



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم الكيمياء

تقدير بعض الأدوية في مستحضراتها الصيدلانية بأستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء

بحث

مقدم الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدبلوم العالي في علوم الكيمياء

من قبل الطالبة

سحر مراد حسين

بكلوريوس علوم الكيمياء / 1996

إشراف

أ.د. احمد مهدي سعيد

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



﴿وَأَنْ لَّيْسَ لِلْإِنْسَانِ إِلَّا مَا سَعَىٰ ﴿٣٩﴾ وَأَنْ سَعْيُهُ سَوْفَ يُرَىٰ ﴿٤٠﴾﴾

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيِّ الْعَظِيمِ

سورة النجم – 39-40

إقرار المشرف

أقر إن إعداد هذا البحث (تقدير بعض الادوية في مستحضراتها الصيدلانية باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء) قد جرى تحت إشرافي في قسم الكيمياء بكلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدبلوم العالي في علوم الكيمياء .

التوقيع:

اسم المشرف: احمد مهدي سعيد

المرتبة العلمية: أستاذ دكتور

كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

التاريخ / / 2021

إقرار رئيس قسم الكيمياء

إشارة الى التوصية المقدمة من الاستاذ المشرف ارشح هذا البحث الى المناقشة .

التوقيع:

الاسم: مصطفى كطان شنيشل

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد دكتور

كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

التاريخ / / 2021

إقرار المقوم العلمي

أشهد بأن هذا البحث الموسوم بـ تقدير بعض الادوية في مستحضراتها الصيدلانية باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء " المقدمة من الطالبة " سحر مراد حسين " تمت مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبح البحث مؤهل للمناقشة.

التوقيع :

الاسم : أ.م.د. عباس شبيب حسن

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2021

إقرار المقوم اللغوي

أشهد بأن هذا البحث الموسوم بـ " تقدير بعض الادوية في مستحضراتها الصيدلانية باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء " المقدمة من الطالبة " سحر مراد حسين " تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبح البحث مؤهل للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع :

الاسم : أ.د. لؤي صيهد التميمي

المرتبة العلمية: أستاذ

التاريخ : / / 2021 م

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة اننا اطلعنا على البحث الموسوم بـ " تقدير بعض الادوية في مستحضراتها الصيدلانية باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء" وناقشنا الطالبة " سحر مراد حسين " في محتوياتها وهي جديرة بالقبول للحصول على شهادة الدبلوم العالي في علوم الكيمياء.

عضوا

التوقيع :

الاسم: م.د رولا صباح ناصر

المرتبة العلمية: مدرس

العنوان: الجامعة المستنصرية

كلية العلوم

التاريخ: / / 2021

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم: أ.م.د اقبال سلمان محمد

المرتبة العلمية: استاذ مساعد

العنوان : جامعة ديالى / كلية التربية

للعلوم الصرفة

التاريخ: / / 2021

عضوا و مشرفا

التوقيع :

الاسم: أ.د احمد مهدي سعيد

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان : جامعة ديالى / كلية التربية

للعلوم الصرفة

التاريخ: / / 2021

مصادقة كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التوقيع :

الاسم: أ.د غالب ادريس عطية

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان: جامعة ديالى / كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: / / 2021

الإهداء

الى من بلغ الرسالة وادى الامانة ونصح الامة الى نبي الرحمة ونور العالمين..
سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم.

الى من عرفت عنه الصبر واثقل كاهلي بأفضاله, الى من احرق سنين عمره من أجل أن يضىء
دري, الى من أفخر بحمل اسمه طول عمري وكنت أتمنى أن يشاركني فرحتي.. الى من أفتقد وجوده في
حياتي.. والدي الحبيب رحمه الله .

الى فرحة حياتي , الى من سهرت من اجلي , الى من أعطت ولم تأخذ , الى من غمرتني وكستني عطفا ,
الى من رافقتني بدعواتها الى نبع الحنان امي الغالية...
الى سندي في الحياة , الى من زرعوا الفرحة في حياتي , الى من تحلو ايامي بوجودهم اخوتي ...
الى حبيبتي ورفيقة دربي اختي...
الى الذين بذلوا كل جهد وعطاء لكي اصل الى هذه اللحظة... اساتذتي الافاضل.

سحر

شكر وتقدير

الحمد لله الذي مَنَّ عليّ بفضلِهِ وأتمَّ عليّ نعمته وأعطاني من كرمه حمدا كثيرا طيبا لا أثني على غيره تبارك وتعالى والصلاة والسلام على سيد المرسلين محمد نبي الرحمة وعلى آل بيته الطيبين الطاهريين...

ابتداء أقدم جزيل شكري وتقديري الى الاستاذ الدكتور احمد مهدي سعيد العنكي لاقتراحه

موضوع البحث والذي تشرفت به بوصفه مشرفا على بحثي لما أبداه لي من من ارشادات صائبة وتوجيهات علمية سديدة وملاحظات قيمة طيلة فترة دراستي ,فجزاه الله عني خير جزاء المحسنين .

وأقدم الشكر الكبير والامتنان الى السادة اعضاء لجنة المناقشة المحترمون لمساهماتهم في مناقشة البحث ووضعها بالصيغة النهائية التي جعلها اكثر رصانة فبارك الله فيهم وانا دريهم بكل خير وصلاح.

ومن العرفان ان اقدم شكري وتقديري الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة وخاصة الاستاذ الدكتور غالب ادريس عطيه والاستاذ المساعد الدكتور علي جعفر سليم والى رئاسة قسم الكيمياء وبالأخص الى الاستاذ المساعد الدكتور مصطفى كطان شنيشل والاستاذ الدكتور فراس حبيب عبد الرزاق والاستاذ المساعد الدكتور عبد القادر حسين نعمه وجميع اساتذتي في القسم لما ابداه لي من توجيهه ونصح طيلة فترة دراستي.

ومن الوفاء بالجميل يسرني أن أتقدم بالشكر الخالص الى زميلاتي من طلبة الدراسات العليا وخاصة "ندى غائب وعبيرنجم" لما أبدوه لي من ملحوظات وتوجيهات في اكمال بحثي .

وفي النهاية أتقدم بخالص الشكر والتقدير الى الست انسام نجاد خورشيد والى الاستاذ اسامه كريم علوان لدعمهم المعنوي لي ولمساعدتي طيلة فترة الدراسة ,وشكري الى كل من قدم لي عوناً او نصيحة او دعاء مخلصاً.

وأخر دعوانا إن الحمد لله رب العالمين

سحر مراد

الخلاصة:

تتضمن هذه الدراسة استخدام طريقة لتقدير عقار الباراسيتامول والكافائيين في شكلها النقي وفي مستحضراتها الصيدلانية .

طريقة التقدير: التقدير باستخدام طريقة كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء حيث تم تحضير محلول الباراسيتامول والكافائيين بأذابة العقاقير باستخدام المذيب المناسب (الطور المتحرك) والذي يتكون من (الميثانول 40% والماء 60%) عند $pH=3$. وتم القياس باستعمال كاشف مطيافية الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي (270) نانومتر وبسرعة جريان للطور المتحرك (1.2) مل/ دقيقة وزمن قياس (6 دقيقة) باستعمال عمود فصل بأبعاد $0.46mm \times 15mm, 5\mu m$ C18. حيث كان زمن الاحتجاز للباراسيتامول (2.267) وللکافائيين (3.778) والحد الكشف والحد الكمي للباراسيتامول (0.033, 0.010) مكغم/مل وللکافائيين (0.165, 0.050) مكغم/مل، وكانت خطية التراكيز تتراوح بين (1-50 مكغم/مل). وقيمة معامل الارتباط (R^2) المستحصلة هي (0.9995) للباراسيتامول و(0.9991) للکافائيين، وان معدل الاسترداد لثلاث تراكيز قياسية لعقار الباراسيتامول هي (99.34%) وللکافائيين (99.94%) طبقت هذه الطريقة لتقدير المواد قيد الدراسة في حالتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية بصورة مفردة وبشكل امزجة.

قائمة المحتويات

List of Contents

الصفحة	العنوان	التسلسل
I	الخلاصة	
III	قائمة المحتويات	
VIII	قائمة الجداول	
X	قائمة الاشكال	
XIV	قائمة المختصرات	

الفصل الاول		
1	المقدمة	1
1	الكروماتوغرافيا	1.1
2	كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	1.1.1
4	مكونات جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	2.1.1
7	الاساس النظري لحسابات الفصل باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	3.1.1
8	انواع كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	2.1
9	ايجابيات جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	1.2.1
10	تطبيقات كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	2.2.1
11	مطيافية الاشعة فوق البنفسجية والمرئية	3.2.1
11	قانون الامتصاص (لامبرت - بير)	3.1
12	الاثارة الالكترونية	1.3.1
13	تطبيقات الاشعة فوق البنفسجية-المرئية	2.3.1
14	مثبطات الالام (المسكنات)	3.3.1
14	مثبطات الالام القوية	4.1
14	مثبطات الالام البسيطة	1.4.1
14	الاثار الجانبية للمسكنات	2.4.1
15	ميكانيكية عمل المسكنات	3.4.1
15	لمة عن العقاقير	5.1
15	الباراسيتامول	1.5.1
17	الاثار الجانبية	2.5.1
18	الجرعة الزائدة	3.5.1
18	تخزين الباراسيتامول	6.1
19	مراجعة الادبيات	1.6.1
23	الكافئين	2.6.1
24	الاثار الجانبية للكافئين	3.6.1
25	استعراض المراجع	7.1

31	الهدف	1.7.1
الفصل الثاني		
32	الأجهزة المستعملة	1.2
32	المواد الكيميائية المستعملة	2.2
33	المستحضرات التجارية المستخدمة	3.2
34	اختيار مذيب مناسب	4.2
35	تحضير المحلول القياسي لعقاري الباراسيتامول والكافائيين (100مكغم/مل)	5.2
35	تحليل الباراسيتامول والكافائيين القياسيين	1.5.2
35	مطيافية الأشعة فوق البنفسجية	1.1.5.2
35	تحديد الطول الموجي الاعظم	2.1.5.2
35	طريقة كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	2.5.2
35	اختيار الظروف المناسبة لقياس العقاقير القياسية	1.2.5.2
36	السلسلة القياسية للعقار	2.2.5.2
36	دقة الطريقة وضبطها	3.2.5.2
36	تحديد حد الكشف	4.2.5.2
37	التطبيق على المستحضرات الصيدلانية	1.4.2.5.2

الفصل الثالث		
39	النتائج والمناقشة	3
39	تقدير العقاقير (الباراسيتامول والكافائيين) بأستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	1.3
39	الطريقة الطيفية المباشرة (مطيافية الأشعة فوق البنفسجية)	1.1.3
39	تسجيل طيف الامتصاص وتحديد الطول الموجي الاعظم	1.1.1.3
41	كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء	2.1.1.3
41	اختيار الظروف المناسبة لقياس العقار	1.2.1.3
44	منحي المعايرة للعقاقير قيد الدراسة	2.2.1.3
48	دقة الطريقة وضبطها	3.2.1.3
49	دراسة حد الكشف	4.2.1.3
49	تطبيق الطريقة في تقدير المستحضرات الصيدلانية	5.2.1.3
60	الاستنتاجات والتوصيات	3.3
58	الملحق الاحصائي	
61	المصادر	

قائمة الجداول

الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
الفصل الثاني		
32	الأجهزة المستخدمة	1-2
32	المواد الكيميائية المستخدمة ودرجة نقاوه والوزن الجزيئي والجهة المصنعه	2-2
33	المستحضرات الصيدلانية التجارية المستخدمة	3-2
34	نتائج اختيار المذيب المناسب للعقاقير قيد الدراسة	4-2
37	كمية المادة الفعالة في المستحضرات الصيدلانية التجارية المستخدمة	5-2
الفصل الثالث		
42	يوضح ملخص النتائج العملية المستحصلة لاختيار الظروف المثلى لطريقة كروماتوغرافيا السائل العالي الاداء	1-3
46	الاحصائيات التحليلية المستحصلة من منحنيات المعايرة	2-3
48	يبين نتائج الدقة والضبط المستحصلة للعقاقير المستحصلة بطريقة RP-HPLC	3-3
49	يوضح قيم حد الكشف للعقاقير قيد الدراسة	4-3
50	يبين النتائج المستحصلة للمستحضرات الصيدلانية لادوية بشكل مزيج تجاري بطريقة RP-HPLC	5-3
57	يبين المقارنة بين النتائج المستحصلة عليها من الطريقة المقترحة والطريقة العالمية	6-3

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	العنوان	رقم الشكل
الفصل الأول		
2	يوضح منحني معادلة Van Deemter	1-1
5	مخطط جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء بمكوناته الرئيسية	2-1
8	يوضح هيئة الكرموتوغرام	3-1
13	يمثل مخطط انتقال الإلكترونات	4-1
16	الصيغة الكيميائية للباراسيتامول	5-1
25	الصيغة الكيميائية للكافيين	6-1

الفصل الثالث		
40	طيف امتصاص الباراسيتامول باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية	1-3
40	طيف امتصاص الكافيين باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية	2-3
43	يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلل الكافيين القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى	3-3
43	يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلل الباراسيتامول القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى	4-3
44	يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلل المزيج (الباراسيتامول والكافيين) القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى	5-3
45	منحني المعايرة للباراسيتامول باستخدام (RP-HPLC)	6-3
45	منحني المعايرة للكافيين باستخدام (RP-HPLC)	7-3
47	يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلل الباراسيتامول القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى تركيز (15) مكغم/ملتر ضمن منحني المعايرة	8-3

47	يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلول الكافئين القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى تركيز (10) مكغم/ملتر ضمن منحني المعايرة.	9-3
51	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة – (Sadol Extra)	10-3
52	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (Samadol- Extra)	11-3
52	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (ACETAM)	12-3
53	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (adol)	13-3
53	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة – ADOLOR EXTRA	14-3
54	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة – Algidol Extra	15-3
54	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة Extra – Piodol	16-3
55	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة Fevadol	17-3
55	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة NYgen	18-3
56	قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة – Panadol Extra	19-3

قائمة المختصرات

Abbreviated name	Full name
HPLC	High performance liquid chromatography
μl	Micro litter
A	Absorbance
μg	Microgram
cm	Centimetre
pH	Acidic function
G	Gram
HETP	High Equivalent Theoretical Plates
NP-HPLC	Normal phase-HPLC
RP-HPLC	Reversed phase-HPLC
L.O.D	limits of detection
L.O.Q	limits of quantitation
MOH	Methanol
Min	Minute
ml	Mile litter
mg	Milligram
M	Molarity
M.W	Molecular weight
nm	Nano meter
N	Normality
PDA	Photo-Diode Array Detector
r	Correlation coefficient
R^2	Correlation of Linearity
R.S.D	Relative standard deviation
S.D	standard deviation
S.E	standard error
SEC	Size exclusion chromatography
PAR	Paracetamol
CAFF	Caffeine
SDI	The state Company for Drugs Industry Medical Appliances – Samarra, Iraq
t_R	Retention Time
UV-Vis	Ultraviolet and visible spectroscopy
UPLC	ultra-performance liquid chromatography
ϵ	Molecular Absorptivity

1. المقدمة

Introduction

1.1 الكروماتوغرافيا

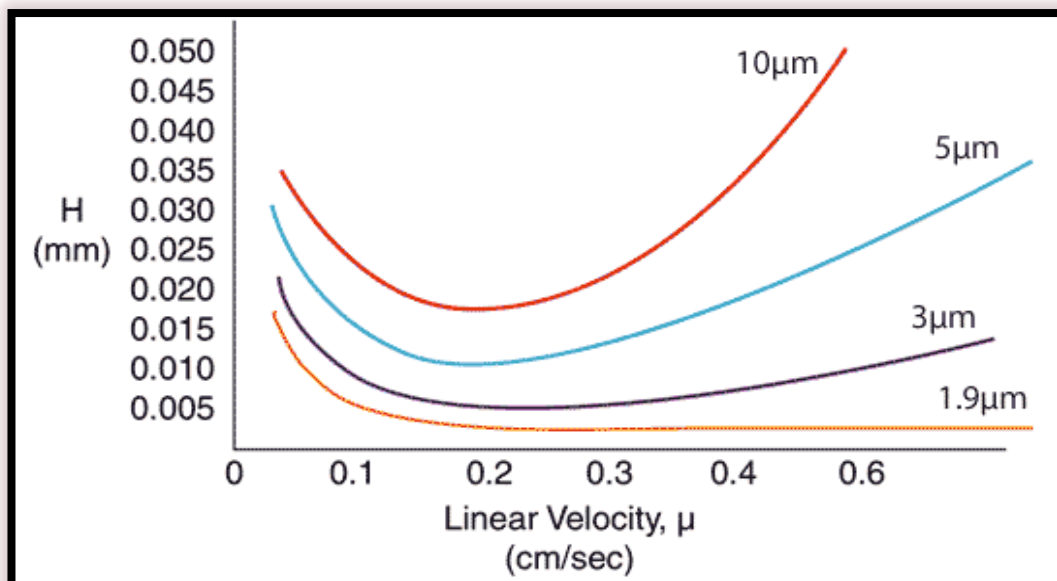
The chromatography

بدأ تاريخ الكروماتوغرافيا عندما استخدم عالم النبات الروسي ميخائيل تسويت (1919-1872) عمود (column) معبأة بطور ثابت (stationary phase) من كاربونات الكالسيوم (CaCO_3) لفصل الأصباغ الملونة من المستخلصات النباتية. تم وضع العينة في الجزء العلوي من العمود وتم نقلها خلال الطور الثابت باستخدام طور متحرك (mobile phase) من الايثر. أثناء انتقال العينة عبر العمود، تم فصل الأصباغ الموجودة في النبات إلى شرائط ملونة فردية. بمجرد أن تم فصل الأصباغ بشكل مناسب، تمت إزالة كاربونات الكالسيوم من العمود، وتم فصل الأصباغ عن طريق الاستخلاص. اطلق العالم تسويت على هذه التقنية بتقنية الكروماتوغرافيا (technique chromatography). أثبت العمل الرائد الذي قام به مارتن وسينج عام 1941 أهمية الفصل الكروماتوغرافي السائل – السائل وأدى إلى تطوير نظرية للفصل الكروماتوغرافي، حيث حصلوا على جائزة نوبل عام 1952 في الكيمياء لهذا العمل. منذ ذلك الحين أصبحت تقنية الفصل الكروماتوغرافي بأشكالها المتعددة تقنية الفصل الأكثر أهمية والأكثر استخدامًا⁽¹⁾. يتم إجراء عملية الفصل الكروماتوغرافي من خلال مرور العينات وبشكل مستمر مع طور يسمى بالطور المتحرك خلال طور آخر يسمى بالطور الثابت⁽²⁾. يتم حقن العينة في الطور المتحرك وخلال عملية الفصل تكون حركة مكونات العينة متوزعة بين الطورين المتحرك والثابت. تتطلب المكونات التي تميل إلى التوزيع داخل الطور الثابت وقت أطول للمرور عبر النظام. عند توفر الوقت الكافي لمكونات العينة خلال الطور المتحرك والثابت فإنه يمكن فصل المواد الذائبة ذات نسب التوزيع المماثلة⁽³⁾. يمكن تصنيف طرق الكروماتوغرافيا وحسب نوع الطور المتحرك إلى كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا السائل⁽⁴⁾.

1.1.1 كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

تستخدم كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء في مجالات عديدة مثل الكيمياء التحليلية والكيمياء الحياتية لفصل أمزجة المركبات الكيميائية لغرض تحليلها أو تنقيتها. ويتم فصل المكونات الموجودة في الأمزجة على عمود الفصل المعبأ بدقائق من المادة الصلبة (كطور ثابت) وعن طريق ضخ السائل (كطور متحرك) عبر عمود الفصل، وبالاتماد على الالفة لكل مكون من المكونات (المادة المحللة) وبين الطور المتحرك والطور الثابت، يبدأ كل مكون من مكونات المزيج بالتحرك على طول عمود الفصل وبسرع مختلفة وتخرج هذه المكونات من عمود الفصل في أوقات مختلفة، مما يؤدي إلى حدوث عملية الفصل للأمزجة⁽⁵⁾. ان أحد العوامل الرئيسة لتطور هذه التقنية هو التطور في صناعة مواد التعبئة المستخدمة والتي تكون السبب في حدوث عملية الفصل. وتخضع المبادئ الأساسية لهذا التطور لمعادلة Van Deemter، والتي هي عبارة عن صيغة تجريبية تصف العلاقة بين السرعة الخطية (flow rate) والارتفاع المكافئ للصفائح النظرية (HETP) Equilent Theoretical Plates أو كفاءة العمود.



الشكل 1-1 : يوضح منحنى معادلة Van Deemter.

إن الصيغة الرياضية لمعادلة Van Deemter's هي :-

$$H = A + \frac{B}{\bar{u}} + C_m \bar{u} + C_s \bar{u} \quad (1 - 1)$$

إذ أن (H) هو الارتفاع المكافئ للصفائح النظرية، و (A) مسارات متعددة السرعة في الأعمدة المعبأة، (B) الانتشار الطولي (الانتشار المحوري)، ($\bar{u}$) تمثل معدل سرعة الجريان أو التدفق (flow rate)، (C_m) الانتقال البطيء لكتل المواد من الطور المتحرك وبسرعة مختلفة وباتجاه الطور الثابت و (C_s) الانتقال البطيء لكتل المواد في الطور الثابت والذي يسمح للمواد المذابة في الطور المتحرك بالتقدم لأسفل العمود وقبل المذيبات المحتجزة⁽⁶⁾. استخدام دقائق صغيرة من الطور الثابت يمكن أن يؤدي إلى زيادة في سرعة الفصل وزيادة في عرض القمم، وهذه التقنية تسمى "كروماتوغرافيا السائل فائق الأداء Ultra Performance Liquid Chromatography أو UPLC. ومن أهم مميزات كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) إن العينات يمكن أن تفصل بسرعة أكبر بكثير وبكفاءة عالية جداً، يمكن وصف كفاءة الفصل الكروماتوغرافي عادةً بعدد الصفائح النظرية (number of theoretical plates) والتي ترتبط بالارتفاع المكافئ للصفائح النظرية (H) وطول العمود وفقاً للمعادلة أدناه:

$$H = L/N \quad (2 - 1)$$

إذ أن L يمثل طول عمود الفصل. أما N فيمثل عدد الصفائح النظرية. إن كفاءة كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء تعود إلى العدد الكبير من توازن النقل الجماعي والذي يتم الحصول عليه بقيم صغيرة من الارتفاع المكافئ للصفائح النظرية⁽⁷⁾. وتجري عملية الفصل والتحليل في HPLC بحقن العينة المذابة في مذيب مناسب في أعلى العمود من خلال صمام الحقن، وتحقن العينة ابتداءً في لولب حامل يتم ربطه فيما بعد إلى مجرى الطور المتحرك بتدوير الصمام وبهذه الطريقة يتم إدخال عينة من دون إعاقة الطور المتحرك، قد يحصل بعض التخفيف للعينة إلا إن ذلك لا بد منه لسهولة وملائمة هذه الصمامات. وتعمل هذه الأعمدة تحت ضغوط عالية لغرض تسهيل حركة الطور المتحرك، وللسيطرة على سرعته. وتعتمد طبيعة الطور الثابت المستخدم على طبيعة المركبات المطلوب فصلها وتحليلها ومعظم عمليات الفصل والتحليل بتقنية (HPLC) تعتمد على أعمدة الطور المعكوس⁽⁸⁾.

من اهم اصناف تقنية كروماتوغرافيا السائل ذات الاداء العالي HPLC هي:

- كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء ذات الطور العادي :

في هذه التقنية تستخدم اطوارا ساكنة قطبية من مادة (السليكا SiO_2 او الالومينا Al_2O_3) وبحجم دقائق يتراوح بين (3.0-5.0) مايكروميتر للاعمدة التحليلة (9). ويقتصر استعمال هذه التقنية للمركبات التي تكون قليلة الذوبان في الماء، والمحاليل المنظمة مثل الدهون، الاحماض الشحمية، ان هذه التقنية قليلة الاستعمال لفصل الهيدروكربونات الاروماتية ذات حلقات عدة ولها مساوئ في التطبيق العملي ومن أهمها قلة انتقائية هذا النوع من الاطوار الثابتة وطول زمن استقرارها حيث ان الطور المتحرك السائل يتطلب إن يكون مذيبا عالي النقاوة ولايمكن استخدام المحاليل المائية والمحاليل المنظمة، لكونها مثبطة لنشاط مجموعة الهيدروكسيل في مادة السيليكا (10).

- كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء ذات الطور العكوس:

هذه التقنية من التقنيات الحديثة والمهمة والاكثر استخداما في التحليل والفصل من بقية التقنيات الكروماتوغرافية المعروفة (11). في عام 1973 كانت حوالي (20%) من عمليات الفصل تستخدم تقنية الطور العكوس الا أن في السنوات الاخيرة اصبحت اكثر من (80%) من عمليات فصل تقنية HPLC تستخدم تقنية الطور العكوس (Reversed Phase (RP-HPLC) (12)، وفي هذه التقنية يتكون الطور الثابت من جسيمات دقيقة غير قطبية (Non polar micro particles) والطور المتحرك يكون قطبياً (ماء، محلول عضوي قطبي مثل الميثانول، الايزوبروبانول أو الأسيتونترايل). ان فكرة استخدام الجسيمات الدقيقة غير القطبية بوصفها طوراً ثابتاً وطوراً متحركاً قطبياً وضعت للتطبيق لأول مرة من قبل العالم (Boscott) الذي استعمل السليلوز طوراً ثابتاً (13).

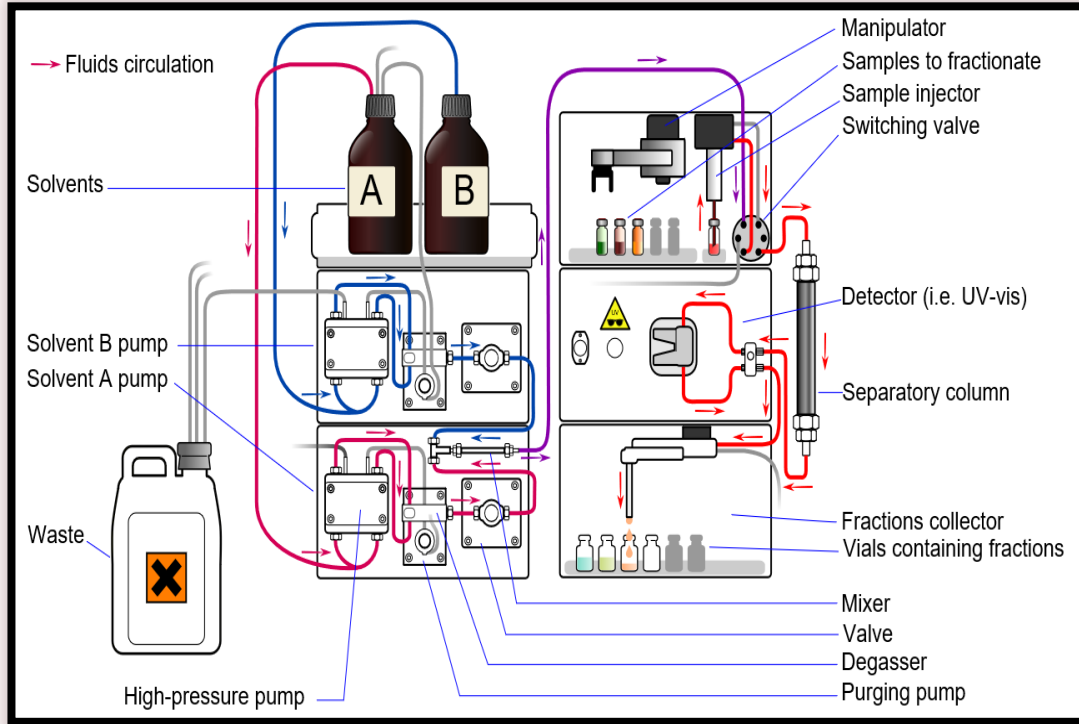
2.1.1 مكونات جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء

Solvent Reservoir

- خزان المذيبات

تستخدم خزانات المذيبات لتخزين الطور المتحرك. عادة ما يتم استخدام حاويات زجاجية ملونة كخزانات للمذيبات.و يجب أن يكون خزان المذيبات مصنوعاً من مواد خاملة، ويكون ناعماً ومصقولاً لتجنب نمو الكائنات الحية الدقيقة على جدرانها. يمكن أن تكون شفافة أو يمكن أن تكون ملونة بلون الكهرمان

الاصفر, توضع خزانات المذيبات فوق نظام الجهاز على مستوى أعلى في الدرج ويوضح الشكل 2-1 جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC بمكوناته الرئيسية⁽¹⁴⁾.



الشكل 2-1 : مخطط جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) بمكوناته الرئيسية.

Pumping System

- منظومة الضخ

تحتوي هذه المنظومة على مضخة واحدة أو أكثر, إذ تعمل على التدفق المستمر للطور المتحرك إذ يحدث فصل لمكونات الخليط في وقت مناسب. وهناك نوعان من أنظمة الضخ نظام الضخ الثابت (Isocratic system) ونظام الضخ المتدرج (Gradient system). ويلحق بمنظومه الضخ جهاز لطررد الغازات وجهاز لمزج الاطوار المتحركة ومانع النبضات⁽¹⁵⁾.

- منظومة الحقن

Injection System

تُحقن المحاليل القياسية والنماذج الى العمود باستخدام محقنة (Injector), خاصة بجهاز (HPLC) وتكون ذي نهاية غير مدببة, حيث تُنقل المحاليل القياسية والنماذج الى العمود من خلال حاقن وقد يكون الحقن باستخدام الحق المايكروبي, او الحقن اليدوي خلال منظومة الحقن او باستخدام حاقن اوتوماتيكي.⁽¹⁶⁾

- العمود

Column

يعد قلب الجهاز, اذ تحدث عنده عملية الفصل. يكون مصنوعاً من الفولاذ غير قابل للصدأ⁽¹⁷⁾. وتنقسم إلى نوعين الاول (الاعمدة التحليلية): هي النوع الأساسي وتوجد في جميع الأجهزة ويتراوح طولها من-25 (5) سم وبقطر داخلي من (3-5) ملليمتر. هذه الاعمدة تستخدم لغرض اجراء عمليات فصل وتنقية وتحضير مواد نقية وتستخدم خصوصا في المجالات الدوائية والصيدلانية وفصل المواد النادرة. اما النوع الثاني (الاعمدة الأولية) و تنقسم إلى نوعين: الأول يقع بين منطقة حقن العينة ووعاء الوسط المتحرك, يقوم بتحسين جودة الوسط المتحرك, والثاني يقع بين العمود التحليلي ومنطقة حقن العينة ويقوم بإزالة الشوائب من المذيب⁽¹⁸⁾.

- المكشاف

Detector

يشخص العديد من المركبات من خلال الكاشف بعد مرورها من خلال العمود, إذ يعطي الكاشف إستجابة بالملي فولت (mv) و يتم معالجتها بعد ذلك بواسطة الكمبيوتر لكي نحصل على الكروماتوغرام (chromatogram). يتكون الكاشف أساساً من خلية انسيابية يتحرك الطور المتحرك والعينة من خلالها. ومن اجهزة الكشف المستخدمة في تقنية (HPLC) هي:

- كاشف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية
- كاشف التفلور
- كاشف الصمام الثنائي الضوئي
- كاشف معامل الانكسار
- كاشف الكهروكيميائي
- كاشف مطياف الكتلة
- UV-VIS Detector
- Fluorescence Detector
- Photo-Diode Array Detector (PDA)
- Refractive Index Detector
- Electrochemical Detector
- Mass spectrometer Detector

وغيرها من الكواشف⁽¹⁹⁾

Data Acquisition System

نظام الحصول على البيانات

يمكن جمع إشارات الكاشف على مسجلات الرسم البياني (chart recorders) أو المكاملات الإلكترونية (electronic integrators) التي تختلف في التعقيد وقدرتها على معالجة وتخزين وإعادة معالجة البيانات الكروماتوغرافية. عادة ما تكون سعة تخزين البيانات لهذه الأجهزة محدودة، أما أجهزة الكمبيوتر الحديثة لديها سعة تخزين كبيرة لجمع البيانات العملية وتخزينها لإعادة المعالجة المحتملة، وغالبًا ما يمكن تخصيص التقارير التحليلية حسب احتياجات المحلل⁽²⁰⁾.

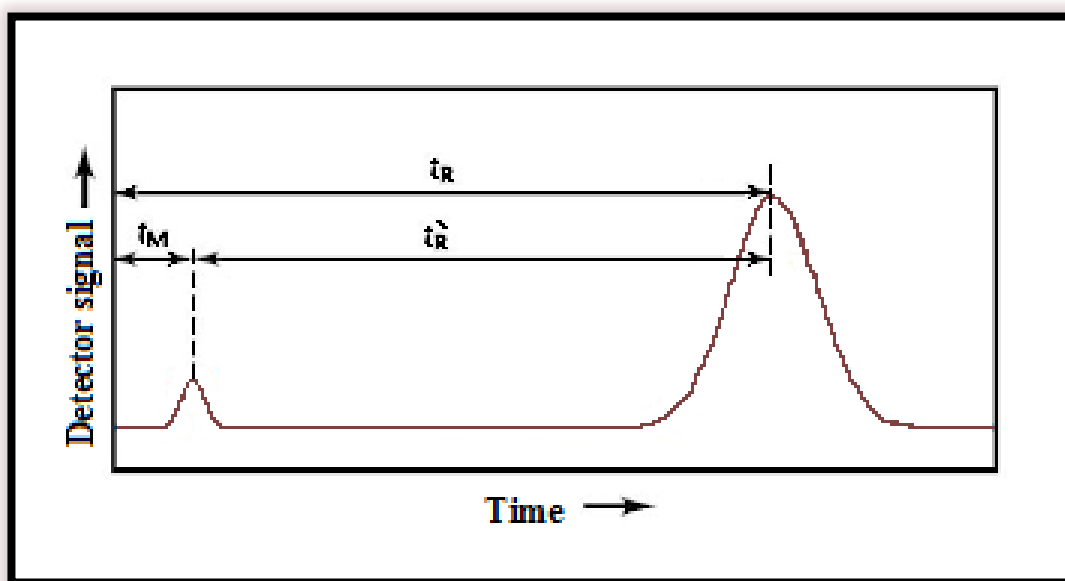
3.1.1. الأساس النظري لحسابات الفصل باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء

The Theoretical Basis of Separation Calculations for High Performance Liquid Chromatography

إن الأساس في الفصل والتحليل الكروماتوغرافي لمكون أو خليط من المكونات في مزيج و الذي يتم بين الطورين و يعتمد على الفرق في حجم الاحتجاز وزمنه لكل مكون في احد الطورين والذي يمثل حجم الطور المتحرك الذي يترك العمود في اللحظة والتي تكون كمية المكونة الخارجة من العمود قد وصلت قمة الذروة. و الزمن اللازم للحصول على أعظم حجم احتجاز يمثل زمن الاحتجاز t_R والمعادلة ادناه تمثل العلاقة بين زمن الاحتجاز وحجم الاحتجاز:

$$V_R = t_R \times F \quad (3-1)$$

إذ (V_R) يمثل حجم الاحتجاز، (t_R) يمثل زمن الاحتجاز، (F) معدل تدفق الطور المتحرك للمذيب خلال العمود، ويعتمد على حجم وشكل وتعبئة الجسيمات في العمود وعلى مقدار ضغط المضخة عند مدخل عمود الفصل⁽²¹⁾. الكروماتوغرام يمثل منحنى العلاقة بين زمن الاحتجاز أو حجم الاحتجاز على المحور السيني واستجابة الكاشف على المحور الصادي كما في الشكل 1-3⁽²²⁾. ويعد زمن الاحتجاز t_R أو حجم الاحتجاز V_R مقداراً ثابتاً لكل مكون تحت نفس ظروف التحليل لعمود الفصل ولذلك فهي تعتمد كأساس للتحليل النوعي⁽²³⁾.



الشكل 1-3 : يوضح هيئة الكروماتوغرام.

2.1 أنواع كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء

Types of High Performance Liquid Chromatography

Partition Chromatography

- كروماتوغرافيا التجزئة

يعدُّ من أكثر الأنواع استخدامًا إذ يكون الوسط الثابت غير قابل للذوبان في سائل الوسط المتحرك. تتكون من نوعين:

النوع الأول، كروماتوغرافيا التجزئة (سائل – صلب) (liquid-solid partition) chromatography، يكون الطور الثابت عبارة عن مادة سائلة (مادة عضوية بوليمرية محملة على جسيمات صلبة دقيقة) بواسطة الترابط الكيميائي، تكون ميكانيكية الفصل هي التجزئة بين طورين لا يمتزجان أحدهما الطور المتحرك والثاني الطور الثابت المترابط مع الصلب. النوع الثاني، كروماتوغرافيا التجزئة (سائل-سائل) (liquid-liquid partition chromatography) يكون الطور الثابت عبارة عن سائل (مادة عضوية بوليمرية محملة على جسيمات صلبة دقيقة) بواسطة الامتزاز، وتعتمد ميكانيكية الفصل التجزئة بين

الطورين السائلين على مقدار قابلية المادة المحللة على الذوبان في طورين سائلين لا يمتزجان هما الطور الثابت الممتز على الصلب والطور المتحرك (24).

- كروماتوغرافيا الامتزاز Adsorption Chromatography

يعتمد الفصل على الامتزاز وعلى سطح الطور الثابت والذي يكون عادة اما من السيليكا أو الألومينا فقط (25).

- كروماتوغرافيا التبادل الايوني Ion- exchange Chromatography

يتميز هذا النوع أن الوسط الثابت عبارة عن راتنج مُبادل للأيونات، سواء كانت أنيونات أو كاتيونات. يوجد في العمود , يُستخدم لفصل الأنواع المشحونة أو القابلة للشحن (26).

- كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي Size-exclusion Chromatography

يستخدم لفصل المواد ذات الاحجام الجزيئية الكبيرة ويستخدم ايضا لفصل المواد التي تحتوي على جزيئات صغيرة من السيليكا أو البوليمر والتي تحتوي على شبكة من الثقوب إذ تستطيع جزيئات المُذيب والمُذاب الانتشار خلالها (27).

- كروماتوغرافيا الآلفة Affinity Chromatography

يُستخدم في هذا النوع طور ثابت يسمى مجموعة الانجذاب, يكون مرتبطاً بشكل تساهمي بدُعامة صلبة. المجموعة هي (أجسام أو مثبطات إنزيمات) تستطيع الارتباط بشكل انتقائي بالجزيئات المُراد تحليلها من العينة حين مرورها، و تستطيع هذه الجزيئات الانجذاب أو الارتباط بمجموعات الانجذاب ويتم احتجازها في العمود (28).

- الكروماتوغرافيا الكيرالية Chiral Chromatography

فصل المواد يتم حسب التناظر المرآتي. وعامل الفصل قد يكون مادة مضافة إلى الوسط المتحرك أو العامل نفسه وهو الوسط الثابت. ويبقى الشرط المهم أن يكون له نفس الخصائص التناظرية لإحدى الأشكال لكي تحصل عملية الفصل للمواد المفصولة (29).

1.2.1 مزايا جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء

Advantages of High Performance Liquid Chromatography

تمتاز تقنية (HPLC) عن باقي التقنيات بإمكانية تحليل عينات عدة انيا وباقل كلفة فضلا عن سرعة الفصل ودقته , وتعتبر من أهم تقنيات الفصل الكيميائي بين المواد، وأكثرها شيوعا، واعتمدت هذه التقنية في

الوقت الحاضر بشكل واسع وكبير للفصل والتشخيص النوعي والكمي لمخاليط المركبات المعقدة، وذلك لبساطة التقنية، وسهولة ودقة تفسير نتائجها، ويجب أن تكون المركبات العضوية ذات ضغط بخاري واطئ لكي يتم فصلها وتحليلها باستخدام كروماتوغرافيا السائل.

وحيث تستخدم لتحديد هوية المركبات والسوائل ذات درجات الغليان المرتفعة. ويمكن قياس تراكيز الأحماض الأمينية والأحماض النووية والكربوهيدرات والبروتينات بانتقائية وحساسية عالية⁽³⁰⁾.

2.2.1 تطبيقات كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC)

Applications High Performance Liqui Chromatograph

تدخل كروماتوغرافيا السائل العالي الاداء في الكثير من المجالات منها المجال الصيدلاني تدخل في التحليل الدوائي والمراقبة والجودة وتحليل نقاوة وجودة الادوية الصيدلانية واكتشاف تراكيب كيميائية جديدة يمكن ان تستعمل في العلاج مستقبلا والكشف المبكر عن المخدرات⁽³¹⁾. وفي المجال الغذائي في مراقبة الجودة ووضع العلامات التجارية وتحليل المكونات الطبيعية (السكريات، الدهون، البروتينات، الاحماض الامينية، الاحماض العضوية)، وكذلك في النكهات والملونات الغذائية وتحليل المضافات الغذائية⁽³²⁾. وفي تحليل الملوثات الغذائية ولاسيما التي تكون سامة أو نشطة بايولوجيا وكذلك تستخدم في تحليل مخلفات المبيدات المضادة للمحاصيل الزراعية⁽³³⁾. وفي المجال البايولوجي في الفصل الكمي وتنقية الجزيئات الحيوية مثل البروتينات والبيبتيدات والاحماض الامينية. وكذلك تستخدم في تحديد المنشطات في الادراو والدم⁽³⁴⁾. وايضا تدخل في المجالات البيئية إذ تستخدم في تحديد وتقدير نسبة الملوثات في البيئة من خلال الكشف عن المركبات الفينولية في الماء وكذلك تحديد وتقدير نسب العناصر والمركبات التي تسبب التلوث في الهواء الجوي⁽³⁵⁾.

3.2.1 مطيافية الأشعة فوق البنفسجية والمرئية UV-ViS spectrophotometry

يعد التحليل بالطرائق الطيفية من أكثر التقنيات تطوراً واستعمالاً للتحليلات المتعددة إذ تبين دراسة الشعاع الكهرومغناطيسي المنبعث أو الممتص من قبل المادة، انه يتناسب مع كمية المجموعة المسؤولة عن الانبعاث أو الامتصاص في العينة^(37,36) لذا تعرف المطيافية (Spectroscopy) بانه العلم الذي يعنى بدراسة تفاعل الاشعاع الكهرومغناطيسي مع المادة، اما المقياس الطيفي (Spectrometry) فهو القياس الكمي لشدة الاشعاع الكهرومغناطيسي عند طول موجي واحد أو أكثر باستعمال متحسس مصمم للقياس⁽³⁸⁾

وسميت بمطيافية الأشعة فوق البنفسجية - المرئية (UV-VIS) لأن امتصاص الأشعة في هاتين المنطقتين يؤدي الى اثاره بعض الالكترونات الخارجية أو التكافؤ أو التأخر في الجزيء الذي يمتص في تلك الأشعة⁽³⁹⁾. ان المنطقة المهمة من الأشعة فوق البنفسجية هي الواقعة بين (380-200) نانومتر لأنها توفر الطاقة اللازمة كذلك للانتقال ($\pi - \pi^*$) وتسمى منطقة الإشعاع دون 200 نانومتر بالمنطقة المفرغة والتي يستلزم العمل فيها حيزاً مفرغاً وخالياً من الاوكسجين الذي كون له امتصاص في تلك المنطقة من الاشعاع⁽⁴⁰⁾. وتعد طريقة الامتصاص في منطقة الأشعة فوق البنفسجية من أهم الوسائل للتحليل الكمي على الرغم من محدودية استعمالها لأغراض التحليل النوعي. و يعزى سبب استعمالها للتحليل الكمي للأسباب الآتية⁽⁴¹⁾.

- انتقائية وحساسية عالية.
- غير اتلافية للنموذج.
- تستخدم تراكيز قليلة للنموذج المطلوب تحليله تتراوح ما بين (10^{-5} - 10^{-6}) مولاري.
- سهولة وسرعة الاداء التحليلية.

3.1 قانون الامتصاص (لامبرت- بير)

Lambert-Beer Absorption Law

ينص قانون لامبرت - بير على "ان الزيادة المتتابعة في عدد الجزيئات المتماثلة الماصة للإشعاع والواقعة في طريق حزمة من إشعاع أحادي اللون تمتص أجزاء متساوية من الطاقة الإشعاعية المارة بها" وهو القانون العام للامتصاصية والذي يعبر عن العلاقة الكمية بين شدة الضوء الممتص وتركيز محلول القياس والصيغة الرياضية لهذا القانون^(43,42).

$$A = \log I_0 / I = \epsilon C b$$

إذ إن: I_0 = شدة الإشعاع الساقط, I = شدة الإشعاع النافذ من العينة, A = الامتصاصية ϵ
 Absorbance, ϵ = معامل الامتصاصية المولارية وحداته (لتر. مول⁻¹. سم⁻¹), C = التركيز بوحدات (مول/ لتر), b = طول مسار الإشعاع بوحدة (سم)⁽⁴⁴⁾.

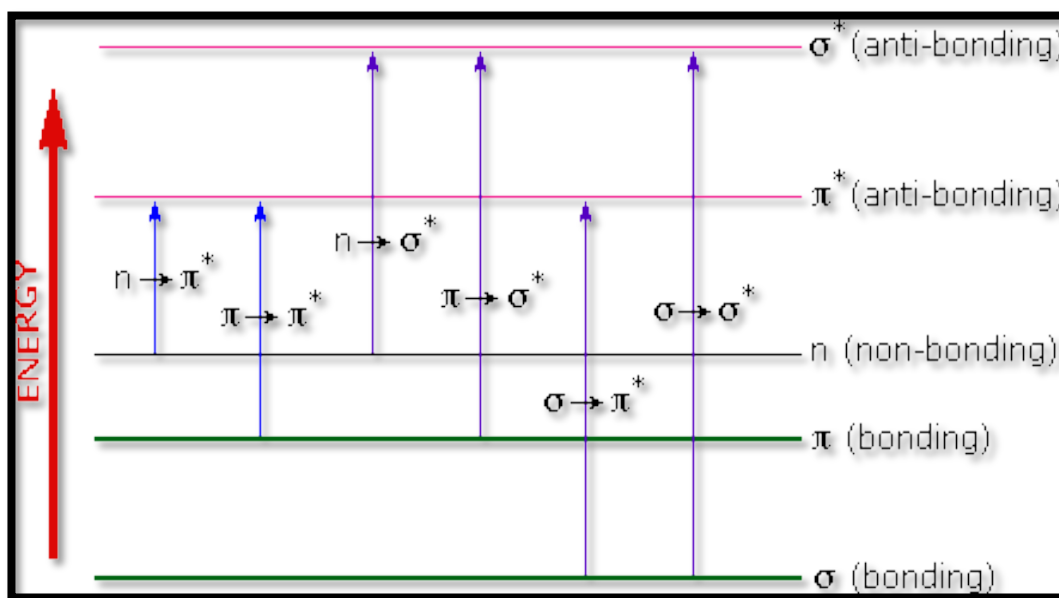
1.3.1. الاثارة الالكترونية electronic excitement اذا

امتصت الجزيئات طاقة معينة انتقلت الالكترونات من مستوى الطاقة الأدنى الى مستوى الطاقة أعلى وهذا مايدعى بالاثارة الالكترونية⁽⁴⁵⁾. لانه كما هو معروف ان الجزيئات تتكون من ذرات كل منها يتألف من نواة ومن الالكترونات تدور حولها في مستويات طاقة محددة. لكي يسبب شعاع ضوئي اثارة الكترونية ينبغي ان يكون هذا الاشعاع في مجال الاشعة المرئية اوفوق البنفسجية ويمتلك مقدار من الطاقة اللازمة لاثارة الالكترونات⁽⁴⁶⁾.

ويرتبط تردد الاشعاع الممتص بطاقة الاشعاع بالعلاقة التالية :

$$E=h\nu$$

حيث E = طاقة الاشعاع , h = ثابت بلانك, ν = تردد الاشعاع يوجد في الجزيئات العضوية ثلاثة انواع من الالكترونات الاولى:الكترونات مشتركة في رابطة مشبعة كالرابطة بين الهيدروجين والكاربون ،والكاربون بالكاربون في المركبات المشبعة وتسمى هذه الرابطة برابطة σ وكمية الطاقة اللازمة لاثارة الالكترونات المرتبطة σ اكبر بكثير من طاقة الاشعة فوق البنفسجية لذا لا تمتص المركبات المشبعة في هذا المجال بل يمكن ان تستخدم كمذيبات جيدة⁽⁴⁷⁾. النوع الثاني : تلك التي تشترك في رابطة غير مشبعة وهذه المركبات تحتوي عادة على رابطة σ ورابطة π وكمثال على هذه المركبات تلك التي تحتوي على ثلاث روابط متناوبة مثل البنزين⁽⁴⁸⁾. اما النوع الثالث : هي التي لاتتشترك بروابط بين الذرات وهذه تدعى بالالكترونات nonbonding الحرة والمركبات العضوية المشبعة لاتحتوي الالكترونات nonbonding لان كل الالكترونات في المستويات الخارجية للكربون والهيدروجين تشترك في الروابط الكيميائية أما المركبات العضوية التي تحتوي على النتروجين والاكسجين والكبريت والهالوجينات في صيغتها التركيبية فانها تحتوي على الالكترونات nonbonding ويمكنها ان تمتص الاشعة المرئية اوفوق البنفسجية لان هذه الاشعة يمكنها اثارة الالكترونات الحرة وتسمى المجموعة التي تحوي ذلك بالمجموعة الماصة او الكروموفور⁽⁴⁹⁾.



الشكل 4-1 : يمثل مخطط انتقال الالكترونات

3.1.2. تطبيقات الأشعة فوق البنفسجية – المرئية Applications of UV-Vis

هناك العديد من تطبيقات مطيافية الأشعة فوق البنفسجية – المرئية وتتضمن :

- في التحليل الكمي للمواد الصيدلانية إذ يتم اذابة الدواء في مذيب مناسب واخذ الامتصاصية له بطول موجي معين عن طريق منحني المعايرة يمكن ان يعرف كمية الدواء المراد معرفتها⁽⁵⁰⁾.
- تحديد العديد من المركبات ومنها العطرية متعددة النواة أمثلتها الستيرويدات (Steroids) وأثار المبيدات (Pesticide residues) وبما هو أقل من (1μg)⁽⁵¹⁾.
- في مجالات الطب والمجالات الصناعية، إذ تستخدم هذه التقنية في الكشف عن الاورام السرطانية في بعض مناطق الجسم وعلى وجه التحديد الثدي وعنق الرحم ومن خلال الدراسة اتضح ان هذه الأورام سببها هو نقص تركيز الاوكسجين بالدم حيث تم تقدير تركيز الاوكسجين بهذه التقنية⁽⁵²⁾.
- لتقدير الاوزان الجزيئية لبعض المركبات بعد تحضير مشتقاتها وخاصة المركبات التي تحتوي على مجموعة الامين⁽⁵³⁾

3.1.3. مثبطات الألم (المسكنات) Analgesics

تعد المسكنات من أكثر الأدوية والمستحضرات الصيدلانية الشائعة وتستخدم لتسكين ومعالجة الآلام، تقسم مثبطات الألم إلى قسمين وحسب نوع الألم .

4.1 مثبطات الآلام القوية Potent analgesics

تستعمل هذه المثبطات للآلام الحادة والمزمنة ويرتبط هذا الألم عموماً في الآونة الأخيرة على إصابة محددة، وإثارة للجهاز العصبي ومعنى الألم المزمن هو الألم الذي تجاوز مدة بقائه مدة الشفاء الطبيعي وهي من (3-6) أشهر، وغالباً من الصعوبة السيطرة عليه مما يسبب قلة في النوم وإكتئاب وإعاقة جسدية وضعف في الصحة العامة، لذلك يستعمل لهذا النوع من الألم مزيج من العقاقير الأفيونية وغير الأفيونية والتي بدورها تمنع رسائل الألم من الوصول إلى الدماغ وتقوم تدريجياً بتسكين الألم، وهناك أمثلة كثيرة على هذه المثبطات منها المورفين (Morphine)، الأوكسي كودون (Oxycodone)، البثدين (Pethidine) وغيرها، حيث تمتاز بتأثيرها المخدر على الجهاز العصبي المركزي (Central Nervous System) (54).

1.4.1. مثبطات الآلام البسيطة Mild analgesics

تستخدم هذه الفئة من المثبطات لعلاج الحالات المرضية اليومية كالصداع والام الأسنان والعضلات والحمى، وتصنف هذه المسكنات ضمن العقاقير المضادة للالتهابات غير الستيرويدية -Non Steroidal Anti-Inflammatory Drug (NASID)، ومن الأمثلة عليها الباراسيتامول (Paracetamol)، الكوايفينيسين (Guaifenesin) وحامض الميفيناميك (Mefenamic acid) وغيرها، ان الية عملها هي تثبيط افراز انزيم الاكسدة الحلقي المسبب لأفراز البروستاجلاندينات (Prostaglandins) (55-57).

The side effect of analgesics

2.4.1 الآثار الجانبية للمسكنات

إن استخدام العقاقير المسكنة بكميات كبيرة وبصورة مستمرة له آثار جانبية خطيرة ومنها إحتشاء عضلة القلب (Myocardial infarction) مما يؤدي إلى النوبة القلبية، وتهيج موضعي للغشاء المخاطي للمعدة، مما يسبب نزف في المعدة بسبب إنخفاض البروستاجلاندينات، إلتهاب الكلى (Kidney inflammation)، الفشل الكلوي والصداع النصفي بسبب الجرعة الزائدة (58-59).

Mechanical activity analgesics

3.4.1 ميكانيكية عمل المسكنات

يفرز الجسم البروستاجلاندينات بشكل طبيعي كاستجابة دفاعية للجروح وللاضطرابات الأخرى في الجسم والتي تستحث نطاقاً من الاستجابة. ومن هذه الاستجابات الشعور بالألم والتهاب المنطقة المصابة وارتفاع الحرارة، حيث تقوم هذه المسكنات وبالذات مسكنات الألم غير الستيرويدية بتنشيط إفراز إنزيم السايكلو-أوكسجين (Cyclooxygenase COX) المسؤول عن تخليق البروستاجلاندينات المسؤولة عن الشعور بالألم وبالنسبة لأنزيم (COX) توجد ست أنواع من هذا الإنزيم وأن مسكنات الألم تقوم بتنشيط اثنين من هذه الإنزيمات (COX1 – COX2) وأن عمل مثبطات الألم هو غير انتقائي بالنسبة لأنزيمات الألم وتقوم المسكنات بالتنشيط غير العكسي (60-61).

DRUG PROFILE

5.1. لمحة عن العقاقير

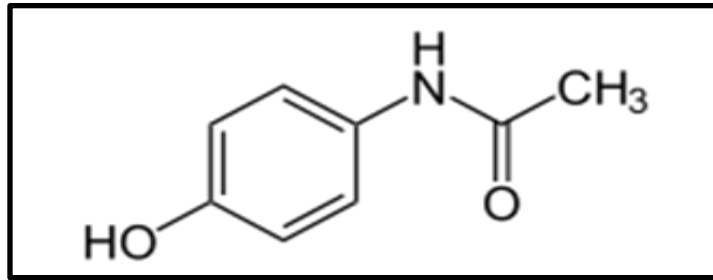
Paracetamol

1.5.1 الباراسيتامول

الباراسيتامول المعروف أيضاً باسم باراسيتامينوفين أو PAAP هو دواء يستخدم لعلاج الألم الخفيف إلى المتوسط، غالباً ما يباع مع مكونات أخرى كما هو الحال في العديد من أدوية البرد بالاشتراك مع مسكنات الألم الأفيونية ويستخدم الباراسيتامول لعلاج الآلام الشديدة مثل الآلام السرطان وبعد الجراحة، ويتم استخدامه عادةً إما عن طريق الفم أو عن طريق المستقيم، ولكنه متاح أيضاً عن طريق الوريد، ويعد الباراسيتامول آمناً بشكل عام عند تناول الجرعات الموصى بها. نادر ما تحدث طفح جلدي خطير، يمكن أن تؤدي الجرعة العالية جداً إلى فشل الكبد. يبدو أنه آمن أثناء الحمل والرضاعة الطبيعية. لأولئك الذين يعانون من أمراض الكبد، لا يزال من الممكن استخدامه ولكن يجب تناول جرعات أقل (62). وتم تصنيع الباراسيتامول لأول مرة في عام 1878 بواسطة العالم مورس وتم تقديمه للاستخدام الطبي في عام 1883 ويعتبر الدواء الأكثر استخداماً للألم والحمى في جميع أنحاء العالم ومدرج في القائمة النموذجية

لمنظمة الصحة العالمية للأدوية الأساسية وهي أهم الأدوية اللازمة في نظام الصحة الأساسي ويتوفر الباراسيتامول كدواء عام يحمل أسماء تجارية بما في ذلك تايلينول وبانادول وغيرها ومتاح بدون وصفة طبية ويستخدم تقريبا في جميع الاعمار ويلعب دورا مهما في التسكين (63).

ويوجد بأشكال مختلفة أقراص، كبسولات، شراب معلق، تحاميل، قطرات وحقن وريدي، يستعمل هذا العقار لوحده أو على شكل مزيج مع أدوية أخرى (64). الباراسيتامول مركب كيميائي اسمه الشائع أسيتوأمينوفينول (Acetaminophenol)، وهو من مضادات الالتهابات غير الستيرويدية (NASID)، يستعمل كمسكن للألم ومضاد للالتهابات وخافض للحرارة وهو دواء غير مخدر (65). ويستخدم كمسكن بدلا من الاسبرين للمرضى الذين يعانون من ألم في المعدة كالقرحة مثلاً، وأيضا مضادا للحموضة وكذلك يستعمل من قبل الأشخاص الذين يعانون من ارتفاع ضغط الدم (66). يوصف الباراسيتامول كيميائيا N-(4-Hydroxyphenyl)acetamide الصيغة الجزيئية $C_8H_9NO_2$ الوزن الجزيئي 151 g/mol (67). أبيض أو تقريبا مسحوق أبيض بلوري قليل الذوبان في الماء، قابل للذوبان أبيض أو تقريبا مسحوق أبيض بلوري قليل الذوبان في الماء، قابل للذوبان بحرية في الكحول، قابل للذوبان قليلاً جداً في كلوريد الميثيلين (68). جرعة الأطفال 10 mg (أربع مرات في اليوم). جرعة البالغين 500 mg كل أربع إلى ست ساعات (69).



الشكل 1-5 : الصيغة التركيبية للباراسيتامول

يعمل الباراسيتامول عن طريق تثبيط انزيمات الأكسدة الحلقية (COX) بواسطة إنتاج البروستاغلاندين على عكس العقاقير الستيرويدية المضادة للالتهابات (مضادات الالتهابات الغير ستيرويدية) ، ويظهر الباراسيتامول فعالية مماثلة لتلك الموجودة في الجرعات القياسية والمكافئة للعديد من مضادات الالتهابات غير الستيرويدية والمتضمنة (parecoxib, ibuprofen , diclofenc (ketorolac, tramadol) واثبتت

ان الباراسيتامول لا يقلل التهاب الأنسجة⁽⁷⁰⁾. يكون الباراسيتامول عند دمجه مع مضادات الالتهاب غير الستيرويدية أكثر فعالية في علاج الآلام ما بعد الجراحة من الباراسيتامول وحده او مضادات الالتهاب غير الستيرويدية وحدها⁽⁷¹⁾ وحسنت فعالية الباراسيتامول عند استخدا لمه مع المواد الأفيونية الضعيفة مثل (كودايين) لما يقارب من (50%) من الأشخاص ولكنها تزيد في عدد الأشخاص الذين يعانون من الآثار الجانبية⁽⁷²⁾. والأدوية المركبة من الباراسيتامول والمواد الأفيونية القوية مثل المورفين تعمل على تحسين التأثير المسكن. ويتفوق مزيج الباراسيتامول مع الكافيين على الباراسيتامول وحده لعلاج حالات الآلام الشائعة بما في ذلك الألم الأسنان والآلام مابعد الولادة والصداع⁽⁷³⁾. ويستخدم الباراسيتامول في علاج آلام أسفل الظهر بناء على مراجعة منهجية يوصى باستخدام الباراسيتامول من قبل الكلية الأمريكية للطباء وجمعية الألم الأمريكية كعلاج أولي لآلام أسفل الظهر⁽⁷⁴⁾, ويوصى بجمعيات الصداع الألمانية والنمساوية والسويسرية والجمعية الألمانية لطب الأعصاب باستخدام الباراسيتامول مع الكافيين كاحد علاجات الخط الأول العديدة لعلاج صداع التوتر او الصداع النصفي الحاد⁽⁷⁵⁾.

Side Effects

2.5.1 الآثار الجانبية:

عند تناول الباراسيتامول بالجرعات الموصى بها فإنه لا يهيج جدار المعدة أو يؤثر على تجلط الدم كما تفعل مضادات الالتهاب الستيرويدية الأخرى أو حتى يؤثر على وظائف الكلية. ولكن أظهرت بعض الدراسات أن الجرعة العالية , التي تزيد عن 2,000 ميلغرام في اليوم , يمكنها أن تزيد من احتمالية التعرض لمضاعفات في الجهاز الهضمي العلوي⁽⁷⁶⁾ الباراسيتامول يكون آمن أثناء الحمل , ولا يؤثر على غلق القناة الشريانية الجنينية كما تفعل مضادات الالتهاب الستيرويدية, وبالتناقض مع الأسبرين فإن الباراسيتامول آمن للأطفال لأنه لا يسبب متلازمة راي في الأطفال المصابين بأمراض فيروسية يمكن للباراسيتامول ومضادات الالتهاب الستيرويدية أن تضر الكبد, إلا أن لها احتمالية ضعيفة في أن تسبب ادمان اعتماد حيوي , تحمل, أو أعراض انسحاب, ويمكن للباراسيتامول ,خصوصا بالاشتراك مع الأفيونات الضعيفة , أن يسبب صداع مرتد أكثر من مضادات الالتهاب الستيرويدية, وهذا صداع بسبب كثرة استخدام الدواء, على الرغم من ذلك فإن هذه الاحتمالية أقل بالمقارنة مع الارغوتامين أو التريبتانات التي تستخدم لعلاج الشقيقة⁽⁷⁷⁾ . وفي سنة 2008 قدمت دراسة أولية معتمدة على بحث أولي الدليل على أن تعاطي الباراسيتامول بعد اللقاح الثلاثي , ضد الحصبة , النكاف, والحصبة الألمانية مرتبط بظهور التوحد في الأطفال التي تتراوح اعمارهم من (5-1) سنوات⁽⁷⁸⁾. كذلك من الآثار الضارة للباراسيتامول تلف الكبد إذ ان الجرعات الزائدة من الباراسيتامول يمكن يكون تلف مميت للكبد حيث يمكن ان يسبب

عقار الـاسيتامينوفين في تلف الكبد الخطير اذا تم استخدامه بكثرة⁽⁷⁹⁾. للباراسيتامول له تأثير على الجهاز الهضمي مثل الغثيان والقيء وعسر الهضم والام البطن والنفخ حيث في دراستين كبيرتين على المرضى الذين يعانون من الالام العضلات والعظام , إذ كان الباراسيتامول مرتبطا بمزيد من الآثار الضارة للجهاز الهضمي⁽⁸⁰⁾. ومن الآثار الجانبية في استخدام الباراسيتامول اثناء الحمل بينت الدراسات إلى عدم وجود زيادة ملحوظة في التشوهات الخلقية المرتبطة باستخدام الباراسيتامول اثناء الحمل. بالإضافة إلى ذلك لا يؤثر الباراسيتامول على اغلاق القناة الشريانية الجنينية كما تفعل مضادات الالتهاب غير الستيروئيدية⁽⁸¹⁾, ويرتبط استخدام الباراسيتامول من قبل الأم أثناء الحمل بزيادة خطر الإصابة بالربو في مرحلة الطفولة. ويرتبط أيضا بزيادة في اضطراب فرط الحركة ونقص الانتباه ولكن من غير الواضح ما اذا كانت العلاقة سببية. على الرغم من هذه المخاوف , يظل الباراسيتامول هو الدواء الموصى به للألم والحمى أثناء الحمل⁽⁸²⁾.

3.5.1 الجرعة الزائدة:

تؤدي جرعة زائدة من الباراسيتامول غير المعالجة الى مرض مؤلم طويل الأمد. قد تكون علامات واعراض سمية الباراسيتامول غائبة في البداية أو أعراض الأولى للجرعة الزائدة عادة بعد عدة ساعات من تناولها مع الغثيان والقيء والتعرق والألم مع بدء فشل الكبد الحاد⁽⁸³⁾ الأشخاص الذين يتناولون جرعات زائدة من الباراسيتامول لا ينامون أو يفقدون الوعي , على الرغم من أن معظم الأشخاص الذين يحاولون الانتحار باستخدام الباراسيتامول يعتقدون خطأ أنهم سيفقدون الوعي بسبب الدواء⁽⁸⁴⁾. تستغرق عملية الموت من جرعة زائدة ما بين (3-5) ايام الى (4-6) اسابيع . يمكن أن تؤدي الجرعة الزائدة غير المعالجة الى فشل الكبد والموت في غضون أيام . يهدف العلاج إلى ازالة الباراسيتامول من الجسم واستبدال الجلوتاثيون⁽⁸⁵⁾. ويمكن استخدام الفحم المنشط لتقليل امتصاص الباراسيتامول إذا قدم المريض العلاج بعد الجرعة الزائدة بفترة وجيزة .بينما الترياق ,استيل سيستئين(يسمى NAC أو (acetylcysteine), يعمل كمقدمة للجلوتاثيون , مما يساعد الجسم على التجديد بما يكفي لمنع أو على الأقل تقليل الضرر المحتمل للكبد ,⁽⁸⁶⁾

6.1 تخزين الباراسيتامول

يحفظ الدواء بعيدا عن متناول ايدي الاطفال ويحفظ الشراب المخصص للاطفال في درجة حرارة الغرفة وتحفظ التحاميل الشرجية في درجة حرارة تقل عن (27) درجة مئوية ولذلك يفضل حفظها في الثلاجة والحرص على عدم تجميدها, ولا يجوز استخدام الدواء بعد تاريخ انتهاء الصلاحية على العبوة حيث يشير تاريخ انتهاء الصلاحية الى اليوم الاخير من نفس الشهر, ويجب يجب تخزين الدواء في عبواتها الاصلية المزودة بملصقات تسمية ولحمياتها من الرطوبة, ولا يجوز رمي الادوية في المجاري أو النفايات المنزلية.

Literature review

1. 6.1 مراجعة الادبيات

تشير البحوث والأدبيات بأن هناك الكثير من الطرائق التحليلية التي تم تطويرها لتقدير الباراسيتامول (PCM) ومنها مايلي:

قام الباحثان Ahmed. M. Saeed and Noor. Q. (2017) بتقدير الباراسيتامول (PCM) في المستحضرات الصيدلانية بطريقة طيفية عند (244.8 نانومتر) والطور المتحرك الماء: أسيتونيتريل (90:10) كمنزيب. الخطية (40-0.4 مكغم / مل)، R^2 (0.9994)، الاسترداد (100.05) (87).

طور الباحث Zaid. M. Jaber. Al-Obaidi وآخرون (2019) طريقة (RP-HPLC) لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية، باستخدام عمود C_{18} (5 μ m, 4.6 mm X 250 mm) وطور متحرك ميثانول:ماء بنسبة 20:80، عند 243 نانومتر، ومعدل تدفق 1 مل/دقيقة. الخطية من 0.8-40 مكغم / مل، و R^2 0.9996 والاسترجاع 97.74% (88).

استحدث الباحث Murtaza Sayed وآخرون (2015) طريقة (HPLC) و (UV-VIS) لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام (5.0 μ m, 150×4.6 mm) C_{18} ، طور متحرك أسيتونيتريل:ماء (25:75 % v / v) بمعدل تدفق 1 مل/دقيقة، وطول موجي (230) نانومتر. الخطية ل UV-VIS و HPLC 4-10, 20-2 مايكروغرام/مل، ومعامل الارتباط (0.977) (0.993)، والاسترداد (99.00 - 100.10)، (99.71 - 100.95 %). (89).

استطاع الباحثان P. R. Solanki, S. Prachi and S. D. Boob (2012) بطريقة RP-HPLC تقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (5 μ m, 250 mm x 4.6) C_{18} ، وطور متحرك من الأسيتونيتريل:الماء (40:60)، بمعدل تدفق 1 مل/دقيقة وطول موجي 210 نانومتر.

زمن الاحتجاز 2.69 دقيقة، والخطية 100-20 مايكروغرام/مل، معامل الارتباط 0.9998، والاسترداد 103.01%⁽⁹⁰⁾.

استخدم الباحث Palled PJ وآخرون (2017) طريقة RP-HPLC لتقدير الباراسيتامول. باستخدام عمود (250 mm × 4.6 mm, 5 µm) C₁₈، وطور متحرك أسيتونيتريول: ماء (90:10) عند pH=2.8، وبمعدل جريان 0.3 مل/دقيقة، عند 203 نانومتر. زمن الاحتجاز 9.7 دقيقة. الخطية (1.25-20 مكغم/مل) والاسترداد 99.89%، و R²=0.999⁽⁹¹⁾.

تمكن الباحثان (Allabasha Mumtaz and Mrs. Iffath Rizwana) (2015) بتطوير طريقة (RP-HPLC) لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود الفصل C₁₈ (250x4.6 ID5µm)، وطور متحرك من محلول منظم واسيتونيتريول (60:40)، ومعدل التدفق 1.0 مل/دقيقة، وطول موجي 230 نانومتر. زمن الاحتجاز للباراسيتامول (2.703 دقيقة). الخطية (2-10) ميكروغرام / مل، (R²=0.9976) والاسترجاعية (100.49%)⁽⁹²⁾.

طور الباحثان Adams .U. Itodo and Nnodim. V. Onyinye (2017) طريقتين وهما (UV-Vis) و (HPLC) لتقدير الباراسيتامول. باستخدام عمود (50 mm × 4.6 mm, 5 µm) C₁₈ وطور متحرك من الميثانول والماء (80:20)، معدل تدفق 2.0 مل/دقيقة، وطول موجي 254 نانومتر. الخطية (2-16)، (0.025-0.20) مكغم/مل، و R²=0.995، R²=0.999، والاسترداد (91.88-102.52)، (101.1-108.1) لل UV-VIS, HPLC على التوالي⁽⁹³⁾.

قدر الباحثان V. (Lakshmi Narayanan and Anoop Austin) (2016) طريقة (HPLC) لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام العمود (4.5mm x 250 mm, 5µm) C₁₈، وطور متحرك من محلول منظم واسيتونيتريول (85:15)، بمعدل تدفق 1.0 مل / دقيقة عند 265 نانومتر. زمن الاحتجاز 3.13 دقيقة، الخطية (25-150 مايكروغرام /مل)، و R²=0.999، والاسترداد (99.0)، وحد الكشف 1.5، وحد التكمم (0.075)⁽⁹⁴⁾.

طور الباحثان Patel Twinkle K and Meshram Dhananjay B (2015) طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة عالية الأداء HPTLC لتقدير الباراسيتامول ومواد أخرى. تم استخدام ألواح الألمنيوم HPTLC المغطاة بطبقة من السيليكا جل كطور ثابت وخليط من التولوين: الأسيتون: حامض

الفورميك (10: 9.8: 0.2) كطور متحرك. الخطية 100-700 نانو غرام، وقيم $R^2=0.997$. الاسترداد 99.03-101.24 %⁽⁹⁵⁾.

طبق الباحث Mohamed Sultan (2014) طريقة (HPLC) لتقدير الباراسيتامول وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود فصل ($250 \times 4.6 \text{ mm}$, 5μ) C_{18} ، وطور متحرك الأسيتونيتريل والميثانول في نسبة (85: 10: 5). بمعدل جريان هو (1.5 مل/دقيقة)، عند (210) نانوميتر. زمن الاحتجاز (3.67 دقيقة). الخطية (0.39-100 مكغم/مل)، الاسترداد (98.40-103.00) %، و ($R^2=0.999$)⁽⁹⁶⁾.

طبق الباحثان Madhusudan T. Bachute¹, S.V.Shanbhag (2017) طريقة RP-HPLC لتقدير الباراسيتامول وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود ($250 \times 4.6 \text{ mm}$, 5.0) C_{18} (μ m)، وطور متحرك من محلول منظم و ميثانول بسرعة جريان 1.00 مل / دقيقة، وطول موجي (220) نانومتر. زمن الاحتجاز (10.36 دقيقة) للباراسيتامول. الخطية (50-10 مايكروغرام /مل)، والاسترجاعية (99.30 %)⁽⁹⁷⁾.

قام الباحثان Ahmad M. El-Zinati and Monzir S. Abdel-Latif (2015)، إجراء دراسة باستخدام المشتقة الاولى للمرتبة الصفرية من أجل تحليل طيف الباراسيتامول وهيدروكلوريد الترامادول في المستحضرات الصيدلانية. ان طيف الامتصاص تم فحصه في حدود (200-500 نانومتر). الخطية (25-112 مكغم/مل) للباراسيتامول، $R^2 = (0.9987)$ للباراسيتامول والاسترجاعية (100.4 %)⁽⁹⁸⁾.

استخدم الباحث Sunilkumar Adupa وآخرون (2014) طريقة RP-HPLC لتقدير الباراسيتامول ومواد اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود فصل ($250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$ 10μ m) C_{18} ، وطور متحرك من الميثانول: ماء (80:20)، سرعة تدفق (1.0 مل/دقيقة) عند (243 نانومتر). زمن الاحتجاز (3.8 دقيقة). وكان نطاق التراكيز الخطية (50-150 مكغم/مل). و ($R^2=0.997$)، الاسترداد (99.77 %)⁽⁹⁹⁾.

قدر الباحثان Ahmed.M.Saeed and Noor.Q. (2018) الباراسيتامول (PCM) في المستحضرات الصيدلانية بطريقة طيفية عند (243) نانومتر وباستخدام الطور المتحرك (الماء: اسيتونيتريل (90:10) كمذيب، وكانت الخطية (0.3-30) مكغم /مل، $R^2 (0.9993)$ ، الاسترداد (99.04)⁽¹⁰⁰⁾.

استحدث الباحث Gundala Usharani وآخرون (2014) طريقة RP-HPLC لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18} ، وطور متحرك من محلول منظم وأسييتونيترييل بنسبة 50:50. معدل التدفق إلى (0.9 مل/دقيقة) عند (218.6 نانومتر). زمن الاحتجاز (4.8 دقيقة)، حد الكشف والحد الكمي (2.52, 0.83) على التوالي، الخطية (650-1950 مكغم/مل)، و ($R^2=0.999$)، والاسترجاع (100%)⁽¹⁰¹⁾.

استخدم الباحثان Mahaboob Basha and K. A. Rrddy (2014) طريقة (UPLC) لتقدير الباراسيتامول في مزيج. باستخدام عمود (C_{18} 50mm, 2.1mm, 1.7 μ m)، وطور متحرك من الأسيتونيترييل:حامض الفورميك في الماء (95:05)، ومعدل تدفق (0.6 مل/دقيقة). زمن الاحتجاز 1.03 دقيقة، والخطية (10-60 مكغم/مل). قيم الاسترداد (100.80-100.05 %) ($R^2 = 0.999$)⁽¹⁰²⁾ طور الباحثان Sravya Neeli and Shanta Kumari Katakam (2014) طريقة RP-HPLC لتقدير كل من الباراسيتامول وأدوية أخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18} (50mm x 4.6mm, 5 μ m)، وطور متحرك محلول منظم وأسييتونيترييل بنسبة (v/v 50:50) ومعدل تدفق 1.5 مل / دقيقة، عند (220 نانومتر)، زمن الاحتجاز (3.993 دقيقة). الخطية (200-1500 مكغم/مل)، و ($R^2 = 0.999$) والاسترجاعية (99.2-100.9 %) ($R^2 = 0.999$)⁽¹⁰³⁾.

استخدم الباحثان Abdulbari M. M and Ihsan M. SH (2013) طريقة RP-HPLC لتقدير الباراسيتامول وأدوية أخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (C_{18} 5 μ , 250 mm x 4.6 mm)، وطور متحرك من الأسيتونيترييل: ماء: ميثانول (15:75:10)، معدل تدفق من 1 مل/دقيقة، طول موجي 220 نانومتر. زمن الاحتجاز 6.052 دقيقة، الخطية (1-500 ميكروغرام/مل)، والاسترجاعية (99.484-100.305 %)، حد الكشف وحد التكمم (0.467 و 1.415 مكغم/مل) على التوالي و ($R^2 = 0.9999$)⁽¹⁰⁴⁾.

استخدم الباحث Afsaneh Nabi وآخرون (2020) طريقة RP-HPLC لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18} (4.6mm x 5 μ m) وعند طول موجي (250nm)، الطور المتحرك (95:5 phosphate buffer : acetonitrile) وسرعة الجريان (1.5 مل/دقيقة) والخطية (16.25-390) مميكروغرام/مل⁽¹⁰⁵⁾.

طور الباحثان S. S. Narwade and Babasaheb. A. Marathwada (2014) طريقة (HPLC)، لفصل الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (200mm x 4.6mm 10 μ m)

C₁₈، وطور متحرك من ماء:ميثانول(15:85)، ومعدل تدفق 0.5 مل/دقيقة، عند (272 نانومتر). زمن الاحتجاز (4.388 دقيقة)، والاسترداد (102.86 %) ⁽¹⁰⁶⁾

قام الباحث J.T. Franeta, وآخرون سنة(2002) بتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية باستخدام تقنية HPLC , باستخدام عمود الفصل C₁₈, 5µm(250×4.6mm), وطور متحرك (acetone: nitrile: water 25:75) وقيمة LOD تتراوح بين (1.7×10⁻⁴-9×10⁻⁵ mg/ml) وقيمة Rsd (0.99-1.21%) ⁽¹⁰⁷⁾.

طور الباحث Rushikesh Bandelwar وآخرون سنة(2013) طريقة HPLC لتقدير الباراسيتامول ومواد أخرى في المستحضرات الصيدلانية , باستخدام عمود فصل C₁₈(250×4.6mm, 5.0µm) وطور متحرك (Acetonitrile:phosphate buffer 10:90) وقيمة LOD كانت 317.15 /ml (µg) ⁽¹⁰⁸⁾.

استطاع الباحث FLORIN SOPONAR وآخرون سنة (2013) بطريقة HPLC تقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية باستخدام عمود فصل C₁₈, 5µg.(100mm×4.6mm) والطور المتحرك (1% tetrahydrofuran و acetonitrile ومحلول مائي (NaH₂PO₄) وكانت الاسترجاعية(98.96) وتراكيز الخطية تتراوح بين (42.8-127.6 مكغم/مل وكانت قيمة RSD (0.21) ⁽¹⁰⁹⁾.

تمكن الباحث Cemal AKAY وآخرون سنة(2008) تطوير طريقة HPLC لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية باستخدام عمود (C₁₈ RP-HPLC) وطور متحرك Methanol:water(35:65) وكانت الخطية (0.5-4.0µml⁻¹) وقيمة LOD وLOQ (0.036,0.119) على التوالي وقيمة الاسترجاعية(100.0) ⁽¹¹⁰⁾.

استطاع الباحث Battu Prasanna, ReddyMS سنة (2009) تقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية . باستخدام عمود C₁₈, 5µm(150mm×4.6mm) وطور متحرك (phosphate buffer /acetonitrile (60:40) , وسرعة جريان (8 ml/min) وزمن الاحتجاز كانت(4.45min) ⁽¹¹¹⁾.

Caffeine

2.6.1 الكافيين

من المركبات القلوية والتي تنتمي الى الزانثينات وتعتبر من اكثر العقاقير شيوعا في الاستخدام, و يوجد في المنتجات الطبيعية في (حبوب البن والقهوة والشاي والفاصوليا) وغيرها من النباتات وكذلك في المياه

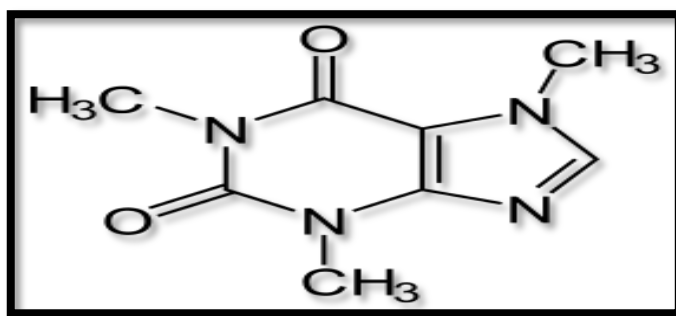
الغازية ومشروبات الطاقة وادوية الزكام والبرد المتواجدة في معظم المنازل والادوية التي تساعد على فقدان الوزن والشكولاته . ويتصف بكونه عديم اللون وعديم الرائحة وبلوري وذو طعم مر, كيميائيا هو (1,3,7-trimethylxanthine) مركب سداسي, وقليل الذوبان في الماء, وقابل للذوبان جزئيا في الايثانول وذائب في الكلوروفورم . ويعمل الكافئين كمبيد حشري طبيعي نظرا لأنه قد يشل ويقتل بعض الحشرات التي تتغذى على النباتات, أما في البشر فإنه يستخدم كمنبه للجهاز العصبي المركزي, كذلك مدر للبول, منشط لانقباض الامعاء. يعتبر الكافئين من مضادات الاكسدة التي تقلل من الجذور الحرة, ويعد اقوى زانئين له القدرة على التنشيط واليقظة وطرده النوم وتحسين الاهتمام بالدراسة . ومع ذلك فان الكميات العالية من الكافئين يمكن ان تسبب الارتجاف والغثيان والعصبية و يحدث اثار الطفرة مثل تثبيط الحامض النووي DNA, كما تم تحديد الجرعة المميته من الكافئين (170 ملغم/كغم), من وزن الجسم وكما ممكن ان يؤدي إلى الإصابة بأمراض القلب والاعوية الدموية وخلل في الكلى⁽¹¹²⁻¹¹⁸⁾.

Caffeine side effects

3.6.1 الاثار الجانبية للكافئين

يمتص الكافئين في الجسم بمجرد هضمه وبعد امتصاصه ينتقل الى المخ ولا يتجمع في مجرى الدم أو يتم تخزينه في الجسم بل يتم اخراجه في البول بعد عدة ساعات من تناوله. درست اثار تناول الكافئين على صحة الفرد على نطاق واسع بالأخص أثاره على الداء الكيسي التليفي في الثدي وامراض القلب والأوعية الدموية والعيوب الخلقية في الأجنة والانجاب والسلوك عند الاطفال (6) توصلت الجمعية الطبية الأمريكية للشؤون العلمية الى ان لا يؤدي تناول الكافئين بكميات قليلة ومعتدلة الى ظهور اعراض تدعو الى القلق بل في الواقع يمكن ان تحقق منافع صحية من ضمنها تقليل فرص الاصابة بأمراض القلب والجلطات وعلاج الصداع النصفي وزيادة الانتباه ونشاط العقل, وتقليل حدة اعراض الاكتئاب, بل وايضا تقليل فرص الاصابة بمرض الخرف ويعتقد البعض ان تلك المنافع يمكنها التفوق على مخاطر تناول الكافئين والاثار الجانبية السلبية له . ولكن يمكن أن يؤدي الافراط في استخدامه الى ما يعرف بتماله الكافئين (Caffeine intoxication) ويشير ذلك المصطلح الى تناول الكافيين بكمية تؤدي الى الارتباك, والتوتر, والانفعال المفرط, وزيادة تدفق الدم الى البشرة , والارق وزيادة في معدل اخراج البول واضطراب في الجهاز الهضمي وعدم انتظام ضربات القلب والشعور بوخز العضلات (muscle twitching) العصبية أو الارتعاش ويمكن اجتماع مزيج من تلك الاعراض في وقت واحد . وبما ان الكافئين تأثيره على الاشخاص يختلف من فرد لآخر, فيمكن تفسير مصطلح الافراط بأشكال مختلفة حسب الشخص.⁽¹¹⁹⁾ و يعد الكافئين

امنا لمعظم البالغين عند استخدامه بكميات معتدلة اي ما يقارب 4 اكواب من القهوة يوميا والتي تحتوي على ما يقارب (400 مليغرام) من الكافيين الا انه يجدر التنويه أن شرب الكافيين لفترة طويلة من الزمن أو بكمية أكبر من (400 مليغرام) يوميا قد يكون غير امنا وفيها يأتي بيان بعض الآثار الجانبية قد تحدث نتيجة استهلاك الكافيين⁽¹²⁰⁾ الارق، التوتر والعصبية، تهيج المعدة، الغثيان والتقيؤ وزيادة معدل ضربات القلب، زيادة معدل التنفس واضطراب النوم لدى المصابين بفيروس نقص المناعة المكتسبة (Acquired immunodeficiency Syndrome) أو ما يعرف بالايذ وقد تسبب الجرعات العالية من الكافيين الشعور بالام في الرأس والصدر بالإضافة الى طنين في الاذن⁽¹²¹⁾. لذلك يجدر التنويه الى ضرورة تجنب استهلاك المنتجات التي تحتوي على تراكيز عالية من الكافيين.



الشكل 1-6 : الصيغة الكيميائية للكافيين

Literature review

7.1 مراجعة الادبيات

سجلت البحوث والأدبيات ان هناك الكثير من الطرق التحليلية التي تم استحداثها لتقدير الكافيين ومنها ما يلي:

استطاع الباحث M. Radi وآخرون (2016) بتطوير طريقة RP - HPLC لتقدير الكافيين في التراكيب الصيدلانية باستخدام عمود (150 mm × 4.6 mm, 3.5μm) C₁₈ ، وطور متحرك مكون من ميثانول:ماء بنسبة (30-70%)، وسرعة جريان (1 مللتر /دقيقة)، وطول موجي (275) نانومتران معامل الارتباط للباراسيتامول R²=0.999 والاسترجاعية (98.93 %)، الخطية (0.5-50 مكغم/مل)⁽¹²²⁾.

استخدم الباحث S. CUERVO ESCOBAR وآخرون (2017)، طريقة HPLC لتقدير الكافئين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18} ، وطول موجي 275 نانومتر، وسرعة جريان 1.5 مل / دقيقة، وطور متحرك من الماء والميثانول وحامض الخليك بنسب حجمية (69:28:3) على التوالي. الخطية (60-140) ميكروغرام/مل للباراسيتامول، ($R^2 = 0.9989$ للباراسيتامول)، الاسترداد (99.53) للباراسيتامول⁽¹²³⁾.

استطاع الباحثان R. Chandra and K. Dutt Sharma (2013) بتطوير طريقة RP- HPLC لتقدير الكافئين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18} ، وطور متحرك ميثانول وماء بنسبة (40:60)، بمعدل تدفق 1.0 مل/دقيقة، عند 243 نانومتر، زمن الاحتجاز 3.03 دقيقة، الخطية 5-100 مكغم/مل و $R^2 = 0.999$. حد الكشف وحد التكتم (0.04 و 0.12) مكغم / مل، على التوالي. الاسترداد (99.45%)⁽¹²⁴⁾.

قام الباحث Boyka G. Tsvetkova وآخرون (2012) بتطوير طريقة HPLC لتقدير الكافئين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود فصل C_8 ، وطور متحرك من محلول منظم:ميثانول (35:65)، ومعدل تدفق 1.5 مل/دقيقة، عند (230) نانومتر. الخطية (31.25-250) مكغم/مل، و $R^2 = 0.9999$ ، والاسترداد (99.57-99.87) %، وحد الكشف وحد التكتم (4.0, 0.5) مكغم / مل⁽¹²⁵⁾.

قدر الباحث Hoang Vu Dang وآخرون (2020) الكافئين في المستحضرات الصيدلانية بطريقة

RP (HPLC) عند 225 نانومتر، وعمود الفصل $C_{18}(150 \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m})$ ، وطور المتحرك من Methanol:phosphate buffer بنسبة (70:30 v/v) وسرعة الجريان 2 مل/دقيقة وكانت مدى الخطية (1-3.5) ملغرام/لتر ومعدل الاسترداد كانت (99.1-101.5%)⁽¹²⁶⁾.

تم تقدير تركيز الكافئين في المشروبات باستخدام طريقة بسيطة وسريعة وهي الاستخلاص الدقيق على سطح منصهر الياف السليكا حيث تم الكشف حراريا في انقسام (split/splitless) وحقق باستخدام كروماتوغرافيا الغاز مع الكاشف الكتلي الطيفي (GC-MS) وكان الانحراف المعياري النسبي (5%) والنماذج التي تمت دراستها هي القهوة، والقهوة منزوعة الكافئين، والشاي، والكولا الحمية وكانت قيمة R.S.D% (0.7, 5.5, 5.1, 5.5) على التوالي وهذه الطريقة لم تتطلب وجود مذيبات، و زمن الحقن لكل عينة (15) دقيقة⁽¹²⁷⁾

تم تقدير العقاقير الحامضية والكافئين في مياه الصرف الصحي والمياه السطحية بواسطة الفخ الأيوني لكروماتوغرافيا الغاز (GC-ion trap) جنباً الى جنب مع مطيافية الكتلة (IT-MS/MS) وتم تحقيق حد كشف (20-0.5 بيكوغرام/لتر) وكانت خطية ضمن المدى (10-2000 بيكوغرام/لتر)⁽¹²⁸⁾.

تم تقدير الكافئين بطريقة الفولتامترية باستخدام الكربون متعدد السطوح وتم تطوير قطب معجون الكربون مع تريتون 100x وتم دراسة السلوك باستخدام فولتوميتر متناوب (CV) وتم توظيف هذا القطب في درجة حموضة (7) في بفر الفوسفات (0.1 مولاري) وكان حد الكشف (10×8.83 مولاري⁸) وان تيار الذروة للجزيئات يختلف خطياً مع تراكيزها في نطاق (10×2.91 - 10×6.27 مولاري⁵) وظهر القطب عديد من المزايا منها الحساسية العالية وحدود الكشف المنخفضة والاسترجاعية العالية وتستخدم هذه الطريقة للتقدير في المستحضرات الصيدلانية والادار و مصل الدم⁽¹²⁹⁾

تم التقدير الطيفي للكافئين في الاقراص التجارية باستخدام طريقتان الاولى الطريقة المباشرة لتقدير الكافئين عند طول (273 نانومتر)، والطريقة الثانية تشكيل معادلة الامتصاص الكمي والقياس عند نقطة الازو (259.5 نانومتر) ولوحظ الخطية في مدى تراكيز (2-32 مايكروميترغرام/مل) وكانت الطريقة دقيقة وبسيطة وسريعة ومن خلال النتائج % (R.S.D) اقل من (2) والتي تشير الى صحة الاسلوب ومعامل الارتباط لهذه العقاقير قريب من (1) مما يدل على خطية جيدة⁽¹³⁰⁾.

طورت طريقة بسيطة ودقيقة وقابلة للتكرار لتقدير الكافئين باستخدام HPLC, باستخدام عمود Bonda C8 pack ومعدل سرعة الجريان (1.0 مل/د) والطور المتحرك (ايثوبروبيل الكحول : اسيتونترايل: ميثانول: KH_2PO_4) بحجوم (20:20:30:30) والكشف الطيفي عند (215 نانومتر) ومدى الخطية (0.151-200 مايكروغرام/مل) وقيمة معامل الارتباط (0.9999)⁽¹³¹⁾.

قدر الكافئين بطريقة التحليل الطيفي الضوئي في الاقراص التجارية وكانت الامتصاصية العظمى للكافئين عند طول (272.8 نانومتر) في مذيب الماء واعطى مدى تراكيز خطي من (2-20 ميكروغرام/مل) وكانت الاسترجاعية لهذه الطريقة من (95-102%) وقيمة R.S.D هي (> 5%) في اقراص مضادات الحمى⁽¹³²⁾

تم تقدير الكمي للكافئين باستخدام طريقة طيف الاشعة فوق البنفسجية في الاقراص التجارية وتم القياس عند الطول الموجي (270 نانومتر) في الماء كمذيب وأعطت الطريقة خطية وخضوع لقانون بير لامبرت

(10-50 مايكروغرام /مل) ودقة الطريقة تم تحديدها من خلال قياس الاسترجاعية وكانت قيمتها من (99.46-100.67%) وكان معامل الارتباط (0.999)⁽¹³³⁾

استخدمت طريقة HPLC لتقدير الكافئين في الاقراص التجارية وذلك باستخدام عمود C18 وطور متحرك مزيج من الاسيتونترايل: ماء بحجم (75:25) ودرجة حموضة (2.5) مع حامض الفسفوريك وسرعة تدفق (2مل/د) وكاشف اشعة فوق البنفسجية (207 نانومتر) وكانت قيمة الاسترجاعية (102.12-98.25) وقيم R.S.D% (1.21)⁽¹³⁴⁾

تم تقدير الكافئين والمواد ذات الصلة باستخدام HPLC, والعمود المستخدم هو (Agilent Poroshell 120 EC-C18, 4.6 x 50 mm, 2.7 µm) بدرجة حرارة 35م , الطور المتحرك ميثانول :ماء بحجم (75:25), وسرعة تدفق (0.8مل/د), وكانت التراكيز خطية ضمن مدى (10-100 مايكروغرام/مل), ومعامل الارتباط (0.999), وحد الكشف (0.4 مايكروغرام/مل), وحد الكشف الكي (1.1 مايكروغرام/مل)⁽¹³⁵⁾.

تم استخدام طيف الأشعة فوق البنفسجية لتقدير الكافئين في مشروبات العادية ومشروبات الطاقة, والمذيب المستخدم هو رابع كلوريد الكربون, والطول الموجي المستخدم 270 نانومتر, وكانت التراكيز خطية بمدى (10-60 مايكروغرام/مل), ومعامل الارتباط (0.996)⁽¹³⁶⁾

طبقت طريقة الأشعة فوق البنفسجية البسيطة والدقيقة والحساسة لتقدير سترات الكافئين في الأقراص الدوائية, بواسطة طريقة الفرق الطيفي وقد عرض الكافئين أقصى امتصاصية عند طول (272 و 269 نانومتر) في المحلول الحامضي والقاعدي على التوالي, وخضع لقانون بير لامبرت بمدى تراكيز (2.5-15 مايكروغرام/مل) لكلا الحالتين, وتم التحقق من صحة نتائج التحليل إحصائيا وتبين أنها مرضية, والمذيب المستخدم (0.1 نورمالي) من (HCl للحامضي, NaOH للقاعدي)⁽¹³⁷⁾

قدر الكافئين طيفيا في اقراص الادوية مضادة الحمى, وتم تعيين الامتصاصية العظمى عند طول موجي (272.8 نانومتر) في المذيب الماء المقطر بصورة مزدوجة, وخضوع لقانون بير لامبرت ضمن مدى تراكيز (2-16 مايكروغرام/مل) عند طول 243 نانومتر, و(4-40 مايكروغرام/مل) عند طول 266 نانومتر, ومن (6-60 مايكروغرام/مل) عند طول 272.8 نانومتر, ومعامل الارتباط على التوالي (0.9998, 0.9996)

(0.9997, والاسترجاعية بمدى (95-102%), وحد الكشف على التوالي (0.1321, 0.5940, 0.0766), على التوالي للأطوال الثلاث)⁽¹³⁸⁾

قام Tareks.Belal وآخرون سنة (2014) بتقنية HPLC تقدير الكافئين في المستحضرات الدوائية باستخدام عمود الفصل C18(3.9× 150 mm, 5µm) وكان قيمة LOD (0.41µg/ml) والخطية كانت تتراوح بين (5-100µg/ml) والطور المتحرك orthophosphori acid:acetonitrile (15:60).⁽¹³⁹⁾

طور الباحث Fernanndo.pereira وآخرون سنة (2021) بطريقة HPLC تقدير الكافئين ومواد أخرى في المستحضرات الصيدلانية, باستخدام عمود فصل C18(4.6mm×250mm, 5µm) وطور متحرك ميثانول :فوسفات (60/40) وقيمة LOD (0.1) مكغم/مل وكانت الخطية (0.4-250µg/ml) وقيمة R² (0.9998).⁽¹⁴⁰⁾

طور الباحث Fayyaz Ahmad وآخرون سنة (2020) طريقة بتقنية HPLC لتقدير الكافئين في المستحضرات الصيدلانية باستخدام عمود فصل C18(4.6×10cm, 5µm) والطور المتحرك (Methanol:Glacial acetic acid:water) (28:3:69) وكانت الخطية (50-150) مكغم/مل ومعدل تدفق 2ml /min.⁽¹⁴¹⁾

قام الباحث M.Radi , Y.Ramli وآخرون سنة (2016) استخدام تقنية HPLC لتقدير الكافئين في المستحضرات الصيدلانية باستخدام عمود فصل (RP18 column, 150mm×3.5µm) وطور متحرك (Methanol /Distilled water):(30%:70%)vol:vol ومعدل تدفق (1ml/min) وطول موجي nm275.⁽¹⁴²⁾

تم تحليل الكافئين باستخدام طريقة كهربائية وبالفولتامترى مربع الموجة والكاثود هو قطب كهربائي من نوع (boron-doped diamond) (BDDE) وظهرت النتائج خطية ضمن مدى تراكيز (7.8×10⁻⁷ - 3.5×10⁻⁵) وحد كشف (9.6×10⁻⁸) وبهذه الطريقة تم تحديد الكافئين في المستحضرات الصيدلانية⁽¹⁴³⁾.

استطاع الباحثين Dr.V. Lakshmi Narayanan, Dr. Anoop Austin سنة (2016) تطوير طريقة بتقنية HPLC لتقدير كافئين في المستحضرات الصيدلانية وباستخدام العمود

C18(4.5mm×250mm,5µm) وطور متحرك (KH₂SO₄ and Acetonitrile) (85:15) وسرعة جريان (1.0ml/ min) وعند طول موجي 265 nm وقيمة RSD كانت (0.19) والخطية كانت (25-150) مكغم/مل وقيمة R² (0.992).⁽¹⁴⁴⁾

طور الباحث HB Lingaraju P Naveen. وآخرون سنة (2018). طريقة لتقدير الكافائيين من (Coffea arabica) بتقنية HPLC باستخدام عمود C18(RP-HPLC) والطور المتحرك (water, methanol) (50:50) وسرعة الجريان (1.0) ml /min وعند طول موجي 272nm وقيمة R² (0.999) والاسترداد (98.78-101.28).⁽¹⁴⁵⁾

قام الباحث Prashanta Pokhrel وآخرون استحداث طريقة لتقدير الكافائيين في مشروبات الشاي والقهوه بطريقة HPLC باستخدام عمود C18 والطور المتحرك (methanol:water 40:60) والخطية كانت (2-10) مكغم/مل و (R² تساوي 0.9928) , (LOD = 0.7) و (LOQ 0.2l مكغم/مل).⁽¹⁴⁶⁾

Aim of Study

1.7.1 الهدف من الدراسة

- 1- تطوير طريقة سهلة وسريعة ودقيقة لتقدير العقاقير الدوائية بحالتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء .
- 2- تطبيق هذه الطريقة لتقدير الباراسيتامول والكافئين في حالتها النقية بشكل حر او بشكل مزيج.
- 3- دراسة العديد من العوامل للحصول على الظروف المثلى لهذه الطريقة لغرض التطبيق المستقبلي.

Experimental part

الجزء العملي

Instruments used

1.2. الأجهزة المستعملة

تم استخدام الأجهزة الآتية لغرض القياس وكما مبينة في الجدول رقم 1-2 أدناه:

الجدول 1-2 : الأجهزة المستخدمة

Appliances	Origin and manufacturer
UV- VIS Spectrophotometer	SHIMADZU, 1700, Japan
High Performance Liquid Chromatography	SHIMADZU, LC-20AD, Japan.
Water bath	Lab tech, Kore
pH meter	Mettler toledo, Japan
Ultrasonic water bath Sensitive	APEL , PD-303 UV, Japan

Chemical materials used

2.2. المواد الكيميائية المستعملة

تم الحصول على الباراسيتامول والكافيين القياسيين من الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية سامراء - العراق. أما المواد الكيميائية التي تم استخدامها في البحث فقد تم الحصول عليها من الأسواق المحلية وكانت ذات نقاوة عالية جدا وكما موضحة في الجدول (2-2).

الجدول 2-2 : يبين المواد الكيميائية المستخدمة ودرجة النقاوة والوزن الجزيئي والجهة المصنعة.

Chemical compounds	Chemical formula	%Purity	Molar mass g/mol.	Provenance
Acetonitrile HPLC grade (ACN)	C ₂ H ₃ N	98.8	41.053	CHEM-LAB Belgium
Methanol, HPLC grade (MOH)	CH ₃ OH	98.8	32.04	CHEM-LAB Belgium

Acetic acid	$C_2H_4O_2$	99.5	60.052	ALPHA CHEMIKA- India
Ethanol Absolut (EtOH)	C_2H_6O	99.99	46.06	BDH-U.K
Paracetamol	$C_8H_9NO_2$	Standard pure powder	151	SDI - Iraq
Caffeine	$C_8H_{10}N_4O_2$	Standard pure powder	194.19	SDI - Iraq

3.2. المواد الكيميائية المستخدمة Chemical materials used

لقد تم استخدام عدد من النماذج التجارية والتي تم الحصول عليها من الأسواق المحلية ومن منشآت مختلفة، الغرض منها لتقدير المواد الفعالة للأدوية قيد الدراسة وكما موضح في الجدول (3-2).

الجدول 3-2 : المستحضرات الدوائية التجارية المستخدمة

Pharmaceutical preparation	Batch Number/Mfg. Date	Contents	Dosing mg/tab.	Provenance
Extra Piodol	210088A 02/2021	PCM CAF	500 65	Pioneer/Iraq
PANALGIC	192277 10/2019//10/2021	PCM CAF	500 50	Bouskoura- Marocco
SADOL Extra	0017 10/2021	PCM CAF	500 65	SAIPH Tunisia
NYgen	8EN053A Exp./05/2022	PCM CAF	500 20	Portugal
Panadol Extra	6u6k 4/2020///3/2022	PCM CAF	500 65	Glaxosmithklin/Ireland
TYLOL PLUS	7DY0001A	PCM CAF	500 30	Turkey
Algidol extra	C3145 04/20///04/22	PCM CAF	500 65	AMIRA-TUNISIE
ACETAM	49 03/2022///03/2022	PAM CAF	500 65	Basra-Iraq
Paracetamol extra	90136 Exp 01/2022	PCM CAF	500 65	ASpar/Albans

Samadol extra	610/20—10/23	PCM CAF	500 65	SDI/Iraq
Fevadol	115655 08/2019---08/2023	PCM CAF	500 65	Al-Qassim/Saudi Arabia

4.2 اختيار المذيب المناسب: Select the appropriate solvent

أجريت هذه الدراسة باخذ (0.1) غرام من المادة القياسية مع كمية من المذيب في قنينة حجمية سعة (100) مل. وتم استخدام أنواع مختلفة من المذيبات وذلك لغرض معرفة قابلية ذوبان واستقرارية العقاقير قيد الدراسة. ووضعت المحاليل المحضرة في حمام مائي للأمواج فوق الصوتية وبدرجة حرارة الغرفة ولمدة (20) دقيقة مع التحريك المستمر حتى اكتمال الاذابة، ثم اكمل الحجم الى حد العلامة باستخدام المذيب المناسب وضحت النتائج المستحصلة ان افضل مذيب هو (ماء — ميثانول 60 – 40) من ناحية صفاء المحلول واكتمال الاذابة. كما مبين في جدول ادناه:

الجدول 4-2 : نتائج اختيار المذيب المناسب للعقاقير قيد الدراسة

No.	Solvent type	Drugs	Solvation
1	H ₂ O 100	PCM	Soluble
		CAF	Partial
2	H ₂ O- MOH 90-10	PCM	Soluble
		CAF	Not clear
3	H ₂ O- ACN 90-10	PCM	Soluble
		CAF	Not clear
4	H ₂ O- MOH 60 – 40	PCM	Soluble
		CAF	Soluble

5.2. تحضير المحلول القياسي لعقاري الباراسيتامول والكافئين (100مكغم/مل)

تم تحضير هذا المحلول بإذابة (0.01) غرام من المادة القياسية في كمية من الماء اللأأيوني وكحول الميثانول بنسبة (40:60 v/v) في قنينة حجمية سعة (100) مل التركيز (100) مكغم/مل ، ووضع المحلول في جهاز الأمواج فوق الصوتية بدرجة حرارة الغرفة ولمدة (10) دقيقة مع التحريك المستمر وبعد إتمام عملية الإذابة أكمل الحجم إلى حد العلامة باستخدام المذيب ليصبح هذا المحلول كمحلول خزن.

5.2. 1 تحليل الباراسيتامول والكافئين القياسيين:

Analyzing of standard Paracetamol and caffeine

1.1.5.2 مطيافية الأشعة فوق البنفسجية-المرئية Ultraviolet visible spectroscopy

2.1.5.2 تحديد الطول الموجي الأعظم والامتصاصية العظمى:

Determination of maximum wavelength and maximum absorption

تم تحديد الطول الموجي لأعظم امتصاص باستعمال مطياف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية في خلية مصنوعة من الكوارتز ذات سمك (1سم) وبسرعة مسح متوسطة ومعدل التغير بالطول الموجي مقداره (0.2) وعرض حزمة (0.5) للمواد إذ سجل طيف الامتصاص والطول الموجي الأعظم مقابل المحلول الصوري كما في الأشكال (1-3) .

2.5.2. طريقة كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء:

(High Performance Liquid Chromatography)

1.2.5.2. اختيار الظروف المناسبة لقياس العقاقير القياسية :

Optimum condition for standard drugs determination

استخدمت هذه الطريقة لتقدير العقار قيد الدراسة. إذ تم تنفيذ هذه الطريقة من خلال حقن (10) مايكروليتر من محلول العقاقير القياسي باستخدام الحقن اليدوي من خلال صمام الحقن. إذ يتم حقن محلول العقار المذاب في المذيب المناسب الذي يرشح باستخدام مرشحات خاصة من نوع (0.45 مايكرومتر) في تيار من الطور المتحرك السائل على عمود من نوع (15 cm / 5 μm) C₁₈ (× 0.46 بتقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء ذات الطور المعكوس . تم الكشف عن

العقار وتسجيل الإشارة للكاشف المستخدم من نوع كاشف الأشعة فوق البنفسجية المرئية. تم دراسة عدد من العوامل لغرض الحصول على قمة منتظمة للمادة المقطرة وبزمن احتجاز قليل، حيث تم دراسة نوع الطور المتحرك، الدالة الحامضية، سرعة الطور المتحرك والطول الموجي للقياس.

2.2.5.2. المحاليل القياسية للعقار Standard solutions chain for drug

حضر محلول العقار والذي استخدم لغرض تحضير سلسلة المحاليل القياسية للعقار ذو التركيز 100 مكغم/مل وحضرت تراكيز السلسلة القياسية بأجراء التمديد المناسب باستخدام المذيب (60% ماء: 40% ميثانول) بتطبيق قانون التخفيف للمحاليل، وتراوحت التراكيز ما بين (1-50) مكغم/مل، لتحديد مدى التراكيز الخاضعة لقانون بير – لا مبرت. تم حقن (10) مايكروليتر من محلول العقار باستخدام الحقن اليدوي من خلال صمام الحقن. وتم القياس وتسجيل المساحة تحت القمة لسلسلة تراكيز العقار بتطبيق الظروف الفضلى. النتائج المستحصلة موضحة بالاشكال (3-4) والجدول (3-7).

3.2.5.2. دقة الطريقة وضبطها Method accuracy and precision

تمت الدراسة باختيار ثلاثة تراكيز مختلفة للعقاقير ضمن حدود منحنى المعايرة وهي 22,12 (44)، و (7,19,27) مكغم/مل للباراسيتامول والكافئين على التوالي وثلاث تكرارات لكل منها. تم حقن (10) مايكروليتر من محلول العقاقير باستخدام الحقن اليدوي من خلال صمام الحقن. وتم القياس وتسجيل المساحة تحت القمة لسلسلة تراكيز العقاقير بتطبيق الظروف المثلى. وتم اختبار ضبط الطريقة من خلال "النسبة المئوية للانحراف القياسي النسبي (RSD %)" ودقة الطريقة من خلال حساب "النسبة المئوية للخطأ النسبي" (RE %).

4.2.5.2. تحديد حد الكشف Determination of the detection limit

أنجزت هذه الدراسة وذلك بقياس المساحة تحت القمة لمحلول المادة القياسية بالتخفيف التدريجي لأقل تركيز (1) مكغم/مل أي ضمن منحنى المعايرة ولعدد من المرات حتى ثبوت القراءة أو يكون الفرق بين القراءات قليل أو مهملاً. إذ طبقت الظروف المثلى وهي ماء (60%) وميثانول 40% عند الدالة الحامضية (pH=3). إذ تم حقن (10) مايكرو ليتر من محلول المادة قيد الدراسة المذابة في المذيب المناسب باستخدام الحقن اليدوي خلال منظومة الحقن. تم القياس باستخدام كاشف مطيافية الأشعة فوق البنفسجية مطيافية الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي (270) نانومتر

وبمعدل سرعة جريان للطور المتحرك (1.2) مل/ دقيقة وزمن قياس (6.0) دقيقة باستخدام عمود فصل بأبعاد (15 × 0.46cm / 5 µm) C₁₈.

1.4.2.5.2 التطبيق على المستحضرات الصيدلانية

Application on pharmaceutical preparations

أنجزت هذه الدراسة بأخذ محلول من المستحضرات الصيدلانية التجارية للأدوية والحاوية على تراكيز مختلفة من المادة الفعالة للأدوية وبشكل مزيج مشترك كما في الجدول (2- 4)، حيث طبقت الظروف الفضلى وهي طور متحرك مكون من ماء 60% مع الميثانول 40% عند الدالة الحامضية (pH=3). حيث تم حقن (10) مايكروليتر من محلول المادة قيد الدراسة المذابة في المذيب المناسب باستخدام الحقن اليدوي خلال منظومة الحقن. تم القياس باستخدام كاشف مطيافية الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 270 نانوميتر وبمعدل سرعة جريان للطور المتحرك (1.2) مل/ دقيقة وزمن قياس (6.0) دقيقة باستخدام عمود فصل بأبعاد (15 × 0.46 cm / 5 µm) C₁₈. النتائج موضحة بالجدول (3-5) والاشكال (3-6)، (3-7)، (3-8).

الجدول 2-5 : كمية المادة الفعالة في المستحضرات الصيدلانية التجارية المستخدمة

Pharmaceutical preparation	Contents	Dosing mg/tab.	Tablet weight mg.	Conc. of drugs in solution µg/mL	
				PCM	CAF
Extra Piodol	PCM CAF	500 65	718	696.4	90.53
PANALGIC	PCM CAF	500 50	761	657	65.7
SADOL Extra	PCM CAF	500 65	613	815.6	106
NYgen	PCM CAF	500 20	596	838.9	33.6
Panadol Extra	PCM CAF	500 65	754	663	86.2
TYLOL PLUS	PCM CAF	500 30	593	843.2	50.6
Algidol extra	PCM CAF	500 65	695	719.4	93.5
ACETAM	PCM CAF	500 65	699.9	714.4	92.9
Paracetamol extra	PCM CAF	500 65	608	822.4	106.9
Samadol extra	PCM CAF	500 65	636	786.2	102.2

Fevadol	PCM CAF	500 65	726	688.7	89.5
adol	PCM CAF	500 65	643	777.6	101.1
ADOLOR EXTRA	PCM CAF	500 65	806	620.3	80.6
Panadol	PCM CAF	500 65	757	660.5	85.9
Panadol extra	PCM CAF	500 65	690	724.6	94.2

Results and discussions

3. النتائج والمناقشة

استخدمت طريقة كروماتوغرافيا السائل عالية الاداء ذات الطور العكوس (RP-HPLC) كطريقة لتقدير العقاقير (الباراسيتامول والكافائيين) بشكلها النقي وفي مستحضراتها الصيدلانية.

1.3. تقدير العقاقير (الباراسيتامول والكافائيين) باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي

الاداء. Determination of drugs using HPLC

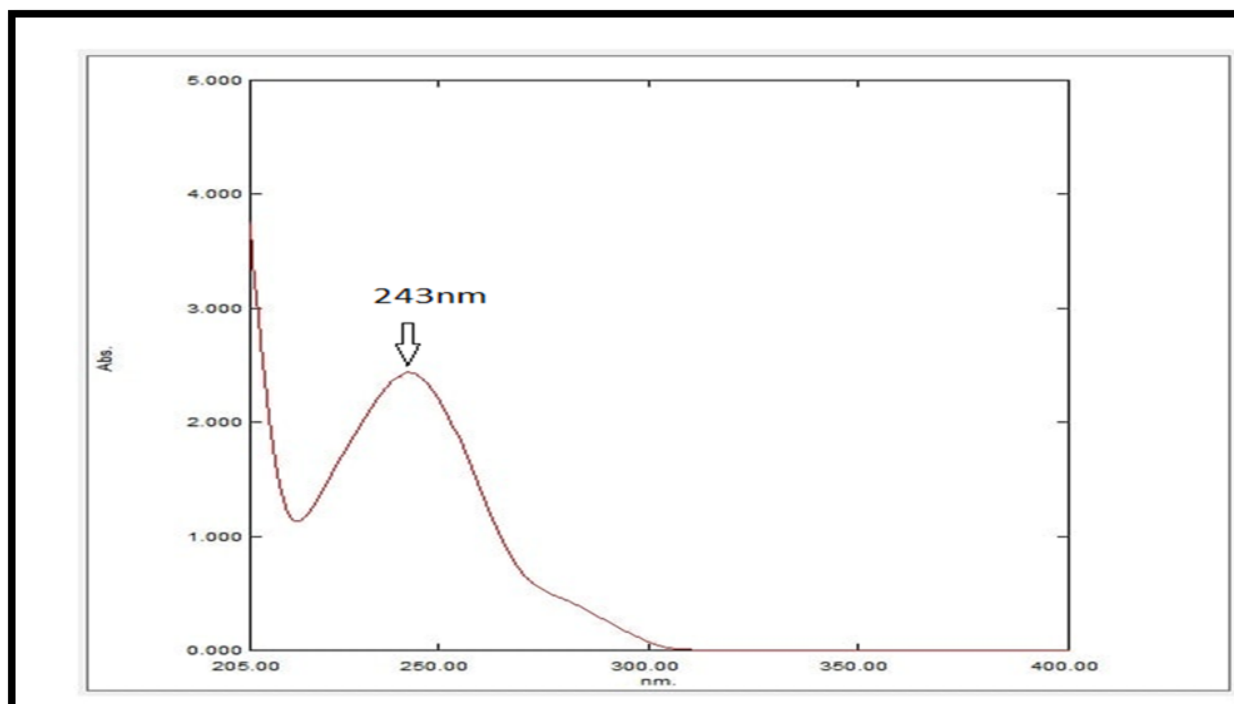
3.1.1. طريقة الطيفية المباشرة (مطيافية الأشعة فوق البنفسجية)

Direct spectral method (UV – Vis Spectrophotometry)

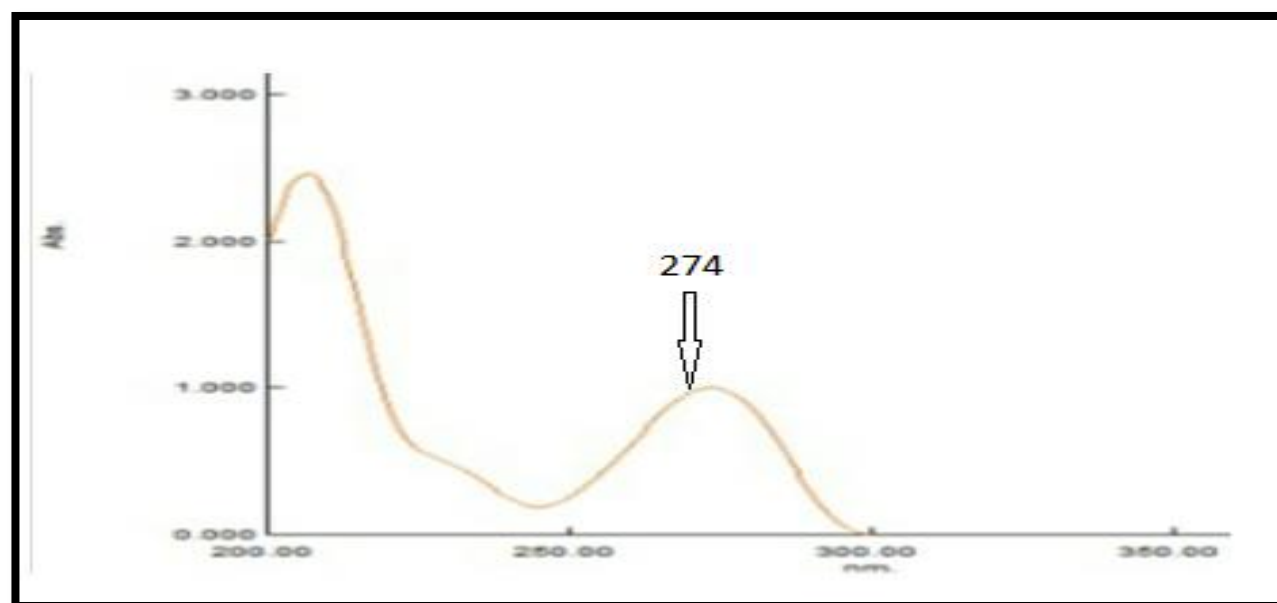
1.1.1.3. تسجيل اطياف الامتصاص وتحديد الطول الموجي الأعظم

Record the absorption spectra and determine the maximum wavelength

تم تسجيل طيف الامتصاص للعقاقير قيد التحليل وحسب الظروف التشغيلية وطريقة العمل المذكورة في الفقرة (1.1.5.2). حيث حضرت محاليل بتركيز (50) مكغم/مل من المادة النقية القياسية باستخدام المذيب المناسب. تم إجراء مسح الطيف لهذا المحلول باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية ضمن مدى طول موجي يتراوح بين (200-800) نانومتر. إذ أعطى محلول الباراسيتامول أعلى امتصاصية هي (2.551) عند الطول الموجي 243 نانومتر وأعطى محلول الكافائيين أعلى امتصاصية هي (1.052) عند الطول الموجي (274) نانومتر. الاشكال (1-3) و (2-3) يوضحان الاطياف التي تم الحصول عليه للمادة القياسية, علما أنه قد تم تسجيل الطيف مقابل المحلول الصوري الماء والميثانول.



الشكل 1-3 : طيف امتصاص الباراسيتامول باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية



الشكل 2-3 : طيف امتصاص الكافيين باستخدام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية

2.1.1.3 كروماتوغرافيا السائل العالي الاداء

High performance liquid chromatography

في هذا الجزء من البحث تم تقدير عقاري الباراسيتامول والكافاين في الهيئة النقية وفي مستحضراته الصيدلانية بإيجاد طريقة مطورة وذلك باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء ذات الطور المعكوس RP-HPLC ومن خلال دراسة جميع الظروف والمتغيرات للوصول الى عملية تقدير للعقار. تم اجراء دراسات متعددة لاختيار الظروف الفضلى إذ تمت دراسة كل من (الطور المتحرك وسرعته، الدالة الحامضية والطول الموجي للقياس). ومن ثم تطبيق نفس الظروف المدروسة على مستحضرات دوائية تجارية منتجة من قبل شركات تجارية مختلفة وحاوية على الادوية المدروسة بشكل مزيج.

1.2.1.3. اختيار الظروف المناسبة لقياس العقار

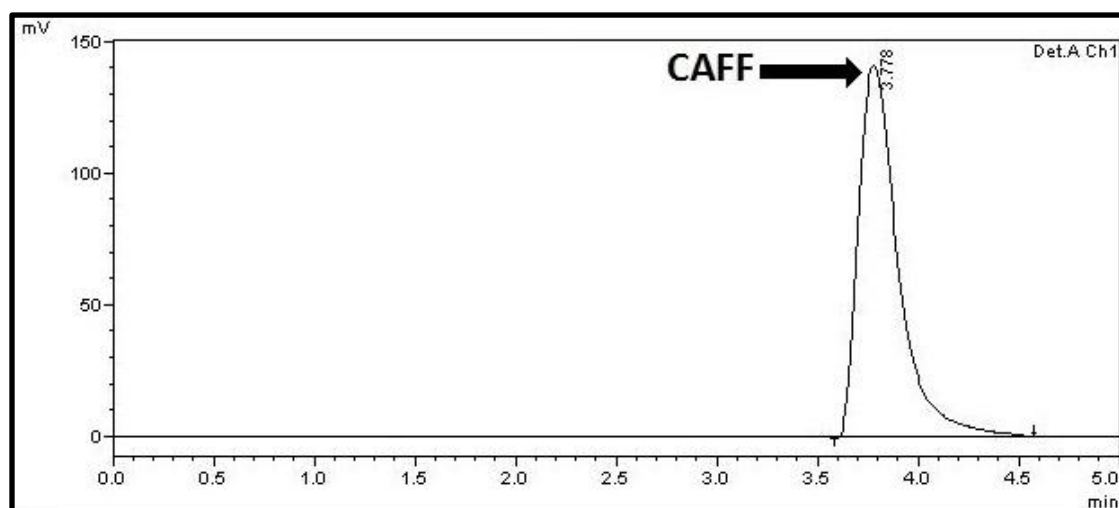
Selective the optimum condition for drugs determination

تم اجراء هذه الاختبارات لاختيار الظروف المناسبة لتقدير العقاقير حسب طريقة العمل الموضحة في الفقرة (1.2.5.2) إذ تم اجراء العديد من الاختبارات العملية لاختيار الظروف الفضلى وكما موضح في الجدول (3 – 1) الذي يبين ملخص النتائج التي تم الحصول عليها وبينت النتائج المستخلصة ان الظروف الفضلى والتي اعطت افضل شكل قمة وزمن احتجاز مناسب هي الطور المتحرك مكون من 60% ماء و 40% ميثانول ، الدالة الحامضية 3، سرعة الجريان (1.2) مل/دقيقة، والطول الموجي 270 نانومتر) وتوضح الاشكال (3-3 و 3-4 و 3-5) شكل قمة العقاقير المستخلصة عند الظروف الفضلى بحالتها الحرة وبشكل مزيج وكانت افضل دالة حامضية هي 3 وذلك كلما كان مقدار الحامضية عالي يؤدي الى انعدام او انخفاض بعملية التأين للعقاقير قيد الدراسة إذ ان الدالة الحامضية تلعب دوراً مهماً جداً في عملية تأين العقار القابل للتأين والتي تعتمد على تغير الدالة الحامضية وافضل سرعة جريان (Flow rate) هي (1.2) مل/دقيقة إذ اعطت وقتاً ملائماً لفصل المادة وعدم التداخل. واعطى الطول الموجي (270) نانومتر افضل نتيجة إذ كانت مساحة تحت القمة

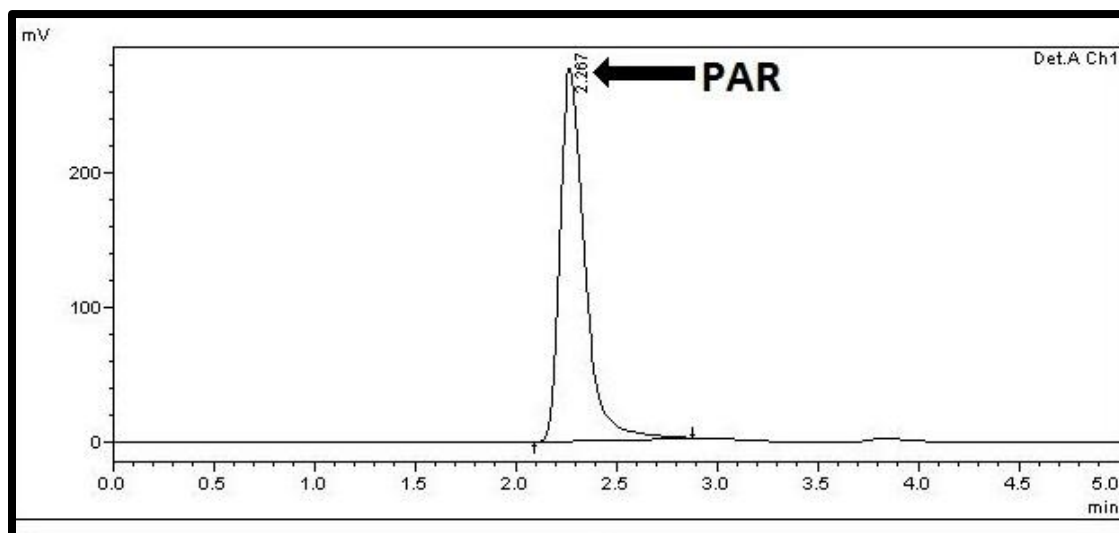
عند هذا الطول الموجي اعلى قيمة مما يدل على ان المواد لها امتصاصية عالية عند هذا الطول الموجي. وكانت زمن الاحتجاز للباراسيتامول (2.267) ولل كافئين (3.778) والجدول (1-3) يبين النتائج العملية المستحصلة لاختيار الظروف الفضلى.

الجدول 1-3: يوضح ملخص النتائج العملية المستحصلة لاختيار الظروف المثلى لطريقة كروماتوغرافيا السائل العالي الأداء

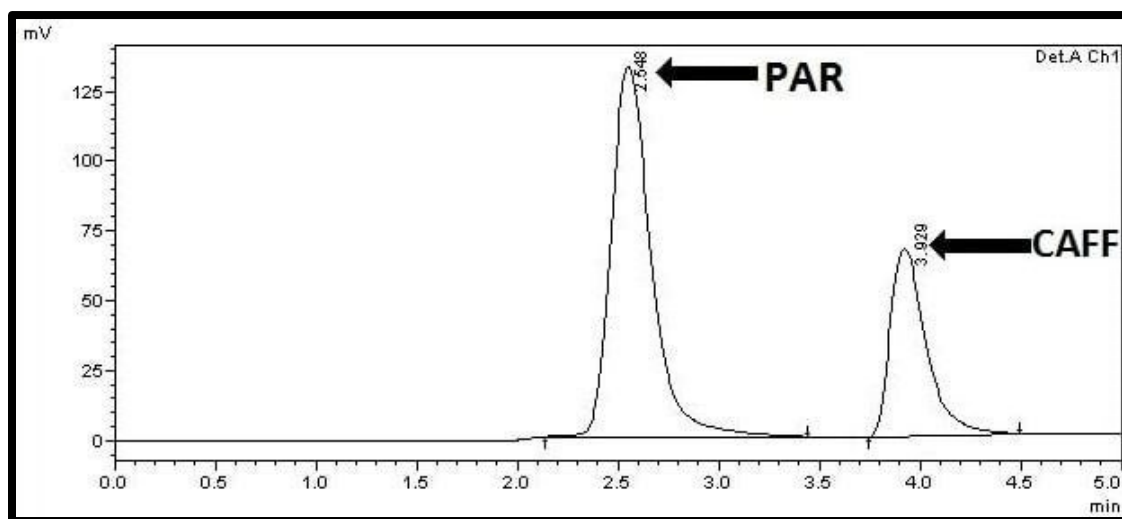
Parameter	Use Factor	Optimum Value
Mobile phase	%80H ₂ O+%20MOH	%60H ₂ O+%40MOH
	%60H ₂ O+%40MOH	
pH	3	3
	4	
	5	
Flow rate (ml/min)	0.8	1.2
	1.0	
	1.2	
Wavelength (nm)	235	270
	254	
	270	



الشكل 3-3 : يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلول الكافاينين القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى



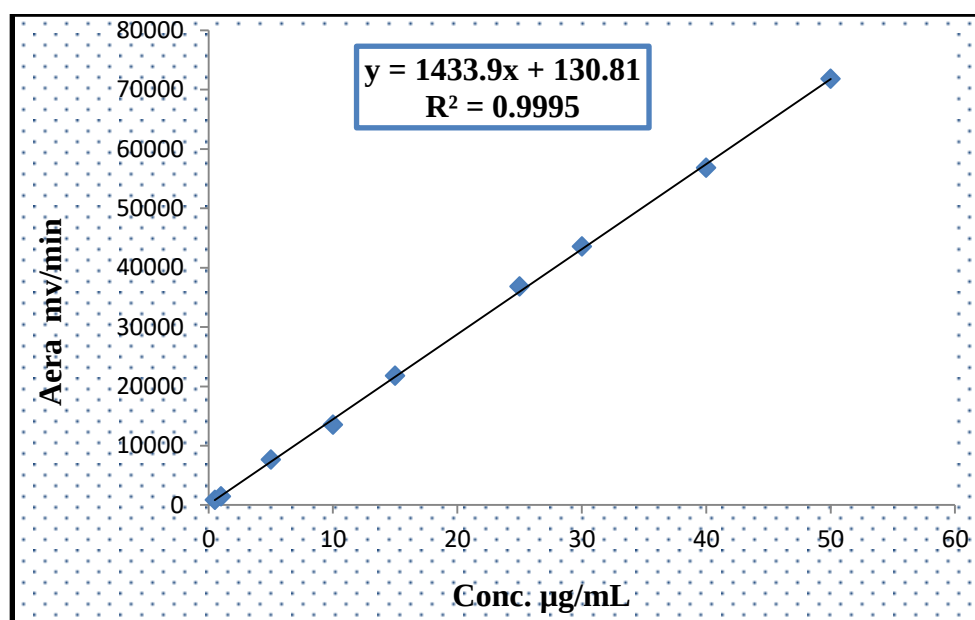
الشكل 3-4 : يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلول الباراسيتامول القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى



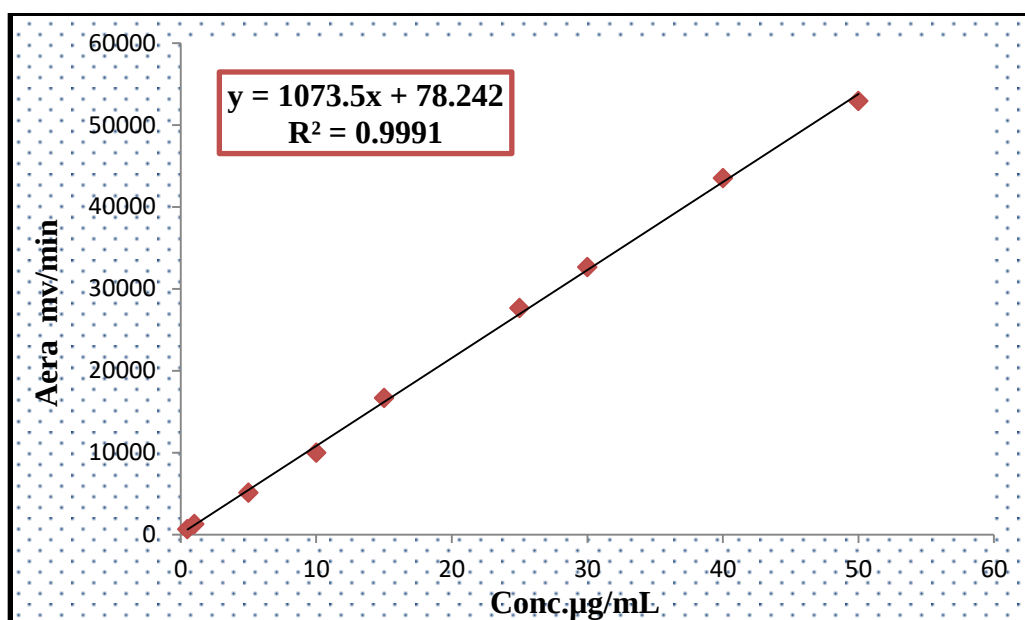
الشكل 3-5 : يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلول المزيج (الباراسيتامول والكافيين) القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى

2.2.1.3 منحنى المعايرة للعقاقير قيد الدراسة Calibration Curve for study Drugs

تم اجراء هذه الدراسة على وفق طريقة العمل ولغرض اعداد منحنى المعايرة القياسي لتقدير العقاقير، حضرت سلسلة من المحاليل تراوحت تراكيزها ضمن مدى التراكيز (1 - 50) مكغم/مل، وتم حقن حجم (10) مايكروليتر من المحلول القياسي بتراكيز مختلفة على عمود منظومة الـ HPLC واستخدمت الظروف الفضلى التي تم تثبيتها من التجارب السابقة. تم الحصول على المنحنى القياسي من رسم العلاقة بين التركيز المعلوم و مساحة القمة عند طول موجي المنتخب (270) نانومتر. اذ وجد ان مدى التركيز الذي يطيع قانون لا مبرت - بير هو (1 - 50) مكغم/مل للعقارين. يوضح الشكل (3 - 6) منحنى المعايرة لعقار الباراسيتامول باستخدام الظروف المثلى. كانت قيم معامل الارتباط r المستحصلة هي (0.9995) الذي يشير الى وجود علاقة بين المساحة تحت القمة والتركيز المقاس في ضمن حدود المدى الخطي. وان قيمة حد الكشف والحد الكمي LOD و LOQ على التوالي (0.01) و (0.033) للباراسيتامول. يوضح الشكل (3 - 7) المنحنى القياسي للكافيين باستخدام الظروف المثلى. كانت قيم معامل الارتباط (r) المستحصلة هي (0.9991) وكانت القيم لحد الكشف والحد الكمي هي (0.05) و (0.165) بالنسبة للكافيين. بينما يوضح الجدول (2-3) النتائج الاحصائية المستحصلة للمنحنى القياسي.



الشكل 3 - 6 : منحنى المعايرة للباراسيتامول باستخدام (RP-HPLC)

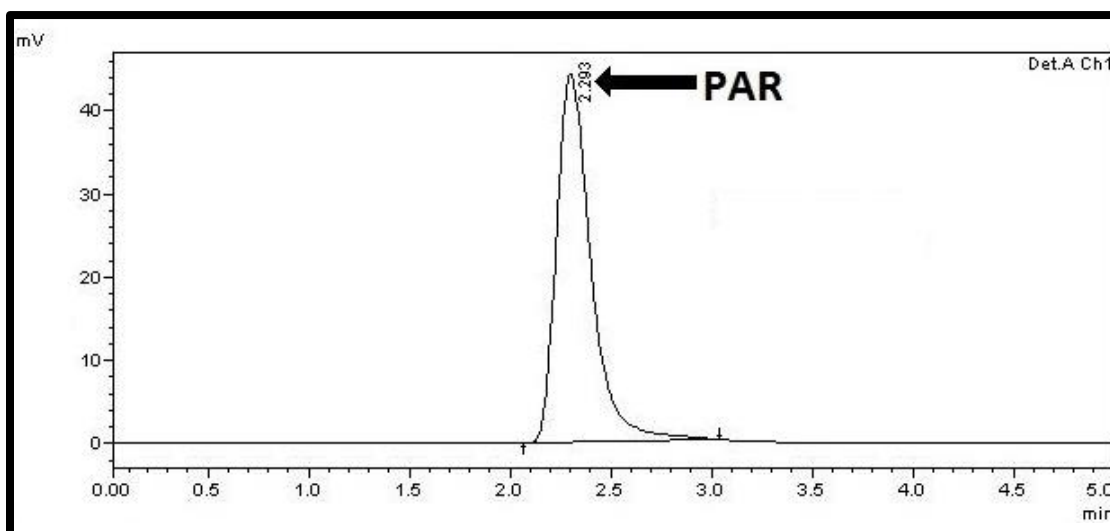


الشكل 3 - 7 : منحنى المعايرة لل كافاين باستخدام (RP-HPLC)

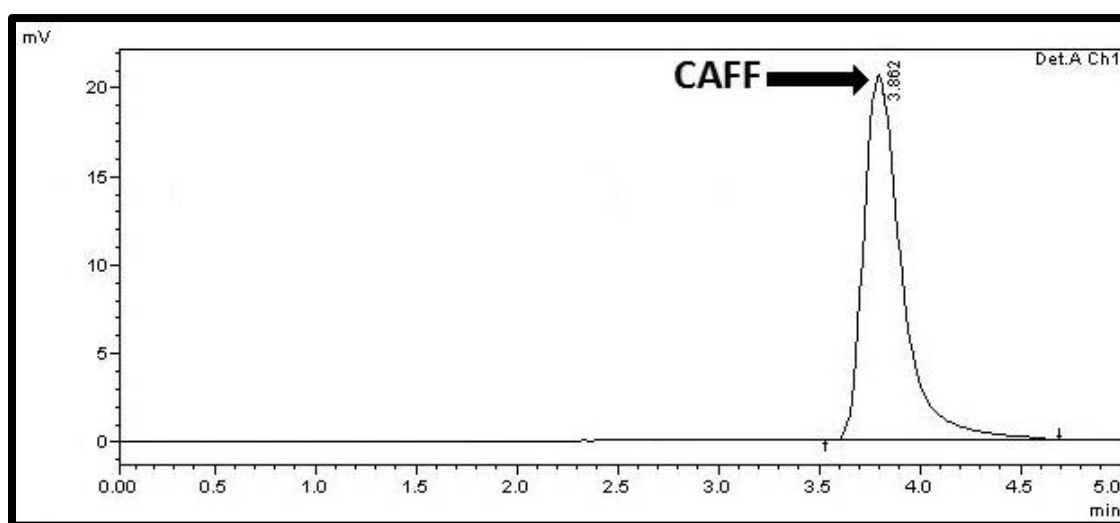
الجدول 2-3: الاحصائيات التحليلية المستحصلة من منحنيات المعايرة

Statistical factors	Value	
	Paracetamol	Caffeine
Linear equation	$Y=1433.9x + 130.81$	$Y=1073.5x + 78.242$
Slope (m)	1433.9	1073.5
Intercept	130.81	78.242
Correlation of Linearity R^2	0.9995	0.9991
Percentage linearity ($R^2\%$)	% 99.95	% 99.91
Correlation Coefficient (r)	0.9997	0.9995
"R.S.D."	0.11	0.13
"LOD" $\mu\text{g/mL}$	0.01	0.05
"LOQ" $\mu\text{g/mL}$	0.033	0.165
Linearity range $\mu\text{g/mL}$	1-50	1-50

توضح الاشكال (3 - 8) و (3 - 9) شكل قمة الباراسيتامول عند التركيز (15) مكغم\ملتر ضمن منحنى المعايرة والكافيين عند التركيز (10) مكغم\ملتر ضمن منحنى المعايرة.



الشكل 3-8 : يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلول الباراسيتامول القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى تركيز (15)مكغم/ملتر ضمن منحنى المعايرة.



الشكل 3-9 : يبين شكل القمة وزمن الاحتجاز لمحلول الكافيين القياسي عند تطبيق الظروف الفضلى تركيز (10)مكغم/ملتر ضمن منحنى المعايرة.

3.2.1.3. دقة الطريقة وضبطها Method accuracy and precision

نفذت هذه الطريقة بحسب طريقة العمل المذكورة في الفقرة (3.2.5.2) لغرض معرفة الدقة والضبط للطريقة المستحدثة. تم تلخيص النتائج التي تم الحصول عليها في الجدول (3 - 3) والتي تبين ان الطريقة ذات دقة وضبط جيدين حيث عبر عن الضبط بدلالة النسبة المئوية للانحراف القياسي التي تراوحت (0.08% - 0.21%) وكذلك بالنسبة الى الدقة التي عبر عنها بالنسبة المئوية للخطأ النسبي والتي تراوحت بين (0.42- 2.25%) للعقاقير المستخدم في الدراسة. وكان معدل الاستردادية لثلاث تراكيز قياسية للعقار هي (99.34 - 99.94%).

الجدول 3 - 3 : يبين نتائج الدقة والضبط المستحصلة للعقاقير القياسية بطريقة RP-HPLC

Paracetamol µg/mL		% Recovery		%Error	R.S.D n =3
Taken	Found				
12	12.05	100.42	Mean =99.34	0.42	0.21
22	21.97	99.86		S.D. =1.407	-0.14
44	43.01	97.75			-2.25
Caffeine µg/mL		% Recovery		% Error	R.S.D n =3
Taken	Found				
7	6.99	99.86	Mean =99.94	-0.14	0.08
19	19.03	100.16		S.D. =0.189	0.16
27	26.95	99.81			-0.19

4.2.1.3. دراسة حد الكشف Studying limit of detection

تم إنجاز هذه الدراسة وحسب طريقة العمل المذكورة في الفقرة (4.2.5.2) بطريقة التخفيف التدريجي لأقل تركيز في منحنى المعايرة وقياس المساحة لغرض حساب حد الكشف للطريقة المقترحة إذ تم حقن (10) مايكروليتر من محلول العقار قيد الدراسة. تم تلخيص النتائج بالجدول رقم (3 - 4) وتبين بوضوح إن حد الكشف للباراسيتامول هو (0.01) وقيمة المساحة تحت القمة (145)، وحد الكشف للكافيين هو (0.05) وقيمة المساحة تحت القمة هي (132).

الجدول 3 - 4 : يوضح قيم حد الكشف للعقاقير قيد الدراسة

Conc. µg/mL	Area	
	PAR	CAFF
0.500	847	615
0.100	274	186
0.050	203	132
0.010	145	

5.2.1.3. تطبيق الطريقة في تقدير المستحضرات الصيدلانية

Application of the method for the determination of Pharmaceutic preparations

تم هذا التطبيق كما موضح بحسب طريقة العمل في الفقرة (5.2.5.2) لغرض تقدير العقاقير قيد الدراسة في المستحضرات الصيدلانية. طبقت هذه الطريقة على خمسة عشر نموذج ومن شركات مختلفة و تم حساب توافق ودقة الطريقة المستخدمة على المستحضرات الصيدلانية باستعمال الانحراف القياسي المئوي (R.S.D%) التي كانت قيمته تراوحت بين (0.11% - 0.21%) فيما تراوحت نسبة الاستردادية المئوية بين (99.65% - 100.02%) للمستحضرات الصيدلانية الحاوية على الباراسيتامول والكافيين. الجدول (3 - 5) يبين الشركة المصنعة والنتائج المستحصلة والتي تظهر

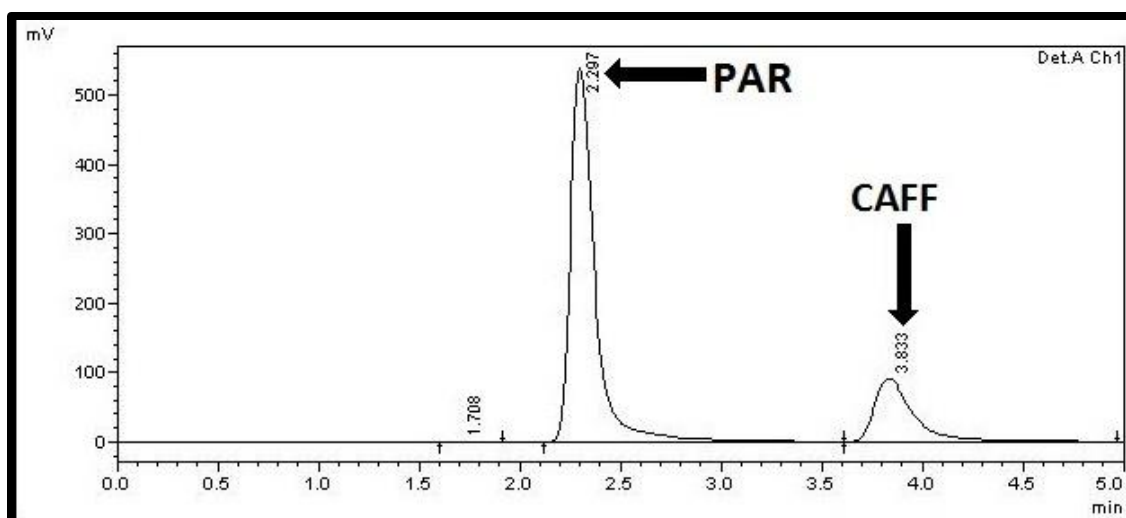
دقة وكفاءة ونجاح الطريقة المقارنة في تقدير العقاقير في المستحضرات الصيدلانية بينما بينت الاشكال (5-3) – (3 – 19). اشكال القمم للمستحضرات الصيدلانية الحاوية على الباراسيتامول والكافيين.

الجدول 3 – 5 : يبين النتائج المستحصلة للمستحضرات الصيدلانية للادوية بشكل مزيج

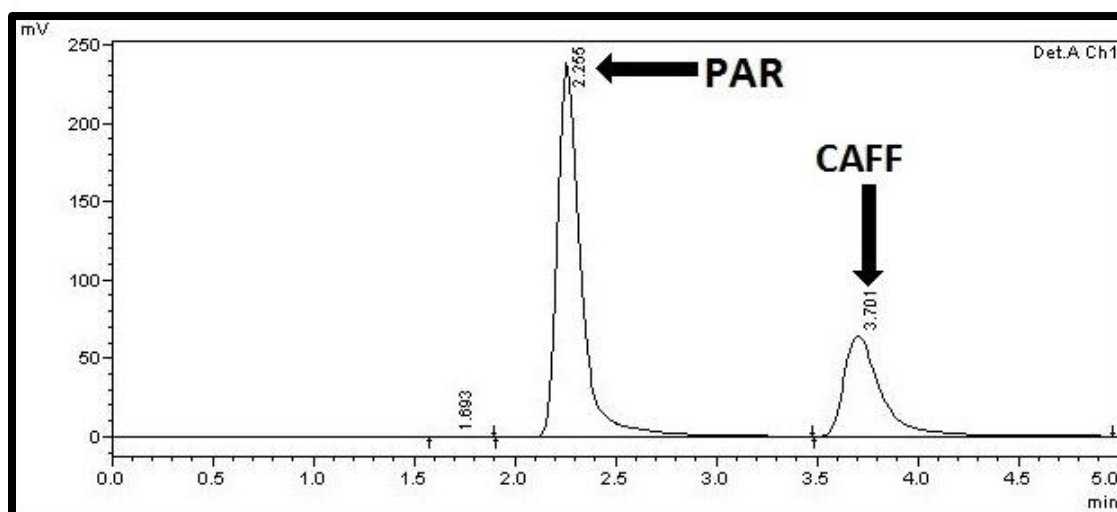
تجاري بطريقة (RP-HPLC)

Drugs name	Drug Type	Label Claim mg/ tab.	Mean amount found mg/tab.	% Mean amount found	R.S.D n=3
Extra Piodol	PAR	500	499.95	99.99	0.22
	CAFF	65	65.15	100.23	0.16
PANALGIC	PAR	500	497.50	99.50	0.21
	CAFF	50	49.87	99.73	0.13
SADOL Extra	PAR	500	499.9	99.98	0.28
	CAFF	65	64.90	99.85	0.52
NYgen	PAR	500	498.25	99.65	0.15
	CAFF	20	20.01	100.03	0.63
Panadol Extra	PAR	500	495.00	99.00	0.18
	CAFF	65	64.64	99.45	0.43
TYLOL PLUS	PAR	500	500.60	100.12	0.39
	CAFF	30	29.89	98.62	0.24
Algidol extra	PAR	500	493.10	99.27	0.13
	CAFF	65	65.10	100.16	0.22
ACETAML	PAR	500	500.35	100.07	0.31
	CAFF	65	63.28	97.35	0.11
Paracetamol extra	PAR	500	497.50	99.50	0.15
	CAFF	65	64.98	99.97	0.25
Samadol extra	PAR	500	482.25	96.45	0.22
	CAFF	65	65.05	100.08	0.13

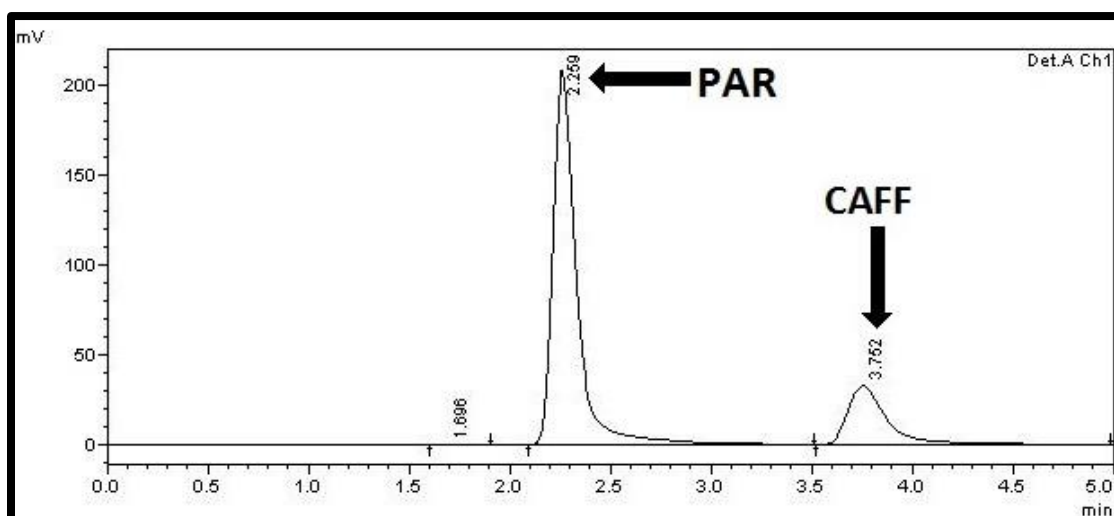
Fevadol	PAR	500	496.40	99.28	0.41
	CAFF	65	64.94	99.91	0.33
Adol	PAR	500	500.85	100.17	0.30
	CAFF	65	64.92	99.88	0.21
ADOLOR EXTRA	PAR	500	497.05	99.41	0.44
	CAFF	65	65.02	100.03	0.25
Panadol gsk	PAR	500	500.75	100.15	0.17
	CAFF	65	64.95	99.93	0.21
Panadol extra	PAR	500	496.50	99.30	0.26
	CAFF	65	64.95	99.92	0.13



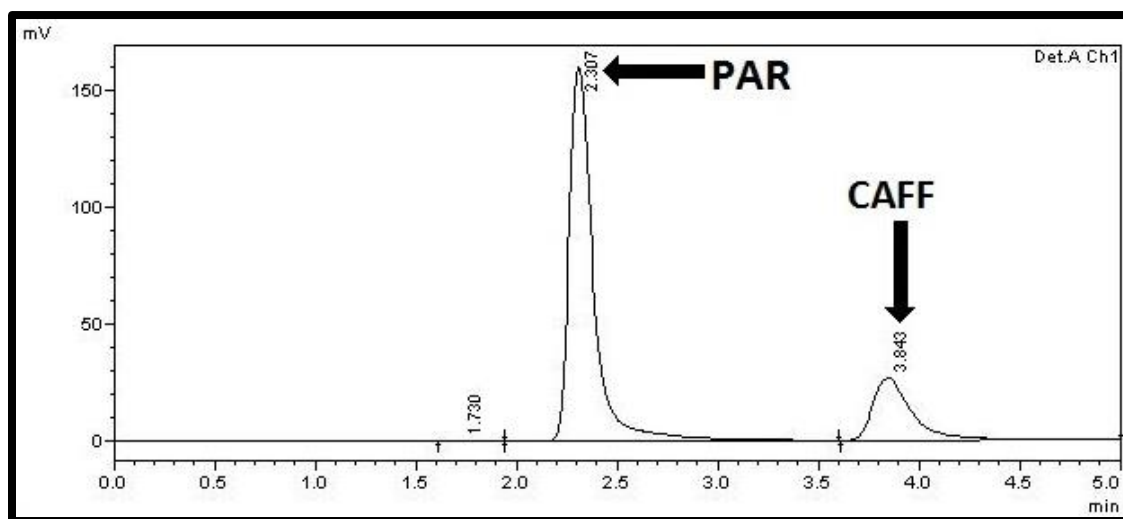
الشكل 3- 10 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (Sadol – Extra)



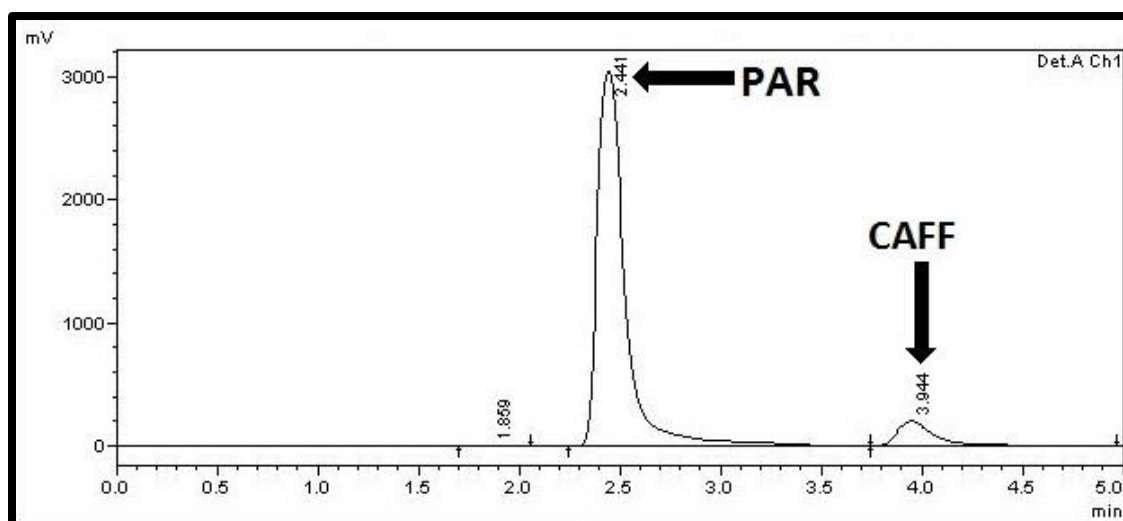
الشكل 11-3 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (Samadol – Extra)



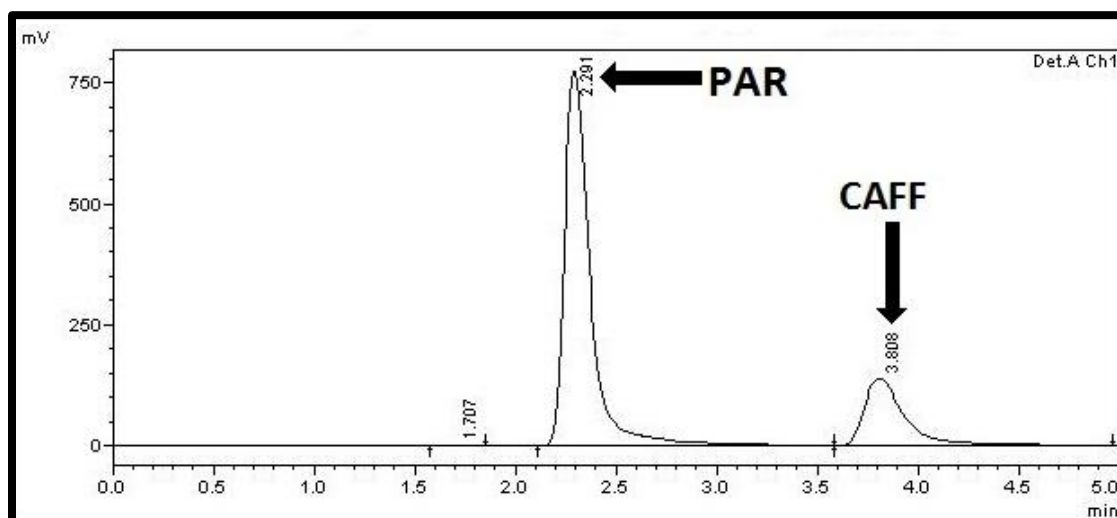
الشكل 12-3 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (ACETAM)



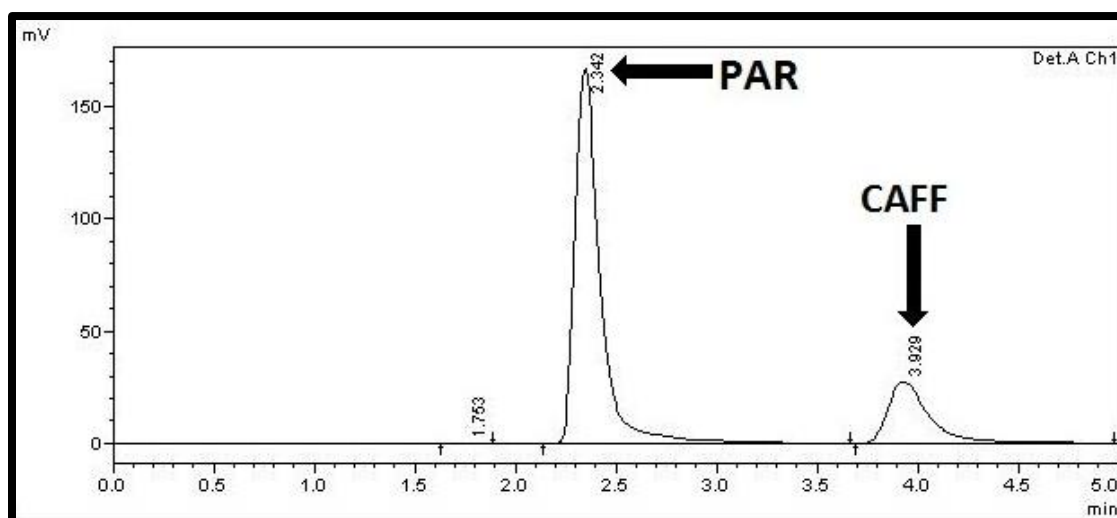
الشكل 13-3 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (adol)



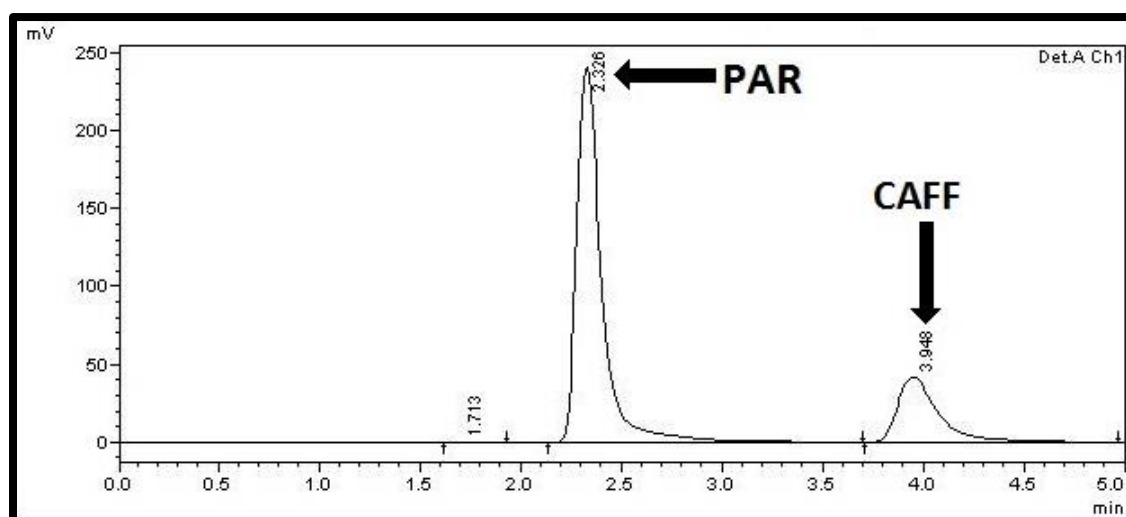
الشكل 14-3 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (ADOLOR – EXTRA)



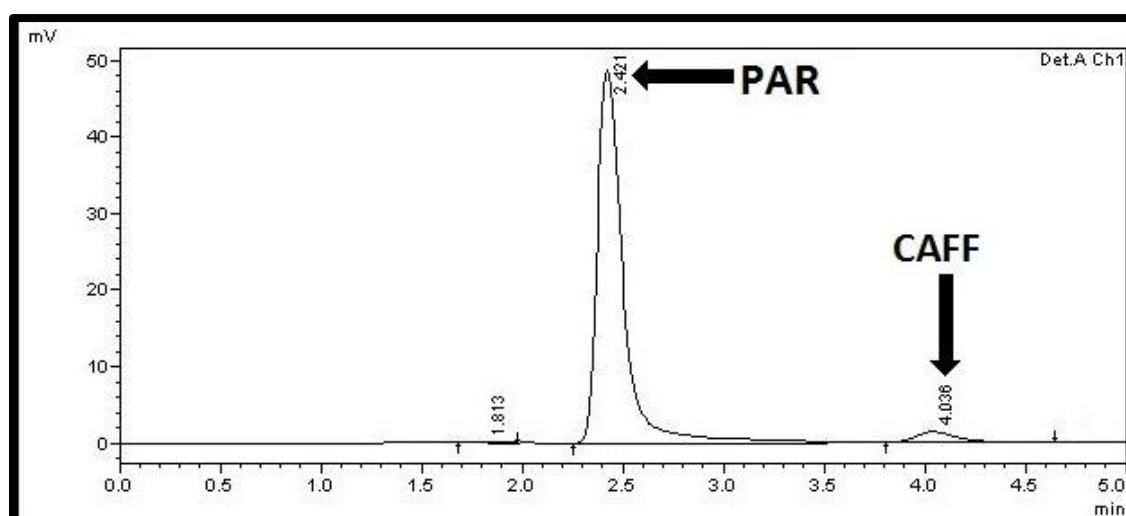
الشكل 3-15 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (Algidol – Extra)



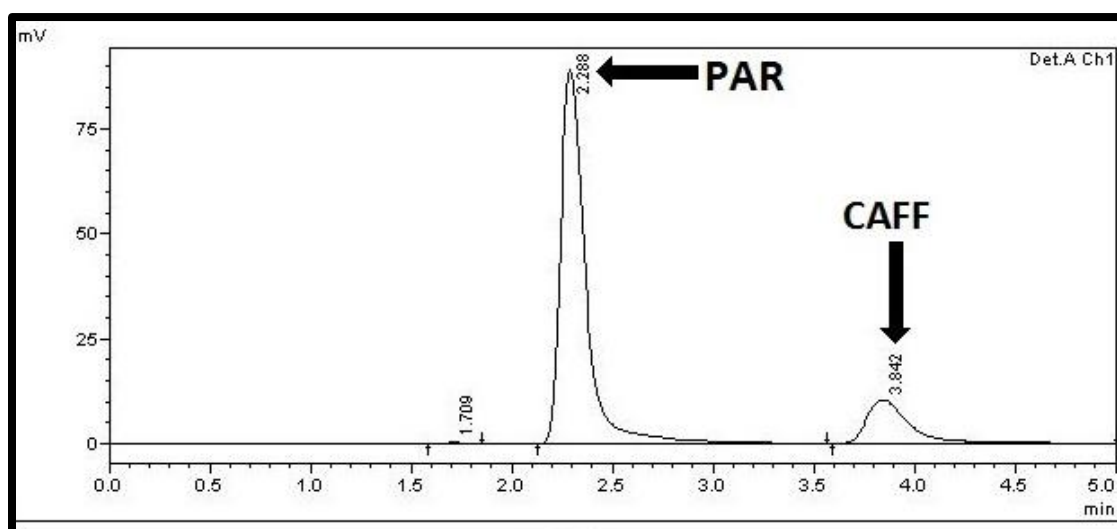
الشكل 3-16 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (Extra – Piodol)



الشكل 3-17 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (Fevadol)



الشكل 3-18 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (NYgen)



الشكل 3-19 : قمة المستحضر الصيدلاني لمزيج الادوية شركة (Panadol – Extra)

الجدول (3-6) يبين المقارنة بين النتائج المستحصلة عليها من الطريقة المقترحة والطريقة العالمية

Sample	Drug Sample	NEW Method				Official Method			
		%Recovery	RSD	LOD	LOQ	%Recovery	RSD	LOD	LOQ
1	Paracetamol	99.34	0.11	0.01	0.033	98.12	0.36	317.15	961.08 ⁽¹⁴⁷⁾
2	Caffeine	99.94	0.13	0.05	0.165	99.33	0.19	14.51	43.98 ⁽¹⁴⁷⁾

Statistical Attached

الملحق الاحصائي

1 - الانحراف القياسي SD

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$\bar{x} = \text{الوسط الحسابي}$$

$$X_i = \text{القراءات}$$

$$n = \text{عدد القراءات}$$

2 - الانحراف القياسي النسبي RSD %

$$\text{RSD \%} = \frac{S}{\bar{x}}$$

$$\bar{x} = \text{الوسط الحسابي}$$

$$S = \text{الانحراف القياسي}$$

$$\text{L.O.D} = \frac{3 \times SD}{\text{slope}}$$

$$\text{L.O.Q} = \frac{10 \times SD}{\text{slope}}$$

SD = الانحراف القياسي لقياسات البلائك

Slope = الميل

4- الخطأ النسبي % E r

$$E_{rel} \% = \frac{AE}{T} \times 100$$

T = القيمة الحقيقية

الخطأ المطلق وهو الفرق بين القيمة التحليلية والقيمة

AE = الحقيقية للتركيز

$$Rec \% = \frac{X_i}{u} \times 100$$

5 – الاسترجاعية المنوية Recovery

Xi = النتيجة التحليلية للتركيز

u = النتيجة الحقيقية للتركيز

6- معامل الامتصاص المولاري (لتر . مول⁻¹ . سم⁻¹)

$$\xi = M.wt \times Slope \times 1000$$

=الوزن الجزيئي للمادة المراد تقديرها (غم/مول)

الاستنتاجات

Conclusion

- 1 - أظهرت الدراسة التي أجريت لتقدير عقاري الباراسيتامول والكافائيين بصورتهم النقية وفي مستحضراتهما الصيدلانية بأن الطريقة سهلة وذات دقة عالية. باستعمال طريقة كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء إن الطريقة ذات دقة عالية في الحالة النقية وفي المستحضرات الصيدلانية .
- 2 - أظهرت النتائج المقارنة التي تم الحصول عليها من طريقة كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء مع طرائق تحليلية أخرى موجودة في المراجع، إنها متطابقة وضمن الحدود المقبولة.
- 3 - تم العمل على التقدير والفصل ضمن حرارة المختبر لذلك لا تحتاج إلى السيطرة على درجات الحرارة وأيضا استعمال مذيبيات عضوية رخيصة الثمن دون الحاجة إلى استعمال مذيبيات عضوية باهظة الثمن.

التوصيات

Recommendations

1. اقتراح طريقة تحليلية جديدة لتقدير عقاري الباراسيتامول والكافائيين في الحالة النقية وفي المستحضرات الصيدلانية.
2. إمكانية استعمال طريقة كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء لتقدير عقاقير أخرى.
3. إمكانية تطبيق الطريقة المقترحة لتقدير عقاري الباراسيتامول والكافائيين في الحالة النقية وفي المستحضرات الصيدلانية في مصل الدم.

1. Harvey, D. (2000). Modern analytical chemistry. Boston: McGraw-Hill Companies, Inc.
2. . Veronika R. Meyer, “practical High Performance Liquid Chromatography” (1988), 1st edition, John Wiley and Sons, New York, 25-27.
3. Gazdag M., Szepesi G. and Faban-Varge K., J. "Chromatography"(1988), 454, 107.
4. Gennaro M., Angelino S. and Gianotti V., J. "Analytical Chemistry", 27, 742-748.
5. Shen, Y., & Smith, R. D. (2002). Proteomics based on high-efficiency capillary separations. Electrophoresis, 23(18), 3106-3124.
6. Poole, C. F. (2018). Mark f. vitha: Chromatography: Principles and instrumentation.
7. Sihong C. and Eoin S.; "Chromatography and Instrumentation in Organic Chemistry", (2006), Center for Synthesis and Chemical Biology, University College Dublin; pp 5-30.
8. Latała, A., Stepnowski, P., Nędzi, M., & Mroziński, W. (2005). Marine toxicity assessment of imidazolium ionic liquids: acute effects on the Baltic algae *Oocystis submarina* and *Cyclotella meneghiniana*. Aquatic Toxicology, 73(1), 91-98.
9. Perrone, D., Donangelo, C. M., & Farah, A. (2008). Fast simultaneous analysis of caffeine, trigonelline, nicotinic acid and sucrose in coffee by liquid chromatography–mass spectrometry. Food chemistry, 110(4), 1030-1035.
10. Carr, P. W., Doherty, R. M., Kamlet, M. J., Taft, R. W., Melander, W., & Horvath, C. (1986). Study of temperature and mobile-phase effects in reversed-phase high-performance liquid chromatography by the use of the solvatochromic comparison method. Analytical chemistry, 58(13), 2674-2680.
11. Snyder, J. M., Frankel, E. N., Selke, E., & Warner, K. (1988). Comparison of gas chromatographic methods for volatile lipid oxidation compounds in soybean oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 65(10), 1617-1620

12. Scott, R. P. W., & Kucera, P. (1973). Rational series of solvents for use in incremental gradient elution. *Analytical Chemistry*, 45(4), 749-754.
13. Roe, F. J. C., Knowles, M. E., Crathorne, B., Fielding, M., & Jones, P. W. (1978). The determination of polycyclic aromatic hydrocarbons. In *Proceedings of the Analytical Division of the Chemical Society*, Royal Society of Chemistry, 148-159
14. https://en.wikipedia.org/wiki/High_performance_liquid_chromatography .This page was last edited on 2 January 2020, at 12:33 (UTC).
15. Coutre, J. E., Griffin, W. P., & Crisler, C. M. (1992). U.S. Patent No. 5,153,827. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
16. Malviya, R., Bansal, V., Pal, O. P., and Sharma, P. K. (2010). High performance liquid chromatography: a short review. *Journal of global pharma technology*, 2(5); PP 22-26.
17. Willard, H., Merritt, L., Dean, J. A., Settle Jr., F. A. (1988). *Instrumental Methods of Analysis*. 7th ed. USA: Wadsworth Publishing Co. 895 p. ISBN 534981445.
18. Martin, M., & Guiochon, G. (2005). Effects of high pressure in liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1090(1-2), 16-38.
19. Bottegai, M. N. (2010). *The Development of High Performance Liquid Chromatography Systems for the Analysis of Improvised Explosives*, Florida International University; pp 17.
20. Sastry C. S. P., Prasad T. N. V. and Rao E. V. (1987). "Recent application of High Performance Liquid Chromatography in Pharmaceutical Analysis", *Indian. Pharm. Education*, 21, pp: 37-40.
21. Halasz, I., & Sebastian, I. (1969). New stationary phase for chromatography. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 8(6), 453-454.

22. Yamamoto, S., Nakanishi, K., & Matsuno, R. (1988). Ion-exchange chromatography of proteins. CRC Press.
23. Dolan, J. W. (2002). Temperature selectivity in reversed-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 965(1-2), 195-205.
24. Snyder, L. R. (1968). The role of dispersion interactions in adsorption chromatography. *Journal of Chromatography A*, 36, 455-475.
25. Ettre, L. S. (1993). Nomenclature for chromatography (IUPAC Recommendations 1993). *Pure and Applied Chemistry*, 65(4), 819-872.
26. Wilchek, M., Miron, T., & Kohn, J. (1984). [1] Affinity chromatography. In *Methods in enzymology* (Vol. 104, pp. 3-55). Academic Press
27. David G. Watson.(2005). *Pharmaceutical Analysis ,atextbook for Pharmacy Student and Pharmaceutical Chemistry .ELSEVIER Churchill Livingstone,2nd edition. Pag 306.*
28. Saleem Shaikh, M.S.Muneera , O.A.(2009).Thusleem. Chiral chromatography and its application to the pharmaceutical industry *E-Journal pharmaceutical review Vol. 7 issue.1*
29. Witkiewicz, Z. (1989). Application of liquid crystals in chromatography. *Journal of Chromatography A*, 466, 37-47.
30. WellingsD.A.(2006).Modes of chromatographic separation.In:*A Practical Handbook of Preparative HPLC*, Elsevier Ltd., Italy, , pp(29-31.)
31. Malviya, R., Bansal, V., Pal, O. P., and Sharma, P. K. (2010). High performance liquid chromatography: a short review. *Journal of global pharma technology*, 2(5); pp 22-26.

32. Christie, W. W., Gill, S., Nordbäck, J., Itabashi, Y., Sanda, S., and Slab as, A. R. (1998). New procedures for rapid screening of leaf lipid components from Arabidopsis. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 9(2); pp 53-57.
33. Yashin, Y. I., and Yashin, A. Y. (2004). Analysis of food products and beverages using high-performance liquid chromatography and ion chromatography with electrochemical detectors. *Journal of Analytical Chemistry*, 59(12); pp 1121-112.
34. Legallais, C., Vijayalakshmi, M. A., and Moriniere, P. (2002). Bio chromatography and biomedical applications. *Bio chromatography Theory and Practice*. London: Taylor and Francis; pp 496-517.
35. Grosser, Z. A., Ryan, J. F., and Dong, M. W. (1993). Environmental chromatographic methods and regulations in the United States of America. *Journal of Chromatography A*, 642(1-2); pp 75-87.
36. Zumdahl ,S.,S. And Zumdahl, S.A. (2000). "Chemistry". 5TH Edn., Houghton Mifflin Company, New York, Pp(17-18)
- 37.. Beckett A., H. And Stenlake J., B. (2002)."Practical Pharmaceutical Chemistry: Ultraviolet-Visible Absorption Spectrophotometric".4TH Edition, A&C Black, In Tech Europe, Pp(275-278)
38. Skoog, D. A., Holler, F. J., and Crouch, S. R. (2007). *Principles of instrumental analysis*, 6ed; pp 336-8, 371-4.
39. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., and Crouch, S. (2013) "Fundamentals of analytical chemistry ", 9 th Ed , USA : Mary Finch; pp 650-659.
40. Christian, G. D. (2004), "Analytical Chemistry", 6th Ed , New York: John Wiley and Sons, INC. ; pp 327, 332.

41. Harris, D . C. (2007), " Quantitative Chemical Analysis ", 7th Ed , USA : Craig Bleyer ; pp 89378-3.
42. Robinson, J.W., Frame, E.M. and Frame, G.M.(2005) , "Undergraduate Instrumental Analysis ", 6th Ed, New York: Marcel Dekker ; pp 76-79
43. Braslavsky, S.E., Houk, K.N. and Verhoeven, J. W.(2005), "Glossary of terms used in photochemistry",3rd Ed, IUPAC ;pp15-16
44. Pavia, D. L., Lamp man, G. M., Kriz, G. S., and Vyvyan, J. A. (2014), " Introduction to spectroscopy", Cengage Learning; pp 579, 580.
45. Khan, F. M., & Gibbons, J. P. (2014). Khan's the physics of radiation therapy. Lippincott Williams & Wilkins.
46. Harris, D . C. (2007), " Quantitative Chemical Analysis ", 7th Ed , USA
47. Sharma, B. K. (2000). "Instrumental methods of chemical analysis", Krishna Prakash an Media; p 68-190.
48. Qian, L. B., Li, P. F., Jin, B., Jin, D. K., Song, G. Y., Zhang, Q., ... & Mueller, A. M. (2017). Transmission of electrons through the conical glass capillary with the grounded conducting outer surface. Wuli xuebao, 66(12).
49. Keerthisinghe, D., Dassanayake, B. S., Wickramarachchi, S. J., Stolterfoht, N., & Tanis, J. A. (2016). Transmission of electrons through insulating PET foils: Dependence on charge deposition, tilt angle and
50. Pandey, M. M., Jaipal, A., Kumar, A., Malik, R., and Charde, S. Y. (2013). Determination of pKa of felodipine using UV–Visible spectroscopy. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 115; pp 887-890

51. Yousry M. Issa .(2000). 1st Conference on Chemistry Organized by the Department of Chemistry, Cairounvi
52. Brown, J. Q., Vishwanath, K., Palmer, G. M., and Ramanujam, N. (2009). Advances in quantitative UV–visible spectroscopy for clinical and pre-cliniosical application in cancer. *Current opinion in biotechnology*, 20(1); pp 119-131
53. Perkampus, H. H. (2013). *UV-VIS Spectroscopy and its Applications*. Springer Science and Business Media; pp 75- 80
54. Raffa, R. B. (2001), "Pharmacology of oral combination analgesics: rational therapy for pain", *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics* , 26(4); pp 257-264.
55. Madni, A. U., Ahmad, M., Akhtar, N., and Usman, M. (2009), "New simultaneous High Performance Liquid Chromatographic method for determination of NSAIDs and opioid analgesics in advanced drug delivery systems and human plasma", *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 3(7); pp 158-163.
- 56." *Oxford Medical Dictionary*",(2002), Market House Book Ltd. , London
57. Hawkey, C. J., and Langman, M. J. S. (2003), "Non-steroidal antiinflammatory drugs: overall risks and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pump inhibitors", *Gut*, 52(4); pp 600-608
58. Chan, F. K. (2006)," Primer: managing NSAID-induced ulcer complications-balancing gastrointestinal and cardiovascular risks", *Nature Reviews, Gastroenterology and Hepatology*, 3(10); pp 563-573.
59. Silverstein, F. E., Faich, G., Goldstein, J. L., Simon, L. S., Pincus, T., Whelton, A., and Burr, A. M. (2000), "Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: the CLASS study: a randomized controlled trial" *JAMA*, 284(10); pp 1247-1255.
60. Hawkey, C. J., and Langman, M. J. S. (2003), "**Non-steroidal anti-inflammatory drugs: overall risks and management. Complementary roles for COX-2 inhibitors and proton pump inhibitors**", *Gut*, 52(4); p 600-608.

61. Whelton, A. (1999), " **Nephrotoxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: physiologic foundations and clinical implications**", The American journal of medicine, 106(5);p 13S
62. "Baby paracetamol asthma concern". BBC News. September 19, (2008). Retrieved september19.
63. Chhata V Sharma MB BS FRCA, Vivek Mehta FRCA MD FFPMRCA(2014), Paracetamol:mechanisms and updates, painQ Anaesthesia research centre,London EC1A 7BE UK E-mail:vivek.mehta@mac.com(for correspondence)
64. Olufemi, A. G., and Lawrence, O. A. (2013)," UV-Spectrophotometry and RP-HPLC methods for the simultaneous estimation of acetaminophen: Validation, comparison and application for marketed tablet analysis in South West, Nigeria", J. Chem. Pharm. Res, 5(5); pp 1-11.
65. Ashraful Islam, S. M., and Paul, P. K. (2011)," Validation of UV Spectrophotometric and RP-HPLC methods for the simultaneous analysis of Paracetamol and Aceclofenac in marketed tablets", International Journal of Pharmacy and Life Sciences, 2(12); pp 1267-1275.
66. Feng, X., Zhang, Q., Cong, P., and Zhu, Z. (2013), " Determination of the paracetamol degradation process with online UV spectroscopic and multivariate curve resolution-alternating least squares methods: comparative validation by HPLC", Analytical Methods, 5(19); pp 5286-5293.
67. Bennett, P. N., Brown, M. J. and Pankaj, Sh.(2012), " Clinical Pharmacology " ,11th Ed, China: Elsevier Ltd.
68. Behera, S., Ghanty, S., Ahmad, F., Santra, S., and Banerjee, S. (2012),"UV-visible spectrophotometric method development and validation of assay of paracetamol tablet formulation", Journal Analytical and Bioanalytical Techniques, , 3(12); pp 1656-1661.

69. Yousry M. Issa, Sayed I.M. Zayed, Ibrahim H.I. Habib. Simultaneous determination of ibuprofen and paracetamol using derivatives of the ratio spectra method. Arab J Chem. 2011;4:259-63.
70. Chhata V Sharma MB BS FRCA, Vivek Mehta FRCA MD FFPMRCA(2014), Paracetamol: mechanisms and updates, painQ Anaesthesia research centre, London EC1A 7BE UK E-mail: vivek.mehta@mac.com (for correspondence)
71. US FDA. January 13, 2011 FDA limits acetaminophen in prescription combination products; requires liver toxicity warnings Page accessed February 23, 2014.
72. Daly FF, Fountain JS, Murray L, Graudins A, Buckley NA (2008). "Guidelines for the management of paracetamol poisoning in Australia and New Zealand—explanation and elaboration. A consensus statement from clinical toxicologists consulting to the Australasian poisons information centres". Med J Aust 188 (5): 296301. PMID 18312195.
73. Khashab M, Tector AJ, Kwo PY (2007). "Epidemiology of acute liver failure". Curr Gastroenterol Rep 9 (1): 66–73. doi:10.1007/s11894-008-0023-x. PMID 17335680.
74. Derry CJ, Derry S, Moore RA (2012). "Caffeine as an analgesic adjuvant for acute pain in adults". Cochrane Database Syst Rev 3: CD009281. doi:10.1002/14651858.CD009281.pub2. PMID 22419343.
75. US FDA Page updated November 19, 2013 Using Acetaminophen and Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs Safely Page accessed February 23, 2014
76. Garcia Rodriguez LA, Hernandez-Diaz S (152000, ديسمبر). The risk of upper gastrointestinal complications associated with nonsteroidal anti-inflammatory

- drugs, glucocorticoids, acetaminophen, and combinations of these agents" *Arthritis Research and therapy*, 3:98.
77. Colas Chacartegui R, Temprano Gonzalez R, Gomez Arruza C, Munoz Cacho P, Pascual Gomez J (2005). " Abuse Pattern of analgesics in chronic daily headache: a study in the general population". *Rev Clin Esp*. 205(12):583-87. PMID 16527179.
 78. Schultz ST, Klonoff-Cohen HS, Wingard DL, Akshoomoff NA, Macera CA, jiM (2008). " Acetaminophen (paracetamol) use, measles-mumps rubella vaccination, and autistic disorder : the results of a parent survey . " *A utism* 12(3):-307.
 79. Hawkins LC, Edwards JN, Dargan PI (2007). "Impact of restricting paracetamol pack sizes on paracetamol poisoning in the United Kingdom: a review of the literature". *Drug Saf* 30 (6): 465–79. doi:10.2165/00002018-200730060-00002. PMID 17536874.
 80. Chhata V Sharma MB BS FRCA, Vivek Mehta FRCA MD FFPMRCA (2014), Paracetamol: mechanisms and updates, painQ Anaesthesia research centre, London EC1A 7BE UK E-mail: vivek.mehta@mac.com (for correspondence)
 81. Painkillers 'cause kidney damage. BBC News. November 23, 2003. Retrieved March 27, 2010.
 - 82.- Byrant, Bronwen; Knights, Katleen; Salerno, Evelyn (2007). *Pharmacology for health professionals*. Elsevier. p. 270. ISBN 9780729537872.
 83. "FDA limits acetaminophen in prescription combination products; requires liver toxicity warnings" (Press release). U. S. Food and Drug Administration (FDA). January 13, 2011. Retrieved January 13, 2011.
 84. " FDA Drug Safety Communication: Prescription Acetaminophen Products to be Limited to 325 mg Per Dosage Unit; Boxed Warning Will Highlight Potential for Severe.
 85. "Liver Failure". U. S. Food and Drug Administration (FDA). January 13, 2011. Retrieved January 13.

86. "Liquid paracetamol for children: Revised UK dosing instructions have been introduced". Mhra.gov.uk. Retrieved 2014-02-18.
87. Ahmed, M., & Noor, Q. (2017). Estimation of paracetamol, aspirin, ibuprofen, codeine and caffeine in some formulated commercial dosage using UV–spectroscopic method. *Eur J Pharm Med Res*, 4(7), 33-38.
88. Al-Obaidi, Z. M. J., Al Ani, A. A. E., Al-Juhaishi, A. M. R., & Hussein, A. N. (2019). A comparative study for the quantification of paracetamol in multicomponent oral solution employing standard addition method utilized in UV-Visible spectroscopy and RP-HPLC. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(2), 339-342.
- 89.. Sayed, M., Ismail, M., Khan, S., & Khan, H. M. (2015). A comparative study for the quantitative determination of paracetamol in tablets using UV- Visible spectrophotometry and high performance liquid chromatography. *Physical Chemistry*, 17(1), 1-5.
- 90..SOLANKI, P., PRACHI, S., & BOOB, S.(2012) RP-HPLC METHOD FOR ESTIMATION OF PARACETAMOL FROM PHARMACEUTICAL FORMULATION FEBRINIL.
- .91. Palled, P. J., Dushyanth Reddy, V., & Mannor, V. S. (2017). Validated Isocratic/Gradient RP-HPLC for Simultaneous Estimation of Paracetamol Ibuprofen and Caffeine in Marketed Formulations Using Diclofenac as Internal Standard. *Anal Chem Ind J*, 17(1), 116.
92. . Allabasha Mumtaz, Mrs. Iffath Rizwana. Simultaneous estimation of paracetamol, ibuprofen and flemutin using the RP-HPLC method.(2015). *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, 2231-6876.

93. Itodo, A. U., & Onyinye, N. V. (2017). Comparative chromatographic and spectrophotometric methods for quantitative estimation of paracetamol in analgesic tablet dosage forms. *Science Journal of Analytical Chemistry*, 5(6), 98.
94. Narayanan, V. L., & Austin, A. (2016). Determination of acetaminophen and caffeine using reverse phase liquid (RP-LC) chromatographic technique. *J Res Pharm Sci*, 3, 5-10.
95. Patel Twinkle, K., & Meshram Dhananjay, B. (2015). Development and validation of high performance thin layer chromatography for estimation of mefenamic acid, paracetamol and dicyclomine HCl in tablet dosage form. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 7(4), 361-364.
96. Sultan, M. (2014). Simultaneous HPLC determination and validation of amphetamine, methamphetamine, caffeine, paracetamol and theophylline in illicit seized tablets. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 294-298.
97. Madhusudan T. Bachute¹, S.V.Shanbhag.(2017). method development and validation by RP-HPLC for simultaneous estimation of Paracetamol, caffeine, phenylephrine and chlorpheniramine in tablet dosage form. *International Journal of Pharmacy & Technology*.
98. El-Zinati, A. M., & Abdel-Latif, M. S. (2015). Simultaneous determination of paracetamol and tramadol in pharmaceutical tablets by derivative UV-Vis absorption spectrophotometry. *Simultaneous determination of paracetamol and tramadol in pharmaceutical tablets by derivative UV-Vis absorption spectrophotometry*, 8(1).
99. Adupa, S., Adupa Sr, S. H., & Kalidindi, S. V. (2014). Simultaneous Estimation of Paracetamol, Caffeine and Propyphenazone in bulk and Pharmaceutical dosage form by RP-HPLC. *Journal of Pharmacy Research*, 8(3), 331-335.
100. Ahmed, M., & Noor, Q (2018). Simultaneous Spectrophotometric Determination Of Paracetamol And Codeine, *Eur, j . Pharm M ed Res*, 5(4), 11-15.
101. Gundala, U., Bonagiri, C., & Nayakanti, D. (2014). Simultaneous Estimation of Paracetamol and Tapentadol in Bulk and Pharmaceutical Formulation by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC). *IOSR J Pharmacy*, 4(6), 33-38.

102. BASHA, D. M., & REDDY, K. A. (2014) SIMULTANEOUS ESTIMATION OF MEFENAMIC ACID AND PARACETAMOL IN SUSPENSION FORM BY USING UPLC.
103. Neeli, S., & Katakam, S. K. (2014). Stability indicating RP-HPLC method development and validation of paracetamol, guaifenesin, ambroxol hydrochloride, phenylephrine hydrochloride and chlorpheniramine maleate in bulk and combined dosage form. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 3(9), 1215-1232.
104. Abdulbari, M. M., & Ihsan, M. S. (2013). Simultaneous determination and validation of chlorpheniramine maleate, acetaminophen, phenylpropanolamine hydrochloride and caffeine in tablet dosage form by using reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). *Int. J. Pharm. Sci*, 5, 666-670.
105. Afsaneh Nabi, Mohamad Saber Tehrani, Samaneh Farrokhzadeh, Naficeh Sadeghi, (2020). *Journal of Human, Health and Halal Metrics*:1(2):8-14.
106. Narwade, S. S. (2014). Qualitative and quantitative analysis of paracetamol in different drug samples by HPLC technique. *J. Appl. Chem*, 7(8), 46-49.
107. J. T. Franeta, D. Agbaba, S. Eric, S. Pavkov, M. Aleksic, S. Vladimirov. (2002). HPLC assay of acetylsalicylic acid, paracetamol, caffeine and phenobarbital in tablets, J. T. Franeta, 11 *Farmaco* 57(2002)709-713.
108. Rushikesh Bandelwar, Atul Nikam, Sanjay Sawant, (2013), Analytical method development and validation of Phenylephrine Hydrochloride, Chlorpheniramine Maleate, Paracetamol and Caffeine in bulk Drug and Tablet dosage form by RP-HPLC. *Indo American Journal of Pharm Research*. 2013;3(2).
109. Florin SOPONAR, Dumitru STANILOAE, Georgeta MOISE, Balazs SZANISZLO AND Victor DAVID, (2013), SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PARACETAMOL, PROPYPHENAZONE AND CAFFEINE FROM PHARMACEUTICAL PREPARATIONS IN THE PRESENCE OF RELATED

SUBSTANCES USING A VALIDATED HPLC-DAD METHOD.
Rev.Roum.chim2013,58(4-5),433-440.

110.GemalAKAY,Ismail Tuncer DEGIM,Ahmet SAYAL,Ahmet AYDIN,Yalcin OZKAN,Husamettin GUL.(2008),Rapid and Simultaneous Determination of Acetylsalicylic Acid, Paracetamol, and their Degradation and Toxic Impurity Products by HPLC in Pharmaceutical Dosage Forms.Turk J Med Sci 2008;38(2):167-173.

111.Battu Prasanna Reddy, Reddy MS ,RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Paracetamol and ibuprofen in Tablets,Asian Journal of Research in Chemistry,2009, volume: 2 , issue: 1.

112.Sanda, B., Ganea, M., Moisa, C., and Caraban, A. (2015), "Method for quantitative determination caffeine from coffee", Analele Universității din Oradea, Fascicula: Ecotoxicologie, Zootehnie și Tehnologii de Industrie Alimentară, 14(B), 39-44.

113. GOPINANDHAN, T., BANAKAR, M., ASHWINI, M., and BASAVARAJ, K. (2014)," A COMPARATIVE STUDY ON CAFFEINE ESTIMATION IN COFFEE SAMPLES BY DIFFERENT METHODS", INTERNATIONAL JOURNAL OF CURRENT RESEARCH IN CHEMISTRY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES, 1(8); p 04-08.

114.. Armenta, S., Garrigues, S., and de la Guardia, M. (2005), " Solid-phase FT-Raman determination of caffeine in energy drinks" ,Analytica Chimica Acta, 547(2); p 197-203.

115. Atomssa, T., and Gholap, A. V. (2011), " Characterization of caffeine and determination of caffeine in tea leaves using uv-visible spectrometer", African Journal of Pure and Applied Chemistry, 5(1); p- 87. Shechter M., Shalmon G., Scheinowitz M.,

Koren-Morag N., Feinberg M. S., . Harats D, Sela B. A., Sharabi Y. and Chouraqui P., Am. J. Cardiol., 2011; 107: p 1255.

116. Shechter M., Shalmon G., Scheinowitz M., Koren-Morag N., Feinberg M. S., . Harats D, Sela B. A., Sharabi Y. and Chouraqui P., Am. J. Cardiol., 2011; 107: p 1255.

117. Barrès R., Yan J., Egan B., Treebak J. T., M. Rasmussen, T. Fritz, K. Caidahl, A. Krook, D. J. O'Gorman and J. R. Zierath, Cell Metab., 2012;15 : p405

118. Patil, P. N. (2012), " **Caffeine in various samples and their analysis with HPLC—a review**", Int J Pharm Sci Rev Res, 16(2); p 76-83.

119. National Institutes of Health ,Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, fourth edition, revised, American Psychiatric Association, Federal Emergency Management Agency, Surviving the Storm.

120. Caffeine", Webmd, Retrieved 17-7-2021. Edited

121. CAFFEINE, rxlist, Retrieved 17-7-2021. Edited.

122. Demiralay, E. C., Gümüştas, M., & Canbay, H. (2011). Validation of method for simultaneous determination of Paracetamol and Phenylephrine in pharmaceutical formulation by reversed phase liquid chromatography. *Pharmacie Globale International Journal of Comprehensive Pharmacy*, 9(6).

123. Escobar, S. C., Cubides, L. R., & Perez, C. P. (2017). Optimization and validation of a simple and fast RP-HPLC method for simultaneous determination of acetaminophen and caffeine in tablets. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 79(5), 731-739.
124. Chandra, R., & Sharma, K. D. (2013). Quantitative determination of paracetamol and caffeine from formulated tablets by reversed phase-HPLC separation technique. *Int*
125. Tsvetkova, B. G., Kostova, B. D., Rachev, D. R., Pelkova, L. P., & Pencheva, I. P. (2013). HPLC assay and stability studies of tablets.
126. Vu Dang,H, Truong Thi Thu,Dong Thi Hal. and Nguyen Mai, H.(2020).RP-HPLC and UV Spectrophotometric Analysis of Paracetamol, Ibuprofen, and Caffeine in Solid Pharmaceutical Dosage Forms by Derivative, Fourier, and Wavelet Transforms: Comparison Study. *Journal of analytical methods in chemistry*,2020.
127. Hawthorne, S. B., Miller, D. J., Pawliszyn, J., and Arthur, C. L. (1992)," **Solventless determination of caffeine in beverages using solid-phase microextraction with fused-silica fibers**" , *Journal of Chromatography A*, 603(1-2); p 185-191.
128. Verenitch, S. S., Lowe, C. J., and Mazumder, A. (2006), " **Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography–ion trap tandem mass spectrometry**" *Journal of Chromatography A*, 1116(1); p 193-203.
- 129 Sanghavi, B. J., and Srivastava, A. K. (2010), " **Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen, aspirin and caffeine using**

an in situ surfactant-modified multiwalled carbon nanotube paste electrode" *Electrochimica Acta*, 55(28); p 8638-8648.

130. Vichare, V., Mujgond, P., Tambe, V., and Dhole, S. N. (2010), "**Simultaneous spectrophotometric determination of paracetamol and caffeine in tablet formulation**", *International Journal of PharmTech Research*, 2(4); p 2512-2516.

131. Altun, M. L. (2002), "**HPLC method for the analysis of paracetamol, caffeine and dipyrone**", *Turkish Journal of Chemistry*, 26(4); p 521-528.

132. Kuldeep, D., Ritu, K., Prachi, K., Sunil, K., and Pratik, P. (2011), "**Spectrophotometric simultaneous analysis of paracetamol, propyphenazone and caffeine in tablet dosage forms**", *Int J Pharm Pharm Sci*, 3(3); p 170-174.

133. Senthuraman, S., Radhakrishnan, K., and Solomon, T. A. (2013), "**Analytical method development and validation of caffeine in tablet dosage form by using UV-spectroscopy**", *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*, 3(4); p 82-86.

134. Franeta, J. T., Agbaba, D., Eric, S., Pavkov, S., Aleksic, M., and Vladimirov, S. (2002), "**HPLC assay of acetylsalicylic acid, paracetamol, caffeine and phenobarbital in tablets**" *Il Farmaco*, 57(9); p 709-713.

135. Li, X., Simmons, R., and Mwongela, S. M. (2017), " **Two-Stage Course-Embedded Determination of Caffeine and Related Compounds by HPLC in Caffeine Containing Food, Beverages and (or) Related Products**", Journal of Laboratory Chemical Education, 5(2); p 19-25.
136. Amos-Tautua, W., and Diepreye, E. (2014), " **Ultra-violet spectrophotometric determination of caffeine in soft and energy drinks available in Yenagoa, Nigeria**", Adv J Food Sci Technol, 6(2); p 155-158.
137. NM, G., CC, N., YS, L., MD, M., and Gowekar, S. N. (2012), " difference spectrophotometric method for the estimation of caffeine citrate in bulk drug", international journal of pharmaceutical and chemical sciences, 1(1); p 311-313 .
138. Kuldeep, D., Ritu, K., Prachi, K., Sunil, K., and Pratik, P. (2011), " Spectrophotometric simultaneous analysis of paracetamol, propyphenazone and caffeine in tablet dosage forms", Int J Pharm Pharm Sci, 3(3); p 170-174.
139. Tarek S .Belal, Essam F. Khamis, Fawzy A EI Y azbi and Mohamed M. A. Hamdy,(2014), High Performance Liquid Chromatographic D etermination of the Ternary Mixture of Caffeine, Dipyrone and Drotaverine Hydrochloride in Tablets Dosage Form.
140. . Fernando J. Pereira,Aida Rodriguez-Cordero,Roberto Lopez,Luis C. Robles and A. J avier Aller,(2021), Development and Validation of an RP-HPLC-PDA Method for Determination of Paracetamol , Caffeine and Tramadol Hydrochloride in Pharmaceutical Formulations. Pharmaceuticals2021,14,466.

141. Fayyaz Ahmad, Patel H uzaifa, Sayyed Mukhim ,Umme Rumana, Patel Afroza, Ansari Yaasir Ahme. (2020),HPLC method Validation for determination of Caffeine in Bulk and Tablet dosage form as per IP,IJSPI,2020: ;Vol.1(1):28-34.
142. M.Radi, Y .Ramli , M. EI Karbane, S. Marzak, K. Bougrin, K. EI B ourkadi, F. Quazzani Chahdi, S. Issmaili, K. .Bakhous, A. Ben Ali.(2016), Validation of a Method for Simultaneous Determination of Acetaminophen and Caffeine by HPLC in Different Pharmaceutical Forms:Tablet, Capsule and Sachet, J. Mater. Environ. Sci.7(12)(2016) 4608-4613.
143. . Cathodically Pretreated Boron-Doped Diamond Eisele, A. P. P., Clausen, D. N., Tarley, C. R. T., Dall'Antonia, L. H., and Sartori, E. R. (2013), " Simultaneous Square-Wave Voltammetric Determination of Paracetamol, Caffeine and Orphenadrine in Pharmaceutical Formulations Using an Electrode", Electroanalysis, 25(7); p 1734-1741.
144. Dr. V. Lakshmi Narayanan, Dr. Anoop Austin,(2016), Determination of Acetaminophen and Caffeine using reverse phase liquid(RP-LC) chromatographic technique, Journal of Research in Pharmaceutical Science Volume 3-Issue 04(2016)pp:05-10.
145. P Naveen,HB Lingaraju, M Deepak,B Medhini, and K Shyam Prasad,(2018), Method Development and Validation for the Determination of Caffeine:An Alkaloid from Coffea Arabica by High-performance Liquid Chromatography Method, Pharmacognosy Res.2018 Jan-Mar,10(1):88-91.
146. Prashanta pokhrel,suraj Shrestha, som kanta Rijal, Krishna Prasad Rai,(2016), A simple HPLC Method for the Determination of Caffeine Content in Tea and Coffee, Journal of food Science and Technology Nepal,9,74-78.

147. Rushikesh Bandelwar, Atul Nikam, Sanjay Sawant, (2013), Analytical method development and validation of Phenylephrine Hydrochloride, Chlorpheniramine Maleate, Paracetamol and Caffeine in bulk Drug and Tablet dosage form by RP-HPLC.

Abstract

This study includes the use of method to estimate paracetamol and caffeine in pure form and in pharmaceutical preparations.

Estimation method: estimation using the method of high- performance liquid chromatography, in which solution was prepared for paracetamol ,caffeine as the drug was dissolved using the appropriate solvent(mobile phase),which is (water 60%, 40% methanol) at pH=3. The measurement was carried out using the UV Spectroscopy at a wavelength of(270)nm with flow rate of the mobile phase(1.2)ml/min and measurement time(6) min using aspiration column(0.46mm×15,5µm) C18. Where the retention time was at paracetamol (2.267), caffeine (3.778), detection limit quantitative limit for paracetamol (0.010,0.033), caffeine (0.050,0.165) Mg/ml ,Linearity of concentration ranged from (1-50)Mg/ml .The correlation coefficient R² obtained is (0.9995) for paracetamol,((0.9991),for caffeine and the recovery for three standard concentrations for each substance is (99.34)for paracetamol ,(99.94) for caffeine, and relative standard deviation was (0.11,0.13) for paracetamol, caffeine respectively. This method was used to estimate the substances under study in their pure state and in their pharmaceutical preparations.

**Ministry of Higher Education
And Scientific Research
University of Diyala
College of Education for Pure Science
Department of Chemistry**



Estimation of some medicines in their pharmaceutical preparation using HPLC

A Research

**Submitted to the Council of the College of Education for Pure
Science, University of Diyala in Partial Fulfillments of the
Requirements for the Degree of Higher Diploma**

By

**Sahar Murad Hussein
B.Sc. (1996)**

Supervised by

Prof. Dr. Ahmed Mahdi Saeed

1443A.H.

2021 A.D.