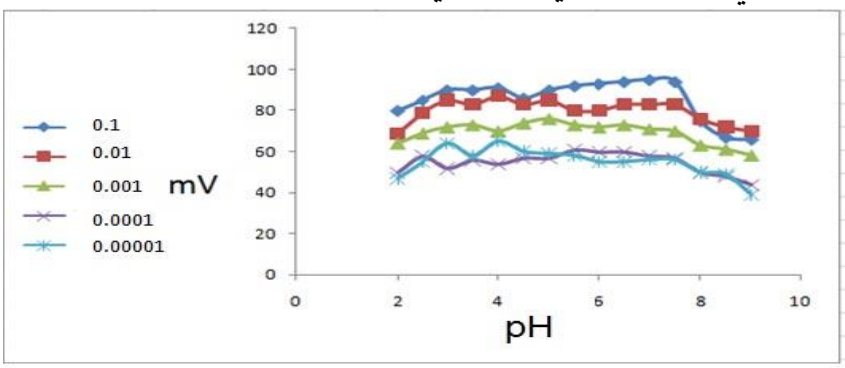
(E=(E° −2,303RT/nf)Log[R]/[O]) [23] وهذا التركيز يعطي القيمة التجريبية للانحدار القريبة للقيمة النظرية 19.7 mv/decade ويعطي أفضل قيمة لمعامل الارتباط حسب مامبين في الشكل(5) أما تراكيز المحاليل الداخلية الاخرى فأعطت استجابة نيرنستية غير مقبولة بسبب عدم قدرة ايونات المحلول الداخلي على إعطاء فرق جهد ملائم بين حد الغشاء الخارجي والحد الداخلي للقطب .



الشكل (5) تأثير محلول الملئ في استجابة القطب Schiff PRO-PMA-DBPH

2- تأثير الدالة الحامضية Effect of pH

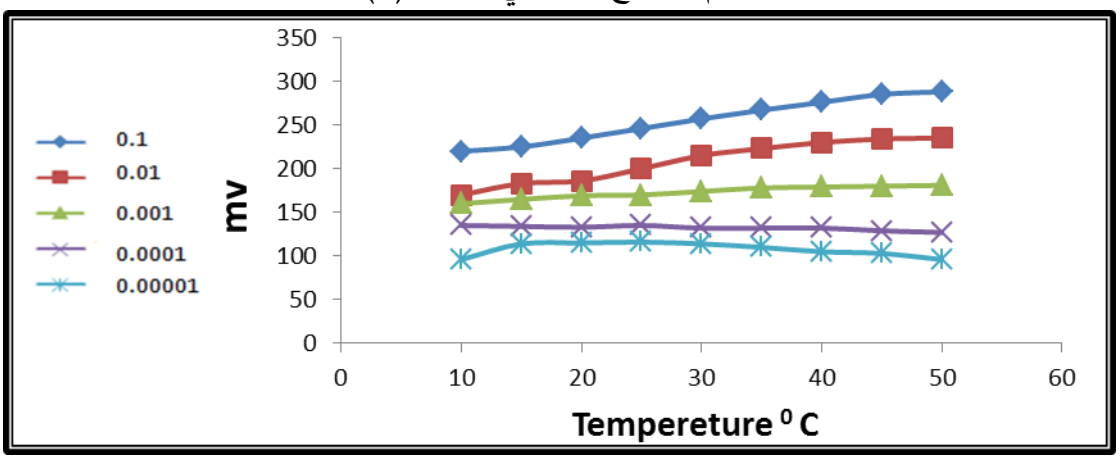
أن أفضل دالة حامضية يمكن أن يعمل بها القطب هي بمدى(5–8)، وكماهو مبين في الشكل (6) ولقد أهملت قيم الدالة الحامضية العالية بسبب تلبد الغشاء عند استعمال NaOH بتركيز 10^{-1} مولاري فيتكون راسب أبيض مع العقار مع إعطاء قيم جهدية غير منتظمة والسبب هو حدوث الخطأ القلوي . إن الانحراف الحاصل في جهد القطب عند الدالة الحامضية الواطئة والعالية ربما يعزى الى تداخل البروتون H^+ مع ايون القطب في قيم pH (المحاليل الحامضية) والهيدروكسيل OH^- في الوسط القاعدي مما يؤدي الى تفكك المعقد الموجود داخل الغشاء.



الشكل (6) تأثير الدالة الحامضية في استجابة القطبPRO-PMA- DBP

3- تأثير درجة الحرارة Effect of temperature

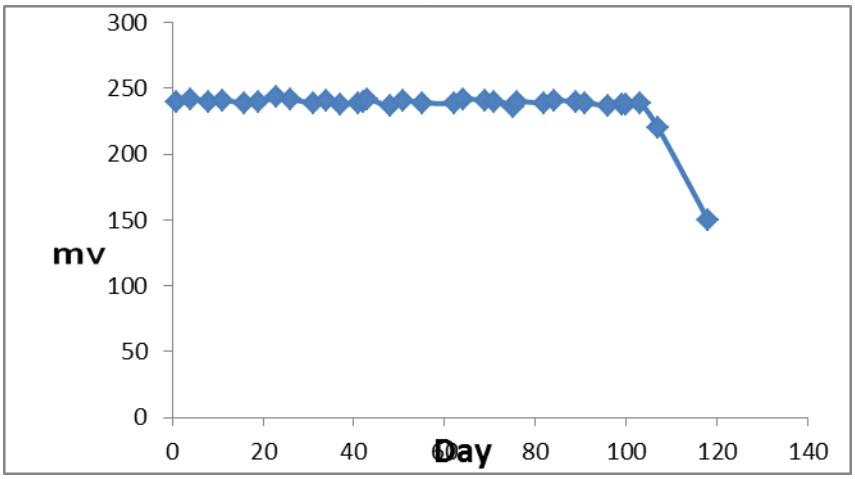
وجد إن أفضل درجة حرارة مئوية يعمل بها القطب كانت بين 25–35 ^{o}م والتي استعملت في التجارب اللاحقة وتبين ان هناك ارتفاع ملحوظ في قيم فرق الجهد عند درجات الحرارة ألعالية والذي يمكن أن يعزى إلى زيادة حركة جزيئات محلول العقار داخل وخارج القطب إضافة إلى زيادة المساحة السطحية لغشاء القطب المصنع وتم إهمال درجة الحرارة التي هي اعلى من 35مْ والنتائج مبينة في الشكل (7).



الشكل (7) تأثير درجة الحرارة في استجابة القطب PRO-PMA- DBPH

4-العمر الزمني للقطب Life time of electrod

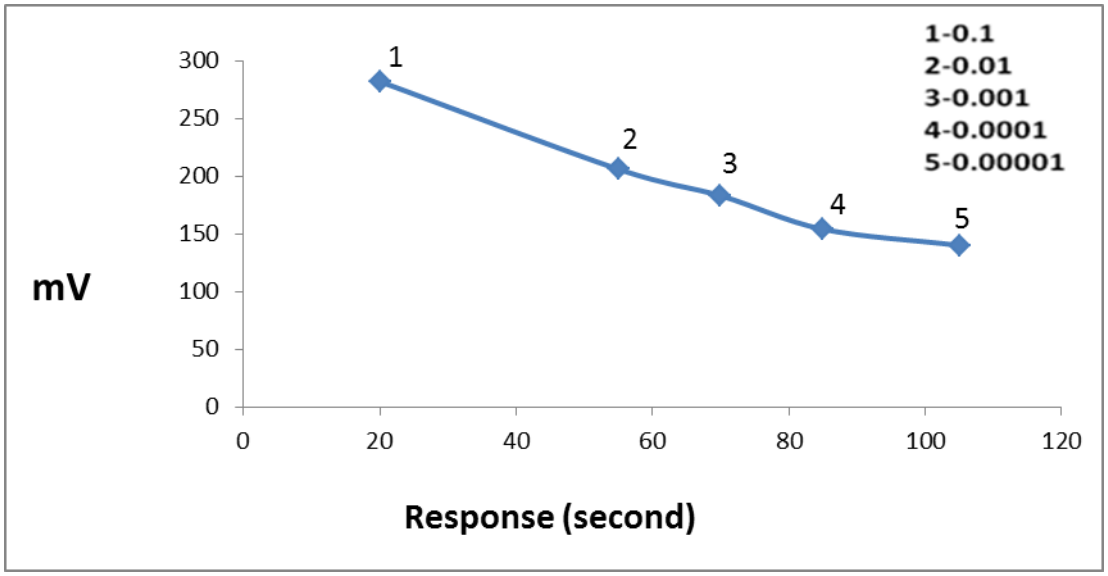
وقد كان العمر الزمني للقطب PRO–PMA–DBPH بحدود 105 يوم وبعدها اظهر القطب انحرافاً سالباً ويقاس عمر القطب اعتماداً على قدرته على اعطاء منحني معايرة ذي انحدار قريب من قيمة الانحدار المحسوبة نظرياً من معادلة نيرنست أو مطابق لها وقد يعود السبب في انتهاء عمر القطب عموما إلى تسرب محتويات الغشاء(المادة الفعالة والملدنة) من الطبقة البوليمرية والشكل (8) يبين علاقة العمر مع الجهد.



الشكل (8) العمر الزمني للقطب PRO–PMA – DBPH

5– زمن استجابة القطب Response Time of Electrode

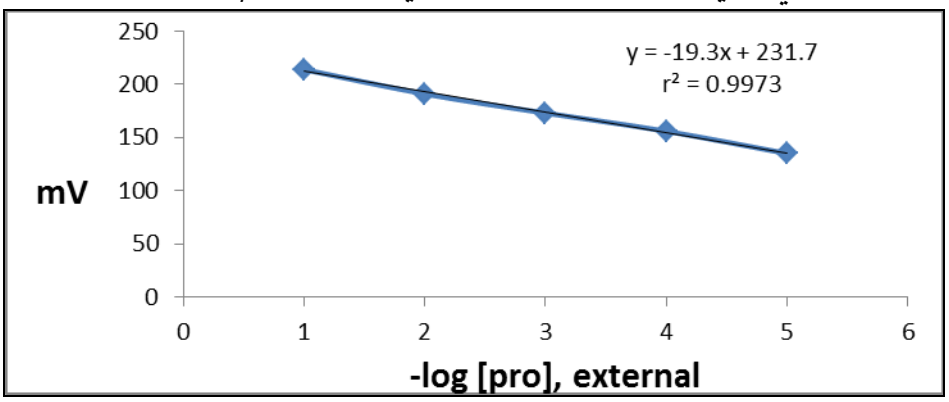
حدد زمن استجابة القطب المذكور بعد تثبيت الظروف المثلى من دالة حامضية ودرجة الحرارة فقد تراوحت بين 30– 120 ثانية للتراكيز من (10^{-1}–10^{-5}) مولاري للقطب PRO–PMA–DBPH وهو زمن استجابة يقع ضمن الحدود التي يظهرها هذا النوع من الأقطاب (من دقيقة إلى دقيقتين).وكما موضح في الشكل(9) اذ ثبتت قراءة الجهد للتركيز المعني وكان مقدار التغير في القراءة أقل من±1 ملي فولت من لحظة تماس أقطاب الخلية (العامل او المرجع) للمحلول قيد الدراسة وهناك عوامل تؤثر في زمن الاستجابة مثل تركيز المحلول القياسي وسرعة التحريك للمحلول المقاس وحجم المحلول ودرجة الحرارة.



الشكل (9) زمن الاستجابة للقطبPRO–PMA – DBP

6-المنحني القياسي Calibration Curve

يتبين من منحني المعايرة في الشكل (10) ان المدى الخطي لاستجابة لقطب PRO– PMA –DBPH هو من (10^{-1}–10^{-5}) مولاري وقيمة معامل الارتباط 0.9973 وإن الانحدار النرنستي الذي أعطاه القطب كان مساويا لـ 19.3 mv/decade



الشكل (10) المنحني القياسي للقطبPRO–PMA –DBPH

7-قياس الانتقائية Selectivity measurement

أظهر القطب المدروس انتقائية عالية تجاه العقار دون ان يتأثر جهده بالايونات المتداخلة المختارة ويتضح ذلك من خلال قيم معامل الانتقائية التي هي أقل من واحد والمتداخلات التي تمت دراستها هي :

[K^+ , Zn^{+2}, Fe^{+3} ,Br^{-1} , SO_4^{-2} , PO_4^{-3} , Starch ,Glucose, Sodium citrate , Sodium benzoate ,] والنتائج مبينة في الجدول (1) .

الجدول (1) قيم معامل الانتقائي

الأيون المتداخل 10^{-1} مولاري	قيم معامل الانتقائية $K_{i,j}^{pot}$ Schiff pro-DBPH		
	10^{-2}	10^{-4}	10^{-5}
K^{+1}	0.2776	-0.000285	-0.000004747
Zn^{+2}	0.5470	-0.0001544	-0.000004695
Fe^{+3}	0.734	-0.0001132	-0.000004231
Br^{-}	0.3824	-0.0002429	-0.000004219
SO_4^{-2}	0.8641	-0.0000484	-0.00000522
PO_4^{-3}	0.2168	-0.00006923	-0.00006543
Starch 0.5%	0.7627	-0.0001544	-0.000004173
Glucose 0.5%	0.5774	-0.0002156	-0.000004664
Sodium citrate 0.5%	0.20039	-0.0001544	-0.000004723
Sodium benzoate 0.5%	0.7627	-0.0001740	-0.000005294

التطبيقات : **Application**

1- الطريقة المباشرة :- Direct method

قُدِرَ تركيز العقار في حقنة البنسلين بروكائين بقياس جهد 20 مل من المحلول المحضر في الفقرة (3–7) باستعمال قطب Schiff PRO–PMA–DBPH ومن منحني المعايرة تم استخراج تركيز العقار في محلول البنسلين بروكائين (600 ملغم) والنتائج مبينة في الجدول (2)

الجدول (2) نتائج التطبيقات بالطريقة المباشرة للقطب المصنع

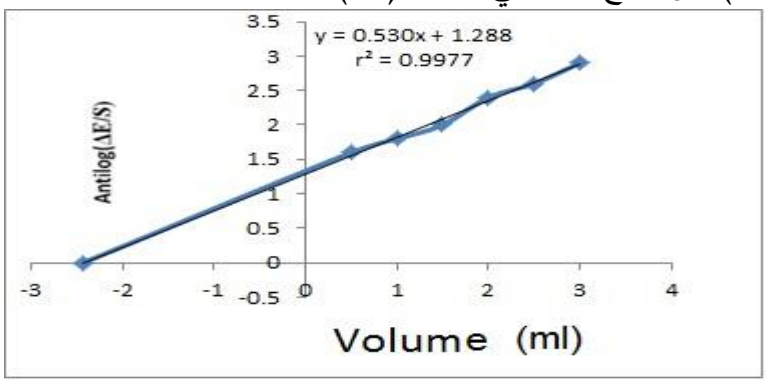
نوع القطب	المستحضر الصيدلاني	نوع المستحضر	التركيز المدروس (مولاري)	التركيز الملاحظ (مولاري)	*Rec (%)	*RE (%)
PRO-PMA-DBPH	Penicillin procaine	injection	10^{-2}	0.0098	98	-2
			10^{-3}	0.00099	99	-1
			10^{-4}	0.00010026	100.26	0.26

*معدل ست قراءات

إن قيم الاستردادية (Rec%) الجيدة باستعمال القطب Schiff PRO–PMA–DBPH هي بحدود 98–100.26% والخطا النسبي (Re%) هي من (2–الى0.26) تؤكد أن التقدير باستعمال هذا القطب هو ذو دقة وتوافق عاليين .

2- طريقة الإضافة القياسية Standard Addition Method

تم تحضير نموذج من المستحضر الصيدلاني (حقنة البروكائين بنسلين) بتركيز $1x10^{-2}$ مولاري وذلك باذابة 0.5 غم من المستحضر وأكمل حجمه إلى 100مللتر بالماء المقطر اللايوني وقيس الجهد أولا ثم قيس جهده بعد إضافات متتابعة من محلول العقار القياسي بتركيز 10^{-1}مولاري بأحجام من 0.5–3 مللتر ,وبأتباع الظروف المثلى رسمت الـ$Antilog(E_2-E_1/S)$ مقابل حجم العقار المضاف واستخرج تركيز العقار المدروس في محلول مستحضر (حقنة البروكائين بنسلين) ، والنتائج مبينة في الشكل (11)



الشكل (11) منحني الإضافة القياسية لتقدير عقار PRO باستعمال القطبSchiff PRO

بالاعتماد على معادلة الخط المستقيم وعندما y = 0 فإن x =2.430 لقطب–PRO Schif PMA– DBPH, وهي تمثل حجم المحلول القياسي Vs بتركيز 10^{-1}مولاري ، وباستعمال العلاقة : $C\ V = V_s\ X$ إذ إن

C = تركيز محلول المستحضر الصيدلاني (المطلوب)

V = حجم محلول مستحضر حقنة البروكائيين بنسلين = 25 مل

X= تركيز المحلول القياسي للمادة الدوائية النقية المضافة = 10^{-1} مولاري

Vs = حجم المحلول القياسي للعقار .

الجدول (3) التطبيقات باستعمال طريقة الإضافات القياسية

نوع القطب	التركيز المدروس(مولاري)	التركيز الملاحظ (مولاري)	Rec%	Re%
PRO-PMA+DBPH	10^{-2}	0.00972	97.2	-2.8

الجدول (3) يوضح قيم الاسترادادية لتركيز البروكائين هيدروكلورايد باستعمال القطب PRO-PMA+DBPH بعد التطبيق على المستحضر الصيدلاني بروكائين بنسلين.

ومن خلال هذه النتائج الجيدة لقيم الاسترداية والخطأ النسبي نستدل على إن القطب المصنع والمستعمل في تقدير البروكائيين هيدروكلورايد في المستحضر الصيدلاني بروكائين بنسلين هو قطب يعطي نتائج بدقة جيدة .

الاستنتاجات Conclusion

تبين من خلال البحث ان الاقطاب الغشائية الانتقائية لقواعد شيف المتكونة من الامينات الاروماتية الاولية مثل البروكائين هيدروكلورايد تستجيب لتراكيز قليلة بحدود($10^{-1}-10^{-5}$) بوجود كثير من المتداخلات الاخرى مثل , K^{+}

Zn^{+2},Fe^{+3} ,Br^{-1} , SO_4^{-2} , PO_4^{-3} , Starch ,Glucose, Sodium citrate , Sodium benzoate) .

دلت النتائج للقطب PRO-PMA+DBPH ان قيمة t= 1.73 المحسوبة هي أقل من قيمة t = 2.57 الجدولية عند مستوى ثقة 95% مما دل على نجاح الطريقة للقطب المصنع . وللمقارنة بين مصداقية طريقة الإضافات القياسية والطريقة المقترحة عند n = 6 عدد القراءات لكلتا الطريقتين القياسية والمقترحة أجري اختبار F لمعرفة فيما اذا كان هنالك أي فرق معنوي بين نتائج الطريقتين وجد أن قيمة F التجريبية 3.10 للقطبPRO-PMA+DBPH أقل من القيمة الجدولية 4.28 عند نفس مستوى الثقة 95 % وبذلك فلا يوجد فرق معنوي بين الطريقتين القياسية والمقترحة .

المصـــادر Reference

1) "British Pharmacopoeia", the Stationery Office on behalf of the Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA). London. 5th.ed. 2007.
2) G, Alfred. W Theodore. and S Alan. "Goodman and Gilman's, The Pharmacological Basis of Therapeutics", 8th ed., New York: Pergamon Press. 311. 1990,
3) S.L. Meredith and S.T, James "Stability-indicating HPLC assays for the determination of prilocaine and procaine drug combinations" J. Pharm. Biomed. Anal., 30, 1, 49-58. 2002,
4) U., Tadashi T Hiroshi and A., Masanori "Determination of Procaine Hydrochloride and Dibucaine Hydrochloride in lotions, milky lotions and creams by HPLC" J. SCCJ, 34,3, 261-266. 2000,
5) L.I., Nianbing J Duan. and G., Chen "Determination of trace Procaine Hydrochloride by differential pulse adsorptive stripping voltammetry with a Nafion modified glassy carbone electrode", Anal. Sci., 19, 12, 1587-1592. 2003,
6) X., Zhang D., Zhao L., Feng L. Jia and Wang S., " Electrochemical sensor for procaine based on a glass carbon electrode modified with polyamidosulfonic acid and multiwaled carbon nanotubes", Microchimica Acta, 169, 1-2, 153-159. 2010,

7) K., Michalska G. Pajchel and S., Tyski "Capillary electrophoresis method for simultaneous determination of Penicillin G, Procaine and dihydrostreptomycin in veterinary drugs", J. Chromo.B., 800, 1-2, 203-209. 2004,

8) J., Yuan J. Yin and E., Wang "Characterization of Procaine metabolism as probe fot the butyryl chloiunesterase enzyme investigation by simultaneous determination of Procaine and its metabolite using capillary electrophoresis with electrochemilumineseces detection" J. Chromo. A, 1154, 1-2, 368-372. 2007,

9) C., Nerin A. Garnica and J., Cacho "Indirect determination of nitrogenated drugs by atomic absorption spectrophotometry", Anal. Chem., 58,13, 2617-2621. 1986,

10) T., Sakai N. Teshima and Y., Takatori "Ion association titration for the determination of local anesthetics in pharmaceuticals with tetrabromophenolphthalein ethyl ester as indicator", Anal. Sci., 17, 9, 1105. 2001,

11) L. Liang L.W., Zeng and H.D., Liu "Determination of Procaine Hydrochloride injection by GC", West China- J. pharm. Sci., 22, 5, 586-587. 2007,

12) Y., Sun L., Ma H.Y. Wang and B., Tang "Determination of Procaine Hydrochloride by Fluorimetry", Guanq Pu Xue Guanq Pu Fen Xi, 22, 4, 637. 2002,

13) F., Garcia Sanchez A.L Ramosrubio and C., Crucesblanco "Enhanced fluorimetric determination of Procsine in pharmaceutical preparations by aqueous B-cyclodextrin inclusion
and non aqueous competitive action", Anal. Chim. Acta, 205, 139-147. 1988.

14) H. Pasekova and M., Polasek "Determination of Procaine, benzocaine and tetracaine by sequential injection analysis with permanganate induced chemiluminescence detection", Talanta, 52, 1, 67-75. 2000,

15) A.J., Wang J., Fan S.L. Feng and F.L., Cui "Spectral Study and determination of metoclopramide and procaine hydrochloride by sequential injection analysis", Guanq Pu Xue Yu Guanq Pu Fen Xi, 25, 3, 432-437. 2005,

16) Z., Mo, J., Luo X. Long and Z., Xia "determination of Procaine hydrochloride by ion-pairing flow injection analysis with piezoelectric detection", J. Anal. Chem., 358, 4, 556-558. 1997,

17) N., Li Y., Chi J., Wang J. Duan and G., Chem "Determination of Procaine Hydrochloride using flow injection inhibitory chemiluminescence", Luminescence, 18, 3, 125-130. 2003,

18) X.R., Zhang W.R.G., Baeyens G., Vanderweken A.C Calokerinos. and K., Imai "Chemiluminescence determination of some local anesthetic" Anal. Chem. Acta., 303, 14, 137- 140. 1995,

19) Amin A.S. and El-Didamony A.M., "Colorimetric determination of Benzocaine, Lignocaine and Procaine Hydrochlorides in pure form

and in pharmaceutical formulations using p-Benzoquinone", Anal. Sci. 19, 10, 1457. 2003,

20) Y., Xiao "Spectrophotometric determination of Procaine Hydrochloride in pharmaceutical products using 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid as the chromogenic reagent", Spect. Acta., 59, 13, 3103-3110. 2003,

21) Q. A ., Mouyed A. A Wasan and S. A ., Hind Batch and Flow-Injection Spectrophotometric Determination of Procaine HCl in Pharmaceutical Preparations Via Using Diazotization and Coupling Reaction, J. Baghdad for Sci. Vol.9(3). 2012,

22) A., Graggs G. J. Moody and J. D. R. Thomas; *J. Chem. Edu, (1979), 51*(8), 541.

23) D.A. Skoog, F.J. Holler, and T.A. Nieman; Principles of Instrumental Analysis ; 4th Ed., Saunders college publishing , Florida, 367 .1998.