

استحداث طريقة لتحليل عقار الوبيرينول في المحاليل المائية وفي بعض المستحضرات الصيدلانية

أحمد عباس نجم*

تاریخ قبول النشر 12 / 11 / 2008

الخلاصة

تم استحداث طريقة طيفية لتقدير دواء الالوبيرينول بالاعتماد على الصفة الاختزالية للدواء من خلال إخماده لطيف معقد اليوديد الثلاثي (I_3^-) ذي اللون الأصفر والذي له أعظم امتصاص عند الطول الموجي 350 نانومتر ، إذ لوحظ أن إضافة كميات متزايدة بالصغر من الالوبيرينول أدى إلى إخماد طيف الامتصاص بصورة متناسبة مع كمية الإضافة ، مما يتبع اعتماد الطريقة لتقدير أجزاء في المليون منه في محلول المائي باستخدام منحي المعايرة القياسي لدواء الالوبيرينول .

درست الظروف العملية الفضلى لإخماد هذا التفاعل بواسطة الالوبيرينول لأجل الحصول على حساسية عالية وأفضل استقرارية ومدى واسع لمنحي المعايرة والمتضمنة تأثير تركيز المواد المتفاعلة ، تأثير الزمن في استقرار المعقد ، تأثير ترتيب الإضافة للوصول إلى بناء منحني المغایرة . ووجد إن المدى التركبزي الخاضع لقانون بير من (9-1) جزء في المليون . أعطت الطريقة حساسية عالية حيث بلغت قيمة معامل المتضمنة المولارية 27229 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ وحساسية ساندل 0.0053 مايكروغرام . سم². أما التكرارية للنتائج المحصللة فكانت جيدة حيث تراوحت قيم RSD % بين 2.6-2.1 % أما قيم الاسترداد المئوي (%) Rec. فتراوحت بين 98.17-100.5 % والخطأ النسبي المئوي (Erel.) تراوحت قيمته بين 0.50-1.83 %. تم دراسة تأثير المركبات المحتملة التداخل وبنسبة من 20 إلى 60 مرة أكثر من تركيز المادة المحلاة .

الكلمات المفتاحية : الوبيرينول ، تقدير دواء ، معقد اليوديد الثلاثي ، مستحضر صيدلاني ، طريقة طيفية.

المقدمة

اليوريك الأقل ذوبانا مما يقلل من مستوى حامض اليوريك في الدم وكما موضح في المخطط في الأسفل⁽⁴⁻¹⁾ . يأخذ الوبيرينول فمويا فقط وهو موجود على شكل مستحضرات صيدلانية (أقراص tablet) ساعة الاستعمال تحت أسماء تجارية Hyporic و Zyloric . ونظراللاحمية الدوائية والاحيائية فقد استخدمت بعض الطرائق لتعيينه في المحاليل المائية والسوائل البابولوجية منها الطرائق التسخيحية والクロمتوغرافية والطيفية⁽¹²⁻⁵⁾ ، لكن الكثير منها غير مرض تماما إذ يحتاج بعض منها إلى مواد كيميائية غالبة الثمن و زمن تحليفي طويل ، كذلك يفتقر قسم منها إلى البساطة والحساسية والدقة لذا تم اقتراح طريقة طيفية جديدة لتقديره بدقة ونكرارية جيدتين في المحاليل المائية وفي بعض المستحضرات الصيدلانية عند الظروف الفضلى المنتخبة .

Allopurinol
1,5-Dihydro-4H-pyrazolo-[3,4-d]pyrimidin-4-one

الوبيرينول هو عقار يستخدم في علاج المرضى المصابين بداء القرص (داء الملوك) Gout ، يقلل الوبيرينول من تركيز حامض اليوريا (Uric Acid) في الدم أي يعالج حالة Hyperuricemia حيث يمنع تخلق وتصنيع حامض اليوريك ويستعمل كذلك مع أدوية السرطانات لأنها ينتج عنها موت الخلايا السرطانية وتحلله مما ينتج عنها زيادة في حامض اليوريك ، يمثل حامض اليوريك الناتج النهائي لايض البيورينات في جسم الإنسان وانارتفاع مستوى عن المدى الطبيعي يؤدي إلى الإصابة بداء القرص ، وبالتالي يمنع الوبيرينول تكون حامض اليوريك الناتج من عملية التمثيل الغذائي للبروتينات وينع أيضا تكوين قواعد البيورين من خلال تثبيط إنزيم زانثين اوكسيديز (Xanthine Oxidase) (الذي يحول الزانثين القابل للذوبان في الماء إلى حامض

Oxipurinol
1H-Pyrazolo[3,4-d]pyrimidine,
4,6(5H,7H)-dione

Hypoxanthine
purin-6(1H)-one

Xanthine
3,7-Dihydro-1H-purine-2,6-dione

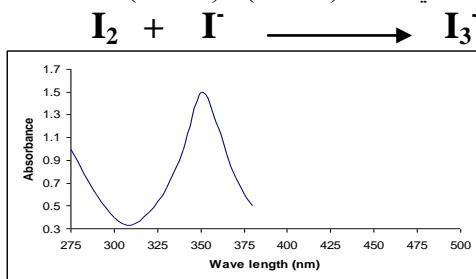
Uric Acid
7,9-Dihydro-1H-purine-2,6,8(3H)-trione

ذلك على اليود الثلاثي (7 مل من محلول 5% يوديد البوتاسيوم و 5 مل من محلول 100 جزء في المليون من اليود) يكمل الحجم إلى العالمة بالماء المقطر ، يقاس الامتصاص عند الطول الموجي المنتحب بعد 5 دقائق.

النتائج والمناقشة

دراسة طيفية للدواء مع معد اليود الثلاثي

إن محلول اليود وبوجود يوديد البوتاسيوم لون أصفر له طيف امتصاص حساس عند الطول الموجي 350 نانومتر ، وذلك بسبب تكون معقد اليود الثلاثي السالب (I_3^-) . أظهرت الدراسة إن إضافة كميات متناهية في الصغر من العقار 2 ، 4 ، 6 جزء في المليون إلى محلول اليود أدت إلى اضمحلال اللون الأصفر مع انخفاض في قيمة امتصاصه الجزيئي عند الطول الموجي 350 نانومتر ، وبصورة متناسبة مع التركيز قد يعود السبب في ذلك إلى تفكك معقد اليود الثلاثي السالب (I_3^-) إلى أيون اليود ومحلول اليود ، لقد بينت الدراسة التمهيدية إمكانية استخدام هذه الطريقة لتقدير أجزاء في المليون من الدواء في محلول المائي اعتناداً على منحنى المعايرة القياسي للدواء (الشكل 1) و(الشكل 4).



الشكل (1) طيف الامتصاص الجزيئي لمحلول اليود الثلاثي ذي التركيز 20 جزء في المليون

دراسة الظروف العملية الفضلى المنتحبة
إن تقدير الوبيرينول يعتمد في الأساس على متابعة قياس امتصاص الفائض من معقد اليود الثلاثي لذا درست الظروف العملية الفضلى لإ xmax هذا التفاعل بواسطة العقار (6 جزء في المليون) لأجل الحصول على حساسية عالية وأفضل استقرارية للمعقد ومدى واسع لمنحنى المعايرة .

لقد تمت دراسة تأثير إضافة 5% يوديد البوتاسيوم على امتصاص اليود (2 جزء في المليون) المقاس طيفياً على هيئة معقد اليود الثلاثي ، إذ أظهرت النتائج (الشكل 2) إن أعلى امتصاص تم الحصول عليه كان بإضافة 7 - 9 مل من 5% يوديد البوتاسيوم .

المواد والطرق العمل:

أ-المواد الكيميائية (المحاليل القياسية)
محلول الوبيرينول (100 جزء في المليون) حضر بإذابة (0.1 غ) من الوبيرينول في محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.4 غرام من هيدروكسيد الصوديوم في 100 مل من الماء المقطر) يكمل الحجم إلى 1000 مل بالماء المقطر . حضرت المحاليل القياسية (10 ، 20 ،) جزء في المليون بالتخفيض المناسب من محلول الخزن .

محلول اليود القياسي (100 جزء في المليون)
حضر بإذابة 20 غ من اليود في حوالي 300 مل ماء مقطر وترك محلول لمدة 24 ساعة ، سكب الراشح في قنينة أخرى وتمت معايرته آنها باستخدام محلول قياسي من ثايكربيريات الصوديوم ، ثم حضر 100 جزء في المليون منه بالتخفيض بالماء المقطر .

يوديد البوتاسيوم(%)
حضر بإذابة 5 غ من يوديد البوتاسيوم من الماء المقطر وأكمل الحجم إلى 100 مل .

ب-الأجهزة المستخدمة
1. مطياف الأشعة فوق البنفسجية – المرئية من نوع

Shimadzu UV-Visible Spectrophotometer UV-160A Recorder
2. ميزان حساس من نوع Mettler Semimicro Balance Model HL52

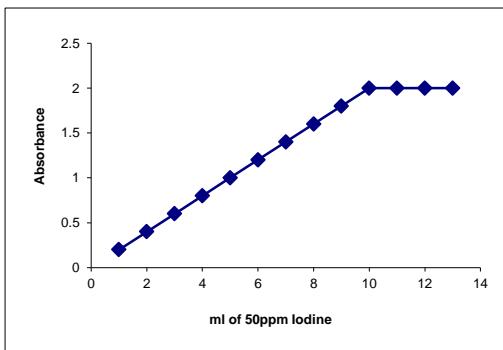
ج-طريقة العمل

أولاً / طريقة المعايرة المباشرة

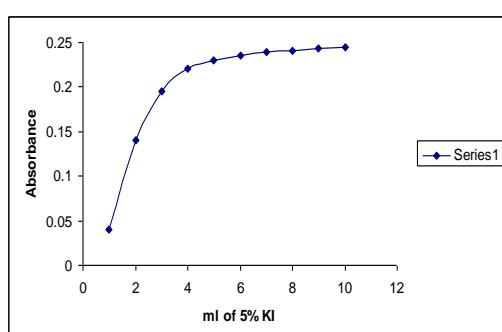
يضاف تركيزات تتراوح ما بين 0 ، 1 ، 2 ، 3 ، 4 ، 5 ، 6 ، 7 ، 8 ، 9 جزء في المليون دواء الوبيرينول إلى قاني حجمي (سعة 25 مل) حاوية على اليود الثلاثي (7 مل من محلول 5% يوديد البوتاسيوم و 5 مل من محلول 100 جزء في المليون من اليود) يكمل الحجم إلى العالمة بالماء المقطر ، يقاس الامتصاص عند الطول الموجي المنتحب بعد 5 دقائق .

ثانياً / طريقة إضافات القياس

طحتن 10 حبات من عينة الدواء بصورة جيدة وأنيب 0.0253 غ من المسحوق الناتج في محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.4 غرام من هيدروكسيد الصوديوم في 100 مل من الماء المقطر) ورشح ثم خفف في دورق حجمي سعة 50 مل بالماء إلى العالمة ، نقل 10 مل إلى دورق حجمه 100 مل وخفف بالماء إلى العالمة ومن الأخير نقل 1 مل إلى كل من دورق حجميه سعة 25 مل على التوالي (0.25 ، 0.00 ، 0.75 ، 1.25 ، 1.00 ، 1.50 ، 2.00 ، 2.25 ، 1.75) مل من محلول القياسي للعقار ذي التركيز 100 جزء في المليون والحاوية

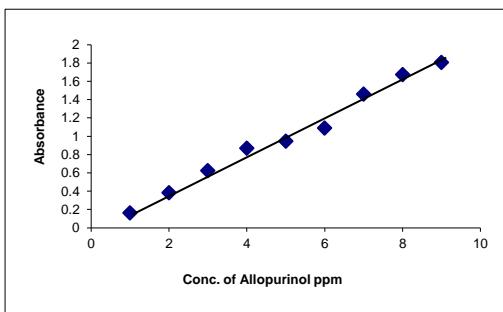


الشكل (3) تأثير كمية 50 جزء في المليون محلول اليود في الممتضية مع 5% يوديد البوتاسيوم بوجود (6 جزء في المليون) من محلول العقار



الشكل(2) تأثير كمية محلول (5%) يوديد البوتاسيوم في ممتضية معقد اليوديد الثلاثي بعد إضافة KI بوجود (6 جزء في المليون) من محلول العقار

منحنى المعايرة لعقار الوببيورينول
بعد ثبّيت الظروف الفضلى المختبرة لبناء منحنى المعايرة لنقدير الدواء اعتماداً على اختزاله اليوديد الثلاثي وجد إن مدى التركيز الخاضع لقانون بير يقع بين 1 - 9 جزء في المليون (الشكل 4).



الشكل (4) منحنى المعايرة لتركيز 1 - 9 جزء في المليون الوببيورينول

تم تقويم منحنى المعايرة من خلال المعطيات المحصلة منه وتطبيق المعالجات الإحصائية للحصول على القيم التحليلية والتي يمكن من خلالها تقويم منحنى المعايرة وبيان مدى صلاحية الطريقة للتحليل (الجدول 2).

الجدول (2) المعطيات التحليلية المحصلة من منحنى المعايرة

القيمة	المعلمات
0.9943	معامل الارتباط (r)
98.90%	(r ² %)
0.2056	الميل
-0.0286	نقطة التقاطع
Y=0.2056X - 0.0286	معادلة الخط المستقيم
27229	الممتضية المولارية (لت.مول ⁻¹ .سم ⁻¹)
0.0053	حساسية ساندل (مكم.سم ⁻²)

لقد أظهرت النتائج استقرار معقد اليوديد الثلاثي ولفترات زمنية مختلفة عند الطول الموجي 350 نانومتر وان أعلى قيم الامتصاصية تم الحصول عليها بعد مرور 5 دقائق من إضافة 5% يوديد البوتاسيوم ليبقى مستقرًا لأكثر من 24 ساعة.

إن تأثير كمية اليود (الموضحة في الشكل 3) تبين أنه تم الحصول على الامتصاص الأفضل عند إضافة 10 مل من محلول اليود (50 جزء في المليون) إلى 7 مل من محلول 5% يوديد البوتاسيوم

إن تأثير ترتيب الإضافة لمحاليل اليود وiodide البوتاسيوم والوببيورينول في الامتصاص درس وبترتيبات مختلفة من أجل الوصول إلى حساسية عالية ومدى واسع لمنحنى المعايرة ، حيث بينت النتائج (الجدول 1) إن الترتيب الأول يحقق ذلك .

الجدول (1) تأثير ترتيب الإضافة في امتصاصية (6 جزء في المليون) الوببيورينول

الممتضية	المكونات	ترتيب الإضافة
1.128	I ₂ + KI + Allopurinol	1
0.991	I ₂ + Allopurinol + KI	2
0.988	Allopurinol + I ₂ + KI	3
0.981	Allopurinol + KI + I ₂	4
0.985	KI + Allopurinol + I ₂	5

المادة المتداخلة وعرضت النتائج التي تم التوصل إليها في الجدول (4) والذي يوضح النسبة المئوية لأنثير التداخل للمركبات المدروسة . تبين النتائج إن الزانثين والستينين بسبب تداخلاً إيجابياً ويزداد هذا التداخل مع زيادة تركيزهما في محلول وربما يعزى سبب هذا التداخل إلى تفاعل هذه المواد مع اليوديد الثلاثي بنمط تفاعل العقار نفسه ، بينما لا تتدخل مركبات الكرياتينين ، اليويريا والكلوكوز في تعين الوبيبورينول .

الجدول (4) تأثير المركبات المتداخلة في شدة امتصاص 5 جزء في المليون الوبيبورينول

5 جزء في المليون من العقار يعطي متصاصية = 0.970				المتدخلات
نسبة الفرق بالامتصاصية	المتصاصية	نسبة المتداخل/المحلل		
0.8	0.978	20		الزانثين
3.8	1.008	40		
8.2	1.052	60		
0.2	0.972	20		
1.4	0.984	40		الستينين
3.7	1.007	60		
0.0	0.970	20		
0.0	0.970	40		
0.3	0.973	60		الكرياتينين
0.0	0.970	20		
0.0	0.970	40		
0.0	0.970	60		
0.0	0.970	20		اليويريا
0.0	0.970	40		
0.0	0.970	60		
0.0	0.970	20		
0.0	0.970	40		الكلوكوز
0.0	0.970	60		

التطبيقات

تم اختيار مستحضررين دوائيين شائعين الاستعمال في المجالات الطبية وهما Hyporic و Zyloric لتعيين محتواهما من عقار الوبيبورينول . قد تم اختيار اسلوبين لتعيين الاسلوب الاول وهو الاسلوب المباشر ، اما الاسلوب الثاني وهو اسلوب التعيين باستخدام طريقة اضافات القياس وكما موضح في الجدول (5) والشكل (5) .

يتضح من النتائج المدونة إن الطريقة ذات حساسية عالية من خلال مقارنة قيم معامل الامتصاص المولاري 27229 لتر.مول⁻¹.بس⁻¹ والمحسوبة نسبة إلى الوبيبورينول وان مدى توافق قيم الامتصاصية (معامل الارتباط) كان عالياً (يقترب من الواحد) وقيم الخطية كان 98.90% . درست دقة وتوافق الطريقة المقترحة وذلك بتحليل ثلاثة عينات لثلاثة تركيزات محضرة للدواء عند الظروف الفضلى المنتسبة واعتماداً على منحني المعايرة وثبتت النتائج التي تم الحصول عليها في الجدول (3) .

الجدول (3) دقة وتوافق النتائج المحصلة لتقدير الوبيبورينول

النكرارية % (RSD%)	الخط النسبي (Erel%)	الاستردادية %	الوبيبورينول (جزء في المليون)	
			المسترد	المضاف
2.6	-0.5	100.5	2.01	2
2.4	1.25	98.75	3.95	4
2.1	1.83	98.17	5.89	6

* Mean value of n=5

أظهرت النتائج إن الطريقة ذات دقة عالية حيث تراوحت قيمة الاستردادية بين 98.17 - 100.5% وقيم الانحراف القياسي النسبي المئوي 2.1 - 2.6% أما الخط النسبي المئوي فتراوحت ما بين 0.5% الى 1.83% وهي قيم تحليلية جيدة تتيح اعتماد الطريقة لتحليل العقار.

تأثير المتداخلات

لمعرفة انتقائية الطريقة المقترحة تمت دراسة تأثير تداخل مركبات مختلفة في شدة امتصاص العقار بتفاعلها مع اليوديد الثلاثي عند الظروف الفضلى المنوية . حيث تم اختبار 6 جزء في المليون من العقار مع المواد المحتملة التداخل وبينها 20 ، 40 ، 60 مرة أكثر من تركيز المادة محلولة وقارنت امتصاصية المادة محلولة مع امتصاصيتها بوجود

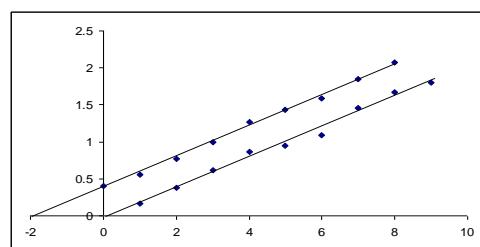
الجدول (5) نتائج تعين الوبيبورينول بطريقة إضافات القياس والطريقة المباشرة

اسم المستحضر الصيدلاني	القيمة المصرحة (مغم/وحدة)	القيمة المعايرة المباشرة (مغم/وحدة)	قيمة الدواء (مغم/وحدة)	المنحنى المعايرة المباشرة (مغم/وحدة)	قيمة الدواء (مغم)	الاستردادية % (إضافات القياس)	المنحنى المعايرة المباشرة % (إضافات القياس)
Hyporic	100	98.8	99.7	98.8	99.7	99.7	98.8
Zyloric	100	98.1	99.2	98.1	99.2	99.2	98.1

الجدول (6) مقارنة بعض أرقام الاستحقاق التحليلية للطريقة المستخدمة مع ما منشور من البحوث السابقة

العقار	المعلومات	الطريقة المستخدمة	الحقن الجرياني ⁽¹⁴⁾	الفلورا والفسفـ ⁽⁵⁾
الوبيبورينول	المدى الخطـي(جزء في المليون)	9-1	5-0.5	7-0.25
	حد الكشف	-	-	0.014µg/ml
	(RSD%)	2.6-2.1	3.1	-
	% الاستردادية	100.5-98.17	101.3-97.4	-
	المنبـ المستخدم	NaOH 0.1 مولـ	NaOH 0.1 مـ	NaOH 1 مـ

- Allopurinol by micelle-stabilised room-temperature phosphorescence in real samples. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.32(2): 225-231.
- 6.Sun.X.,Cao.W.,Yang.X. and Wang. E.2001. Determination of Allopurinol and its active metabolite oxypurinol by capillary electrophoresis with end-column amperometric detection. Analytica Chimica Acta. 442(1):121-128.
7. Abdel-hay.M.H.,Magda.H.B. and Hassan.M.1991.Use of derivative spectrophotometry for the in vitro determination of allopurinol and uric acid mixtures.Analytical letters. 24(9): 1517-1530.
8. Phiip.D. and Joseph.F.1972.Adirect electrochemical method for the determination of allopurinol and uric acid mixtures.Anal. Acta.58 (1): 183-91.
9. Evgenev.M.I.,Garmonov.S.Y. and Shakirova.L.S.2001.Flow-Injection analysis of pharmaceuticals. 56(4): 313-323.
- 10.Korany.M.A., Mona.M.B. and Elsayed. M.A.1989.Colourimetric determination of pharmaceutical thiocompounds and allopurinol using mercurochrome . Analytical letters. 22 (8): 1909-1925.
11. Wally.E.W. and Stephen. B.H. 1980. Simultaneous liquid chromatography of 5-Fluorouracil, uridine,hypoxanthine,xanthine,uric acid,allopurinol and oxipurinol in plasma .Clinical Chemistry. 26 (12): 1704-1708.
- 12.Shoukrallah.I., Sakla.A. and Wintersteiger. R.1990. Determination of allopurinol and flucytosine in tablets by differential UV spectroscopy. Analytical letters. 23 (5):843-861.
13. Tnada.H., Fujisaki.A., Itob.K. and Suzuki.T.2003.Facile and rapid HPLC method for simultaneous determination of allopurinol and



الشكل(5) تعيين الوببيورينول في المستحضر الصيدلاني Hyporic بطريقة اضافات القياس

الاستنتاجات

أثبتت نتائج دراسة تعيين الوببيورينول من خلال اختزال الليوид في معقد اليوبيود الثلاثي إمكانية اعتماد الطريقة لتحليل العقار في المحاليل المائية لما تمتاز به من سرعة وحساسية وكفاءة عاليتين من حيث الدقة والتوافق وكذلك من خلال تقويم منحني المعايرة إذ أمكن الوصول لمدى تركيز ي من 1-9 جزء في المليون بتوافقية عالية كما امتازت الطريقة بكونها لاتحتاج إلى ظروف عمل حرجية وطرائق فضل كما يمتاز المعقد باستقرارية عالية تكفي لإنجاز التحليل .

المصادر:

1. Leo.M.A. and Cees L.A.1999. Xanthine oxidase is involved in exercise induced oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Am J Physiol Regul Integr. 277(6):1697-1704.
- 2.Iwata.H., Nishio.S. and Yokoyama. M.1989.Solubility of uric acid and super saturation of monosodium urate why is uric acid so highly soluble in urine. J.Urol.142 (2): 1095-1098.
3. Emmerson.B.T.1967.The use of the xanthine oxidase inhibitor, allopurinol,in the control of hyperuricaemia,gout and uric acid calculi.Australas. Ann.Med. 16(3): 205-214.
- 4.Makkar.H.P.S. and Becker.K. 1999. Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods. British Journal of Nutrition. 81:107-112.
5. Perez-Ruiz. T., Tomas. V. and Marth. J.2003.Determination of

- anodic polarographic detection for the determination of allopurinol in pharmaceutical formulations. Analyst. 114:1449-1452.
- oxypurinol in human serum. Journal of clinical pharmacy and therapeutics.28(3):229-234.
14. Tommaso.R.I., Fracesco.P. and Pier.G.Z.1989.Flow injection with

A New Spectrophotometric Method for Analysis of Allopurinol in Aqueous Solutions and Pharmaceutical Preparations

*Ahmed Abass Najim**

*Department of Chemistry , College of Science , AL-Nahrain University ,Jadiryia , Baghdad , Iraq

Key words: I_3^- , Pharmaceutical preparation , spectrophotometric method Allopurinol , Determination .

Abstract

A new method for determination of allopurinol in microgram level depending on its ability to reduce the yellow absorption spectrum of (I_3^-) at maximum wavelength (λ_{max} 350nm) . The optimum conditions such as "concentration of reactant materials , time of sitting and order of addition were studied to get a high sensitivity ($\epsilon = 27229 \text{ l.mole}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) sandal sensitivity : $0.0053 \mu\text{g cm}^{-2}$,with wide range of calibration curve ($1 - 9 \mu\text{g.ml}^{-1}$) good stability (more then24 hr.) and repeatability (RSD % : 2.1 -2.6 %) , the Recovery % : (98.17 – 100.5 %) , the Erel % (0.50 -1.83 %) and the interference's of Xanthine , Cystein , Creatinine , Urea and the Glucose in 20 , 40 , 60 fold of analyate were also studied .