

طريقة كروماتوغرافية قياسية لتقدير الباراسيتامول ومثيل بروميد الهيموتروبين في عقار الرياباسام ثنائي المكون

أحمد كريم عباس ، خلف فارس عطية

قسم الكيمياء ، كلية التربية ، جامعة سامراء ، سامراء ، العراق

ahmedchemist83a@gmail.com*

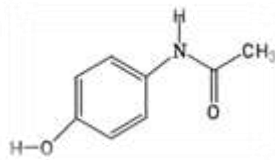
الملخص

تضمنت الدراسة ابتكار وتقييم طريقة للتقدير الآني لعقاري HMB و Para بتقنية RP- HPLC باستخدام عمود L7 (25cm×4.6mm) وطور متحرك يتكون من Methanol: Buffer Phosphate: water بنسبة 10:20:70 وعند دالة حامضية 3.5 وتم القياس عند الطول الموجي 257nm لعقار HMB و 243nm لعقار Para. تم بناء منحني المعايرة لتقدير كلا العقارين للتركيز (200-20)ppm وكانت الاسترجاعية المئوية لعقار HMB ما بين % (95.5 – 103.8) وحد الكشف 0.00028 ppm والحد الكمي 0.000959 ppm، والاسترجاعية المئوية لعقار Para ما بين % (95.07 – 103.43) وحد الكشف 0.000123 ppm والحد الكمي 0.00041ppm . طبقت الطريقة بنجاح لتقدير كلا العقارين في اشكالها النقية ومستحضراتها الصيدلانية.

الكلمات المفتاحية : باراسيتامول، مثيل بروميد الهيموتروبين، كروماتوغرافيا السائل ذو الأداء العالي

1- المقدمة

عقار الهوماتروبين مثيل برومايد Homatropine Methyl Bromide (HMB) له الاسم الكيميائي [1] 8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]octan-3-yl)2-hydroxy-2-phenylacetate;bromide وصيغته الجزيئية هي : $C_{17}H_{24}BrNO_3$ ووزنه الجزيئي 370.3 وصيغته التركيبية [2] كما في الشكل(1):



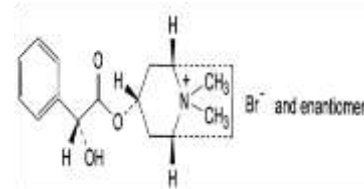
الشكل (2) التركيب الكيميائي لعقار الباراسيتامول

وزنه الجزيئي هو 151,17 غم \مول. تستعمل مستحضرات الباراسيتامول المركبة مع الهوماتروبين مثيل برومايد حالياً في الشركة العامة لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية - سامراء بإنتاج مستحضر الرياباسام (Homatropine ,Paracetamol-350mg ,methyl bromide-4mg) بشكل اقراص بوصفه مسكن للألام. تم تقدير الباراسيتامول باستعمال الطرائق الكروماتوغرافية في مختلف المستحضرات الصيدلانية بنجاح بالرغم من وجود ادوية اخرى مرافقة وباستخدام اعمدة فصل وأطوار متحركة وكواشف تحسس مختلفة- [11] 17]. وبالنظر لعدم وجود طريقة دستورية لتقدير المكونين في مستحضر الرياباسام الذي ينتج حصرياً من قبل الشركة العامة لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية SDI في سامراء - العراق لذلك تم ابتكار طريقة جديدة لتقديرهما معاً تستند الى تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء.

2- طريقة العمل

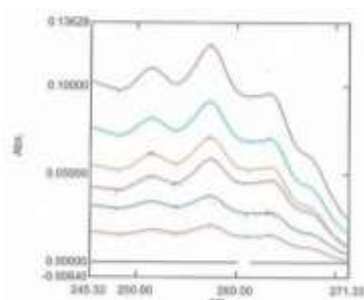
استخدم جهاز HPLC نوع Shimadzu ياباني المنشأ , واستخدمت في هذه الدراسة كواشف ومواد كيميائية ذات نقاوة عالية وهي: Pottasium dihydrogen phosphate , Methanol , Phosphuric acid, Homatropine methyl bromide Paracetamol وجميع هذه المواد من انتاج شركة BDH انكليزي المنشأ.

محاليل الأدوية

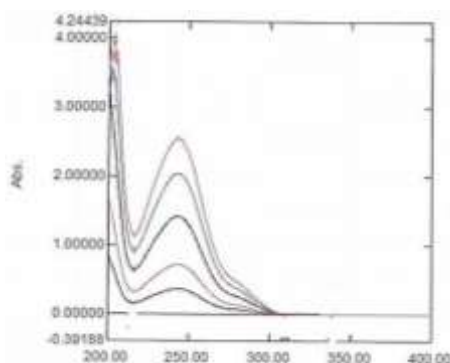


شكل (1) الصيغة التركيبية لعقار هوماتروبين مثيل برومايد

ويستخدم العقار [3] لمعالجة اضطراب القولون ويمكن استخدامه جنباً إلى جنب مع مضادات الحموضة او الأدوية الأخرى في علاج القرحة الهضمية. بالنظر لأهمية العقار من الناحية الطبية تم تقديره لوحده بالعديد من الطرائق التحليلية المختلفة مثل الطرائق الطيفية [4] وتقنية كروماتوغرافيا السائل ذات الاداء العالي HPLC [5] وبطريقة قياس العكورة [6,7] وبطريقة تكوين تجمع الأمونيوم حامض البكريك الرباعية [8] وبطريقة الاقطاب الغشائية الانتقائية [9] . أما الباراسيتامول (اسيت امينو فين Acet amino phen) [10] واسمه العلمي N-اسيتايل- بارا - امينو فينول (N-acetyl-p-aminophenol) أو 4- هيدروكسي اسيت انلايد (4- hydroxyl acet anilide) وتركيبه الكيميائي كما في الشكل(2):



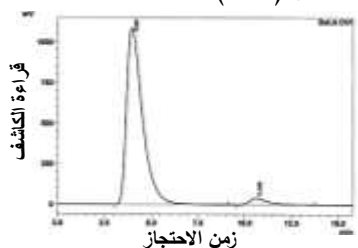
الشكل (3) الامتصاص الأعظم لعقار Homatropine methyl bromide



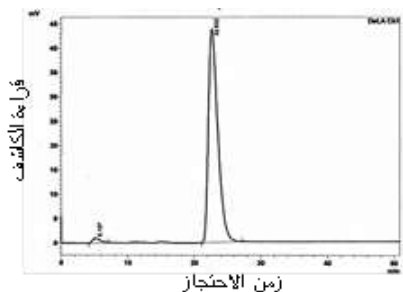
الشكل (4) الامتصاص الأعظم لعقار Paracetamol

2- اختيار افضل عمود كروماتوغرافي

تمت دراسة الفصل للمركبين على مجموعة من الأعمدة وهي (L1, L3, L7, L10 بعد تثبيت الظروف الأخرى وظهرت الدراسة أن افضل عمود هو L7 لكونه اعطى افضل فصل وبقيمة حادة وبزمن احتجاز مثالي ومن دون حدوث تداخل بين قمتي العقارين HMB و Para كما في الاشكال (5-8).



الشكل (5) الفصل باستخدام العمود L7



الشكل (6) كروماتوغرام الفصل باستخدام العمود L1

*محلول المادة الدوائية (HMB) (1ملغم ١ مل)(1000ppm)

حضر بإذابة (100) ملغم من المادة الفعالة القياسية في (100) مل من الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مل ثم حضر منه بقية التراكيز بالتخفيف مع الماء المقطر.

*محلول المادة الدوائية (para) (1ملغم ١ مل)(1000ppm)

حضر بإذابة (100) ملغم من المادة الفعالة القياسية في (100) مل من الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مل ثم حضر منه بقية التراكيز بالتخفيف مع الماء المقطر.

*المحلول المنظم Buffer Phosphate(PH 3.5)

يحضر بإذابة 6.8 غم من Pottassium di hydrogen Phosphate في 100 مل من الماء المقطر ثم يضبط الى PH3.5 مع [3] Phosphoric acid.

*محلول الطور الناقل Mobile Phase

يحضر من مزج Methanol: Buffer Phosphate: water ونسبة 10: 20: 70 على التوالي.

Chromatographic الظروف الكروماتوغرافية المثلى Optimization of Conditions

تم اختيار افضل الظروف والتي اعطت افضل النتائج وهذه الظروف كما في الجدول (1).

جدول (1)

No.	Parameter	Results
1	Mobile phase	Methanol 10 : Buffer phosphate 20 : Water 70
2	Wave length Nm	257 for HMB 243 for Para
3	Column	L7(25cm×4.6mm)
4	pH of mobile phase	3.5
5	Flow rate(ml / min)	1.5
6	Temperature	30°C

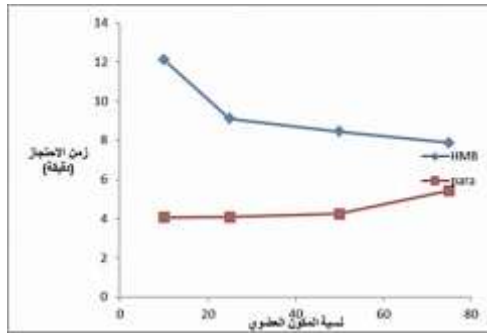
بعد تثبيت الظروف المثلى كما في الجدول (1) يتم حقن عقار HMB في جهاز HPLC بحجم 100 مايكرو لتر من محلول HMB للتراكيز (20 - 200) ppm المحضرة من المحلول القياسي لعقار HMB وتقاس مساحة القمة لكل تركيز، وينفس الطريقة للعقار Para.

3- النتائج والمناقشة

تم دراسة الظروف المثلى لتقدير عقاري HMB و Para في مستحضر الريباسام قيد الدراسة بتقنية HPLC وهذه الظروف هي:

1- اختيار الطول الموجي

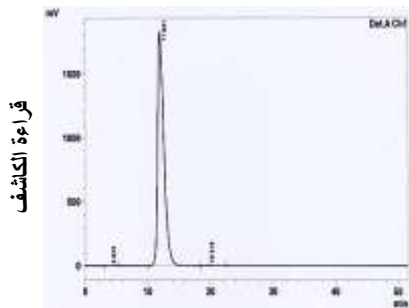
تم تحضير تراكيز مختلفة من كل عقار قيد الدراسة وذلك من المحاليل القياسية التي تم تحضيرها ثم جرى مسح للأطوال الموجية ما بين (200-400) نانومتر وعلى مطياف الأشعة المرئية - فوق البنفسجية ومنها تم اختيار الطول الموجي 257 nm لعقار HMB والطول الموجي 243 nm لعقار Para المناسب لتقدير كل عقار وكما موضح في الشكلين (3) و(4).



الشكل (10) علاقة نسبة المكون العضوي مع زمن الاحتجاز

4- تأثير الدالة الحامضية للطور المتحرك

للحصول على افضل دالة حامضية يتم عندها أفضل فصل للمادتين HMB و Para استعملت العديد من المحاليل التي حضرت بدوال حامضية مختلفة , وكان افضل فصل عند الدالة الحامضية 3.5 كما في الشكل (11), ولوحظ نقصان زمن الاحتجاز عند زيادة الدالة الحامضية كما في الجدول (3) والشكل (12).

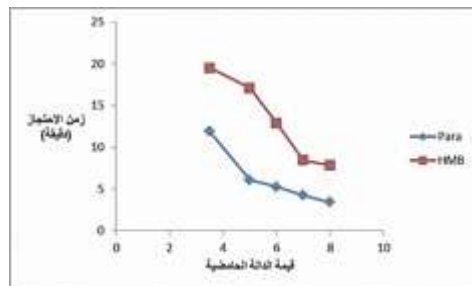


زمن الاحتجاز

الشكل (11) افضل فصل عند قيمة الدالة الحامضية 3.5

جدول (3) علاقة قيمة الدالة الحامضية مع زمن الاحتجاز

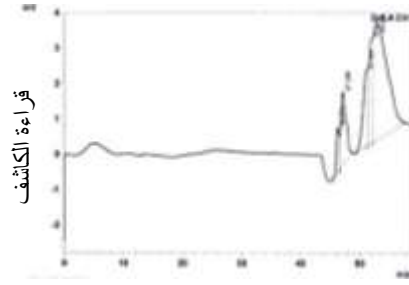
زمن الاحتجاز	زمن الاحتجاز	قيمة الدالة الحامضية
لعقار HMB	لعقار Para	
19.518	11.921	3.5
17.109	6.106	5
12.916	5.284	6
8.451	4.244	7
7.870	3.436	8



الشكل(12)علاقة قيمة الدالة الحامضية مع زمن الأحتجاز

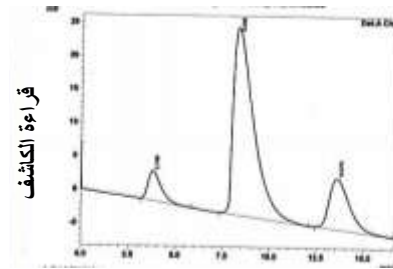
5- تأثير سرعة جريان الطور المتحرك

تم استخدام سرع جريان مختلفة تراوحت ما بين (1-2) مل/ دقيقة وأثبتت الدراسة أن افضل معدل جريان هو 1.5 مل دقيقة لكونه يعطي قمة حادة ويزمن احتجاز مناسب وبدون حدوث تداخل بين قمتي



زمن الاحتجاز

الشكل (7) كروماتوغرام الفصل باستخدام العمود L3

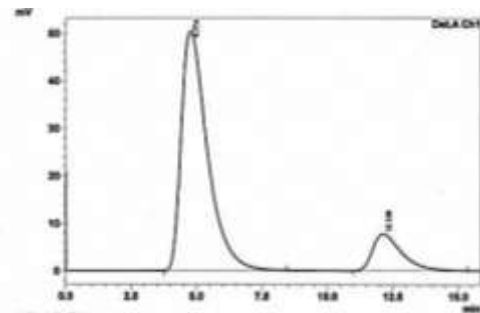


زمن الاحتجاز

الشكل (8) كروماتوغرام الفصل باستخدام العمود L10

3- تأثير نسبة مكونات الطور المتحرك

تم تحضير العديد من الاطوار المتحركة المكونة من Methanol: Buffer phosphate: Water بنسب مختلفة وكان افضل فصل عند الطور المتحرك Methanol: Buffer phosphate: Water بنسبة 70 : 20 : 10 كما في الشكل (9), إذ تم دراسة التغير في أزمان الاحتجاز للعقارين قيد الدراسة نتيجة التغير في نسب المكون العضوي وتثبيت بقية المتغيرات كما اظهرت النتائج تناقصاً في زمن الاحتجاز للعقار HMB بينما اظهر العقار Para تزايداً في زمن الاحتجاز بزيادة نسبة المكون العضوي وهذا السلوك المتناقض للعقارين يؤدي الى احتمالية تداخل قمتي العقارين عند نسبة 75% للمكون العضوي كما في الجدول (2) والشكل (10).

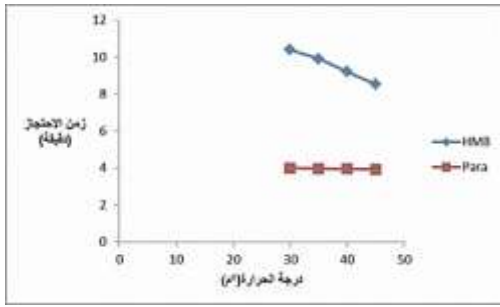


الشكل (9) الطور المتحرك Methanol: Buffer phosphate: Water

بنسبة 70 : 20 : 10

جدول(2)علاقة نسبة المكون العضوي مع زمن الاحتجاز

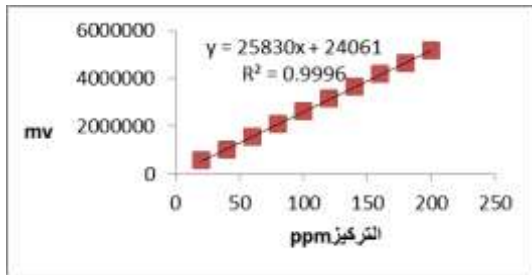
زمن الاحتجاز	زمن الاحتجاز	نسبة المكون العضوي %
لعقار HMB Min	لعقار Para Min	
12.126	4.074	10
9.114	4.080	25
8.451	4.244	50
7.870	5.436	75



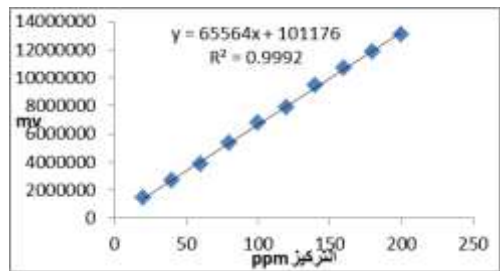
الشكل (16) العلاقة ما بين درجة الحرارة وزمن الاحتجاز

المنحنيات القياسية HMB و Para

تم تحضير عشرة محاليل قياسية من كل من عقاري HMB و Para (20-200ppm). تم فصل كل من عقار HMB و Para على العمود L7 ويطور متحرك يتكون من Methanol: Buffer Phosphate و Water: وينسبة 10: 20: 70 وفي درجة حرارة 30°م وعند قيمة داله حامضية 3.5 و طول موجي 257nm و 243nm وكان حد الكشف (Limit of Detection LOD) 0.00028 ppm و (Limit of Quantity LOQ) 0.000123ppm والحد الكمي 0.000959 ppm و 0.00041ppm لكل من عقاري HMB و Para على التوالي والشكلين 17 و 18 يبينان منحني المعايرة لكل منهما.



الشكل (17) المنحني القياسي لتقدير عقار HMB للتركيز 20-200 ppm

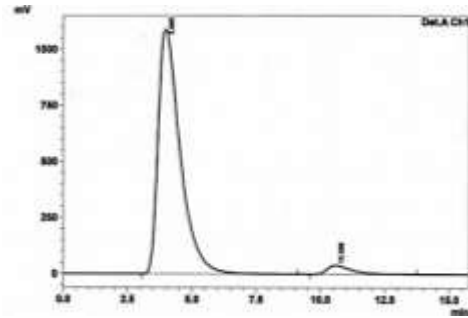


الشكل (18) المنحني القياسي لتقدير عقار para للتركيز 200 - ppm

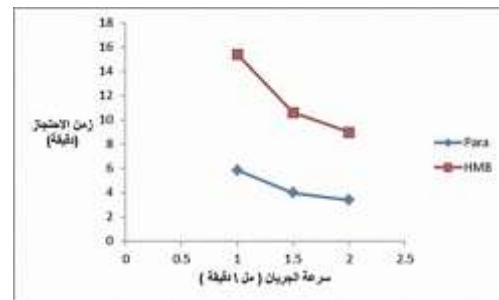
الدقة والضبط

تم حساب الدقة والضبط للعقار HMB لعشرة تراكيز إذ تم الحصول على معدل انحراف قياسي نسبي %RSD ما بين (-0.00048- و 3.32E-05) وقيم استرجاعية مئوية مقبولة تتراوح ما بين (95.5% - 103.8%), كما تم حساب الدقة والضبط للعقار Para لعشرة تراكيز إذ تم الحصول على معدل انحراف قياسي نسبي %RSD ما بين (-0.00025 - 2.14E-05) وقيم استرجاعية مئوية مقبولة تتراوح ما بين (95.07%-103.43%) وعدد الطبقات النظرية (1195) صفيحة

العقارين كما في الشكل (13). كما اظهرت الدراسة علاقة عكسية ما بين سرعة جريان الطور المتحرك وزمن احتجاز العقار, الشكل (14) يوضح العلاقة ما بين التغير في سرعة جريان الطور المتحرك مع زمن الاحتجاز.



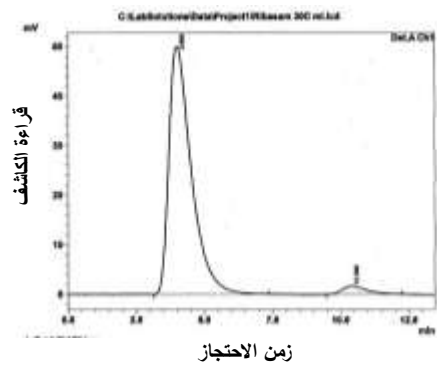
الشكل (13) أفضل سرعة جريان عند (1.5) مل/ دقيقة



الشكل (14) العلاقة ما بين سرعة جريان الطور المتحرك وزمن الاحتجاز

6- تأثير درجة الحرارة

تم دراسة تأثير زيادة درجة حرارة العمود وزيادة قدرها 5°م واطهرت الدراسة علاقة عكسية ما بين درجة الحرارة وزمن الاحتجاز اذ تناقص زمن الاحتجاز بزيادة درجة الحرارة, تم اختيار درجة حرارة 30°م كأفضل درجة حرارة للفصل كما في الشكل (15) لأن زيادة درجة الحرارة يؤدي الى ازدياد احتمالية دمج قمتي العقارين, الجدول (4) والشكل (16) يوضح العلاقة ما بين درجة الحرارة وزمن الاحتجاز.



الشكل (15) الفصل عند درجة حرارة 30°م

جدول (4) العلاقة ما بين درجة الحرارة و زمن الاحتجاز

زمن الاحتجاز لعقار HMB Min	زمن الاحتجاز لعقار Para min	درجة الحرارة °م
10.399	3.996	30
9.915	3.969	35
9.204	3.956	40
8.517	3.929	45

الخط المستقيم التي تم الحصول عليها من المنحنين القياسيين لكل من العقارين HMB و Para. إذ حضرت ثلاثة تراكيز لعقار HMB من مستحضر Riabasam ppm (25,50,100) وظهرت النتائج دقة عالية وبنسبة استرجاعية ما بين (95.7-98.5)، كما حضرت ثلاثة تراكيز لعقار Para من مستحضر Riabasam ppm (15,30,45) وظهرت النتائج دقة عالية وبنسبة استرجاعية ما بين (96.9 - 102)، وكما مبين في الجدول (6).

جدول (6)

أسم المستحضر	التركيز المأخوذ Ppm	معدل التركيز المقاس ppm	الاسترجاعية المئوية Rec%	RSD%
HMB	100	96.03438	96.03438	0.00014
HMB	50	47.89737	95.79473	0.00027
HMB	25	24.64475	98.57902	0.00051
Para	15	14.73116	98.20776	0.00022
Para	30	29.09388	96.97959	0.00019
Para	45	45.90896	102.01991	0.00094

الاستنتاجات

تم تطوير طريقة تحليلية لتقدير كل من عقاري HMB و Para بتقنية HPLC لتقدير العقارين في وقت واحد من دون اللجوء إلى فصلهما. هذه الطريقة وفرت الجهد، الكلفة والوقت. وكما انها مناسبة للعمل المختبري اليومي كون نتائجها قابلة للتكرار وباسترجاعية عالية لكلا العقارين % (95.5-103.8).

1. B.F. Grabowski, B.J. Softly, B.L. Chang, W.G. Haney. JPS 62(1973)806-809.
2. Ahmed Alsamarrari. Chromatographic Determination Of Paracetamol and Homatropine Methyl Bromide in Riabasam Formulation, University of Samarra, (2016).
3. Nakashima A, Murakami Y, Uemura K. Hiroshima Journal of Medical Sciences. 59(2010)17-19.
4. S. Ahuja, D. Spiegel, F.R. Brfazi. J.Pharm.Sci. 59 (1970) 417-8.
5. Pal Majlat, Per Helboe, Agnete Kjaervig Kristensen. International Journal of Pharmaceutics 9(1981)245-55.
6. Willian T.Suarez, Heberth J. Vieira, Orlando Fatibillo-Filho. J.Braz. Chem. Soc. 18 (2007) 1028-33 .
7. Larissa S. Canaes, Oldair D.Leite, Orlando Fatibello - Filho. Talanta 69 (2006) 239-42.
8. S. Hanna, M. Rosen, L. Rasero, L. Lachman, J. Pharm. Sci. 66 (2006) 123-24.
9. Imad Tarek Hanoon, Ahmed Kareem Abas. Karbala journal of pharmaceutical sciences 9 (2015) 157-64.

نظرية) والارتفاع المكافئ للطبقة النظرية HETP (0.02) والتفريقية R, resolution (2.5) كما في الجدول(5).

جدول (5) الدقة والضبط للعقار HMB و Para

اسم العقار	التركيز المأخوذ Ppm	التركيز المحسوب ppm	الاسترجاعية المئوية Rec%	RSD%
HMB	20	20.77244	103.8622	0.00048
HMB	40	38.23066	95.57666	0.000214
HMB	60	59.14007	98.56678	9.74E-05
HMB	80	79.71003	99.63753	8.25E-05
HMB	100	100.98319	100.98319	4.06E-06
HMB	120	121.48745	101.23954	4.02E-05
HMB	140	141.19295	100.85210	0.000105
HMB	160	161.18126	100.73828	6.75E-05
HMB	180	178.14208	98.96782	4.81E-05
HMB	200	199.15563	99.57782	3.32E-05
Para	20	20.68716	103.43580	0.000205
Para	40	39.83337	99.58342	0.00015
Para	60	57.04521	95.07535	9.37E-05
Para	80	80.36416	100.4552	4.41E-05
Para	100	101.66719	101.66719	4.34E-05
Para	120	118.77110	98.97591	2.78E-05
Para	140	142.26688	101.61920	6.07E-05
Para	160	161.91570	101.19731	2.89E-05
Para	180	179.58458	99.76921	3.02E-05
Para	200	197.86120	98.93060	2.14E-05

تطبيق الطريقة

تم تحضير ثلاثة تراكيز من مستحضر ريباسام Riabasam والذي يحتوي على (4mg HMB و 350mg Para) وباستعمال معادلتى

المصادر

10. Mohammad S. Alrheem. Spectrophotometric Determination of Paracetamol and chlorphenaramine malate in pure form and pharmaceutical , University of Samarra, (2016).
11. D. Deoesi, L. Gagliradi, A. Balasco, D. Tonelli. Chromatographia 43 (1996) 496.
12. R. N. Beritt, J. R. Mather, D. C. Shammar. Analyst 109 (1984) 1327.
13. F. j. Sena, T. J. Piechocki, I. K. Li. J. Pharm. Sci. 68(1979) 11,1456.
14. D. R. A. Uges, H. Bloemhof, E. K. j. Christensen. Pharm. World and Sci. 3 (1981) 1,1309.
15. W. R. Sisco, C. T. Ritten hous, L. A. Everhant. j. Chromatog. 348 (1985) 253.
16. D. R. Heidemann, K. S. Groon, M. J. Smith. LC. GC. 5 (1987)5,422.
17. T. L. Ascach, B. T. Huter. J. Chromatog. 455 (1988) 279.

The Standard Chromatographic Method For Determination of Paracetamol and Homatropin methyl bromide in Riabasam binary components

Khalaf F Alsamarrai , Ahmed Kareem Abbas

Department of Chemistry, College of Education, University of Samarra , Samarra , Iraq

Abstract

This study Includes innovative and validate RP-HPLC method for determination of drugs HMB and Para by using of L7 column (25cm×4.6mm) and mobile phase content of Methanol: Buffer Phosphate: water with ratio 10:20:70 and pH 3.5 at 257 nm for HMB and 243 nm for Para. The calibration curves for determination HMB and Para were constructed at the concentrations (20–200) ppm for two drugs with recovery percentage for HMB (95.5–103.8)% and detection limit 0.00028 ppm and quantitate limit 0.000959 ppm and recovery percentage for Para (95.07–103.43)% and detection limit 0.000123ppm and quantitate limit 0.00041ppm. The method successfully applied to determination of two drugs in pure and in pharmaceutical forms.