

استحداث طريقة طيفية لتحليل عقار الوبورينول في المحاليل المائية وفي بعض
المستحضرات الصيدلانية

احمد عباس نجم*

تاريخ قبول النشر 12 / 11 / 2008

الخلاصة

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

درست الظروف العملية الفضلى لإخماد هذا التفاعل بواسطة الالوبورينول لأجل الحصول على حساسية عالية وأفضل استقرارية ومدى واسع لمنحني المعايرة والمتضمنة تأثير تركيز المواد المتفاعلة، تأثير الزمن في استقرار المعقد، تأثير ترتيب الإضافة للوصول إلى بناء منحني المغايرة. ووجد إن المدى التركيزي الخاضع لقانون بير من (1-9) جزء في المليون. أعطت الطريقة حساسية عالية حيث بلغت قيمة معامل الممتصية المولارية 27229 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ وحساسية ساندل 0.0053 مايكروغرام .سم⁻². أما التكرارية للنتائج المحصلة فكانت جيدة حيث تراوحت قيم RSD% بين 2.1-2.6 % أما قيم الاسترداد المئوي (Rec.%) فتراوحت بين 98.17-100.5% والخطأ النسبي المئوي (Erel.%) تراوحت قيمته بين 0.50-1.83%. تم دراسة تأثير المركبات المحتملة للتداخل وبنسبة من 20 إلى 60 مرة أكثر من تركيز المادة المحللة.

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

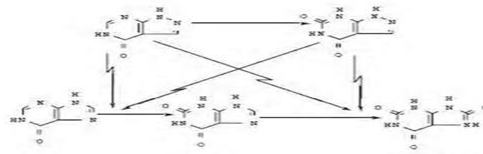
المقدمة

اليوريك الأقل ذوبانا مما يقلل من مستوى حامض اليوريك في الدم وكما موضح في المخطط في الأسفل⁽⁴⁻¹⁾. يأخذ الوبورينول فمويا فقط وهو موجود على شكل مستحضرات صيدلانية (أقراص tablet) شائعة الاستعمال تحت أسماء تجارية Hyporic و Zyloric. ونظرا للاهمية الدوائية والاحيائية فقد استخدمت بعض الطرائق لتعيينه في المحاليل المائية والسوائل البيولوجية منها الطرائق التسخيحية والكروموتوغرافية والطيفية⁽⁵⁻¹²⁾، لكن الكثير منها غير مرض تماما إذ يحتاج بعض منها إلى مواد كيميائية غالية الثمن وزمن تحليلي طويل، كذلك يفتقر قسم منها إلى البساطة والحساسية والدقة لذا تم اقتراح طريقة طيفية جديدة لتقديره بدقة وتكرارية جيدين في المحاليل المائية وفي بعض المستحضرات الصيدلانية عند الظروف الفضلى المنتخبة.

الوبورينول هو عقار يستخدم في علاج المرضى المصابين بداء النقرس (داء الملوك) Gout، يقلل الوبورينول من تركيز حامض اليوريا (Uric Acid) في الدم أي يعالج حالة Hyperuricemia حيث يمنع تخليق وتصنيع حامض اليوريك ويستعمل كذلك مع أدوية السرطانات لأنه ينتج عنها موت الخلايا السرطانية وتحللها مما ينتج عنها زيادة في حامض اليوريك، يمثل حامض اليوريك الناتج النهائي لا ييض البيورينات في جسم الإنسان وان ارتفاع مستواه عن المدى الطبيعي يؤدي إلى الإصابة بداء النقرس، بالتالي يمنع الوبورينول تكوين حامض اليوريك الناتج من عملية التمثيل الغذائي للبروتينات ويمنع أيضا تكوين قواعد البيورين من خلال تثبيط انزيم زانثين اوكسيداز (Xanthine Oxidase) والذي يحول الزانثين القابل للذوبان في الماء إلى حامض

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

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



Hypoxanthine
purin-6(1H)-one

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

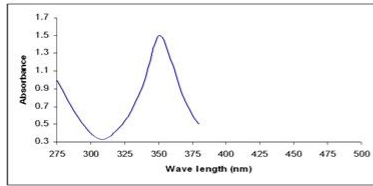
Uric Acid
7,9-Dihydro-1H-purine-
2,6,8(3H)-trione

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

النتائج والمناقشة

دراسة طيفية للدواء مع معقد اليوديد الثلاثي

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



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

دراسة الظروف العملية الفضلى المنتخبة

إن تقدير اليورينول يعتمد في الأساس على متابعة قياس امتصاص الفانض من معقد اليوديد الثلاثي لذا درست الظروف العملية الفضلى لإخماد هذا التفاعل بواسطة العقار (6 جزء في المليون) لأجل الحصول على حساسية عالية وأفضل استقرارية للمعقد ومدى واسع لمنحني المعايرة . لقد تمت دراسة تأثير إضافة 5% يوديد البوتاسيوم على امتصاص اليود (2 جزء في المليون) المقاس طيفيا على هيئة معقد اليوديد الثلاثي، إذ أظهرت النتائج (الشكل 2) إن أعلى امتصاص تم الحصول عليه كان بإضافة 7 – 9 مل من 5% يوديد البوتاسيوم .

المواد والطرق العمل:

أ-المواد الكيميائية (المحاليل القياسية)

محلول اليورينول (100 جزء في المليون)

حضر بإذابة (0.1 غم) من اليورينول في محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.4 غرام من المقطر) يكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر . حضرت المحاليل القياسية (10 ، 20 ،) جزء في المليون بالتخفيف المناسب من محلول الخزن .

محلول اليود القياسي (100 جزء في المليون)

حضر بإذابة 20 غم من اليود في حوالي 300 مل ماء مقطر وترك المحلول لمدة 24 ساعة ، سكب الراشح في قنينة أخرى وتمت معايرته أنيا باستخدام محلول قياسي من ثايوكبريتات الصوديوم ، ثم حضر 100 جزء في المليون منه بالتخفيف بالماء المقطر .

يوديد البوتاسيوم(5%)

حضر بإذابة 5 غم من يوديد البوتاسيوم من الماء المقطر وأكمل الحجم إلى 100 مل .

ب-الأجهزة المستخدمة

1. مطياف الأشعة فوق البنفسجية – المرئية من نوع

Shimadzu UV-Visible

Spectrophotometer UV-160A Recorder

2. ميزان حساس من نوع

Mettler Semimicro Balance Model

HL52

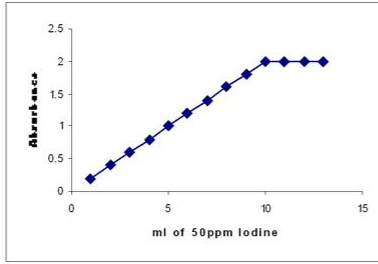
ج- طريقة العمل

أولا / طريقة المعايرة المباشرة

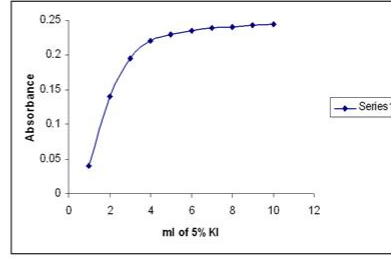
يضاف تراكيز تتراوح ما بين 0 ، 1 ، 2 ، 3 ، 4 ، 5 ، 6 ، 7 ، 8 ، 9 جزء في المليون دواء اليورينول إلى قناني حجميه (سعة 25مل) حاوية على اليوديد الثلاثي (7مل من محلول 5% يوديد البوتاسيوم و 5مل من محلول 100 جزء في المليون من اليود) يكمل الحجم إلى العلامة بالماء المقطر ، يقاس الامتصاص عند الطول الموجي المنتخبة بعد 5 دقائق.

ثانيا / طريقة إضافات القياس

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



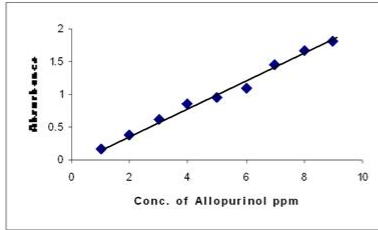
الشكل (3) تأثير كمية 50 جزء في المليون محلول اليود في الممتصية مع 5% يوديد البوتاسيوم بوجود (6 جزء في المليون) من محلول العقار



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

منحني المعايرة لعقار الوبورينول

بعد تثبيت الظروف الفضلى المنتخبة لبناء منحني المعايرة لتقدير الدواء اعتمادا على اختزاله لليوديد الثلاثي وجد ان مدى التركيز الخاضع لقانون بير يقع بين 1 - 9 جزء في المليون (الشكل 4).



الشكل (4) منحني المعايرة لتركيز 1 - 9 جزء في المليون الوبورينول

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

الجدول (2) المعطيات التحليلية المحصلة من منحني المعايرة

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

لقد أظهرت النتائج استقرار معقد اليوديد الثلاثي ولفترات زمنية مختلفة عند الطول الموجي 350 نانومتر وان أعلى قيم الامتصاصية تم الحصول عليها بعد مرور 5 دقائق من اضافة 5% يوديد البوتاسيوم ليبقى مستقرا لأكثر من 24 ساعة. ان تأثير كمية اليود (الموضحة في الشكل 3) تبين انه تم الحصول على الامتصاص الأفضل عند اضافة 10 مل من محلول اليود (50 جزء في المليون) إلى 7 مل من محلول 5% يوديد البوتاسيوم.

ان تأثير ترتيب الإضافة لمحاليل اليود ويوديد البوتاسيوم والوبورينول في الامتصاص درس وبترتيبات مختلفة من اجل الوصول إلى حساسية عالية ومدى واسع لمنحني المعايرة، حيث بينت النتائج (الجدول 1) ان الترتيب الأول يحقق ذلك.

الجدول (1) تأثير ترتيب الاضافة في امتصاصية (6 جزء في المليون) الوبورينول

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

المادة المتداخلة وعرضت النتائج التي تم التوصل إليها في (الجدول 4) والذي يوضح النسبة المئوية لتأثير التداخل للمركبات المدروسة. تبين النتائج إن الزائئين والمستئين يسبب تداخلا ايجابيا ويزداد هذا التداخل مع زيادة تركيزهما في المحلول وربما يعزى سبب هذا التداخل إلى تفاعل هذه المواد مع اليوديد الثلاثي بنمط تفاعل العقار نفسه، بينما لاتتداخل مركبات الكرياتينين، اليوريا والكلوكوز في تعيين الوبورينول.

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

المتداخلات	نسبة المتداخل/المحلل	الامتصاصية	نسبة الفرق بالممتصية
الزائئين	20	0.978	0.8
	40	1.008	3.8
	60	1.052	8.2
المستئين	20	0.972	0.2
	40	0.984	1.4
	60	1.007	3.7
الكرياتينين	20	0.970	0.0
	40	0.970	0.0
	60	0.973	0.3
اليوريا	20	0.970	0.0
	40	0.970	0.0
	60	0.970	0.0
الكلوكوز	20	0.970	0.0
	40	0.970	0.0
	60	0.970	0.0

التطبيقات

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

الجدول (5) نتائج تعيين الوبورينول بطريقة إضافات القياس والطريقة المباشرة

λ_{max}	اسم المستحضر الصيدلاني	القيمة المصرفة (مغم/وحدة)	قيمة النوع (منحني المعايرة المباشرة) (مغم/وحدة)	قيمة النوع (إضافات القياس) (مغم/وحدة)	الاستردادية% (منحني المعايرة المباشرة)	الاستردادية% (إضافات القياس)
350	Hyporic	100	98.8	99.7	98.8	99.7
350	Zyloric	100	98.1	99.2	98.1	99.2

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

العقار	المعلومات	الطريقة المستخدمة	HPLC ⁽³⁾	الحقن الجرياني ⁽⁴⁾	الفورة والفسفرة ⁽⁵⁾
الوبورينول	المدى الخطي (جزء في المليون)	9-1	5-0.5	-	7-0.25
	حد الكشف	-	-	1.8µM	0.014µg/ml
	التكرارية% (RSD%)	2.6-2.1	-	3.1	-
	الاستردادية%	100.5-98.17	101.3-97.4	-	-
	المذيب المستخدم	0.1 مولاري NaOH	-	1مليمولاري NaOH	-

يتضح من النتائج المدونة إن الطريقة ذات حساسية عالية من خلال مقارنة قيم معامل الامتصاص المولاري 27229 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ والمحصوبة نسبة إلى الوبورينول وإن مدى توافق قيم الامتصاصية (معامل الارتباط) كان عاليا (يقتررب من الواحد) وقيم الخطية كان 98.90% . درست دقة وتوافق الطريقة المقترحة وذلك بتحليل ثلاثة عينات لثلاثة تراكيز محضرة للدواء عند الظروف الفضلى المنتخبة واعتمادا على منحنى المعايرة وثبتت النتائج التي تم الحصول عليها في (الجدول 3).

الجدول (3) دقة وتوافق النتائج المحصلة لتقدير الوبورينول

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

* Mean value of n=5

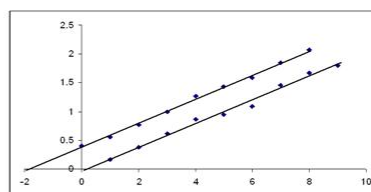
أظهرت النتائج إن الطريقة ذات دقة عالية حيث تراوحت قيمة الاستعادة بين 98.17 – 100.5% وقيم الانحراف القياسي النسبي المنوي 2.1 – 2.6% أما الخطأ النسبي المنوي فتراوحت ما بين 0.5 الى 1.83% وهي قيم تحليلية جيدة تتيح اعتماد الطريقة لتحليل العقار.

تأثير المتداخلات

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

Allopurinol by micelle-stabilised room-temperature phosphorescence in real samples. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.32(2): 225-231.

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



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

الاستنتاجات

أثبتت نتائج دراسة تعيين الوبورينول من خلال اختزاله لليود في معقد اليوديد الثلاثي إمكانية اعتماد الطريقة لتحليل العقار في المحاليل المائية لما تمتاز به من سرعة وحساسية وكفاءة عاليتين من حيث الدقة والتوافق وكذلك من خلال تقويم منحني المعايرة إذ أمكن الوصول لمدى تركيزي من 9-1 جزء في المليون بتوافقية عالية كما امتازت الطريقة بكونها لا تحتاج إلى ظروف عمل حرجة وطرائق فصل كما يمتاز المعقد باستقراره عالية تكفي لانجاز التحليل .

المصادر:

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

anodic polarographic detection for the determination of allopurinol in pharmaceutical formulations. Analyst. 114:1449-1452.

oxypurinol in human serum. Journal of clinical pharmacy and therapeutics.28(3):229-234.
14. Tommaso.R.I., Fracesco.P. and Pier.G.Z.1989.Flow injection with

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

*Ahmed Abass Najim**

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

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

Abstract

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