التحليل الفولت أمبيرومتري الحلقي لغليبوريد في مستحضراتها الصيدلانية

منار الخوري ([1]) أ.د ديب باكير ([2]) د.يمن الهلال([3])

الملخص

هدف هذا البحث هو دراسة السلوك الكهركيميائي للغليبوريد كدواء لمرض السكري في شكله النقي والصيدلاني بوساطة تقنية حساسة ومنخفضة التكلفة. تعتمد الطريقة المستخدمة على الخواص الكهركيميائية لغليبوريد التي تعود لعدد من الزمر الكهركيميائية الموجودة في صيغته في وسط حمضي من حمض كلور الماء بتركيز (0.5 M) HCl على مسرى الذهب بوجود مسرى مقارن (Ag/AgCl) معتمدين الطريقة الفولتومترية الحلقية Cyclic Voltammetry (CV). وقد أظهرت الدراسة وجود موجة كاتودية غير عكوسة بشكل واضح مع انتقائية عالية متضمنة نقل أربعة الكترونات.

كما حُددت الحركية التي يخضع لها تفاعل الإرجاع وتم اقتراح الآلية للتفاعلات الحاصلة على سطح المسرى، و دراسة تأثير تغير التركيز على عملية الإرجاع.

حُدَد الغليبوريد كمياً في المستحضر الصيدلاني الحاوي عليه (غلوستاتmg 5) في الوسط الحمضي.

الكلمات المفتاحية: الطريقة الفولتومترية الحلقية، غليبوريد، مسرى الذهب، الداء السكري، المستحضرات الصيدلانية.

([1]) طالبة دكتوراه – قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة البعث.

([2]) أستاذ دكتور – قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة البعث.

([3]) أستاذ مساعد– كلية الصيدلة – جامعة البعث.

Cyclic Voltammetric Analysis of Glyburide in Pharmaceutical Formulations

Manar Alkhoury [1]* **Deeb Bakir [2]** **Yumen Hilal [3]**

A b s t r a c t

The aim of this work was to the determination of glyburide as antidiabetic in its pure form and dosage forms by delicate method and low cost. The method proposed depends on the electrochemical properties of glyburide, which are due to some of the electrochemical groups in its formula using cyclic voltammetry method in (HCl 0.5 M) at gold electrode versus Ag/AgCl. An irreversible cathodic peak appeared involving the transfer of ($4e^-$) four-electrons. Determine the kinetics that the reduction reaction and we proposed the mechanism for the reactions occurring on the surface of the electrode. The effect of changing concentration on the reduction was studied. This method was applied successfully to determine the content of glyburide in commercial pharmaceutical products (5 mg- Glu-stat) in acidic medium.

Keywords: Cyclic voltammetry method, Glyburide, Gold electrode, Diabetes mellitus, Pharmaceutical Formulations.

[1] Doctor's student in Electrical Chemistry- Faculty of Science at Al-Baath University, Homs, Syria.
[2]Prof. Dr. in Electrical Chemistry- Faculty of Science at Al-Baath University, Homs, Syria.
[3]Dr. in Pharmaceutical Analytical and Food Chemistry– Faculty of Pharmacy at Al-Baath University, Homs, Syria.

1- المقدمة:

داء السكري هو اضطراب استقلابي مزمن يتميز بارتفاع مستوى الغلوكوز في الدم يؤدي مع الوقت إلى حدوث مشاكل في أجهزة الجسم ولاسيما الأعصاب والأوعية الدموية [1,2].

تم تطوير عدة أدوية خافضة للسكر انطلاقا من السلفونيل يوريا والبيغوانيدات انتهاءً بمثبطات نواقل صوديوم غلوكوز SGLT2 الأحدث والتي تعمل بشكل مستقل عن الانسولين [3,4].

خافضات سكر الدم الفموية:

تستخدم لعلاج النمط الثاني من السكري وتضم:

محرَّضات إفراز الأنسولين (Insulin Secretagogues): منها

مجموعة السلفونيل يوريا Sulfonylureas

تقسم أدويتها إلى:

*الجيل الأول :Tolbutamide و Chlorpropamide و Tolazamide وقد قلَّ استخدام هذه الأدوية.

*الجيل الثاني :Glybinclamide (Glyburide) و Glipizide وgliclazide و Glimepiride.

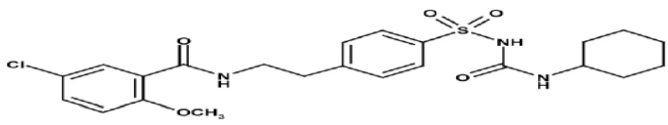
الغليبوريد:Glyburide

المعروف أيضاً باسم غليبينكلاميد Glybinclamide، هو دواء مضاد السكري في فئة الأدوية التابعة لمجموعة السلفونيل يوريا، تم تطويره في عام (1966م) [5].

الخواص الكيميائية:

الغليبوريد عبارة عن مسحوق بلوري أبيض ينحل في الكحول، ضعيف الانحلال في الماء، (pKa= 6.8)، صيغته الكيميائية($C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$)

وكتلته المولية هي($g.mol^{-1}$)494.03 [6,7] وصيغته المنشورة موضحة في الشكل (1):



الشكل(1) الصيغة المنشورة للغليبوريد(Glyburide)

تم تحديد الغليبينكلاميد باستخدام التحليل الفولت أمبيرومتري ذو الموجة المربعة (square – wave voltammetric method)، ودراسة سلوكه الكهركيميائي في مجال واسع من الـ pH(4–11). أظهر استخدام وسط واقي بريتون- روبنسون بتركيز (0.04M)عند (pH=9) ظهور قمة إرجاع عند كمون (−1160 mV) وذلك باستخدام مسرى الفضة كلوريد لفضة (Ag/AgCl) كمسرى مُقارن. تراوح المجال الخطي مابين ($0.25–7.81\ \mu g.mL^{-1}$) حيث ($R^2=0.9998$). طُبقت الطريقة المُطورة لتحديد الغليبينكلاميد في المستحضرات الدوائية[8].

دُرس السلوك الكهركيميائي للغليبوريد على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE باستخدام وسط واقي بريتون- روبنسون عند قيم pH مختلفة بين (6–11) باستخدام الطريقة الفولتومترية الحلقية فظهرت قمة مصعدية شبه عكوسة متضمنة نقل الكترون واحد تقابل عملية تحفيز الهيدروجين، حيث لاحظ (M. A. El–Attar, M. M. Ghoneim) انزياح كمونات الأكسدة نحو القيم الأكثر ايجابية كلما نقصت قيمة الـ pH. دُرس أيضاً التحليل الفولت أمبيرومتري بالتراكم الادمصاصي المهبطي ذو الموجة المربعة–SW AdCS(square–wave adsorptive cathodic stripping) في شكله النقي ومستحضراته الصيدلانية (Daonil 5 mg) وفي المصل البشري، حَدد–El .A .M) Attar, M. M. Ghoneim) حد التحديد الكمي 9.88) (2×10^{-8} M) :LOQ وحد الكشف ($2.964\ ng.mL^{-1}$) (6×10^{-9} M) :LOD في شكله النقي. ($ng.mL^{-1}$ أما في المصل البشري ($24.7\ ng.mL^{-1}$) ($5x10^{-8}$ M) :LOQ حد التحديد الكمي ($7.41\ ng.mL^{-1}$) ($1.5x10^{-8}$ M) :LOD حد الكشف[9].

2- هدف وأهمية البحث:

- أهمية البحث:

يستمد البحث أهميته من خلال استخدام طرائق التحليل الكهربائي التي تميزت بحساسيتها العالية بالإضافة إلى أنها أقل كلفة وزمن مقارنة بالطرائق الأخرى وذلك لتحديد الغليبوريد.

- هدف البحث:

دراسة آلية وحركية عملية الإرجاع الكهركيميائية (تحديد المرحلة المحددة لسرعة التفاعل والتحكم بنواتج التفاعل) على مسرى الذهب في وسط حمضي باستخدام الطريقة الفولتومترية الحلقية، بالإضافة إلى امكانية التحديد الكيفي والكمي للغليبوريد.

3-مواد وطرق البحث:

- **الأجهزة:**

1) محطة فولط – أمبيرومترية: من طراز (AMEL-433) انتاج شركة Amel Instruments الإيطالية تعمل على مسرى الزئبق القطار، بالإضافة إلى مجموعة من المساري الخارجية الصلبة مثل البلاتين والذهب والغرافيت الزجاجي، المسرى المقارن (فضة / كلوريد فضة)، ويمكن استخدام العديد من الأجهزة:
Voltammetry, Polarography.

2) ميزان تحليلي: من شركة Precisa السويسرية نموذج (XB220A) بدقة أربع أرقام بعد الفاصلة.

- **الأدوات المستخدمة:**

دوارق وبياشر وماصات وسيلندرات بسعات مختلفة.

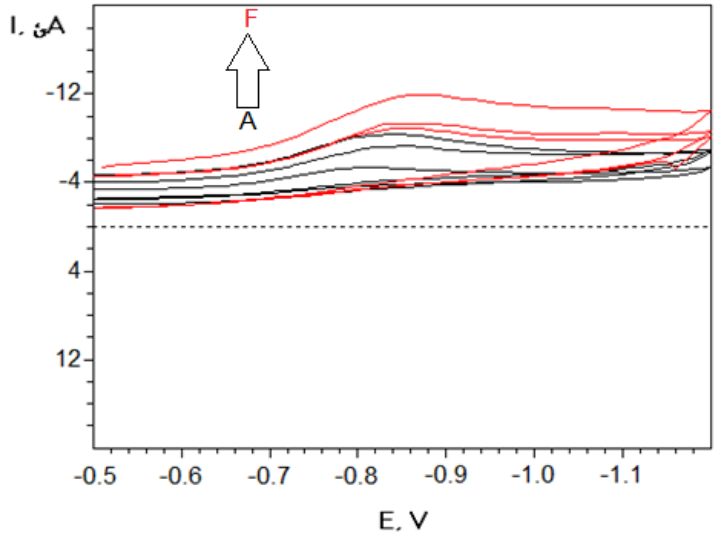
- **المواد الكيميائية المستخدمة:**

- حمض كلور الماء HCl نقاوته (99.8%) من انتاج شركة Merck.
- مضغوطات (Glu-stat) تحتوي كل مضغوطة (5 mg) من غليبوريد.

4- القسم العملي والمناقشة:

دراسة الإرجاع الكهركيميائي للغليبوريد في وسط حمضي على إلكترود الذهب:

دُرس الإرجاع الكهركيميائي للمركب الدوائي للغليبوريد في وسط حمضي على إلكترود الذهب باستخدام االطريقة الفولتومترية الحلقية ومن أجل ذلك حُدد كمون بداية الإرجاع (0.00 mV)، وكمون نهاية الإرجاع (-1300 mV)، و معدل المسح (50 mV/s)، وبعد التخلص من الأكسجين المنحل بقرقرة المحلول بغاز الأزوت النقي لمدة عشرين دقيقة تم الحصول على المنحني الموضح في الشكل(2).



الشكل(2):المنحنيات الفولت أمبيرومترية الحلقية لتراكيز مختلفة للغليبوريد

(A: $7x10^{-6}$ – B: $1x10^{-5}$ – C: $1.45x10^{-5}$ – D: $2x10^{-5}$ – E:$2.42x10^{-5}$ – F: $3.37x10^{-5}$ M)

في وسط حمضي من HCl (0.5 M) على مسرى الذهب.

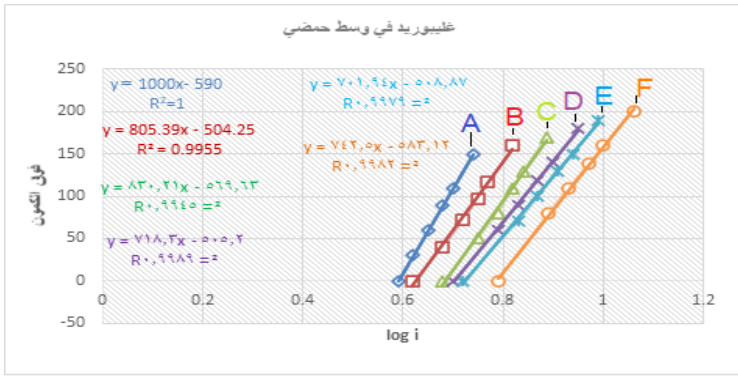
تم تحديد العدد الإجمالي للإلكترونات المنتقلة خلال العملية المسروية من خلال :

استنتاج قيمة تيار التبادل الموافقة لكل تركيز من خلال دراسة تغير فوق الكمون $\boldsymbol{\eta}$ بدلالة log i وفق علاقة تافل:

$$\boldsymbol{\eta} = \mathbf{a} + \boldsymbol{b}\,\boldsymbol{log}\,\boldsymbol{i} \quad \ldots\ldots \text{eq.1} \quad [10]$$

حيث: $(a = -\frac{RT}{\alpha nF}\log i_o)$ ، و $(b = \frac{RT}{\alpha nF})$

من أجل تراكيز مختلفة للغليبوريد كما هو موضح في الشكل(3):

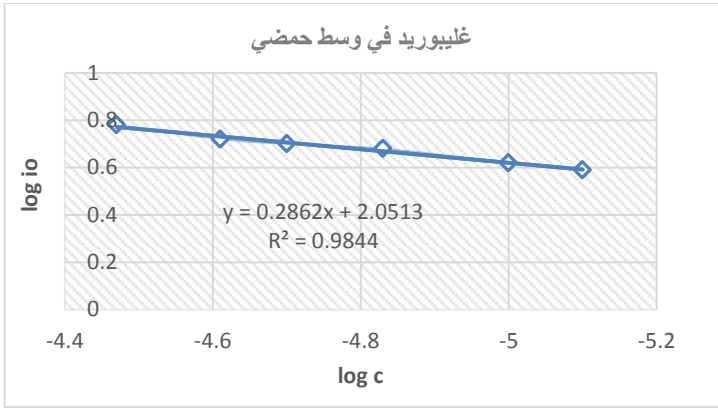


الشكل(3): تغيرات فوق الكمون(η) بدلالة (log i) للغليبوريد في وسط حمضي

ثم تم تحديد قيمة معامل النقل (α) بالاعتماد على علاقة تيار التبادل [11]:

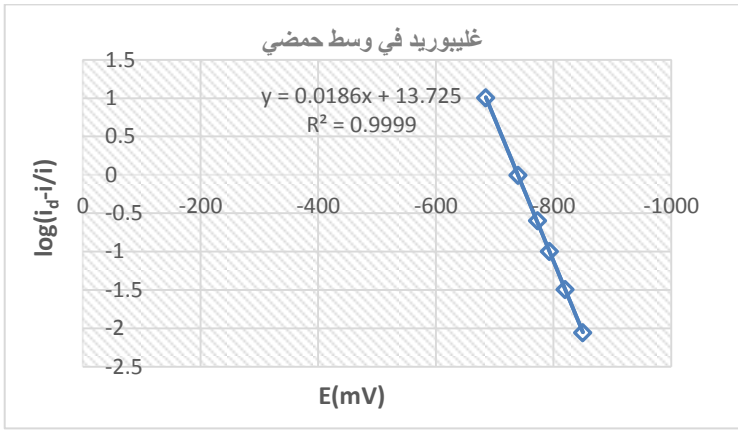
$$\log i_0 = \log k + (1-\alpha)\log c \quad \text{..... eq.2}$$

وذلك من خلال رسم العلاقة بين $\log i_0$ بدلالة $\log c$ كما في الشكل (4).



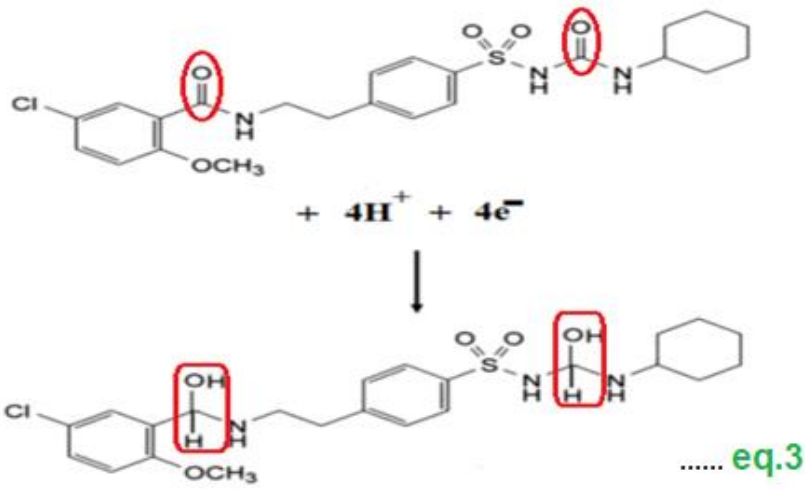
الشكل(4):تغيرات قيم تيار التبادل $\log i_0$ بدلالة تغير التركيز $\log c$ في وسط حمضي

ومن مقارنة ميل المنحني المعبر عنه في الشكل(4) مع القيمة $(1-\alpha)$ وفقاً لعلاقة تيار التبادل تم إيجاد قيمة معامل النقل $(\alpha = 0.7138)$ في الوسط الحمضي وبعد استنتاج قيمة معامل النقل قمنا برسم تغيرات($\log\frac{i_d - i}{i}$) بدلالة الكمون (E) لحساب عدد الإلكترونات المنتقلة خلال العملية المسروية الشكل(5).



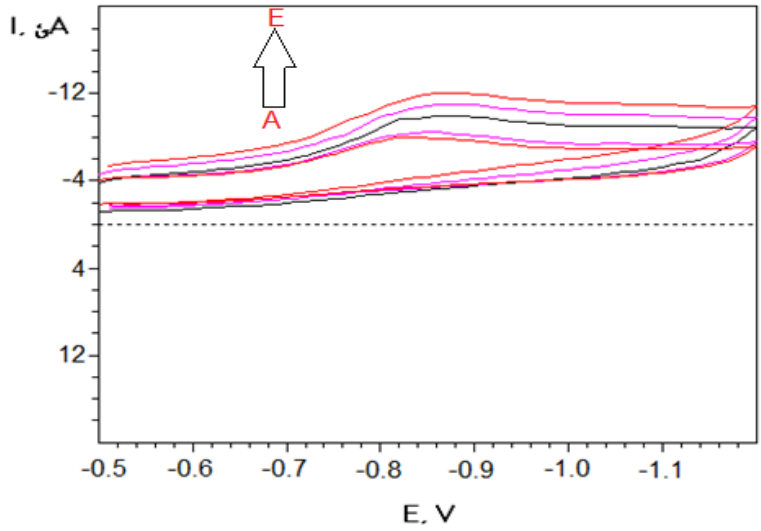
الشكل(5):تغيرات $\log(i_d - i/i)$ بدلالة الكمون E في وسط حمضي

نلاحظ أن ميل هذه العلاقة الخطية هو (0.0186) وبتطبيق العلاقة ($m=0.059/\alpha n$) نجد أن قيمة ($n=4.4$) وبالتالي عدد الالكترونات الكلي المتبادل هو أربعة الكترونات($4e^-$)حيث يتم نقل أربعة الكترونات بموجة كاتودية واحدة غير عكوسة (أي بمرحلة واحدة) وهذا يوافق إرجاع مجموعة الكربونيل (C=O) إلى مجموعة الغول الموافقة (C–OH) وفق المعادلة الآتية:



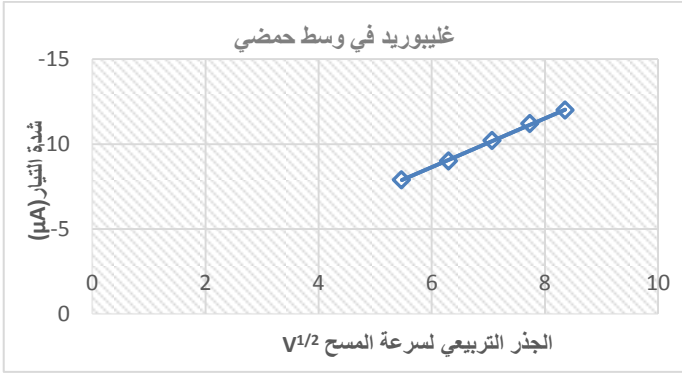
تأثير معدل المسح في الإرجاع الكهركيميائي للغليبوريد:

تم دراسة الإرجاع الكهركيميائي للغليبوريد عند معدلات مسح مختلفة بوجود وسط حمضي (0.5 M) HCl لتحديد آلية انتقال جزيئات الغليبوريد من عمق المحلول إلى سطح إلكترود الذهب باستخدام الطريقة الفولتومترية الحلقية، لتحديد فيما إذا كانت عملية الإرجاع الكهركيميائي على إلكترود الذهب خاضعة للحركية الانتشارية أو للحركية الكيميائية اعتماداً على دراسة تغيرات شدة تيار الذروة مع تغير معدلات المسح كما هو مبين في الشكل (6).



الشكل(6): المنحنيات الفولتامترية الحلقية لتأثير معدلات مسح مختلفة
30 mV/s (A)، 40(B)، 50(C)، 60(D)، 70(E) على الإرجاع
الكهركيميائي للغليبورايد في وسط حمضي من HCl (0.5 M) على مسرى الذهب

يبين الشكل (6) ظهور موجة كاتودية واضحة عند جميع معدلات المسح، ولتوضيح تابعية القيم الحدية للتيار لمعدلات المسح قمنا برسم المنحني الذي يمثل تغيرات شدة التيار الحدي مع الجذر التربيعي لمعدلات المسح المطبقة$V^{1/2}$ كما هو موضح في الشكل (7).

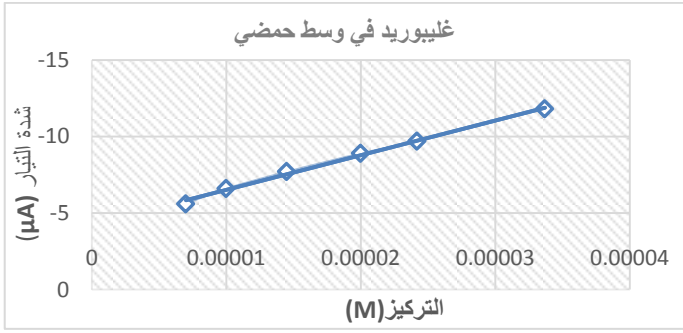


الشكل(7): تابعية القيم الحدية للتيار إلى الجذر التربيعي لسرعة المسح لإرجاع الغليبورايد في وسط حمضي HCl (0.5 M)

يوضح الشكل (7) طبيعة العلاقة الخطية بين القيم الحدية للتيار والجذر التربيعي لمعدلات المسح المطبقة، ومن هنا يمكننا استنتاج أن عملية الإرجاع في الوسط الحمضي تتم وفق الحركية الانتشارية، أي أن الحركية المسيطرة على تفاعل الإرجاع هي حركية انتشارية.

دراسة تأثير تغير التركيز في الإرجاع الكهركيميائي للغليبوريد في وسط حمضي على إلكترود الذهب :

تمت دراسة تأثير تغير التركيز في عملية الإرجاع في وسط حمضي على إلكترود الذهب، وذلك لتحديد المجال الخطي بين القيم الحدية للتيار والتركيز اعتماداً على الطريقة الفولتومترية الحلقية، ومن أجل ذلك تم تحضير سلسلة عيارية من تراكيز مختلفة للغليبوريد نلاحظ من الشكل السابق(2) أن زيادة التركيز تؤدي إلى زيادة التيار ولتحديد تابعية القيم الحدية للتيار إلى التركيز، تم رسم العلاقة بين القيم الحدية للتيار والتركيز:



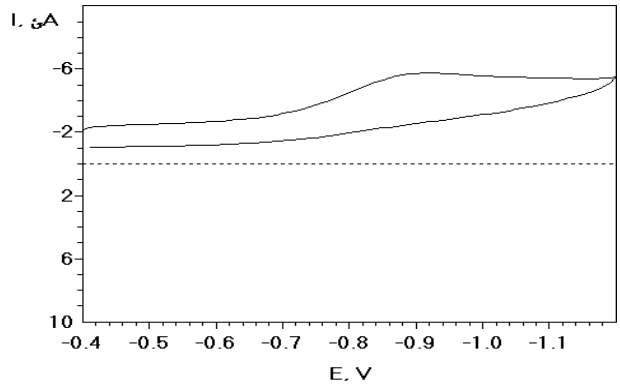
الشكل(8) تابعية القيم الحدية للتيار إلى تراكيز مختلفة من غليبوريد في وسط حمضي

يوضح الشكل (8) أن التابعية خطية ضمن هذا المجال من التراكيز في الوسط الحمضي.

تحديد الغليبوريد كمياً في العينات الواقعية :

تم تحليل عينة دوائية تجارية تحتوي على الغليبوريد (غلوستات Glu-stat 5 mg)، من أجل تحديد قابلية تطبيق الطريقة الكهركيميائية المقترحة في تحليل العينات الدوائية حيث أخذ عشرين حبة من الدواء طحنت إلى مسحوق ثم أخذت وزن حبة واحدة وحلت

بقليل من الميتانول، وأكمل الحجم حتى (100 ml) باستخدام وسط حمضي من HCl(0.5 M) ثم تم تمديده، تم تسجيل المنحني الفولتامتري للعينة كما هو موضح في الشكل(9).



الشكل(9) المنحني الفولتامتري الحلقي للإرجاع
الكهركيميائي لعينة غلوستات في وسط حمضي من HCl(0.5 M)
على مسرى الذهب بمعدل مسح (50 mV/s)

تم تحديد نسبة المادة الفعالة في المستحضر الدوائي (غلوستات Glu-stat 5 mg) بوجود وسط حمضي (97.6%) تقع ضمن المجال النموذجي المسموح به وفق دستور الأدوية الأمريكي [12].

5-الاستنتاجات:

1. لدى دراسة مركب الغليبورايد لاحظنا أن للمركب خصائص كهركيميائية تعود لعدد من الزمر الكهركيميائية الموجودة في صيغتها والتي تمت دراستها بالطريقة الكهركيميائية الحلقية على مسرى الذهب، حيث وجدنا أنه يخضع لعملية مسروية مهبطية في وسط حمضي (HCl) على مسرى الذهب، و لاحظنا ظهور قمة واحدة للمادة.

2. اقترحنا الآلية للتفاعلات الحاصلة على سطح المسرى، حيث أن القمة تعود لارجاع زمرتي الكربونيل (–CO–) في الصيغة الكيميائية للغليبوريد، وقمنا بحساب عدد الالكترونات المتبادلة وفقاً للعلاقات الرياضية، ووجدنا أنها تساوي($4e^-$).
3. يخضع تفاعل الإرجاع الكهركيميائي للغليبوريد في الوسط الحمضي إلى الحركية الانتشارية (هي المرحلة المحددة لسرعة التفاعل).
4. تم تطبيق هذه الطريقة بنجاح لتحديد الغليبوريد في المستحضرات الصيدلانية المتوفرة في الأسواق السورية بمردود يقع ضمن المجال النموذجي المسموح به وفق دستور الأدوية الأمريكيUSP، بالنظر إلى الوقت القصير للتحليل.

6-التوصيات:

إن الطرائق المطورة في هذا البحث تصلح من أجل تحديد الغليبوريد في المضغوطات بدون اعاقة من السواغات المضافة ونقترح تطبيقها في ضبط الجودة للمستحضرات الصيدلانية المدروسة.

7-المراجع:

1. Menke A, Casagrande S, Geiss L, Cowie CC. Prevalence of and Trends in Diabetes Among Adults in the United States, 1988–2012. JAMA. 2015 Sep 8; 314(10):1021–9. [PubMed: 26348752]
2. Ehrenkranz JR, Lewis NG, Kahn CR, Roth J. Phlorizin: a review. Diabetes/metabolism research and reviews. 2005 Jan-Feb;21(1):31–8. [PubMed: 15624123]
3. Mudaliar S, Henry RR, Boden G, Smith S, Chalamandaris AG, Duchesne D, et al. Changes in insulin sensitivity and insulin secretion with the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor dapagliflozin. Diabetes technology & therapeutics. 2014 Mar; 16(3):137–44. [PubMed: 24237386]
4. Scheen AJ. Pharmacodynamics, efficacy and safety of sodium-glucose co-transporter type 2 (SGLT2) inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus. Drugs. 2015 Jan; 75(1):33–59. [PubMed: 25488697]
5. Marble A., 1971- "Glibenclamide, a new sulphonylurea: whither oral hypoglycaemic agents?", Drugs, 1 (2), 109-15.
6. Hennessey J.V., Bustamante M.A. and Teter M.L.,1994- Bedtime dosing of glyburide and the treatment of type II diabetes mellitus, Am. J. Med. Sci., 308, 234.
7. Jaber L.A., Antal E.J. and Welshman I.R., 1996- Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in young and elderly patients with NIDDM, Ann. Pharmacother., 30, 472.
8. Süslü I and Altınöz S.,2011- Determination of Glimepiride in Pharmaceutical Formulations by Square -Wave Voltammetric Method, Current Analytical Chemistry.**,** *7*(4), 333-340.

9. El-Attar M. A., Ghoneim M. M.,2021- Electro-reduction, Quantification and Pharmacokinetic Studies for the Anti-Hyperglycemic Drug Glibenclamide Using Stripping Voltammetric method: Development and Validation. Egypt. J. Chem., 64 (4), 2013 – 2024. http://ejchem.journals.ekb.eg/.

10. Grimshaw, J.,2000- REDUCTION OF CARBONYL COMPOUNDS, CARBOXYLIC ACIDS AND THEIR DERIVATIVES. Electrochemical Reactions and Mechanisms in Organic Chemistry, 330–370. doi:10.1016/b978-044472007-8/50010-0.

11. BAKIR. D, SHEIKH. M, MUALLA.H ,2004 - Physical Chemistry 3. Al-Baath University, first edition. Syria, 420.

12. The United States Pharmacopeia and the National Formulary, USP 41-NF 36,2018.