

## **Utility of 2,2'- bipyridyl reagent in spectrophotometric assay of acetylcysteine in pure form and in its pharmaceutical preparations**

**Shahad L. Hasan<sup>1</sup>, Saad H. Sultan<sup>2\*</sup>**

<sup>1,2\*</sup>Department of Chemistry, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq

E-mail: <sup>1</sup> [shahadluqman800@gmail.com](mailto:shahadluqman800@gmail.com) , <sup>2\*</sup> [saad.hasani@uomosul.edu.iq](mailto:saad.hasani@uomosul.edu.iq)

(Received May 30, 2022; Accepted July 07, 2022; Available online September 01, 2022)

DOI: [10.33899/edusj.2022.134059.1246](https://doi.org/10.33899/edusj.2022.134059.1246), © 2022, College of Education for Pure Science, University of Mosul.

This is an open access article under the CC BY 4.0 license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

### **Abstract**

This study includes development of a sensitive spectrophotometric method for the determination of acetylcysteine in aqueous solution. The method is based on the oxidation of acetylcysteine with a ferric ion, followed by reacting of produced ferrous ion with 2,2'-bipyridyl to form a pink complex, which is stable and water-soluble and has the highest absorption at a wavelength of 524 nm. The limits of Beer's law were in the concentration range of (5-180) µg of acetylcysteine in a final volume of 20 milliliters (0.25-9.0 µg.ml<sup>-1</sup>) and the molar absorptivity of 8633.28 L. mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>, Sandell's sensitivity index of 0.0189 µg.cm<sup>-2</sup>. The relative error of -4.28% – 4.98 % and relative standard deviation of ± 0.56% - ± 3.75% depending on the concentration level. The limit of detection limit(LOD) and limit of quantitation (LOQ) were calculated and equal to 0.01837 and 0.06124 µg/ml respectively, no inference was observed in the common pharmaceutical excipients. The results obtain by proposed method were in good agreement with those obtain from official British pharmacopoeia using t-test (at 95% confidence limit) which indicates that there is no significant differences between them. The method was successfully applied to determine acetylcysteine in its pharmaceutical preparations.

**Keywords:** acetylcysteine, redox reaction, 2,2'-bipyridyl reagent, spectrophotometry.

**استخدام الكاشف 2,2'-ثنائي البريديل في التقدير الطيفي للأسيتيل سيستين في حالته النقية وفي مستحضراته الصيدلانية**

شهاد لقمان حسن<sup>1</sup> ، سعد حساني سلطان<sup>2\*</sup>

<sup>2,1\*</sup> قسم الكيمياء ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

### **الخلاصة:**

يتضمن البحث اقتراح طريقة طيفية حساسة لتقدير الاسيتيل سيستين في المحلول المائي . تعتمد الطريقة المقترحة على أكسدة الاسيتيل سيستين بوساطة أيون الحديد الثلاثي يتبعها مفاعلة أيون الحديد الثنائي الناتج مع الكاشف 2,2'-ثنائي البريديل وتكوين معقد وردي مستقر ، ذائب في الماء و له اعلى امتصاص عند طول الموجي 524 نانومتر . كانت حدود قانون بير لهذه الطريقة في مدى التراكيز من ( 5 الى 180 ) مايكروغرام من الاسيتيل سيستين في حجم نهائي 20 مللتر ( 0.25 - 9 مايكروغرام .مللتر<sup>-1</sup> ) في حين كانت قيمة معامل الامتصاص المولاري تساوي 8633.28 لتر . مول<sup>-1</sup> .سم<sup>-1</sup> ، وقيمة دلالة ساندل 0.0189 مايكروغرام .سم<sup>-2</sup> .

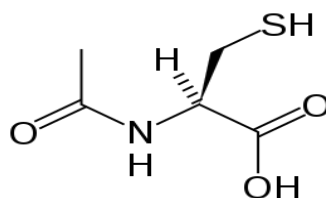
تراوحت قيمة الخطأ النسبي من 4.28% إلى 4.98% والانحراف القياسي النسبي ما بين  $0.56 \pm 0.56\%$  و  $3.75 \pm 3.75\%$  اعتماداً على مستوى التركيز. بلغت قيمتي حد الكشف وحد التقدير 0.01837 و 0.06124 مايكروغرام/مللتر على التوالي، ولم يلاحظ وجود تداخل لمواد السواغ الصيدلانية المعروفة. النتائج المستحصلة من الطريقة المقترحة ذات توافق جيد مع تلك الناتجة من الطريقة القياسية للدستور البريطاني وباستخدام اختبار t عند مستوى ثقة 95% والذي يدل على عدم وجد اختلاف معنوي بينهما. وطبقت الطريقة بنجاح على تقدير الأستيتل سيستين في المستحضرات الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية : أستيتل سيستين، تفاعل أكسدة- اختزال، كاشف 2,2'- ثنائي البريديل ، طريقة طيفية .

## 1. المقدمة

الأستيتل سيستين هو عقار مضاد للبلغم اذ يعمل على تسييل البلغم مما يجعل السعال اكثر سهولة ، حيث يقوم بتقليل لزوجة المخاط عن طريق كسر أواصر ثنائي الكبريتيد التي تربط بروتينات المادة المخاطية مما يؤدي الى فصل الأوليغومرات مما يجعل الميوسين أقل لزوجة [1] . كما يستخدم الأستيتل سيستين في معالجة حالة التسمم بالجرع الزائدة من الباراسيتامول التي تستقلب داخل الجسم في الكبد مما ينتج عنها تراكم المشتقة السامة (NAPQ) p- acetyl-N-benzoquinone imine والتي يمكن تخليص الجسم منها بواسطة الكلوتاثيون الذي يمكن تعزيز كميته في الجسم عن طريق تحرير السيستين وتحويله الى الكلوتاثيون المسؤول عن تعطيل وتصريف الـ (NAPQ) [2] . و يعد الأستيتل سيستين من المواد التي تعمل على علاج عدد كبير من الامراض عن طريق تقليل التأثير السلبي للإجهاد التأكسدي لذلك فان هذا الدواء يباع كمكمل غذائي مضاد للأكسدة [3] . تم تسجيل براءة الاختراع للأستيتل سيستين عام 1960 ودخل حيز الاستخدام الطبي في عام 1968, وهو مدرج في قائمة الادوية الاساسية لمنظمة الصحة العالمية [4] . يتوفر الأستيتل سيستين بأشكال صيدلانية مختلفة مثل الحقن الوريدية والمسحوق الفموي والأقراص الفوارة والكبسول .تكون جرعة الحقن للبالغين 300 ملغم في حين ان جرعة المسحوق الفموي 200 ملغم ( كيس واحد ) 3 مرات في اليوم [5]. لعقار الأستيتل سيستين تأثيرات جانبية ضارة تشمل الغثيان والتهاب الفم وسيلان الانف والنعاس وضيق الصدر [6] .

يمتلك الأستيتل سيستين الصيغة الجزيئية  $(C_5H_9NO_3S)$  والاسم النظامي له 2-(acetylamino)- sulfanylpropanoic (2R)- acid 3- ويمتلك الصيغة التركيبية كما في الشكل 1.



M.wt = 163.2 g/mol

شكل 1. التركيب الكيميائي للأستيتل سيستين

وهو عبارة عن مسحوق بلوري أبيض ينصهر في حدود 104 - 110 درجة مئوية وله رائحة خفيفة للغاية ، قابل للذوبان بالماء والكحول وغير قابل للذوبان في الكلوروفورم والايثر [7] .

قدر الأستيتل سيستين بطرائق تحليلية متعددة مثل: الطرائق الطيفية [8] - [10] والطرائق الكروماتوغرافية [11]، [12] أو الطرائق الكهروكيميائية [13]، [14] وللأهمية الطبية والعلاجية للأستيتل سيستين ولكون الطرائق الطيفية من التقنيات السهلة والحساسة المتوفرة

في اغلب المختبرات التحليلية لذا فقد كان الهدف من البحث هو تطوير طريقة طيفية سهلة وحساسة لتقدير الأستيل سيستين في المحلول المائي و ذلك بأكسدته بواسطة ايونات الحديد الثلاثي يعقبه مفاعلة ايونات الحديد الثنائي الناتجة مع الكاشف 2,2-ثنائي البريديل لتكوين معقد وردي اللون الذي يتناسب تركيزه مع تركيز الأستيل سيستين ، ثم تطبيق الطريقة المقترحة على المستحضرات الصيدلانية له.

## 2. الجزء العملي

### الأجهزة المستخدمة

أجريت القياسات الطيفية باستخدام المطياف الضوئي ذي الشعاع المزدوج (Jasco V-630 UV-Vis) واستخدام خلايا من البلاستيك ذات المسار الضوئي 1 سم واستخدام جهاز الدالة الحامضية من نوع (TRANS BP3001) . ولإجراء عمليات الوزن فقد تم استخدام ميزان حساس من نوع KERN وكذلك استخدم حمام مائي من نوع Memmert لإجراء عمليات التسخين .

### الكواشف والمواد الكيميائية المستخدمة

كانت جميع المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة ذات نقاوة عالية .

### تحضير المحاليل المستخدمة

محلول الأستيل سيستين (100 مايكروغرام . ملتر<sup>-1</sup>)

حضر هذا المحلول بإذابة 0.0100 غم من الأستيل سيستين (BDH) النقي في 100 ملتر من الماء المقطر و باستخدام قنينة حجمية ثم يحفظ في قنينة معتمدة .

محلول كبريتات الحديدك (3.74 × 10<sup>-3</sup> مولاري)

حضر هذا المحلول بإذابة 0.1499 غم من كبريتات الحديدك اللامائية (BDH) في 3 ملتر من حامض الكبريتيك (0.25 مولاري) مع التحريك والتسخين البسيط لاتمام عملية الاذابة ثم يكمل الحجم بالماء المقطر الى 100 ملتر باستخدام قنينة حجمية.

محلول الكاشف 2,2-ثنائي البريديل (1 × 10<sup>-2</sup> مولاري)

يحضر هذا المحلول بإذابة 0.1560 غم من الكاشف في 4 ملتر من الايثانول ويكمل الحجم بالماء المقطر الى 100 ملتر باستخدام قنينة حجمية ويحفظ في قنينة معتمدة.

محاليل مواد السواغ (1000 مايكروغرام.ملتر<sup>-1</sup>)

تحضر هذه المحاليل بإذابة 0.1000 غرام من مواد السواغ وهي كل من النشأ واللاكتوز والصمغ العربي والسكروز والجيلاتين والكلوكوز في 100 ملتر من الماء المقطر باستخدام قناني حجمية سعة 100ملتر كل على حدى .

محلول المستحضر الدوائي بشكل مسحوق (100 مايكروغرام.ملتر<sup>-1</sup>)

حضر هذا المحلول وذلك بوزن محتوى 3 مغلفات من الاكياس الدوائية بشكل مسحوق وتمزج جيدا ومن ثم يوزن 0.0496 غم والذي يكافئ 0.0100 غم من الأستيل سيستين النقي ثم يذاب في كمية كافية من الماء المقطر ويرشح باستخدام ورق الترشيح (Whatman No.1) في قنينة حجمية سعة 100ملتر مع غسل ورقة الترشيح بكمية كافية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر .

محلول مستحضر الدوائي بشكل كبسول (100 مايكرو غرام .ملتر<sup>-1</sup>)

حضر هذا المحلول وذلك بوزن محتوى 10 كبسولات من الكبسول الدوائي ويمزج جيدا ومن ثم يوزن 0.0128 غم والذي يكافئ 0.0100 غم من الاستيل سيستين النقي ويذاب في كمية كافية من الماء المقطر ثم يرشح باستخدام ورقة الترشيح (Whatman No.1) في قنينة حجمية سعة 100 مللتر مع غسل ورقة الترشيح بكمية كافية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر .

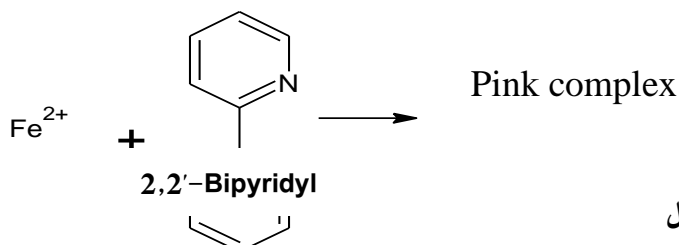
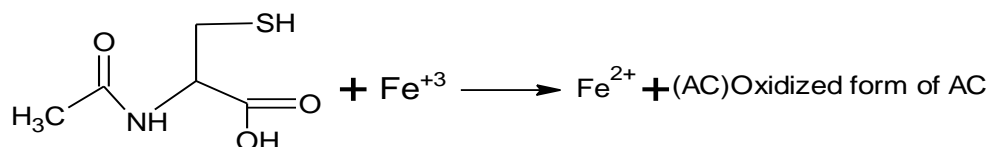
**محلول المستحضر الدوائي بشكل حقن (100 مايكروغرام.مللتر<sup>-1</sup>)**

حضر هذا المحلول بتخفيف محتوى الحقنة (300 مليغرام. مللتر<sup>-1</sup>) بالماء المقطر الى حجم 100 مللتر باستخدام قنينة حجمية ، ومن المحلول الناتج يحضر محلول ذو تركيز 100 مايكروغرام. مللتر<sup>-1</sup> وذلك باخذ حجم مقداره 3.33 مللتر منه ويخفف الى 100 مللتر بالماء المقطر باستخدام قنينة حجمية .

### 3.النتائج والمناقشة

#### المبدأ العام للطريقة

يعتمد مبدأ الطريقة على اكسدة المركب الدوائي بوساطة ايونات الحديد الثلاثي ، ثم مفاعلة ايونات الحديد الثنائي الناتجة من التفاعل مع الكاشف 2،2- ثنائي البريديل في الوسط المائي لتكوين معقد وردي اللون له اعلى امتصاص عند الطول الموجي 524 نانومتر وكما في المعادلات الاتية :



#### دراسة الظروف الفضلى للتفاعل

لغرض الحصول على افضل النتائج فقد دُرس تأثير مختلف الظروف المؤثرة على تفاعل 1 مللتر من محلول الأستيل سيستين (100 مايكروغرام) مع 0.2 مللتر من محلول كبريتات الحديدك بتركيز  $3.74 \times 10^{-3}$  مولاري مع 1.0 مللتر من الكاشف 2،2- ثنائي البريديل بتركيز  $1 \times 10^{-2}$  مولاري في حجم نهائي 20 مللتر وبعد اكمال الحجم بالماء المقطر يترك المحلول لمدة 15 دقيقة ثم يقاس الامتصاص عند الطول الموجي 524 نانو ميتر وكما يلي:

#### تأثير الدالة الحامضية

لغرض الحصول على الدالة الحامضية المناسبة لاجراء التفاعل والحصول على اعلى امتصاص للمعقد الناتج فقد تمت دراسة تأثير الدالة الحامضية باضافة حجوم مختلفة من محلول حامض الكبريتيك ومحلول بيكاربونات الصوديوم وكما هو موضح في الجدولين 1 و2.

**جدول 1.** تأثير اضافة كميات مختلفة من محلول حامض الكبريتيك على امتصاص المعقد الناتج

Volume of 0.1M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (ml)	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
Absorbance	0.2591	0.2338	0.2354	0.2164	0.2177	0.2094
pH	3.45	2.39	2.35	2.31	2.29	2.25

**جدول 2.** تأثير اضافة كميات مختلفة من محلول بيكاربونات الصوديوم على امتصاص المعقد الناتج

Volume of 0.1M NaHCO <sub>3</sub> (ml)	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
Absorbance	0.2591	0.2308	0.1087	0.0429	0.0149	0.0042
pH	3.45	5.23	5.37	5.81	6.04	6.19

نلاحظ من نتائج الجدولين 1 و 2 ان اضافة محاليل حامض الكبريتيك وبيكاربونات الصوديوم ادى الى نقصان في قيمة الامتصاص للمعقد الناتج مقارنة مع امتصاصه من دون اضافتهما ، لذلك فقد استبعدا في التجارب اللاحقة .

### تأثير المحاليل المنظمة

تمت دراسة تأثير اضافة 3 مللتر من عدد من المحاليل المنظمة ذات الاس الهيدروجيني القربة من (pH=3.45) وذلك لغرض الحفاظ على الدالة الحامضية التي اعطت أعلى قيمة امتصاص للمعقد المتكون وكما هو موضح في الجدول 3.

**جدول 3.** تأثير المحاليل المنظمة على الامتصاص

Buffer solution used	Absorbance	Final pH
Sodium acetate + acetic acid	0.2341	3.87
Sodium acetate + HCl	0.2432	4.56
KH-phthalate + NaOH	0.2387	4.10
Without addition	0.2591	3.45

من النتائج المدونة في الجدول 3 نستنتج ان اضافة المحاليل المنظمة أدى الى نقصان قيمة امتصاصية المعقد المتكون لذلك استبعدت اضافتها في التجارب اللاحقة .

### تأثير كمية العامل المؤكسد

تمت دراسة تأثير كمية العامل المؤكسد اللازمة لاكمال عملية الاكسدة بمفاعلة كميات مختلفة من محلول كبريتات الحديد مع كميات مختلفة من الأسيثيل سيستين ولإعطاء اعلى امتصاص للمعقد الناتج من تفاعل الحديد الثنائي مع الكاشف 2،2 ثنائي البريديل وكما هو مبين في الجدول 4 .

**جدول 4.** تأثير كمية العامل المؤكسد على امتصاص المعقد الناتج

Volume of 3.7410 <sup>-3</sup> M Fe <sup>+3</sup> (ml)	Absorbance/ µg of AC					R <sup>2</sup>
	25	50	75	100	150	
0.05	0.0626	0.0860	0.1193	0.1062	0.1504	0.8889
0.1	0.0635	0.1187	0.1777	0.1787	0.2635	0.9567
0.2	0.0604	0.1312	0.1957	0.2548	0.3653	0.9970
0.3	0.0685	0.1277	0.2007	0.2627	0.3721	0.9970
0.4	0.0614	0.1328	0.2041	0.2305	0.3785	0.9876

من النتائج المدونة في الجدول 4 تبين ان حجم 0.3 ملتر من محلول العامل المؤكسد كيريتات الحديدك قد أعطى أعلى امتصاص للمعد الناتج ما بين ايون الحديد الثنائي والكاشف 2,2- ثنائي البريديل كما أنه أعطى أعلى قيمة لمعامل التقدير لذا فقد تم اختياره في التجارب اللاحقة .

#### تأثير كمية الكاشف

تمت اضافة كميات مختلفة من الكاشف 2,2- ثنائي البريديل بتركيز  $(1 \times 10^{-2}$  مولاري) الى كميات مختلفة من الأسيتيل سيستين وذلك من اجل دراسة تأثير كمية الكاشف اللازمة لتكوين المعد الملون ما بين الحديد الثنائي والكاشف واعطاء أعلى امتصاص للمحلول الناتج وكما هو موضح في الجدول 5.

**جدول 5. تأثير كمية الكاشف على امتصاص المعد الناتج**

Amount of 2,2-bipyridyl ( $1 \times 10^{-2}$ M) Solution (ml)	Absorbance / $\mu$ g of AC					R <sup>2</sup>
	25	50	75	100	150	
0.25	0.0619	0.1263	0.1821	0.2347	0.2995	0.9773
0.5	0.0622	0.1335	0.2053	0.2692	0.3972	0.9991
1.0	0.0562	0.1341	0.1976	0.2611	0.3819	0.9976
1.5	0.0650	0.1245	0.1831	0.2316	0.3548	0.9989

تبين النتائج المدونة في الجدول 5 ان حجم 0.5 ملتر من الكاشف 2,2- ثنائي البريديل قد اعطى اعلى امتصاص للمعد الناتج وكذلك افضل قيمة لمعامل التقدير لذلك فقد تم اختياره للتجارب القادمة .

#### تأثير درجة الحرارة وزمن التفاعل

لغرض معرفة مدى تأثير درجة الحرارة وزمن التفاعل على امتصاص المعد الناتج فقد تم اجراء التفاعل عند ثلاث درجات حرارية مختلفة ، وهي درجة حرارة المختبر ( $18 \pm 1$  م) وعند درجة 40 م باستخدام حمام مائي وعند درجة الصفر المئوي باستخدام حمام ثلجي والنتائج المستحصلة مبينة في الجدول 6 .

**جدول 6. تأثير درجة الحرارة وزمن الاكسدة على امتصاص معد الحديد الثنائي الناتج**

Temp. C°	Absorbance/standing time(min.)		
	5	10	15
R.T (18+1)	0.2693	0.2694	0.2692
0	0.2690	0.2694	0.2626
40	0.2634	0.2252	0.2197

نلاحظ من النتائج الموضحة في الجدول 6 ان قيم الامتصاص للمعد الناتج كانت متقاربة عند اجراء التفاعل في درجة حرارة المختبر وفي درجة حرارة الصفر المئوي بينما ادى تسخين محيط التفاعل الى درجة 40 م الى تناقص قيم الامتصاص نتيجة تفكك المعد المتكون ما بين الحديد الثنائي والكاشف ، عليه فقد تم اختيار درجة حرارة الغرفة لإجراء التفاعل ولسهولة العمل بها وبزمن تفاعل 5 دقائق .

### تأثير تسلسل الاضافات

تمت دراسة تأثير تغيير تسلسل اضافات مكونات التفاعل على امتصاص المعقد الناتج والنتائج المدونة في الجدول 7 توضح ان تسلسل الاضافات I المتبعة في التجارب السابقة قد أعطت اعلى قيمة امتصاص للمعقد المتكون لذلك فقد استمر على استخدامها في بقية التجارب .

**جدول 7. تأثير تسلسل الاضافات على امتصاص المعقد المتكون**

Serial	Order of addition	Absorbance
I	AC+O+R	0.2696
II	AC+R+O	0.2326
III	O+R+AC	0.2333

AC=Acetylcysteine , O= Oxidant (Fe<sup>+3</sup>) , R= Reagent (2,2'-bipyridyl)

### استقرارية المعقد المتكون

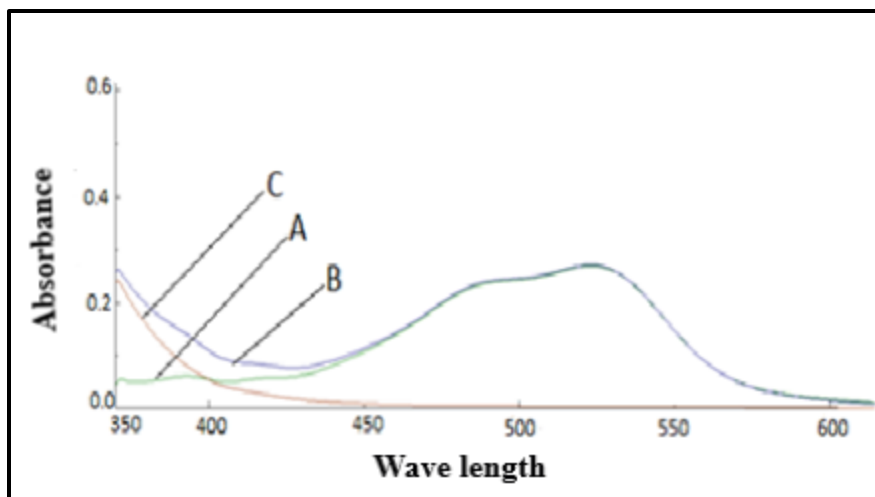
لمعرفة مدى استقرارية المعقد المتكون نتيجة تفاعل الحديد الثنائي مع الكاشف 2,2'-ثنائي البريديل فقد تم قياس امتصاص تركيزين مختلفين من الأستيل سيستين مقابل المحلول الصوري لفترات زمنية مختلفة والنتائج الموضحة في الجدول 8 تدل على ان المعقد المتكون مستقر ولمدة 24 ساعة على الاقل مما يتيح اجراء عدد كبير من القياسات الطيفية وحسب خطوات الطريقة المقترحة .

**جدول 8. استقرارية المعقد المتكون**

Time (min)	Absorbance /100 µg of AC
After addition	0.2685
5	0.2691
10	0.2692
15	0.2694
20	0.2694
25	0.2697
30	0.2699
35	0.2694
40	0.2695
45	0.2756
50	0.2756
55	0.2754
60	0.2752
24 hr.	0.2781

### طيف الامتصاص النهائي

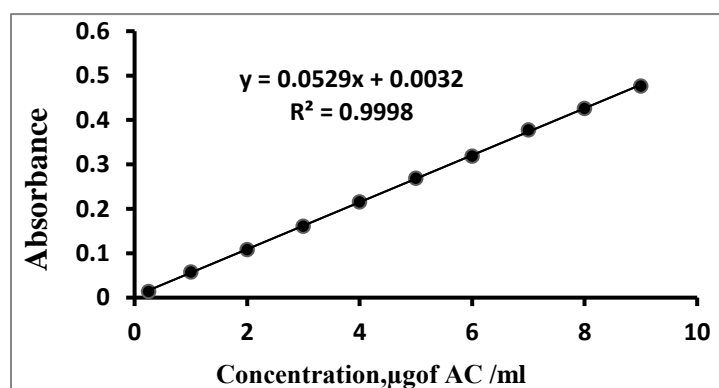
عند اضافة محلول كبريتات الحديد الى محلول الأسييتيل سيستين تتحرر ايونات الحديد الثنائي التي تتفاعل مع الكاشف 2,2'-ثنائي البريديل لتكوين معقد وردي اللون له اعلى امتصاص عند الطول الموجي 524 نانومتر والشكل 2 يوضح طيف الامتصاص النهائي للمعقد المتكون ضد المحلول الصوري وضد الماء المقطر وكذلك طيف الامتصاص للمحلول الصوري ضد الماء المقطر .



شكل 2. طيف الامتصاص لـ 100 مايكروغرام من الأستيل سيستين /20 ملتر من المحلول مقاساً  
(A)مقابل المحلول الصوري، (B)مقابل الماء المقطر ، (C)المحلول الصوري مقابل الماء المقطر

### طريقة العمل المعتمدة والمنحني القياسي

بعد تثبيت الظروف الفضلى لتقدير الأستيل سيستين اوجد المنحني القياسي للطريقة المقترحة وكمايلي ، اضيفت حجوم متزايدة (0.05-2.5) ملتر من محلول الأستيل سيستين (100 مايكروغرام) بحيث تحتوي على (5-250 مايكروغرام ) منه الى سلسله من القناني الحجميه سعة 20 ملتر ثم اضيف 0.3 ملتر من محلول كبريتات الحديدك بتركيز  $3.74 \times 10^{-3}$  مولاري مع الرج واطافة 0.5 ملتر من الكاشف 2,2-ثنائي البريديل واكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر وتركت المحاليل لمدة 5 دقائق ثم قيس الامتصاص لها عند الطول الموجي 524 نانومتر مقابل المحلول الصوري .والشكل 3 يبين المنحني القياسي لتقدير الأستيل سيستين الذي اتبع قانون بير في مدى التركيز (5- 180 مايكروغرام/20 ملتر) (0.25 - 9 مايكروغرام / ملتر) ، اما التراكيز الاعلى من 180 مايكروغرام /20 ملتر فقد حدث لها انحراف سالب عن قانون بير ، ومن معادلة الخط المستقيم تم الحصول على قيمة الامتصاصيه المولاريه 8633.28 لتر .مول<sup>-1</sup> .سم<sup>-1</sup> ودلالة ساندل للحساسية 0.0189 مايكروغرام / سم<sup>2</sup> .



شكل 3. المنحني القياسي لتقدير الأستيل سيستين حسب الطريقة المقترحة



وحسبت قيمة حد الكشف (LOD) وقيمة حد التقدير الكمي (LOQ) [15] وذلك بقياس الامتصاص لعشر محاليل صوريه ضد الماء المقطر عند الطول الموجي 524 نانو متر واستناداً الى خطوات العمل المعتمده ، حيث بلغت قيمة حد الكشف 0.01837 مايكروغرام/مللتر، بينما بلغت قيمة حد التقدير 0.06124 مايكروغرام/مللتر .

#### تأثير المواد المضافة

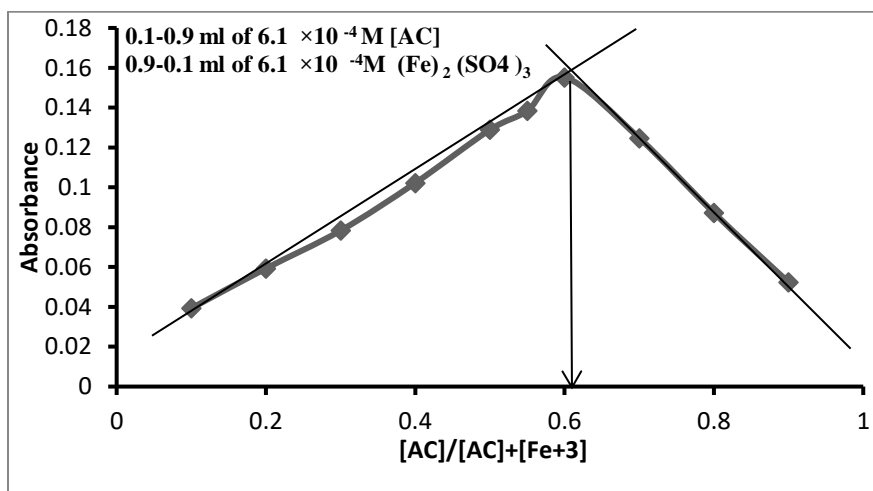
تمت دراسة تأثير عدد من مواد السواغ التي يمكن أن تضاف في صناعة المستحضرات الصيدلانية للأستيل سيستين وذلك باضافة كميات مختلفة من هذه المواد الى 1.0 مللتر (100 مايكروغرام) من الأستيل سيستين وحسب الطريقة المعتمدة والنتائج المستحصلة والمدونه في الجدول 9 توضح انه لا يوجد اي تداخل معنوي لهذه المواد المضافة في تقدير الأستيل سيستين حسب الطريقة المقترحة مما يدل على امكانية تطبيقها على المستحضرات الصيدلانية للمركب الدوائي .

**جدول 9.** تأثير مواد السواغ على النسبة المئوية لأسترجاع الأستيل سيستين

Foreign compound	Recovery(%) of 100 µg acetylcysteine /µg of foreign compound added		
	250	500	1000
Starch	101.4	104.7	98.6
Lactose	98.6	96.6	96.6
Arabic gum	98.0	98.2	97.7
Sucrose	97.7	97.5	98.5
Gelatin	9.69	96.6	96.3
Glucose	95.7	96.9	95.6

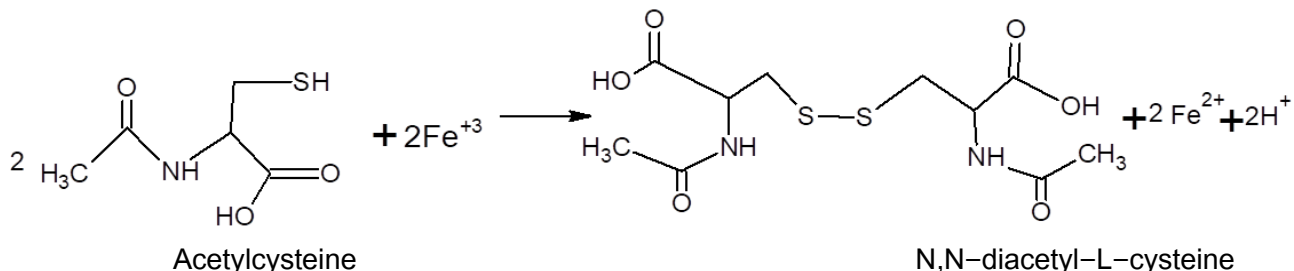
#### طبيعة التفاعل بين الحديد الثلاثي والأستيل سيستين

طبقت طريقة التغير المستمر (طريقة جوب) وذلك لمعرفة نسبة التفاعل بين الأستيل سيستين والعامل المؤكسد ( $Fe^{+3}$ ) وذلك بتحضير محاليل تحتوي على حجوم مختلفة (0.1-0.9) مللتر من الأستيل سيستين وحجوم من (0.1-0.9) مللتر من العامل المؤكسد كبريتات الحديدك بتركيز  $6.1 \times 10^{-4}$  مولاري لكل منهما ، ثم يضاف الكاشف حسب الطريقة المعتمدة، ويكمل الحجم الى 20 مللتر بالماء المقطر ، ويقاس امتصاص هذه المحاليل مقابل المحلول الصوري و الطول الموجي 524 نانومتر ، ترسم العلاقة بين قيمة الامتصاص للمحاليل والنسبة بين تركيز الأستيل سيستين على مجموع تركيز الأستيل سيستين وتركيز العامل المؤكسد وكما موضح في الشكل 4.



شكل 4. منحنى طريقة جوب لتفاعل الحديد الثلاثي مع الأستيل سيستين

نلاحظ من الشكل 4 ان نسبة الارتباط بين الأستيل سيستين وكبريتات الحديد هي 1:2 وبما ان المول الواحد من كبريتات الحديد يحتوي على مكافئين من ايونات الحديد الثلاثي فإن النسبة الفعلية لتفاعل الحديد الثلاثي مع الأستيل سيستين هي 1:1 ، وكما في المعادلة المقترحة الاتية :



### الجزء التطبيقي

طبقت الطريقة المقترحة لتقدير الأستيل سيستين على ثلاث انواع من المستحضرات الصيدلانية بشكل كبسول ومسحوق وحقن وذلك بأخذ تركيزين مختلفين منها ( 50 و 100 مايكروغرام ) وحسب خطوات الطريقة المقترحة ثم اوجدت النسبة المئوية للاسترجاع والخطأ النسبي والانحراف القياسي النسبي وكما في الجدول 10.

**جدول 10.** ايجاد النسبة المئوية للاسترجاع والدقة والتوافقية لتقدير الأستيل سيستين في المستحضرات الصيدلانية

Pharmaceutical preparation	Amount taken (µg)	Amount measured (µg)	Recovery (%)	Relative error*(%)	Relative standard deviation*(%)
N-A-C 600mg/Capsule (AMS-USA)	50	47.86	95.72	-4.28	± 0.56
Asist plus 600mg/sachet (Bilim-Turkey)	100	97.0	97.0	-3.00	± 2.24
Asist 300mg/ampoule (Bilim-Turkey)	50	52.01	104.02	4.02	± 3.37
	100	102.20	102.20	2.20	± 0.79
	50	52.49	104.98	4.98	± 3.75
	100	102.20	102.20	2.20	± 1.50

Average of five determinations.

### اختبار كفاءة الطريقة المقترحة

لغرض اختبار كفاءة الطريقة المقترحة لتقدير الأستيل سيستين حسب الظروف المثلى عن طريق مقارنتها مع الطريقة القياسية المعتمدة في دستور الادوية البريطاني [ 7 ] وايجاد القيمة العملية لاختبار t عن طريق حساب النسبة المئوية لاسترجاع خمسة نماذج من المستحضرات الصيدلانية بالطريقة المقترحة والقياسية بتطبيق القوانين الرياضية لاختبار t . تشير النتائج في الجدول 11 ان قيم t التجريبية هي اقل من من قيمة t الجدولية (2.306) وعند مستوى ثقة 95% ولثمان درجات حرية مما يعني انه لا يوجد فرق معنوي بين الطريقة المقترحة والطريقة القياسية و يؤكد امكانية تطبيقها لتقدير الأستيل سيستين في مستحضرات الصيدلانية .

**جدول 11.** اختبار t للطريقة المقترحة والقياسية لتقدير الأستيل سيستين في مستحضراته الصيدلانية

Pharmaceutical preparation	Recovery(%)		t (exp.)
	Present method	Standard method**	
N-A-C, 600mg/Capsule (AMS-USA)	95.72	100.00	±0.96
Asist plus, 600mg/sachet (Bilim-Turkey)	104.02	95.00	±1.87
Asist, 300mg/ampoule (Bilim-Turkey)	105.98	101.5	±0.82

\* Average of five determinations

\*\* British Pharmacopoeia, 2013

#### مقارنة المتغيرات التحليلية للطريقة المقترحة

قورنت بعض المتغيرات التحليلية والتطبيقات للطريقة الحالية مع طريقة طيفية اخرى وكما هو موضح في الجدول 12.

**جدول 12.** مقارنة المتغيرات التحليلية للطريقة المقترحة مع طرائق طيفية اخرى

Analytical parameters	Present method	Literature method <sup>(10)</sup>	Literature method <sup>(16)</sup>
Type of reaction	Redox	Redox	Redox
Reagent	2,2-Bipyridyl	1,10-Phenanthroline	Bathophenanthroline
Medium of reaction	Aqueous	Aqueous	Aqueous
pH	3.45	4	3.13
Temperature	R.T	R.T	R.T
$\lambda_{max}$ (nm)	524	515	534
Beer's law range(ppm)	0.25-9.0	0.7-13.0	0.25-10.0
Time of reaction (min.)	5	20	10
Color of Complex	Pink	Orange	Red
Stability of complex (hr)	24	2	50
Molar absorbitivity (l.mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )	8633.28	-----	2.35×10 <sup>4</sup>
Application(pharmaceutical forms)	Capsule/Sachet/Ampule	Ampule	Capsule/Sachet/Ampule

نتائج المقارنة الموضحة في الجدول 12 تبين ان الطريقة المقترحة اكثر حساسية واكثر استقرارية من الطريقتين المنشورتين ، كما ان زمن استقرارية الناتج الملون اكبر وزمن التفاعل اقل وكذلك طبقت الطريقة المقترحة على ثلاثة أشكال صيدلانية للمركب الدوائي .

#### 4.4. الاستنتاجات

تم اقتراح طريقة طيفية غير مباشرة سهلة وسريعة لتقدير الاستيل سيستين في المحلول المائي. اعتمدت الطريقة المقترحة على اكسدة المركب الدوائي بوساطة ايونات الحديد الثلاثي بدرجة حرارة المختبر ومن ثم مفاعلة ايونات الحديد الثنائي المتحرر من التفاعل السابق مع الكاشف 2,2-ثنائي البريديل لتكوين معقد وردي اللون ذائب ومستقر في الماء لمدة 24 ساعة وله أعلى امتصاص عند الطول الموجي 524 نانومتر . وقد تم تقييم الطريقة المقترحة احصائياً باستخدام اختبار t الذي اكد ملائمتها للتطبيق على المستحضرات الصيدلانية ، وقد طبقت بنجاح على الكبسول والمسحوق والحقن .

#### 5. المصادر

- [1] X. Zhang, A. Banerjee, W. A. Banks, and N. Ercal, "N-Acetylcysteine amide protects against methamphetamine-induced oxidative stress and neurotoxicity in immortalized human brain endothelial cells", *Brain research*, 1275, 87-95. 2009, doi: 10.1016/j.brainres.2009.04.008.

- [2] A.M. Sadowska, "N-acetyl cysteine mucolysis in the management of chronic obstructive pulmonary disease", *The Adv Respir Dis*, 6(3):127-135, 2012,doi: 10.1177/ 1753465812437563.
- [3] S. I Head, "Antioxidant therapy in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy: some promising results but with a weighty caveat", *The Journal of Physiology*, 595(23), 7015, 2017,doi: 10.1113/JP275232.
- [4] A.Hitchings, D.Lonsdale, D.Burrage, and E. Baker, "The top 100 drugs: clinical pharmacology and practical prescribing", *Elsevier Health Sciences*, 2018.
- [5] R. A.Stockley, S. I.Rennard, K.Rabe, and B. Celli, "Chronic obstructive pulmonary disease", John Wiley & Sons.p750. 2008.
- [6] Acetylcysteine - Wikipedia.
- [7] British Pharmacopoeia,.On CD-ROM,"System Simulation Ltd.".The Stationary Office, London. 2013.
- [8] N. S. Jadhav,and K.G. Lalitha," Development and validation of spectrophotometric method for simultaneous estimation of acebrophylline and acetylcysteine in capsule dosage form", *Inter.J.Pharm.Phytopharmacol.Res.*,4(2):113-115. 2014.
- [9] T. Kraljevic, N. Jelic-Knezovic, B.M. Markovic, M.Curlin, " Spectrophotometric hybrid flow system for determination of N-acetyl-L-cysteine in pharmaceuticals".*J.App.Chem.*,13(5):27-34, 2020,doi: 10.9790/5736-1305032734
- [10] M. A. Raggi, V. Cavrini, and A. M. Di Pietra, "Colorimetric determination of acetylcysteine, penicillamine, and mercaptopropionylglycine in pharmaceutical dosage forms", *Journal of pharmaceutical sciences*, 71(12), 1384-1386. 1982, doi: 10.1002/jps.2600711218.
- [11] N. N. Jyothi, and S. I. Pasha, "Development and validation of a new RP-HPLC method for simultaneous estimation of N-Acetylcysteine and L-Arginine in combined dosage form". *Oriental Journal of Chememistry*, 30(3), 1371-1378, 2014,doi: 10.13005/ojc/300357.
- [12] A.Kamińska, P. Olejarz, , K.Borowczyk, , R. Głowacki, , and G. Chwatko, "Simultaneous determination of total homocysteine, cysteine, glutathione, and N-acetylcysteine in brain homogenates by HPLC". *Journal of separation science*, 41(16), 3241-3249, 2018,doi: 10.1002/jssc.201800381.
- [13] E. K. Savan, "Electrochemical determination of N-acetyl cysteine in the presence of acetaminophen at multi-walled carbon nanotubes and nafion modified sensor". *Sensors and Actuators B: Chemical*, 282, 500-506, 2019,doi: 10.1016/j.snb.2018.11.092.
- [14] M. M. Foroughi, H. Beitollahi, S. Tajik, , A.Akbari, , and R. Hosseinzadeh,. "Electrochemical determination of N-acetylcysteine and folic acid in pharmaceutical and biological samples using a modified carbon nanotube paste electrode". *Int. J. Electrochem*, 9, 8407, 2014.
- [15] M. Valcárcel," *Principles of analytical chemistry: a textbook*" Springer Science & Business Media pp.67-68. 2000.
- [16] S. L. Hasan and S. H. Sultan, "Using of Bathophenanthroline Reagent for Spectrophotometric Estimation of Acetylcysteine in its Pharmaceutical Preparations", *Rafidain Journal of Science*,31(1), 21-33. 2022 ,doi: 10.33899/rjs.2022.172937.