

التقدير الطيفي لعقار الميترونيدازول بشكله الصيدلاني (حبوب) بطريقة الاطوال الموجية المتعددة

مؤمن فريد حمد السامرائي

قسم الكيمياء ، كلية التربية ، جامعة سامراء ، سامراء ، العراق

الملخص

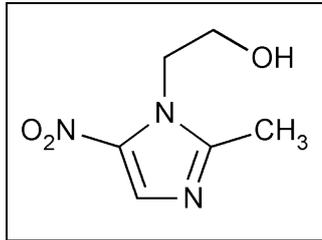
تضمن البحث تقدير عقار الميترونيدازول طيفيا في شكله الصيدلاني (حبوب) باستخدام تقنية الاطوال الموجية المتعددة، وبينت النتائج مطاوعة لقانون بير-لامبرت بمدى خطية تراوح بين (0.5-25 مكغم.مل⁻¹)، كما وبلغت الاستعدادية المئوية (99.99-100.05)، وقيمة الانحراف النسبي المعياري بين (0.0011-0.0019)، وتراوحت قيمة حد الكشف بين (0.2024-2.9772 مكغم.مل⁻¹)، وتم تطبيق الطريقة بنجاح على المستحضر الصيدلاني، كما واشارت النتائج أيضا الى عدم وجود تداخل من قبل المضافات الدوائية.

الكلمات المفتاحية: الاطوال الموجية المتعددة والميترونيدازول والتقدير الطيفي.

المقدمة

كيميائيا يسمى الميترونيدازول [1]-2-(β- hydroxyethyl) methyl-5- nitroimidazole ، ويبين الشكل (1) التركيب الكيميائي للعقار، ويعتبر هذا الدواء من الادوية البديلة لعلاج الجيارديا وداء القريبات blastocystitis والعدوى عن طريق Entameba polecki، كما ويستخدم للعلاج والوقاية من الالتهابات التي تسببها البكتيريا اللاهوائية أي ضد سلالات GI، كما ويعالج الالتهابات المهبلية التي تسببها الغاردنرييلة Gardnerella vaginalis [2]، ويعتبر هذا العقار من المضادات الحيوية ومبيد للجراثيم اللاهوائية والكائنات الدقيقة microaerophilic بما في ذلك باكتيرويديز وكلوستريديوم والوييدة ومتحولة حالة النسيج Entameba histolytica [3,2]. ووجد من خلال مراجعة الدراسات والبحوث السابقة أن هنالك العديد من الأساليب والطرائق المتنوعة لتحديد عقار الميترونيدازول كميًا بأشكاله المتعددة، فجدد مثلا استخدام تقنية الاشعة فوق البنفسجية-المرئية UV-Visible في تقدير هذا العقار [4,5] ، وقد أيضا بتقنية الانتحاء المائي [6] ، كما وتم استخدام تقنية مشتقة الاطيف ونسبة مشتقة الاطيف وتقنية الاطوال الموجية المزوجة [7]، وبطريقة الفلوريسن [8] ، وكما وتم تثبيت الظروف المثلى في اختيار حامض الخليك كمذيب في التقدير واستخدام المشتقة الأولى في التقدير [9,10].

في هذه الدراسة تم اقتراح اسلوب جديد وبسيط ودقيق وسريع وحساس للغاية في تقدير عقار الميترونيدازول، اذ استخدم في هذا الأسلوب تقنية الاطوال الموجية المتعددة بالاستفادة من مطيافية الاشعة فوق البنفسجية Ultraviolet Spectroscopy، ويمكن استخدام هذه التقنية عندما يكون طيف الامتصاص للمركب عريض ولا يمكن تحديد الطول الموجي الأعظم بصورة دقيقة، او عند اختيار طول موجي تكون الحسابات غير دقيقة، وأيضا للتخلص من تأثير المتداخلات التي تسببها المضافات الدوائية، لذا تم الشروع باختيار هذه الطريقة او الأسلوب للتخلص من هذه المشكلة [11,12].



الشكل (1): التركيب الكيميائي لعقار الميترونيدازول

الجزء العملي

الأجهزة

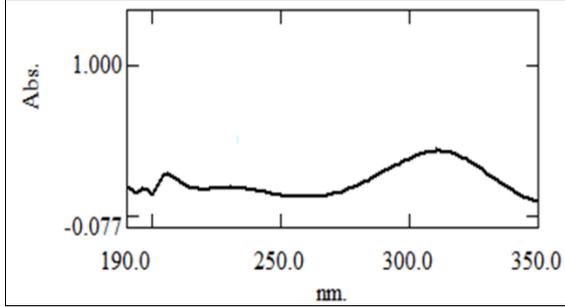
- لتسجيل أطياف الامتصاص لجميع القياسات تم استخدام جهاز المطيافية UV-Vis من انتاج شركة Shimadzu موديل 1600، ومجهز بخلايا كوارتز عرضها 1سم.
- ميزان حساس ذو أربعة مراتب نوع Sartorius BL 210 S المائي المنشأ.
- جهاز الموجات فوق الصوتية Ultrasonic المستخدم لتسريع الاذابة نوع UD100SH-3LQ 3 ذو منشأ المائي.
- تم المسح الضوئي لتسجيل الاطياف ضمن الطول الموجي 190-350 نانومتر اذ كانت سرعة المسح متوسطة (Medium scan speed) وبمعدل تغير (sampling interval) 0.1 نانومتر وعرض حزمة (slit width) مقداره 2 نانومتر.

المحاليل

ضمن هذه الفقرة تم الاستعانة بالشركة العامة لصناعة الأدوية والأجهزة الطبية (SDI)، سامراء-العراق، للحصول على المواد الفعالة لهذه المستحضرات الصيدلانية.

- **المحاليل القياسية (500 مكغم.مل⁻¹)**
حضر 500 مكغم.مل⁻¹ من عقار الميترونيدازول بإذابة 0.05 غم منه بنسبة من الكحول الايثيلي بلغت 30% من المحلول النهائي ثم أكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100مل، لذا كانت نسبة مزج المذيب 7:3 كحول وماء.

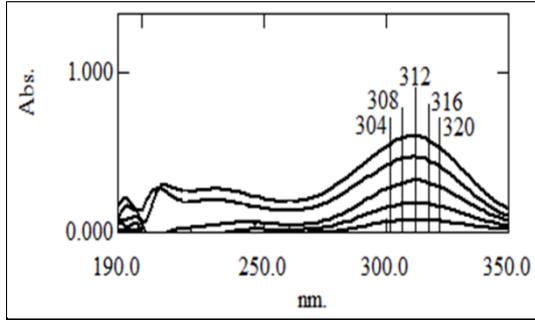
(10 مكغم.مل⁻¹)، ومن ملاحظة الطيف نرى انه عريض ولا يمكن تمييز قمته بصورة دقيقة لذا تم اختيار طريقة الاطوال الموجية المتعددة للتغلب على هذه المشكلة.



الشكل (2): طيف امتصاص الميترونيدازول (10 مكغم.مل⁻¹)

طريقة الاطوال الموجية المتعددة

لإتمام العمل بهذه الطريقة يتم اختيار خمسة اطوال موجية كما تم ذكرها في (طريقة العمل) أعلاه، ومن ثم يتم بناء منحنيات المعايرة للحصول على معادلات الخط المستقيم وبعدها يتم جمع هذه المعادلات للحصول على معادلة خط مستقيم واحدة، يبين الشكل (3) الاطوال الموجية المختارة ومؤشرة على أطراف الامتصاص لسلسلة من التراكيز (0.5-25 مكغم.مل⁻¹).



الشكل (3): الاطوال الموجية المختارة لسلسلة من التراكيز (0.5-25 مكغم.مل⁻¹).

الحسابات ومنحنيات المعايرة

بعد اختيار المذيب الأمثل تم بناء منحنيات المعايرة والتي من خلالها تم اختيار التراكيز الفضلى التي تعطي خطية تطاوع قانون بير-لامبرت، وعليه بلغت خطية التراكيز لجميع الاطوال الموجية التي تم العمل عليها بهذه الطريقة (0.5-25 مكغم.مل⁻¹)، كما وتراوحت قيم معامل الارتباط بين (0.9994-0.999)، لعقار الميترونيدازول. وتبين الاشكال (4-8) منحنيات المعايرة للعقار عند كل طول موجي. وبعد جمع معادلات الخط المستقيم تم الحصول على معادلة خط مستقيم واحدة وكانت (y = 0.2323x - 0.0026)، وبالاستفادة من هذه المعادلة تم اجراء العمليات الإحصائية المهمة لبيان حساسة الطريقة وأهميتها، فبلغت قيم حدود الكشف (0.0667-0.9331 مكغم.مل⁻¹)، كما وكانت نسبة الاسترجاعية بين (105.019-98.2910) وقيم الانحراف النسبي المعياري بين (4.2143 - 0.4387)، ويبين الجدول (2) نتائج عقار الميترونيدازول.

• محاليل المضافات الدوائية (2000 مكغم.مل⁻¹)

بنفس المذيب ونسبته والحجم النهائي المستخدم في الفقرة أعلاه تم اذابة 0.2 غم من كل (السكروز واللاكتوز والنشأ وسترات المغنيسيوم) وكلا على حدة.

• محاليل المستحضرات الصيدلانية

بالاستفادة من المذيب ونسبته المستخدمة في الفقرة (المحاليل القياسية) تم تحضير محلول ذو تركيز 100 مكغم.مل⁻¹، في قنينة حجمية سعة 25مل من كل مستحضر صيدلاني تم اختياره للعمل عليه، وذلك بعد اخذ معدل وزن حبة واحدة، ومن المستحضرات الصيدلانية التي استخدمت:

- a- Flagyl 500mg.tablet (France).
b- Negazole 500mg. tablet (UAE).
c- New gyl 500mg. TABLET (Newpharma. UAE).

وباستخدام ورق ترشيح Whatman رقم 40، تم التخلص من المواد المعلقة حتى تكون المحاليل المحضرة والمستخدمة راتقة.

طريقة العمل

من ضمن اهم الخطوات لإجراء العمل بصورة دقيقة هو اختيار المذيب الأمثل الذي يعطي أطراف امتصاص مستقرة وذات تكرارية ثابتة، لذا بعد التقصي واجراء التجارب الأولية البسيطة تم اختيار المذيب وبالنسبة المذكورة في الفقرة (المحاليل القياسية)، وبعد ذلك تم نقل كميات مختلفة من العقار بين (400-1 ميكروغرام) الى سلسلة من القناني الحجمية سعة 10مل وتم التخفيف الى حد العلامة بالماء المقطر، وهذا هو الجزء الأول من العمل اما الجزء الثاني فيكون يرسم طيف الامتصاص لكل تركيز وبعدها يتم تحديد واختيار خمسة اطوال موجية مقاربة نوعا ما من بعضها وكانت هذه الاطوال هي (304 و 308 و 312 و 316 و 320) نانومتر، وبعد اختيار الاطوال الموجية يتم بناء منحنيات معايرة عند كل طول موجي، وتم تحديد مدى التراكيز للعقار بين (0.5-25 مكغم.مل⁻¹) بما يطاوع قانون بير-لامبرت، وبعد الحصول على معادلات الخط المستقيم الخمس من هذه المنحنيات يأتي الجزء الثالث والأخير من العمل اذ يتم جمع هذه المعادلات جمعاً جبرياً للحصول على معادلة خط مستقيم واحدة والتي تستخدم فيما بعد للتقدير، ويبين الجدول (1) الجزء الثالث من العمل.

الجدول (1): جمع معادلات الخط المستقيم

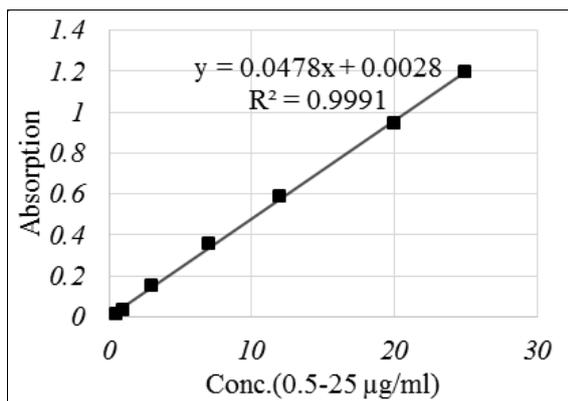
Equations of the straight line	λ_{max} nm
Y=ax ± b (1)	304
Y=ax ± b (2)	308
Y=ax ± b (3)	312
Y=ax ± b (4)	316
Y=ax ± b (5)	320
$\sum 1+2+3+4+5 = Y = ax \pm b^*$	

* New straight line equation

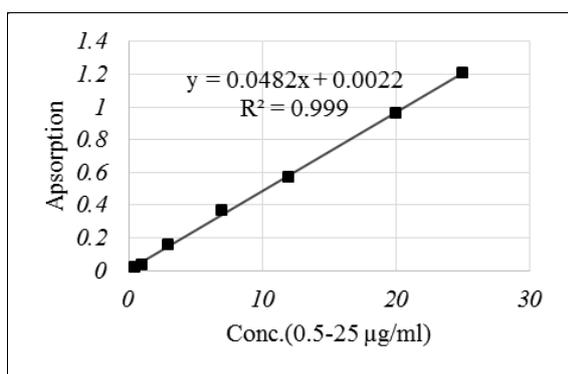
النتائج والمناقشة

أطراف الامتصاص

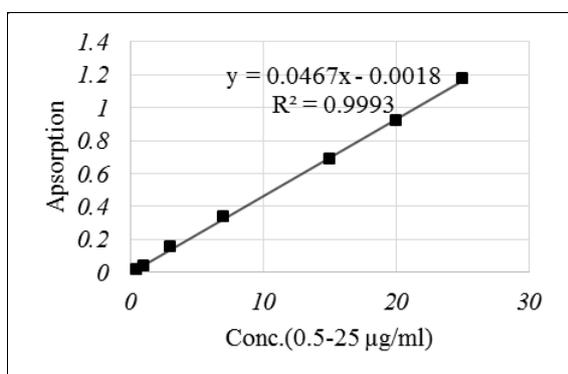
بالاستعانة بجهاز المطيافية تم تسجيل أطراف الامتصاص لعقار الميترونيدازول اذ يبين الشكل (2) طيف الامتصاص للميترونيدازول



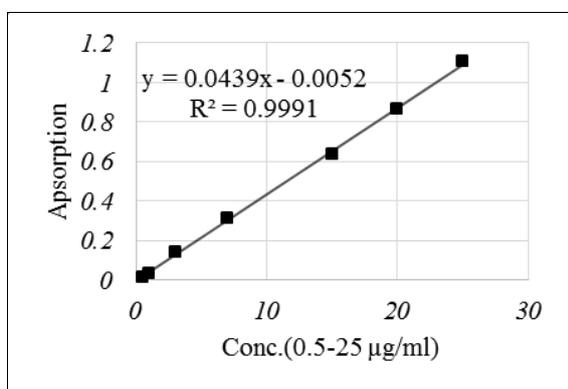
الشكل (5): منحنى المعايرة عند الطول الموجي 308 نانومتر



الشكل (6): منحنى المعايرة عند الطول الموجي 312 نانومتر



الشكل (7): منحنى المعايرة عند الطول الموجي 316 نانومتر



الشكل (8): منحنى المعايرة عند الطول الموجي 320 نانومتر

توافق الطريقة المقترحة ودقتها بالاستفادة من معادلة الخط المستقيم المستحصل عليها من عملية الجمع تم اختيار تركيزين مختلفين (18 و 20 مكغم.م^ل-¹) لمعرفة دقة وتوافقية الطريقة، ووجد ان قيمة النسبة المئوية للخطأ النسبي قد تراوحت بين (0.0789- -0.0847)، بينما تراوحت النسبة المئوية للانحراف القياسي النسبي بين (0.1083-0.1369)، وكما مبين في الجدول (3).

تأثير المتداخلات

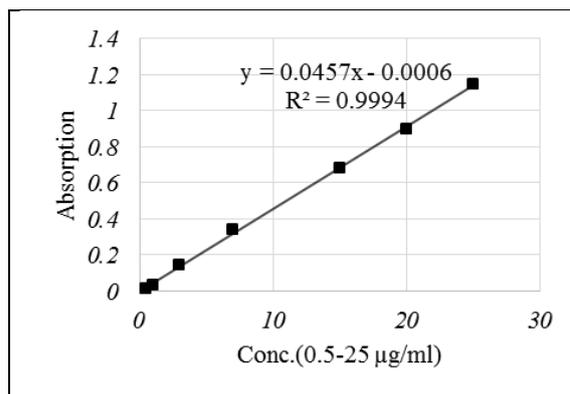
بينت دراسة تأثير بعض المضافات الدوائية على عقار الميترونيدازول والمبينة نتائجها في الجدول (4) أنها غير مؤثرة، عند وجودها إلى حد عشرة اضعاف من تركيز العقار، إذ تراوحت قيمة الاسترجاعية المئوية بين 99.98% - 101.101%.

تطبيق الطريقة

لمعرفة صلاحية الطريقة في التحليل، تم تقدير العقار قيد الدراسة في عدة مستحضرات دوائية وبين الجدول (5) النتائج التي تم الحصول عليها والتي تظهر ان الطريقة كانت ناجحة بصورة كبيرة، وتراوحت قيمة الاسترجاعية بين (99.99 - 100.04 %) للنماذج التي تم تحليلها، بينما كانت قيمة النسبة المئوية للانحراف القياسي النسبي تتراوح بين (0.0011- 0.0019 %)، لذا فان الطريقة كانت حساسة وبسيطة جدا اذ ان التحليل تم بصورة مباشر دون اللجوء الى طريقة الإضافات القياسية.

مقارنة الطرائق المقترحة

من خلال النتائج التي الحصول عليها وفي ظل ظروف العمل ومقارنة هذه النتائج مع نتائج أخرى يتبين ان الطريقة كانت ممتازة من نواحي عديدة كالتحليلية الاقتصادية اذ انها لم تكن مكلفة ومن ناحية الدقة والضبط نجد انها كانت غاية في الدقة، والجدول (6) يبين هذه المقارنة.



الشكل (4): منحنى المعايرة عند الطول الموجي 304 نانومتر

الجدول (2): نتائج عقار الميترونيدازول بطريقة الاطوال الموجية المتعددة لسلسلة من التراكيز المستخدمة في بناء منحنيات المعايرة

Take Conc. $\mu\text{g.ml}^{-1}$	Found Conc. $\mu\text{g.ml}^{-1}$	Rec %	RE %	R.S.D %	D.O.L $\mu\text{g.ml}^{-1}$	D.O.Q $\mu\text{g.ml}^{-1}$
0.5	0.51	102.49	2.4881	4.2143	0.0667	0.2042
1	1.05	104.52	4.5200	3.1012	0.0951	0.3105
3	3.13	104.46	4.4626	2.8161	0.2638	0.8529
7	7.35	105.01	5.0119	3.2075	0.6907	2.4406
12	11.86	98.82	-1.1766	1.2685	0.4483	1.4758
22	19.66	98.29	-1.7089	1.5484	0.9331	2.9772
25	25.11	100.45	0.4494	0.4387	0.3280	1.0934

جدول (3): توافق الطريقة ودقتها

Taken Conc. ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Found Conc. * ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Recovery%	%Error	%R.S.D
18	17.99	99.92	-0.0789	0.1369
20	20.02	100.09	0.0847	0.1083

*Average of three replicates

الجدول (4): تأثير وجود 100 مكغم.مل⁻¹ من المضافات الدوائية في تقدير 10 مكغم.مل⁻¹ من عقار الميترونيدازول بالطريقة المقترحة.

Excipients	Metronidazole Taken ($10 \mu\text{g.ml}^{-1}$)	
	Conc. Found ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)	Recovery%
Sucrose	10.101	100.101
Lactose	10.001	100.001
Starch	10.081	100.081
Magnesium stearate	9.988	99.988

الجدول (5): تقدير عقار الميترونيدازول في بعض المستحضرات الصيدلانية وفق الطريقة المقترحة

Pharmaceutical preparation	Method of analysis	Labeled amount mg/tablet	Found amount mg/tablet			
			Mean value*	RSD%	Err%	Rec%
Flagyl 500mg.tablet (France)	Multi-wavelength	500	500.18	0.0019	0.0379	100.04
Negazole 500mg. tablet (UAE)		500	500.09	0.0015	0.0181	100.01
New gyl 500mg. TABLET (Newpharma. UAE)		500	499.97	0.0011	-0.0050	99.99

* Average of three determinations

جدول (6): مقارنه نتائج الطريقة المقترحة مع نتائج طرائق اخرى

Drug	Method	R.S.D%	R ²	R.E%	L.O.Q $\mu\text{g.ml}^{-1}$	D.L. $\mu\text{g.ml}^{-1}$	Rec%	Ref.
Metronidazole	Validated according to ICH guideline	0.69	-----	-----	2.312	0.763	101.6	3
	UV Spectrophotometer	3	-----	0.5171	-----	-----	102.16	5
		0.324	0.9974	-----	-----	-----	102.45	13
	First order derivative spectroscopy	0.134	0.998	-----	-----	-----	0.46	6
	Electrochemical and Fluorescent	-----	-----	-----	-----	5×10^{-8}	-----	8
	Optimizing Acetic acid as a solvent	0.014	0.996	-----	-----	-----	0.047	9
Multi Wavelength*	0.4387	-----	-----	-0.0050	0.2042	0.0667	100.04	-----

* Proposed method

المصادر

- 1- Wallada, H. I and Wadala, A. B., (2012), "Spectrophotometric Determination of Metronidazole by Prior Reduction and Subsequent Diazotisation and Coupling with N-(1-naphthyl) ethylenediamine–Application to Pharmaceutical Preparations", Raf. J. Sci, 23(3), (78-93).
- 2- Lippincott, W and Wilkins, P., (2010), "Remington", The Science and Practice of Pharmacy, 2, 21st Edition, (1669).
- 3- Swetha, S. P.; Suresh, T.; Sireesha, D and Vasudha, B., (2016), "Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Estimation of Metronidazole in Tablet Dosage Form", International Journal of Pharma Research and Health Sciences, 4 (1), (968-971).
- 4- Parth, P.; Priya, V and Minal, R.,(2014), "Analytical method development and validation for simultaneous estimation of Metronidazole and Amoxicillin in synthetic mixture by UV-Vis spectroscopy", Int J of Pharmacy and Pharm Sciences, 6(2), (317-319).
- 5- Somia, G and Fouzia, H., (2016), "Method Development and Validation of Metronidazole Using UV Spectrophotometer", Ann Chem Open Access, 1, (1-7)
- 6- Masthannamma, S. k.; Sravani, K.; Ananta, T. S and Siva, B., (2015), "UV-Spectrophotometric determination of metronidazole in bulk and pharmaceutical dosage form using hydrotropic solubilization technique", JGTPS, 6(1), (2365 – 2371).
- 7- Nourddin, W. A.; Nada, S. A.; Mohamed, T. E and Martha, M. M., (2015), "Spectrophotometric determination of metronidazole diloxanide furoate and metronidazole toxic impurity", Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 7(11), (609-621).
- 8- Gen, L.; Wanjun, W.; Wei, M and Dengming S., (2015), "Determination of Bovine Serum Albumin and Metronidazole by Electrochemical and Fluorescent Methods, Asian Journal of Chemistry, 27(9), (3333-3338).
- 9- Jelam, V.; Minal, R and Dhananjay M., (2015), "Development and Validation of spectroscopic method for the Estimation of Metronidazole and Norfloxacin in syrup dosage form", world journal of pharmacy and pharma sci, 4(5).
- 10- Dudhe, P. B.; Kamble, M. C.; Komerwar, A.; Sonawane A. M and Van, S., (2016), "Development and Validation of First Order Derivative Method for Metronidazole in Bulk and Tablet Using UV Visible Spectroscopy", International Journal of Chem Tech Research, 9(4), (140-144).
- 11- Naser, S.; Mina, S and Abdolhossein, N., (2013), "Model based multi-wavelength spectrophotometric method for calculation of formation constants of phenanthrenequinone thiosemicarbazone complexes with some metallic cations", Current Chemistry Letters, 2, (69–76).
- 12- Ujjwala, L. K and Sachin, A. P., (2012), "Development and Validation of Multiwavelength Method for Simultaneous Estimation of Nadifloxacin and Ibuprofen in Formulated Hydrogel", Int. J. Pharm Tech Res, 4(4), (1575-1580).
- 13- Joyani, D and Manabendra, D., (2014), "UV-Spectrophotometric Assay Method Development and Validation of Metronidazole in Bulk and Tablet Formulation", Journal of Pharma Sci Tech, 3(2).

Spectrophotometric Determination for Metronidazole drug in pharmaceutical form (tablet) by Multi-wavelengths method

Mumin Fareed Hamad Al-Samarrai

Chemistry department , Education College , Samarra University , Samarra , Iraq

Abstract

The research includes, spectrophotometric determination for Metronidazole drug (MND) in pharmaceutical form (tablet), using multi-wavelengths technique, the results obeyed Beer's law in the concentration ranges of between (0.5-25 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$), recovery percentage Rec% (99.99- 100.05), RSD% (0.0011-0.0019), and detection limit (0.2042-2.9772 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$) This method been successfully applied to the determination of MND in pharmaceutical form tablet. The results also showed there is no interference from additives.

Keywords: Multi-wavelength, Metronidazole and Spectrophotometric determination.