دراسة تحليلية لتحديد الأرتيكائين في المستحضرات باستخدام الكروموتوغرافية السائلة عالية الأداء

رغد قباني

قسم الكيمياء– كلية العلوم– جامعة حلب

الملخص

طورنا طريقة سريعة وحساسة ودقيقة تعتمد على تقانة الكروموتوغرافية السائلة عالية الأداء HPLC والمزودة بكاشف طيفي ضوئي وفوق بنفسجي لتحديد مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد كمادة خام أو في المستحضرات الدوائية. تتضمن الطريقة المطورة تحديد مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد باستخدلم عمود C_{18} وطور متحرك مؤلف من مزيج أسيتو نتريل وحمض الفوسفور (0.06M) بنسبة مزج حجمية (30:70)، وبمعدل تدفق 1 mL/min، وطول موجة الكشف 275 nm.

طبقنا الطريقة المقترحة من أجل تحديد الأرتيكائين هيدروكلوريد في بعض المستحضرات الدوائية وقد تمت جميع عمليات الفصل والتحديد بتباين تام ودقة وصحة للنتائج عاليتين. وكانت نتائج التحاليل المختلفة متطابقة وإلى حد كبير مع كمية مادة الأرتيكائين المصرح بها من قبل الشركة المصنعة للمستحضر.

الكلمات المفتاحية: أرتيكائين هيدروكلوريد ، HPLC.

ورد البحث للمجلة بتاريخ 2019/7/29

قبل للنشر بتاريخ 2019/8/27

High-Performance Liquid Chromatographic Analytical Study to Determine Articaine in Pharmaceutical Dosage Forms

Raghad Kabbani
Dept. of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Aleppo

Abstract

A rapid, accurate and highly sensitive liquid chromatographic method with ultraviolet detection for the determination of articaine hydrochloride in raw and pharmaceutical formulations was described. The developed method involves separation of sample component by C_{18} column, using a mixture of acetonitrile and phosphorus acid (0.06M) with volume percentage (70:30) as the mobile phase and flow rate are 1mL/min. Detection of Articaine hydrochloride was performed at 275 nm.

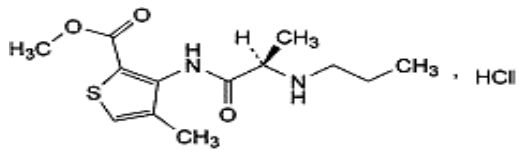
The proposed method was applied to the determination of articaine hydrochloride in pharmaceutical dosage forms. The separation and determination processes were characterized by a complete resolution and high precision accuracy for the results. The results of the various analysis were largely identical with the amount of articaine substance authorized by the manufacturer of the preparation**.**

Keywords: Articaine Hydrochloride, HPLC.

Received29 / 7/2019
Accepted27 / 8/2019

1- المقدمة:

أرتيكائين هيدروكلوريد عبارة عن بودرة بيضاء اللون، تذوب بالماء وبالمذيبات العضوية، نقاوتها ضمن المجال %(101 - 98.5) وزنها الجزيئي 320.8 g/mol ، صيغتها المجملة $C_{13}H_{20}N_2O_3S$. HCl، وصيغتها المنشورة موضحة بالشكل رقم (1)، وانحلاليتها 50 g/L. قيمة pH محلولها المائي ضمن المجال (5.2 - 4.2) و ثابت تشردها $pK_a = 7.8$ [1،2].



شكل (1): الصيغة المنشورة للأرتيكائين هيدروكلوريد.

يصنف الأرتيكائين هيدروكلوريد من العقاقير المخدرة موضعياً في طب الأسنان، كما يستخدم بشكل كبير في العديد من الدول الأوربية على شكل حقن، ويختلف عن غيره من المخدرات الموضعية كونه مشتقا من الثيوفين الذي لا يحتوي على حلقة بنزن كغيره من المركبات. يساعد هذا التركيب في بنيته على اختراق جدار العصب حتى نسبة 90% وبالتالي يعد مفعوله المخدر أكبر من العقاقير المشابهة [3].

تمت الموافقة عليه من قبل إدارة الأغذية والعقاقير الأمريكية [4].

درست طريقة تعتمد على كروموتوغرافية الغاز – طيف الكتلة الثاردي (GC/MS) لتحديد مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد سمحت للوصول إلى حد كشف بلغ 20 ng/ml [5].

تم تحديد الأرتيكائين هيدروكلوريد عام 2007 باستخدام تقانة HPLC، حيث استخدم الباحثون طورا متحركا من الأسيتو نتريل بالإضافة إلى هيبتان الصوديوم وواقٍ فوسفاتي بنسبة مزج حجمية (20:30:50)، أظهرت النتائج مجالا خطيا يتراوح مابين (400 - 4) µg/ml، طبقت الطريقة على ثلاثة تراكيز مختارة تقع ضمن المجال الخطي (منخفض ومتوسط ومرتفع)، كانت نتائج قيم الاسترداد للتراكيز الثلاثة المختارة على التوالي %(103.83 ± 0.85) ، %(101.26 ± 0.44) ، %(99.15 ± 0.31)،

أما نتائج الانحراف المعياري النسبي فبلغت 1.69%، 0.60% ، 0.21% على التوالي، وبالتالي كانت طريقتهم المقترحة بسيطة ودقيقة ويمكن تطبيقها في تحديد الأرتيكائين هيدروكلوريد بمستحضره الدوائي [6].

استخدم الباحث غويليوم Guillaume ورفاقه تقانة HPLC وطيف الكتلة ككاشف وتألف الطور المتحرك من الأسيتو نتريل وحمض النمل بنسبة مزج حجمية (60:40)، وتدفق الطور المتحرك بلغ 0.3 ml/min، تم تطبيق هذه الطريقة لتحليل الأرتيكائين هيدروكلوريد في البلازما [7].

كما تم تحديد الأرتيكائين وحمض ميتبوليت أرتيكائين في بلازما الدم البشري باستخدام تقانة HPLC وعمود C8 وطور متحرك مؤلف من واقٍ فوسفاتي وأسيتو نتريل بنسبة مزج حجمية (12:88) عند طول لموجة الكشف 274 nm [8].

تمت دراسة الأرتيكائين هيدروكلوريد بالطيف المغناطيسي النووي NMR من قبل ليغر Lygre و سونك Song [9] , ودرس الحد الأدنى لسمية الدواء في بحث من قبل ليوشنر Leuschner ولوبلان Leblanc [10].

2- أهمية البحث وأهدافه:

إن تحديد المواد الدوائية بمختلف الطرائق التقليدية والآلية يأخذ حيزاً واضحاً من الدراسات التي تجري في مجال الكيمياء التحليلية الدوائية، وذلك لأهمية الدواء وتأثيره المباشر في صحة الإنسان وأسلوب حياته، ونتيجة لتطور الصناعة الدوائية في قطرنا وازدياد عدد المنشآت التي تقوم عليها هذه الصناعة في القطاعين العام والخاص. برز الاهتمام بتطوير مراقبة جودة المنتجات الدوائية، عبر إجراء أبحاث تهتم بتحديد المركبات الدوائية إما كمادة فعالة أو كمستحضرات دوائية، مستخدمين طرائق تمتاز (إضافة لدقتها وحساسيتها) بالسهولة والسرعة والتكرارية وكونها اقتصادية ومتوفرة تضاف كطريقة جديدة مع الطرائق الأخرى الواردة في دساتير الأدوية.

بما أن جهود المنظمات الصحية الدولية وجهود الدول ومراكز البحوث العالمية تتركز على الاهتمام بجودة المنتج الدوائي وإخراجه بالشكل الأمثل، وإسهاماً في المشاركة في هذه الجهود فقد تركز هدف البحث على تحديد مادة الأرتيكائين

هيدروكلوريد بشكلها النقي وكذلك ضمن المستحضر الدوائي، آملين أن يساهم هذا البحث في رفد مراقبة المنتجات الدوائية بطريقة مطورة لاتقل أهمية عن الطرائق المعروفة.

3- القسم العملي:

الأجهزة والأدوات:

استخدمنا في هذا البحث جهاز كروموتوغرافية السائلة عالية الأداء من نوع SHIMADZU مزود بمضخة تحليلية نموذج LC-10 AD_{vp}، وكاشف يعمل في مجال الأشعة فوق البنفسجية نموذج SPD-10 A_{vp}، ووحدة تحكم نموذج SCL-10 A_{vp}. كما استخدمنا عمودا تحليليا ODS بأبعاد 25 cm × 4.6 mm صنع شركة Merck.

أما المواد المستخدمة في هذا البحث (أسيتو نتريل ، حمض الفوسفور) فكانت من النوع النقي تحليلياً والخاص بالكروموتوغرافية السائلة عالية الأداء صنع شركة Merck.

شروط العمل لتحديد مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد:

نعرض في الجدول رقم (1) الشروط الكروموتوغرافية التجريبية لجملة الطورين الساكن والمتحرك لتحديد مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد.

جدول (1): الشروط الكروموتوغرافية المطبقة من أجل فصل وتحديد مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد في بعض المستحضرات.

أبعاد العمود	25 cm × 4.6 mm
الحامل	Silica – ODS – 5 µm
درجة الحرارة	درجة حرارة الغرفة
تدفق الطور المتحرك	1 mL/min
الطور المتحرك	30% أسيتو نتريل و 70% حمض الفوسفور (0.06M)
طول موجة الكشف	275 nm
حجم الحقنة	20 µl

تحضير عياري أرتيكائين هيدروكلوريد:

وُزن بدقة 200 mg من مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد، ثم نُقل إلى دورق حجمي سعة 50 mL ثم مُدد إلى الحجم بالطور المتحرك، وُضع الدورق الحجمي في جهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة 20 min، ثم نُقل 2.5 mL من المحلول إلى دورق حجمي سعة 25 mL ثم مُدد بالطور المتحرك السابق حتى خط العيار ثم وُضع الدورق في جهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة 20 min، فحصلنا على تركيز لأرتيكائين هيروكلوريد يساوي 0.4 mg/ mL.

تحضير عينة المستحضر:

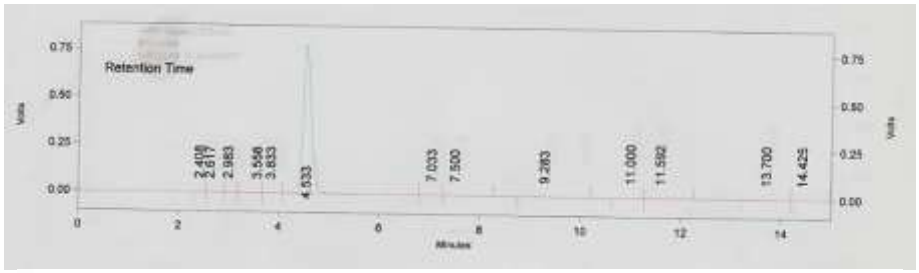
استخدمنا عينات من عدة تحضيرات لمستحضر رودوكائين فورت تصنيع شركة شمرا فارما، حيث تحوي كل كربولة (carpoule) مستحضر 68 mg/carp من مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد و 0.017 mg/carp من مادة الأدرينالين بالإضافة للعديد من السواغات ، مع العلم أن سعة الكربولة 1.7 mL.

نُقل بدقة 1 mL من الكربولة إلى دورق حجمي سعة 100 mL الحجمي ثم وُضع الدورق في جهاز الأمواج فوق الصوتية لمدة 20 min، فحصلنا على تركيز لمادة الأرتيكائين هيدروكلوريد يساوي 0.4 mg/ml.

طريقة العمل:

طبقنا الجملة الكروموتوغرافية المقترحة في الجدول رقم (1) لتحديد الأرتيكائين هيدروكلوريد على عينات دوائية مختلفة، حيث قمنا بتحليلها حسب الشروط المذكورة سابقاً ومن ثم حسبنا كمية مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد ضمن العينات المحللة. قارنا النتائج التي حصلنا عليها مع الكميات المصرح بها من قبل الشركة المنتجة.

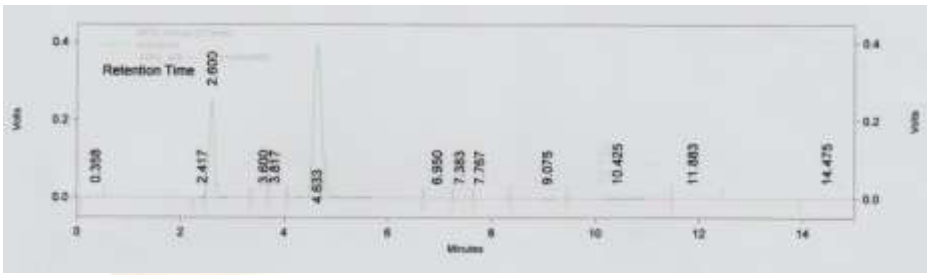
يوضح الشكل (1) الكروماتوغرام العياري الموافق لمادة الأرتيكائين هيدروكلوريد بتركيز 0.8 mg/ml، كما يبين الشكل (2) الكروماتوغرام الموافق لفصل وتحديد الأرتيكائين في أحد مستحضرات رودوكائين فورت.



SPD-10Avp (275nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	2.408	3206	0.036	451	0.057
2	2.617	1683	0.019	103	0.013
3	2.983	531	0.006	47	0.006
4	3.558	1546	0.018	123	0.016
5	3.833	3684	0.042	208	0.026
6	4.533	8775248	99.597	786846	99.750
7	7.033	2959	0.034	151	0.019
8	7.500	2397	0.027	107	0.014
9	9.283	6856	0.078	305	0.039
10	11.000	1208	0.014	58	0.007
11	11.592	2599	0.029	108	0.014
12	13.700	8322	0.094	295	0.037
13	14.425	504	0.006	19	0.002
Totals		8810743	100.000	788821	100.000

شكل (1): الكروموتوغرام العياري لمادة الأرتيكائين هيدروكلوريد.

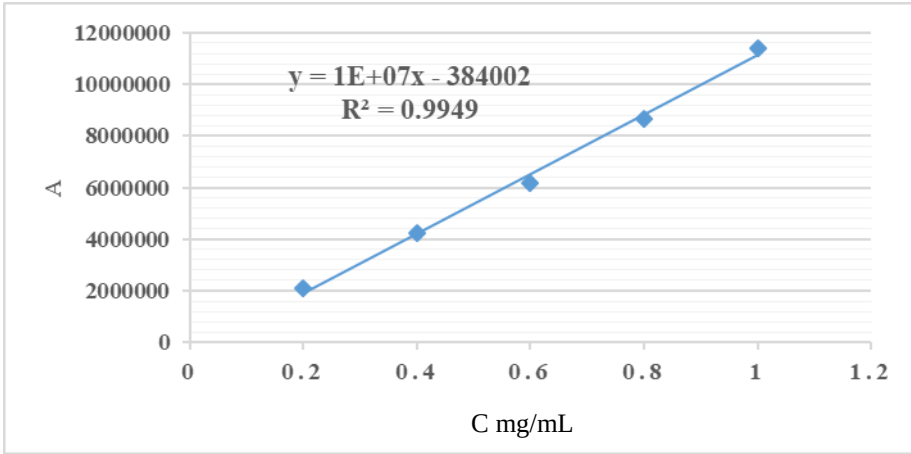


SPD-10Avp (275nm)

Pk #	Retention Time	Area	Area %	Height	Height %
1	0.398	2910	0.049	182	0.028
2	2.417	2992	0.050	482	0.074
3	2.600	1627172	27.449	252311	38.746
4	3.600	1692	0.029	97	0.015
5	3.817	1606	0.027	100	0.015
6	4.633	4248204	71.664	396774	60.930
7	6.950	3610	0.061	160	0.025
8	7.383	1814	0.031	93	0.014
9	7.767	2211	0.037	75	0.012
10	9.075	7245	0.122	286	0.044
11	10.425	20203	0.341	349	0.054
12	11.883	3072	0.052	118	0.018
13	14.475	5196	0.088	167	0.026
Totals		5927927	100.000	651194	100.000

الشكل رقم (2):الكروماتوغرام الموافق لفصل وتحديد 20 µl من مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد في أحد المستحضرات المدروسة : 1- مادة الأدرينالين، 2- مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد.

كما يوضح الشكل رقم (3) المنحني العياري الذي اعتمدناه في تحديد كمية الأرتيكائين هيدروكلوريد، و نعرض في الجدول رقم (2) المساحة المتوسطة لخمس حقنات متتالية لكل تركيز، والانحراف العياري المرتكب لمادة الأرتيكائين هيدروكلوريد.



شكل (3): المنحني العياري لمتوسط خمسة تراكيز من مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد.

جدول (2)– تراكيز السلسلة العيارية لخمس حقنات من مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد المنحلة في الطور المتحرك , المساحة الوسطية, والانحراف العياري.

	التركيز العياري C mg/mL	القيمة الوسطية لمساحة القمة	RSD %
1	0.2	2120120	1.2
2	0.4	4240200	2.3
3	0.6	6160330	1.9
4	0.8	8680440	2.7
5	1	11410550	1.4

اعتماداً على الشروط الكروموتوغرافية المعروضة في الجدول رقم (1), وعلى السلسلة العيارية الموضحة في الشكل رقم (3), قمنا بتحديد كمية مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد في مستحضر رودوكائين فورت ومقارنتها مع القيم المصرح بها من قبل الشركة المصنعة لهذا المستحضر، يوضح الجدول رقم (3) النتائج التي توصلنا إليها في المستحضرات المدروسة.

جدول (3): كمية الأرتيكائين هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية المحللة مقارنة مع القيم المصرح بها من قبل الشركة المصنعة.

رقم التحضيرة	الكمية المحددة mg/carp	الكمية المصرح بها mg/carp	النسبة المئوية %	RSD %
6200	67.2	68.0	98.8	1.3
6150	68.5		100.7	0.5
6210	69.7		102.5	1.9
6220	66.1		97.2	1.0
6130	69.2		101.7	1.7

4- النتائج والمناقشة:

تمكنا في هذا البحث من تحديد مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد بشكلها المنفرد أو بالمشاركة مع مواد أخرى(الأدرينالين) باستخدام تقانة HPLC، كما سمحت الطريقة بتحديد مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد كمادة أولية أو ضمن المستحضرات الصيدلانية.

كانت نتائج التحاليل المختلفة للعديد من تحضيرات المستحضر والمعروضة في الجدول (3) متطابقة وإلى حد كبير مع كمية مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد المصرح بها من قبل الشركة المصنعة لمستحضر رودوكائين فورت، مما يجعل الشروط الكروموتوغرافية المقترحة في الجدول رقم (1) مناسبة لفصل وتحديد هذه المادة بتباين جيد وصحة عاليتين.

أظهرت النتائج التحليلية عدم تجاوز تركيز مركب أرتيكائين هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية المدروسة %(95.0 - 105.0) وهيالحدود المسموح بها في دستور الأدوية الأمريكي USP [11].

يبين كروماتوغرام المستحضر الموضح بالشكل (2) عدم وجود تأثير للسواغات المضافة في تحليل مادة الأرتيكائين هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية المتنوعة التي قمنا بتحليلها.

References المراجع

1- The Stationery Office Ltd. (ed.), British Pharmacopoeia 2007- Vols. 1, 2, BP (Vet) on CD., ver. 2.0 Mar., Data: Crown, Index: System Simulation Ltd., Norwich.

2- 2- 73-Budavari S. The Merck index. 2004-12th ed., on CD-ROM, (Ed.), ver.12:3,3rd edn. Champ man Hall/CRCN et BASE.

3- Ortel R, Ebert U, Rahn R, Kirch W. Clinical Pharmacokinetics of articaine. Clin Pharmacokinet.; 33(6):418.

4- Malamed SF. Handbook of local anaesthesia, 2004- p. 71, 5th ed. St. Louis, Mosby.200.

5- Florian Plossl F, Giera M., Multiresidue analytical method using dispersive solid-phase extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry to determine pharmaceuticals in whole blood,
2006-J. of chromatography A, V. 1135, Issue 1, p, 19-26.

6- XU Xue-jun, Xu De-qin, WU Guang-tong, Determination of two ingredients in compound articaine hydrochloride injection by HPLC method, 2007- j. pharmaceutical Care And Research, 2, p, 110-113.

7- Guillaume H.; Thomas M.Detemination of articaine in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry and its application in a preliminary pharmacokinetic study , 2009- J. of pharmaceutical and Biomedical Analysis, V. 49, 1082-1087.

8- Richter K., Oeretel R. Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic determination of articaine and its metabolite articaine acid in human serum. of chromatography 1999- B,V.724,Issue 1, p, 109-115.

9- Song C., Lygre H. Articaine interaction with DSPC bilayer: A 13C and 13P solid-state NMR stydy, Eur.J. Of pharmaceutical Sciences, 2008- V. 33, Issues 4-5, 399-408.

10- Leuschner J and Leblanc D. Studies on the toxicological profile of the local anaesthetic articaine. 1999- Arzneimittel for rushing 49:32.

11- USP. 2005-28. P, 2293.