تحديد الباراسيتامول والايبوبروفن باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

جمال محفوض

قسم الكيمياء ــ كلية العلوم ــ جامعة دمشق ــ سورية

تاريخ الإيداع 2011/06/28

قبل للنشر في 2011/10/17

الملخّص

حُدّدَ كلٌّ من الباراسيتامول والايبوبروفن بآن واحد في مزائج نقية وفي مستحضرات دوائية (مضغوطات + معلق) باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء High performance liquid chromatography. أجري التحليل على عمود C18 (Octadecyl Silane)، أبعاده (3.9 mm x 150mm, 5 µm) واستخدم كطور متحرك مزيج مؤلف من الميتانول: ماء: حمض الفوسفور وبنسب قدرها [75 :24.7 :0.3] على الترتيب، وبمعدل تدفق هو 0.8 مل / دقيقة وكاشف الأشعة فوق البنفسجية يعمل عند طول موجة قدرها 214 nm. كانت النتائج خطية في مجال التراكيز المدروسة من 2.500 إلى 80.000 ميكروغرام/مل للباراسيتامول ومن 3.125 إلى 100.000 ميكروغرام/مل للايبوبروفن، إذ كانت قيم معامل الارتباط لكل من الباراسيتامول والايبوبروفن R=0.999969 وR=0.999993 على الترتيب .

حسبت قيم الانحراف القياسي النسبي المئوي (n = 6) لدقة التحليل اليومي (intraday assay) وبين الأيام (interday assay) فكانت 0.350 %، 0.699 % للباراسيتامول و0.152 %، 0.382 % للايبوبروفن على التسلسل. تميّزت هذه الطريقة بالدقة والصحة العاليتين وزمن التحليل القصير، واستخدمت في ضبط جودة تحاليل العينات الصيدلانية الدوائية في الرقابة الدوائية.

الكلمات المفتاحية: الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء، باراسيتامول، ايبوبروفن.

Determination of Paracetamol and Ibuprofen by High Performance Liquid Chromatography

J. Mahfoud
Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Damascus University, Syria

Received 28/06/2011
Accepted 17/10/2011

ABSTRACT

The purpose of this article is how to determine simultaneously the content of paracetamol and ibuprofen in pure forms and in pharmaceutical preparations (tablets and suspension dosage forms) by high performance liquid chromatography (HPLC). Analysis was conducted on a C18 -column (3.9 mm x150mm, 5 µm) with mobile phase consisting of methanol – water – phosphoric acid in ratios [75: 24.7 :0.3] respectively, and flow rate 0.8 ml/min. An ultraviolet detector was used at wavelength of 214 nm. Results were linear in the range of 2.5000 -80.000 µg/ml for paracetamol and 3.125-100.000 µg/ml for ibuprofen. The correlation coefficients were R= 0.999969 and R= 0.999993 for paracetamol and ibuprofen respectively.

The relative standard deviations (n = 6) of intraday assay and interday assay were 0.350%, 0.699% for paracetamol and 0.152%, 0.382% for ibuprofen, respectively. This method was characterized by high accuracy, precision and suitable for quality control in pharmaceutical industries.

Key Words: High performance liquid chromatography (HPLC), Paracetamol, Ibuprofen

المـــقدمـــة

يعدُّ تحليل المواد الداخلة في الصناعات الدوائية من التحاليل المهمـــة جـــداً، والمـــواد المراد تحليلها تدخل في هذه الـــصناعة حيـــث يـــستخدم الباراســـيتامول (اســـيتامينوفين) $C_8H_9NO_2$ بوصفه مسكناً للألم وخافضاً للحرارة. أمّا الايبوبروفن $C_{13}H_8O_2$ فيُستعمل مُضاد التهاب غير سيتروئيدي ومضاداً للروماتيزم ، يجمع المستحضر الدوائي المحتـــوي على الباراسيتامول والايبوبروفن معاً بين الخواص المسكنة للألـــم والخافـــضة للحـــرارة فضلاً عن الخواص المضادة للالتهاب غير السيتروئيدية [1- 3]؛ لـــذلك يكـــون العمـــل التآزري بين الباراسيتامول والايبوبروفن أعظمياً ويعطي استجابة سريعة من قبل المريض الذي يتناول هذا المستحضر.

يمكن تحليل كل من الباراسيتامول والايبوبروفن على حدة بطرائق تحليليـــة معروفـــة كالمعايرات الحجمية [4،5]، أو بالطرائق الطيفية [6،7]. لكن ليس من السهولة تحليل هذه المركبات الموجودة معاً بالطرائق السابقة الذكر، وذلك نتيجة التداخل الذي يحـــدث بـــين المركبات الفعالة أو مع السواغات، إذ إنّ معظم هذه المركبات ذوابة في المحـــل نفـــسه، لذلك لا يمكن استخلاص مركب بوجود المركب الآخر بشكل كامل، ومن ثـــم لا يمكـــن تحديد مركب بوجود المركب الآخر بالطرائق السابقة الذكر.

لهذه الأسباب اختيرت طريقة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لتحليل مثـــل هـــذا المزيج من المركبات. درس الباحث Zhang, Hong-wu وزملاؤه [8] إمكانية تحليـــل مزيج من الباراسيتامول والايبوبروفن في مستحضر دوائي على شكل كبسول باســـتعمال الكروماتوغرافيا السائلة، مـــستخدماً العمـــود الكرومـــاتوغرافي CN-column وطـــوراً متحركاً مؤلفاً من الميتانول والمحلول الموقي الفوسفاتي عند قيمـــة pH = 6.6 وبنـــسب قدرها [40:60] على الترتيب، وكاشفاً يعمل عند طول موجة الكشف 223 nm، والنتيجة كانت هناك خطية ضمن المجال المدروس من 0.17 إلـــى 100.14 ميكروغـــرام/مـــل للباراسيتامول ومن 0.21 إلى 124.86 ميكروغرام/ مل للايبوبروفن، مع فصل جيد بين قمتي المكونين المدروسين وكانت قيمة الانحراف القياسي النسبي المئوي هي أقـــل مـــن 0.31%. كما درس الباحث Kallol Jana وزملاؤه [9] إمكانية تحديـــد الباراســـيتامول والديكلوفيناك في مزيج لهما باستعمال طريقة الكروماتوغرافيا السائلة مـــستخدماً عمـــوداً كروماتوغرافياً RP -18 أبعاده (4.6 mm× 250 mm) وطوراً متحركـــاً مؤلفـــاً مـــن أسيتونتريل وميتانول وبنسب قدرها [10:90] على الترتيـــب، ومعـــدل ســـرعة تـــدفق 1مل/ دقيقة، وقد استنتج أن هذه الطريقة هي صالحة لتحليل مثل هذه المزائج كما تتمتـــع بحساسيتها ودقتها العاليتين وخطيتها في المجال مـــن 20 إلـــى 200 ميكروغـــرام/مـــل للباراسيتامول ومن 300 إلى 500 ميكروغرام/ مل لديكلوفيناك.

درس الباحث .Gods, Vp وآخرون معه [10] تحديد كل من سيكلوفيناك والباراسيتامول في مستحضر مضغوطات باستعمال طريقة الـ HPLC مستخدماً العمود الكروماتوغرافي C18 أبعاده (5 µm و250 mm ×4.6 mm) وطوراً متحركاً مؤلفاً من الميتانول ــ والماء بنسب قدرها [30:70] على الترتيب، وبمعدل تدفق قدره 1مل/ دقيقة، والنتيجة كانت هناك خطية في المجال من 2 إلى 50 ميكروغراماً/مل لسيكلوفيناك ومن 5 إلى 50 ميكروغراماً/مل للباراسيتامول واستنتج بأن هذه الطريقة صالحة لتحليل مثل هذه المستحضرات وإمكانية استخدامها في الرقابة الدوائية.

هناك كثير من المراجع [11-21] التي درست تحديد المركبات الدوائية المذكورة في هذا البحث وغيره باستخدام طريقة الـ HPLC. وقد بيّنت هذه الدراسات جميعها أن التحليل باستخدام هذه الطريقة أدى إلى التوصل إلى دقة عالية في التحليل، فضلاً عن خطيتها، كما أكدت دقة هذه الطريقة وحساسيتها وسهولتها وسرعتها وإمكانية تطبيقها على مزائج من هذا النوع، مما أعطاها مصداقية في التحليل أكثر من غيرها.

نظراً إلى أن مركبي الباراسيتامول والايبوبروفن يخصان الكائن البشري بشكل مباشر، لذلك لابد من إيجاد طريقة تحليلية نستطيع من خلالها تحليل هذين المركبين الموجودين مع بعضها بعضاً في مستحضرات دوائية كالمضغوطات والمعلقات.

مواد البحث وطرائقه

1- المواد المستخدمة:

استخدمت مواد قياسية من الاتحاد الأوروبي تراكيزها أعلى من 99.9 % لتحضير محاليل السلسلة العيارية جميعها. والمحلات المستخدمة (ميتانول، ماء) عالية النقاوة من الصنف (HPLC – grade) وهي من شركة SHAMLAB وتتمتع بنقاوة بين 99.7 - 100.0%. خاصة بالتحليل الكروماتوغرافي.

أمّا العينات المدروسة فقسم منها من إنتاج شركات دوائية سورية (اكسترابروفن مضغوطات واكسترابروفن معلق وبرومول مضغوطات) أمّا القسم الآخر فهو من إنتاج شركة Avantis الفرنسية (كومبيفلام مضغوطات وكومبيفلام معلق).

يوضح الجدول (1) اسم المستحضر مع الكميات المصرح عنها من المواد الفعالة من قبل الشركات المصنعة.

الجدول (1) كميات المواد الفعالة المصرح عنها من قبل الشركات المصنعة للمستحضرات.

اسم المستحضر	الكمية المصرح عنها (mg)		الشركة المصنعة
	باراسيتامول	ايبوبروفن	
اكسترابروفن مضغوطات: Extrabrufen, Tablets تحتوي كل مضغوطة منه على:	325	400	سورية (ميديفارم)
اكسترابروفن معلق: Extrabrufen , Suspension يحتوي كل 5 مل منه على :	162.5	100	سورية (ميديفارم)
كومبيفلام مضغوطات: Combiflam , Tablets تحتوي كل مضغوطة منه على:	325	400	فرنسا (Avantis)
كومبيفلام معلق: Combiflam , Suspension يحتوي كل 5 مل منه على:	162.5	100	فرنسا (Avantis)
بروموول مضغوطات: Brumol , Tablets تحتوي كل مضغوطة منه على:	500	400	سورية (يونيشيما)

2- الأجهزة المستخدمة:

استخدم جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء الأمريكي الصنع من شركة Waters الذي يتألف من مضخة نموذج Waters 1515, isocratic HPLC pump. وكاشف يعمل في مجال الأشعة المرئية وفوق البنفسجية نموذجWaters2487 Dual λ Absorbance Detector. موصولاً مع حاسب يحتوي البرامج الخاصة لمعالجة البيانات.

استخدم العمود الكروماتوغرافي C18 الذي يعرف وفق دستور الأدوية الأمريكي بالعمود L1، أبعاده (3.9 mm × 150 mm, 5 µm) من إنتاج شركة Waters الأمريكية.

استعمل ميزان إلكتروني حساس (Sartorius B120 S) دقة قياسه 0.1 mg ± لوزن المواد المدروسة جميعها.

3- اختيار الطور المتحرك :

استخدم مزيج مؤلف من الميتانول – ماء- حمض الفوسفور كطور متحرك وبنسب قدرها [75 :24.7 :0.3] على الترتيب. ورشح الطور المتحرك على مرشحه قطر مساماتها لا تتجاوز 0.45 µm، وتم التخلص من جزيئات الغاز باستعمال جهاز الأمواج فوق الصوتية.

اختير هذا المزيج كطور متحرك ومحل للعينات أيضاً؛ وذلك لأسباب متعددة أهمها: المركبات المدروسة جميعها تنحل فيه، ولا يمتص الضوء عند طول الموجة التي يتم عندها التحليل وهي 214 nm، ويمتلك عامل تفريق Rs > 2 للمزيج المدروس فضلاً عن رخص ثمن هذا المحل الذي يقلل من الكلفة الاقتصادية للتحاليل.

4- طريقة العمل:

1- الشروط الكروماتوغرافية المطبقة:

في أثناء عملية التحليل طُبّقت الشروط الكروماتوغرافية الآتية:

ــ العمود المستخدم هو C18 أو ما يعرف بالعمود L1 أبعاده (3.9 mm×150mm, 5µm).

ــ درجة الحرارة المستخدمة هي درجة حرارة الغرفة.

ــ الكاشف المستخدم هو كاشف الأشعة فوق البنفسجية وطول موجة الكشف λ=214 nm.

ــ زمن التحليل الكلي 7 دقيقة.

ــ حجم خلية الحقن 20 ميكروليتراً.

ــ الطور المتحرك المستخدم هو مزيج مؤلف من الميتانول – ماء- حمض الفوسفور وبنسب قدرها [75: 24.7: 0.3] على الترتيب إذ كانت قيمة حموضة المحلول بحدود 2.8.

ــ معدل سرعة تدفق الطور المتحرك هو 0.8 مل /دقيقة.

2 – تحديد نقاوة المواد الفعالة القياسية المستخدمة:

جرى التأكد من نقاوة المواد الفعالة القياسية المستخدمة بمعايرتها وفق الطرائق المتبعة في كل من دستور الأدوية البريطاني والأمريكي [22، 23]. وذلك بطريقة المعايرة فكانت نقاوة كل من الباراسيتامول والايبوبروفن هي 99.86%، 100.02%على الترتيب.

3- تحضير محاليل السلسلة العيارية:

لتحضير محاليل السلسلة العيارية وُزنَ بدقة 80.0 ملغ من باراسيتامول العياري و100.0 ملغ من الايبوبروفن العياري. أذيبت الأوزان السابقة جميعها بكمية مناسبة من الطور المتحرك ثم نقل المحلول كمياً إلى دورق حجمي سعة 100 مل وأكمل الحجم بالطور المتحرك حتى العلامة، ثم رشح المحلول من خلال مرشحة قطر مساماتها 0.45 µm. يمثل المحلول الناتج محلول الأم. حضرت محاليل السلسلة العيارية ابتداءً من محلول الأم، وذلك بإجراء التمديد المناسب له بالطور المتحرك. ويبّين الجدول (2) تراكيز محاليل السلسلة العيارية المحضرة.

الجدول (2) تراكيز محاليل السلسلة العيارية .

المحاليل العيارية	تراكيز المواد الفعالة (µg /ml)	
	باراسيتامول	ايبوبروفن
المحلول العياري (1)	80.000	100.000
المحلول العياري (2)	60.000	75.000
المحلول العياري (3)	40.000	50.000
المحلول العياري (4)	20.000	25.000
المحلول العياري (5)	10.000	12.500
المحلول العياري (6)	5.000	6.250
المحلول العياري (7)	2.500	3.125

4- تحضير محاليل العينات المدروسة:

حُضّرت محاليل العينات المدروسة من المستحضرات التي أُشير إليها في الجدول (1). وفقاً لما يأتي:

أ – تحضير محاليل عينات المضغوطات :

لتحضير محلول عينة الاختبار لمستحضر اكسترابروفن مضغوطات وُزنَ ما لا يقل عن عشرين مضغوطة، وحُدّد الوزن المتوسط للمضغوطة الواحدة، من ثم طحنت المضغوطات جميعها طحناً جيداً وأُخذَ منها ما يعادل الوزن الوسطي لمضغوطة واحدة، أذيبت الوزنة بكمية مناسبة من الطورَ المتحرك بالاستعانة بجهاز الأمواج فوق الصوتية ثم نقل المحلول كمياً إلى دورق حجمي سعة 100 مل، وأكمل الحجم بالطور المتحرك حتى العلامة، ثم رُشّح المحلول من خلال مرشحة قطر مساماتها 0.45 µm.

وكررت الفقرة السابقة تماماً بغية تحضير محلول عينة الاختبار لكل من مستحضر كومبيفلام مضغوطات ومستحضر بروموم مضغوطات.

ثم مددت كمياً المحاليل السابقة جميعها حتى تم الحصول على تراكيز المواد الفعالة الافتراضية (وفق الشركة المصنعة)، كما هو موضح في الجدول (3).

ب – تحضير محاليل عينات المعلق:

لتحضير محلول عينة الاختبار لمستحضر اكسترابروفن معلق، أُخذَ 6.15 مل من المستحضر المعلق (أي ما يعادل 200 ملغ من الباراسيتامول و123 مَلغ من ايبوبروفن) ووُضِعَ في دورق حجمي سعة 100مل وأُكمل الحجم بالطور المتحرك حتى العلامة.

وكُرّرت الفقرة السابقة تماماً بغية تحضير محلول عينة الاختبار لمستحضر كومبيفلام معلق .

ثم مددت كمياً المحاليل السابقة جميعها حتى تم الحصول على تراكيز المواد الفعالة الافتراضية (وفق الشركة المصنعة)، كما هو موضح في الجدول (3).

الجدول (3) تراكيز المواد الفعالة في عينات التحاليل المحضرة (وفق الشركة المصنعة).

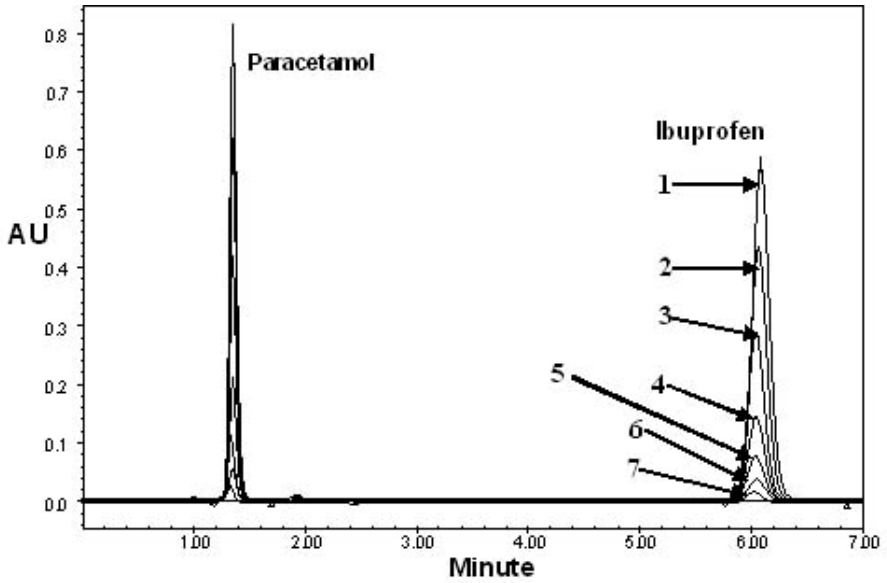
اسم المستحضر	تراكيز المواد الفعالة في عينات التحليل (µg /ml)	
	باراسيتامول	ايبوبروفن
اكستارابروفن مضغوطات: Extrabrufen , Tablets	16.25	20.00
اكستارابروفن معلق: Extrabrufen , Suspension	20.00	12.30
كومبيفلام مضغوطات: Combiflam , Tablets	16.25	20.00
كومبيفلام معلق: Combiflam , Suspension	20.00	12.30
بروموم مضغوطات: Brumol , Tablets	25.00	20.00

النتائج والمناقشة

اختيرت طريقة الكروماتواغرفيا السائلة العالية الأداء في تحليل مثل هذه المزائج المدروسة دون غيرها من الطرائق الأخرى يعود ذلك لعدة أسباب منها: عند تطبيق هذه الطريقة لا يحدث تداخل بين المواد الفعالة أو بين المواد الفعالة والسواغات في أثناء عملية التحليل كما هو الحال عند استخدام طرائق المعايرات الحجمية أو الطرائق الطيفية، التي غالباً ما تحتاج إلى عملية استخلاص كل مكون على حدة ومن ثم معايرته، وعملية الاستخلاص هذه لا تتم بشكل ناجح دائماً بسبب أن المواد الفعالة جميعها منحلة في المحل نفسه، وعملية الاستخلاص لمكون لا تتم أحياناً بشكل كامل، كما يمكن أن يستخلص معه مكون آخر جزئياً، فضلاً عن الوقت الطويل اللازم والجهد الكبير لإنجاز مثل هذه الطرائق من استخلاص ومن ثم معايرة، ومن ثم تكون الكلفة الاقتصادية مرتفعة في أثناء تطبيق هذه الطرائق.

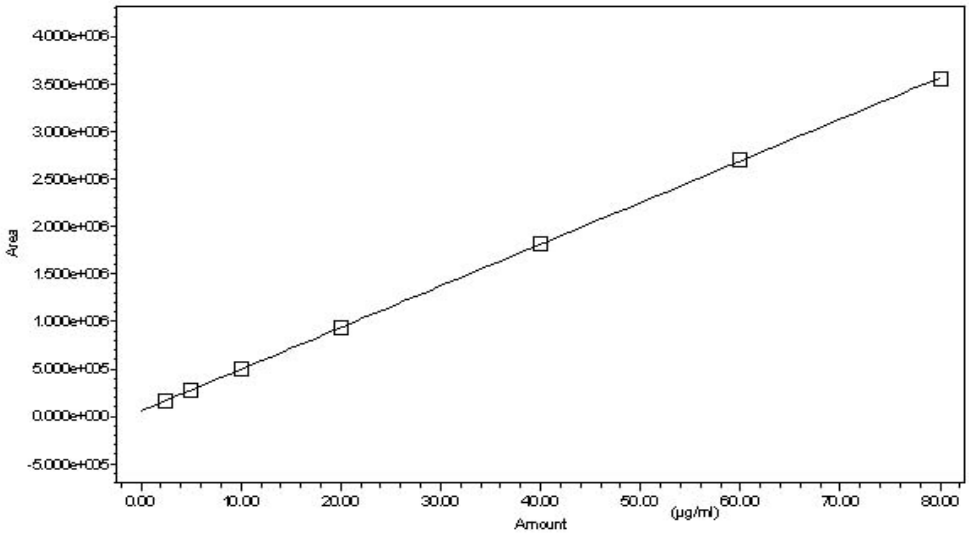
للأسباب السابقة الذكر تم اللجوء إلى طريقة التحليل باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة العالية الأداء عن غيرها لتحليل مثل هذه المزائج، إذ إنّها لا تحتاج إلى وقت طويل أي بحدود 7 دقائق تعادل 6 مل من الطور المتحرك تُحلّل المواد الفعالة دفعة واحدة و إمكانية تكرار التحاليل مرات عديدة وبدقة عالية ولا داعي لاستخلاص مكون عن غيره من المكونات فضلاً عن الكلفة الاقتصادية القليلة للتحاليل مقارنة ببعض الطرائق التحليلية الأخرى.

لإثبات خطية التحليل ضمن مجال القياس لمحاليل السلسلة العيارية الموجودة في الجدول (2)، حُلّلت هذه المحاليل، ومن ثم رسمت الكروماتوغرامات لها كما هو موضح في الشكل (1).



الشكل (1) كروماتوغرامات محاليل السلسلة العيارية من الرقم 1 حتى الرقم 7 الموجودة في الجدول (2).

من كروماتوغرامات محاليل السلسلة العيارية السابقة رُسمت المنحنيات العيارية لتراكيز محاليل السلسلة العيارية مقابل مساحة قممها كما هو موضح بالشكلين (2) و(3)، وهي تمثل المنحنيات العيارية لكل من باراسيتامول والايبوبروفن على الترتيب التي تحتوي كل منها على معامل الارتباط، والعلاقة الخطية التي تمثل الخط البياني، وجدول يوضح كمية المادة الفعالة العيارية كما هي محضرة مقارنة بكميتها المحسوبة بيانياً، والنسبة المئوية للانحراف.

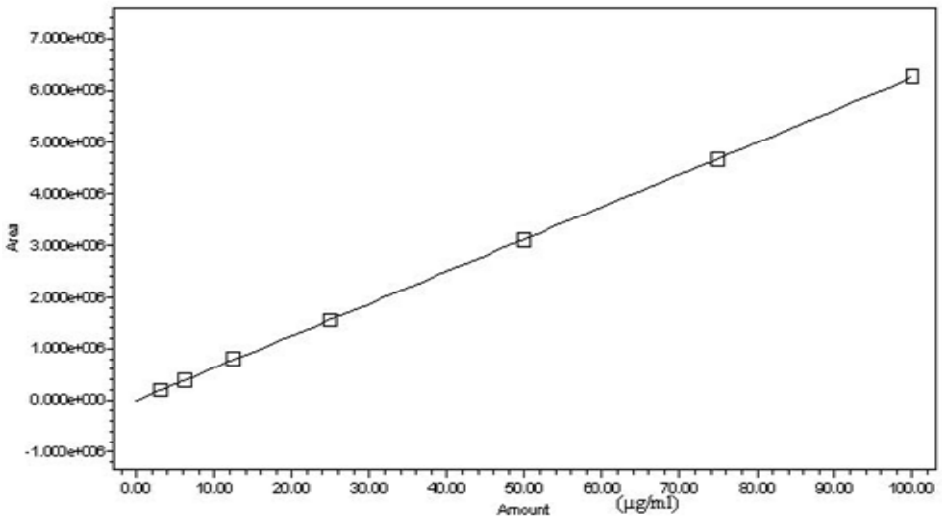


Name: Paracetamol Time: 1.352 Fit Type: Linear (1st Order) R 0.999969 R²: 0.999937 Equation: Y = 4.39e+004 X + 5.59e+004

Peak: Paracetamol

	Sample Name	Peak Name	Level	Amount	Response	Calc. Amount	% Deviation	Manual Point	Ignore Point
1	Standard (7)	Paracetamol		2.500	1.662e+005	2.511637	0.465	No	No
2	Standard (6)	Paracetamol		5.000	2.696e+005	4.869652	-2.607	No	No
3	Standard (5)	Paracetamol		10.000	4.934e+005	9.969641	-0.304	No	No
4	Standard (4)	Paracetamol		20.000	9.284e+005	19.883758	-0.581	No	No
5	Standard (3)	Paracetamol		40.000	1.824e+006	40.288442	0.721	No	No
6	Standard (2)	Paracetamol		60.000	2.703e+006	60.321811	0.536	No	No
7	Standard (1)	Paracetamol		80.000	3.551e+006	79.655059	-0.431	No	No

الشكل (2) المنحنى العياري لباراسيتامول



Name: Ibuprofen Time: 6.065 Fit Type: Linear (1st Order) R: 0.999993 R²: 0.999986 Equation: Y = 6.25e+004 X + 2.68e+002

Peak: Ibuprofen

	Sample Name	Peak Name	Level	Amount	Response	Calc. Amount	% Deviation	Manual Point	Ignore Point
1	Standard (7)	Ibuprofen		3.125	1.964e+005	3.139058	0.450	No	No
2	Standard (6)	Ibuprofen		6.250	3.911e+005	6.253704	0.059	No	No
3	Standard (5)	Ibuprofen		12.500	7.921e+005	12.671125	1.369	No	No
4	Standard (4)	Ibuprofen		25.000	1.560e+006	24.960787	-0.157	No	No
5	Standard (3)	Ibuprofen		50.000	3.110e+006	49.758629	-0.483	No	No
6	Standard (2)	Ibuprofen		75.000	4.683e+006	74.933077	-0.089	No	No
7	Standard (1)	Ibuprofen		100.000	6.259e+006	100.158619	0.159	No	No

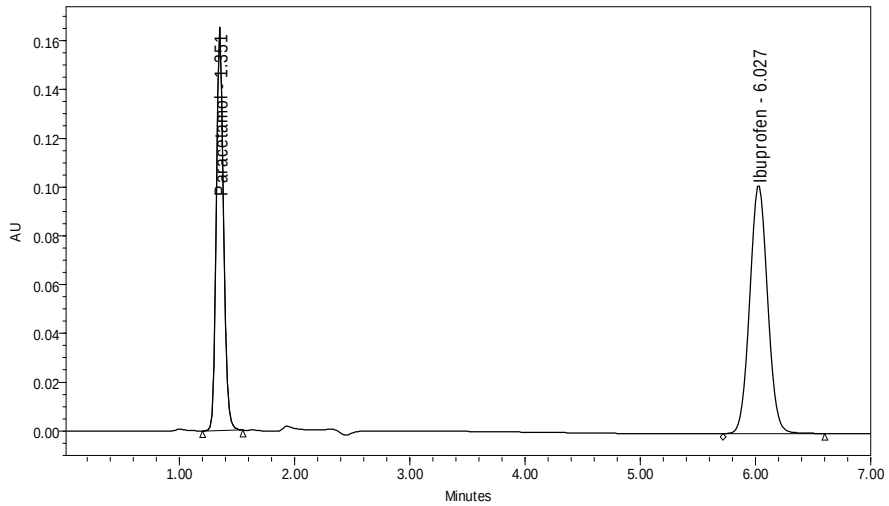
الشكل (3) المنحنى العياري لإيبوبروفن

للتأكد من صلاحية الطريقة اختُبرت على عينات مختلفة من المستحضرات المدروسة والموجودة في الجدول (3) من مستحضرات دوائية سورية الصنع (مضغوطات + معلق) وفرنسية الصنع (مضغوطات + معلق)، وبعد إجراء التحاليل لها تم الحصول على الكروماتوغرامات الموضحة في الأشكال (4-8) مع جداول تبيّن بعض المقادير

المحسوبة من هذه الكروماتوغرامات مثل: اسم القمة، وزمن الاحتفاظ، ومساحة القمة ونسبتها المئوية، وارتفاعها ونسبتها المئوية، والتركيز (الكمية) لحساب التركيز.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Extrabrufen Tablets
Sample Type:	Unknown
Vial:	1
Injection #:	10
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	7.00 Minutes
Column Type:	C18

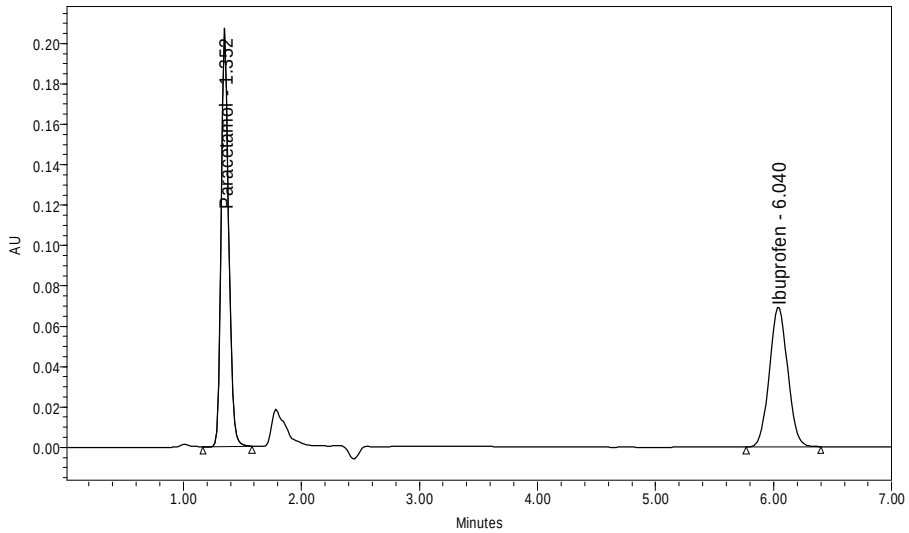


	Peak Name	RT (min)	Area (µV*sec)	% Area	Height (µV)	% Height	Amount	Units
1	Paracetamol	1.351	720119	39.67	161283	61.27	16.254	ug / ml
2	Ibuprofen	6.027	1095074	60.33	101944	38.73	20.007	ug / ml

الشكل (4) كروماتوغرام عينة الاختبار لمستحضر اكسترابروفن مضغوطات.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Extrabrufen Suspension
Sample Type:	unknown
Vial:	1
Injection #:	13
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	7.00 Minutes
Column Type:	C 18

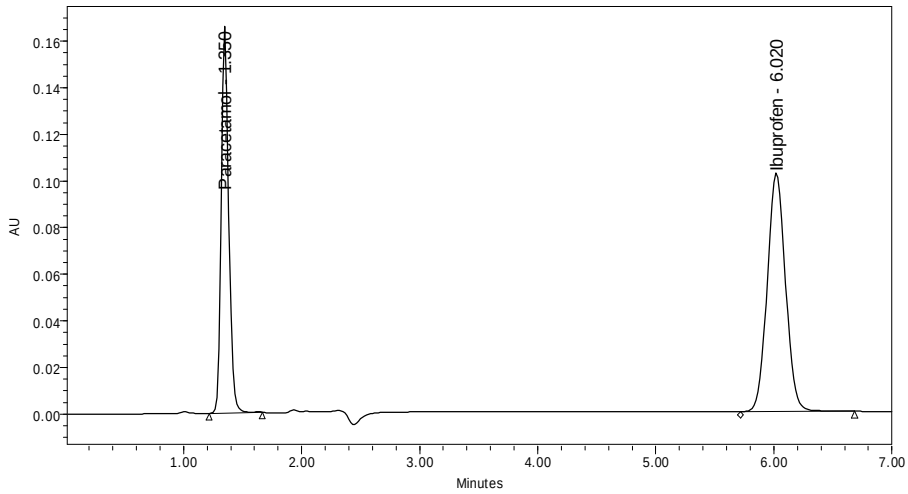


	Peak Name	RT (min)	Area (µV*sec)	% Area	Height (µV)	% Height	Amount	Units
1	Paracetamol	1.352	906578	54.99	202071	74.48	20.001	ug / ml
2	Ibuprofen	6.040	742082	45.01	69225	25.52	12.302	ug / ml

الشكل (5) كروماتوغرام عينة الاختبار لمستحضر اكسترابروفن معلق.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Combiflam Tablets
Sample Type:	Unknown
Vial:	1
Injection #:	11
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	7.00 Minutes
Column Type:	C18

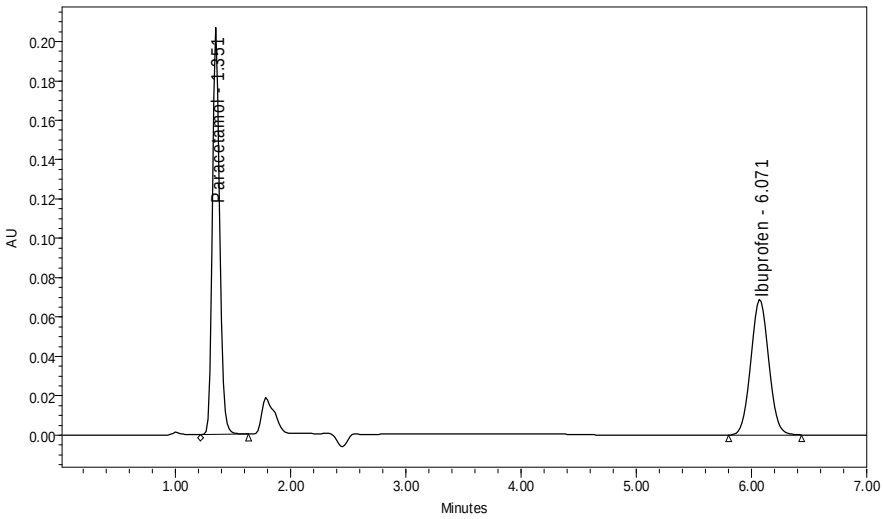


	Peak Name	RT (min)	Area (µV*sec)	% Area	Height (µV)	% Height	Amount	Units
1	Paracetamol	1.350	721292	39.66	161590	61.24	16.245	ug / ml
2	Ibuprofen	6.020	1097357	60.34	102263	38.76	20.049	ug / ml

الشكل (6) كروماتوغرام عينة الاختبار لمستحضر كومبيفلام مضغوطات.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Combiflam Suspension
Sample Type:	Unknow n
Vial:	1
Injection #:	14
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	7.00 Minutes
Column Type:	C 18

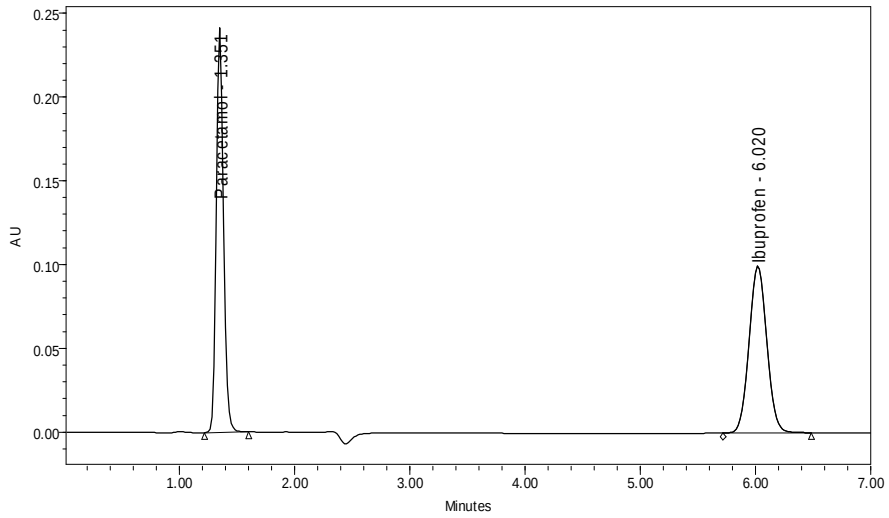


	Peak Name	RT (min)	Area (µV*sec)	% Area	Height (µV)	% Height	Amount	Units
1	Paracetamol	1.351	905580	54.96	201586	74.56	19.979	ug / ml
2	Ibuprofen	6.071	742021	45.04	68789	25.44	12.301	ug / ml

الشكل (7) كروماتوغرام عينة الاختبار لمستحضر كومبيفلام معلق.

SAMPLE INFORMATION

Sample Name:	Brumol Tablets
Sample Type:	Unknow n
Vial:	1
Injection #:	12
Injection Volume:	20.00 ul
Run Time:	7.00 Minutes
Column Type:	C 18



	Peak Name	RT (min)	Area (µV*sec)	% Area	Height (µV)	% Height	Amount	Units
1	Paracetamol	1.351	1049237	49.59	235605	70.27	25.001	ug / ml
2	Ibuprofen	6.020	1066665	50.41	99662	29.73	20.009	ug / ml

الشكل (8) كروماتوغرام عينة الاختبار لمستحضر برومول مضغوطات.

نجد من الكروماتوغرامات السابقة أن السواغات الموجودة ضمن المستحضرات لا تؤثر في نتائج التحليل، إذ لا تتداخل مع القمم الكروماتوغرافية للمواد الفعالة.

لمعرفة مدى صحة نتائج تحليل عينات الاختبار بهذه الطريقة، حُسبت تراكيز المواد الفعالة الناتجة عن التحليل وقورنتْ بالتراكيز المحضرة من المستحضر وفق ما هو مصرح عنه من قبل الشركات المصنعة، ومن ثمّ أمكن حساب نسبها المئوية المحققة (الاستردادية) كما هو موضح في الجدول (4).

الجدول (4) يوضح تراكيز المواد الفعالة بعد تمديد المستحضر مع تراكيزها المحسوبة نتيجة التحليل والاستردادية.

اسم المستحضر	باراسيتامول			ايبوبروفن		
	المحضرة من المستحضر µg /ml	المحسوبة نتيجة التحليل µg /ml	الاستردادية %	المحضرة من المستحضر µg /ml	المحسوبة نتيجة التحليل µg /ml	الاستردادية %
اكسترابروفن مضغوطات	16.250	16.254	100.02	20.000	20.007	100.04
اكسترابروفن معلق	20.000	20.001	100.01	12.300	12.302	100.02
كومبيفلام مضغوطات	16.250	16.245	99.97	20.000	20.049	100.25
كومبيفلام معلق	20.000	19.979	99.90	12.300	12.301	100.01
بروموال مضغوطات	25.000	25.001	100.00	20.000	20.009	100.05

من خلال دراسة دقة التحليل اليومي وما بين الأيام جرت المعالجة الإحصائية لمحلول محضر من الباراسيتامول والايبوبروفن بتراكيز قدرها (20.000 µg /ml) و(25.000 µg /ml) على الترتيب وذلك بتكرار التحليل ست مرات (n = 6)، وحُسب كل من الانحراف القياسي والانحراف القياسي النسبي المئوي وقيمة الاختبار t (t-test) والنتائج كانت كما هي موضحة في الجدول (5).

الجدول (5) بعض القيم الإحصائية الناتجة عن تكرار التحليل لمحلول محضر من الباراسيتامول والايبوبروفن.

رقم القياس	تراكيز المواد الفعالة في عينات التحليل (µg /ml)			
	باراسيتامول (20.000 µg /ml)		ايبوبروفن (25.000 µg /ml)	
	Interaday Assay	Interday Assay	Interaday Assay	Interday Assay
1	19.884	20.062	24.961	24.903
2	20.005	19.823	25.063	25.084
3	20.016	20.084	25.024	24.892
4	19.901	20.073	24.973	25.086
5	19.890	19.785	24.985	25.067
6	20.032	19.859	25.016	24.923
المتوسط الحسابي Average	19.955	19.948	25.004	24.993
الانحراف القياسي SD	0.070	0.139	0.038	0.096
الانحراف القياسي النسبي المئوي RSD%	0.350	0.699	0.152	0.382
الاختبار– t t-test	-1.579	-0.916	0.258	-0.179

من خلال ملاحظة النتائج السابقة يمكن مناقشة ما يأتي:

إن أسباب اختيار كل من المحل والطور المتحرك المستخدمين في عملية التحليل هذه هي ناتجة عن عدة عوامل مهمة منها: إمكانية الحصول على فعالية فصل جيدة للمكونات المدروسة والثمن الرخيص لكل مكونات المحاليل. كانت قيمة حموضة المحلول بحدود pH = 2.8، حيث في الوسط الحمضي لن تتأين جزيئات الباراسيتامول والايبوبروفن.

اختيرت سرعة تدفق الطور المتحرك 0.8 مل/دقيقة، وهي غالباً ما تستخدم في الـ HPLC [24-28]، حيث كان زمن التحليل الكلي بحدود 7 دقائق.

اختير العمود الكروماتوغرافي C18 الذي أبدى فصلاً جيداً لمكونات العينة، أي لم يكن هناك تداخل بين القمم المدروسة، فضلاً عن معامل التفريق الكبير بين قمة الباراسيتامول وقمة الايبوبروفن.

عند دراسة تأثير السواغات في نتائج التحليل وجد أنه لم يكن هناك أي تداخل بين السواغات والمواد الفعالة المدروسة، ومن ثم لا داعي إلى استخلاص السواغات من المستحضر قبل إجراء عملية التحليل، وهذا ما يؤدي إلى توفير في الزمن وفي الكلفة الاقتصادية لهذا التحليل، مما يعطي لهذه الطريقة دعماً قوياً لاعتمادها.

من خلال ملاحظة المنحنيات العيارية لكل من المواد الفعالة المدروسة [الشكلان (2)، (3)] نجد أن هناك خطية محققة في الرسوم البيانية، كما أن قيم معاملات الارتباط جميعها لهذه المنحنيات هي$R > 0.9999$.

يلاحظ من الجدول (4) أن قيم الاستردادية (النسبة المئوية المحققة) جميعها المحسوبة في أثناء تحليل العينات المدروسة كانت ضمن المجال المسموح به دستورياً التي تقع ما بين 90% إلى 110% من الكمية المصرح عنها [23]، وهذا يدل على صحة الطريقة المتبعة، ومن ثم تراكيز المواد الفعالة هي موافقة لما هو مصرح عليه في المستحضرات من قبل الشركات المنتجة.

من خلال دراسة دقة التحليل اليومي (intraday assay) ومابين الأيام (interday assay) (الجدول5) نجد أن قيم الانحراف القياسي النسبي المئوي لهما 0.350%، 0.699% لباراسيتامول و0.152%، 0.382 % لايبوبروفن على الترتيب، أي إنّ قيمة الانحراف القياسي النسبي المئوي RSD% < 2% مما يدل ذلك على دقة التحليل، وهذا يؤدي إلى إمكانية تكرار التحليل مرات عديدة وبدقة جيدة.

في أثناء المقارنة بين قيمة الاختبار t المعنوي (t – test) المجدولة (t = 2.57) عند درجة ثقة 95% و n = 6 وبين قيم الاختبار t المحسوبة تجريبياً (الجدول 5) يلاحظ أنه لا يوجد خطأ معنوي عائد لطريقة التحليل، إذ تقع قيم t المحسوبة جميعها ضمن المجال من 2.57- حتى 2.57+ وهذا ينطبق على المواد الفعالة المدروسة جميعها في عينات التحليل

سواءً كان التحليل يومياً أو بين الأيام، وبهذا يمكن اعتماد درجة الثقة 95% بعدم وجود خطأ معنوي عائد لطريقة التحليل.

عند ملاحظة نتائج التحليل العائدة للمستحضرات السورية (اكستارابروفن مضغوطات واكستارابروفن معلق وبرومول مضغوطات) مع نتائج التحليل للمستحضرات الأجنبية (كومبيفلام مضغوطات وكومبيفلام معلق) نجد أن النسبة المئوية المحققة (الاسترادادية) جميعها تقع ضمن المجال المسموح به دستورياً، وهذا ما يؤكد جودة الأدوية السورية عند مقارنتها بمثيلاتها من أدوية أجنبية.

من خلال هذه الدراسة نجد أن طريقة التحليل المطورة مهمة ولها ما يميّزها عن غيرها من الطرائق التحليلية الأخرى.

الخــلاصة

إن تطبيق طريقة الكروماتوغراقيا السائلة العالية الأداء فضلاً عن اختيار شروط التحليل الكروماتوغرافي من عمود كروماتوغرافي وطور متحرك وطول موجة الكاشف المستخدم ذي أهمية كبيرة في تحليل مثل هذه المستحضرات. وهذا يؤدي إلى الحصول على نتائج دقيقة وموثوق بها. كما أن الكلفة الاقتصادية القليلة لهذه الطريقة تؤدي إلى إمكانية استخدامها استخداماً كبيراً وواسعاً في تحليل المستحضرات الدوائية، وتطبيقها في الرقابة الدوائية.

REFERENCES المـــراجع

[1] European pharmacopoeia , 1997. 3rd Edition , vol. (2) , P. 1288.

[2] Physician desk reference (PDR), 2005. USA .

[3] The Merck Index , Tenth Edition .

[4] David Harvey, 2000. Modern Analytical chemistry, Depauw University, USA.

[5] Clarke , E. G. C., 1986. Isolation and identification of drugs , London.

[6] Silverstem, R. M. and Webster, F.X., 1998. Spectrometric Identification of organic Compounds ,sixth Edition State of University of New York .

[7] Caddy, B., 1991. In the Analysis of Drugs of Abuse, ed. T. A. Gough, Wiley, Chichester .

[8] Zhang Hong-wu, Guo Wen-min,Yang Han-yu, Li yun-Li and Zhou Gui-rong, 2005. Determination of ibuprofen and paracetamol in soft capsules by HPLC, Chinese Pharmaceutical Journal.

[9] Kallol Jana, Lopamudra Adhikari, Motira, S.K. and Aninidita Behera, 2011. Analysis of Multicomponent Drug Formulations (Diclofenac and Paracetamol), Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research Vol. 4, Issue 2, ISSN - 0974-2441

[10]Godse V. P., Deodhar M. N., Bhosale A. V., Sonawane, R. A., Sakpal P. S., Borkar D. D. and Bafana Y.S., 2009. Reverse Phase HPLC Method for Determination of Aceclofenac and Paracetamol in Tablet Dosage Form, Asian J. Research Chem.. 2(1): Jan.-Mar.

[11]Jain, R., Jain, C. L. and Bansal, Y. K., 1990. Simultaneous determination of acetaminophen [paracetamol] and ibuprofen using reversed-phase HPLC in different drug dosage forms. Indian Drugs, 27(12), 615-617

[12] Prasanna Reddy Battu and Reddy, M. S., 2009. RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Paracetamol and Ibuprofen In Tablets, Asian J. Research Chem. 2(1): Jan.-March

[13] Levent altun, M., 2002. HPLC Method for the Analysis of Paracetamol Caffeine and Dipyrone, Turk. J. Chem., 26, 521 - 528.

[14] Sodhi, R. A., Chawla, J. L., and Sane, R. T., 1996. Simultaneous determination of paracetamol, ibuprofen and chlorzoxazone by HPLC, HPTLC and GC methods, Indian Drugs, 33(6), 280-285

[15] Zhang Wen-jun, Jiao Jian-jie, Xiao Xiang-qian, Dong Wei-lin, Zhang Caili and Lou Jian-shi, 2003. HPLC for the simultaneous determination of Ibuprofen and Pseudoephedrine hydrochloride in Ibuprofen and Pseudoephedrine dispersible tablets; Journal of Tianjin Medical University; 01, China

[16] Li Juan, Gao Yun-hua, Gao Yun-sheng and Li Xing-gui, 2000. Simultaneous determination of ibuprofen and pseudoephedrine in ibuprofen and pseudoephedrine hydrochloride granules by HPLC assay; Chinese Pharmaceutical Journal ;09

[17] Gao Shu-hua, LI Xiao-qin, Qin Feng, Wang Hong and LI Fa-mei, 2008. Pharmacokinetics and relative bioavailability of ibuprofen and pseudoephedrine soft capsules; Journal of Shenyang Pharmaceutical University;02 , China

[18] Sang Yan-shuang, Liu Wei, Wang An-na,Song Hong-tao and Zhong-gui, H.E., 2008. Formulation study of ibuprofen and pseudoephedrine hydrochloride SMEDDS and the investigation of its dissolution; Journal of Shenyang Pharmaceutical University; 08 , China

[19] Wafaa S. Hassan, 2008. Determination of Ibuprofen and Paracetamol in Binary Mixture Using Chemometric-Assisted Spectrophotometric Methods, American Journal of Applied Sciences 5 (8): 1005-1012,

[20] Zarapkar, S. S., Halkar, U. P. and Bhandari, N. P., 1999. Reverse phase high performance liquid chromatographic determination of Ibuprofen, Paracetamol and Methocatbamol in tablets. Indian, drugs, 36(11) 710-713.

[21] Li, J., Gao, Y. -H., Gao, Y. S. and Li, X. G., 2000. Simultaneous determination of Ibuprofen and pseudoephedrine in ibuprofen and pseudoephedrine hydrochloride granules by HPLC assay. Chinese pharmaceutical J.35(9), 623-624.

[22] British pharmacopoeia, 1998. vol. (1) , P. 713 , 994 .

[23] The United States Pharmacopoeia, 2005. 28 , vol. (1) P. 16 .

[24] Miller, J. M., 1988. Chromatography, concepts and constructs, Wiley – Interscience, P. 188, New York.

[25] Karba, P. M. and Marton, L. J., 1984. Clinical Liquid Chromatography, vols. and II, CRC press, Boca Raton , FL.

[26] Lough, W. J., 2003. High Performance Liquid chromatography Fundamental principles and practice, School of health science, University of Sunderland, USA.

[27] Wells, d. I., 1988. Pharmaceutical per formation the physicochemical properties of Drugs, Ellis Horwood, Chi Chester.

[28] Poole, G. F and Poole, S. K., 1991. Chromatography today, Elsevicr, New York .