

اندازه‌گیری میزان ماده مؤثره دکسترومتورفان در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی ایران به روش HPLC

امیر حیدری^{۱*}، اعظم اکبری^۲، تهمنه پیروی^۳

تاریخ دریافت 1392/01/25 تاریخ پذیرش 1392/03/30

چکیده

پیش زمینه و هدف: کنترل کیفی و کمی اشکال دارویی از مباحث مهم در ارتباط با فرمولاسیون و صنعت داروسازی می‌باشد. تعیین دقیق مقدار ماده مؤثره در ترکیبات دارویی موجود در بازار دارویی، می‌تواند در تعیین طول تاریخ مصرف، کنترل دارو از لحاظ بازدهی بدنی و در نهایت تعیین کارایی و اثردهی دارو مفید باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی مقدار ماده مؤثره دکسترومتورفان در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی ایران بود.

مواد و روش کار: ابتدا اشکال مختلف دارویی دکسترومتورفان با چند شماره سریال متفاوت انتخاب شد. ماده مؤثره آن‌ها براساس روش استاندارد فارماکوپه (USP) استخراج گردید و با استفاده از روش HPLC و آشکار ساز فلورسانس اندازه‌گیری گردیدند.

نتایج: نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار دکسترومتورفان در ۴۰ نمونه شکل دارویی دکسترومتورفان به ترتیب: قرص‌ها بین ۱۰۴-۱۲۴ درصد، قطره‌ها بین ۹۲-۸۷ درصد، شربت‌های ساده بین ۹۱-۱۱۹ درصد و شربت‌های ترکیبی بین ۱۰۹-۱۲۰ درصد مقدار موجود در برچسب هر یک از این فرآورده‌ها بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج حاصله از اندازه‌گیری ۴۰ نمونه شکل دارویی دکسترومتورفان در مقایسه با مقدار ماده مؤثره مورد ادعای لابراتوارهای داروسازی تولید کننده این فرآورده‌ها، نتایج قابل قبول و افزون بر برچسب دارویی در مورد اشکال دارویی قرص و شربت‌ها را نشان می‌دهد در حالی که مقدار ماده مؤثره در قطره‌های خوراکی کمتر از مقادیر مورد ادعا است.

کلمات کلیدی: دکسترومتورفان، اشکال دارویی و HPLC

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و چهارم، شماره ششم، ص ۴۱۳-۴۰۵، شهریور ۱۳۹۲

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، تلفن ۰۴۴۱-۲۷۵۴۹۹۱

Email: heydari.866@gmail.com

مقدمه

کارخانجات داروسازی داروها را با اشکال مختلف دارویی فرموله نموده و به بازار دارویی عرضه می‌دارند. در این میان برخی از اشکال دارویی به‌عنوان ترکیبات ضد سرفه و کاهنده علائم سرماخوردگی جزء داروهای بدون نسخه و بسیار پر فروش در ایران و حتی دنیا می‌باشند. این داروها تنوع زیادی از لحاظ شکل دارویی از قبیل: قرص، شربت، کپسول، قطره و سوسپانسیون داشته و در سطح وسیعی توزیع می‌گردند. یکی از داروهای پر مصرف در این رابطه «دکسترومتورفان» می‌باشد. دکسترومتورفان ایزومر چپ‌گرد کدئین و آنالوگ Levorphanol است. این دارو با مهار مرکز سرفه در سیستم عصبی مرکزی باعث توقف سرفه می‌گردد و قدرت ضد سرفه آن معادل نصف کدئین می‌باشد.

کنترل کیفی و کمی اشکال دارویی موجود در بازار دارویی از مباحث مهم در ارتباط با فرمولاسیون و صنعت داروسازی می‌باشد. تعیین مقدار ماده مؤثره در اشکال دارویی و محیط‌های بیولوژیکی کاربردهای فراوانی در تعیین طول عمر مفید یا تاریخ مصرف دارو، پایداری دارو در فرمولاسیون‌های رایج و تعیین بازدهی بدنی دارو دارد. همچنین اندازه‌گیری دارو و متابولیت‌های آن در محیط‌های بیولوژیکی کمک زیادی به مشخص نمودن مسیرهای متابولیسمی دارو می‌نماید. در ضمن می‌توان با شناسایی آنزیم‌های مسئول متابولیسم دارو و مقایسه مقدار داروی اصلی با متابولیسم‌های مربوطه نسبت به فراوانی آنزیم در افراد جامعه و در نهایت شاخص فنوتایپ اظهار نظر نمود.

^۱ استادیار گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

^۲ کارشناس ارشد شیمی تجزیه، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

^۳ دانشیار گروه آناتومی و بافت شناسی، مرکز تحقیقات چاقی مادر و کودک، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

در طرح حاضر ما بر آن شدیم که با اندازه‌گیری مقدار دکسترومتورفان در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی ایران به این سؤال جواب دهیم. مسلماً نتایج حاصله می‌تواند به صورت ارائه گزارش به کارخانه سازنده نسبت به کنترل کمی فرآورده دارویی کمک شایانی نماید. همچنین نتایج این پروژه می‌تواند در تعیین طول مدت تاریخ مصرف داروی فوق و نیز پایداری دارو در مدت نگهداری داروها در قفسه‌های دارویی مورد استفاده قرار گیرد.

همان‌طور که اشاره گردید، هدف از مطالعه حاضر بررسی مقدار ماده مؤثره دکسترومتورفان در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی ایران بود. تاکنون فن‌های گوناگونی به این منظور مورد استفاده قرار گرفته‌اند که عبارتند از: روش‌های طیف‌سنجی نوری (۴)، کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی گازی (۵)، الکتروفورز موئینه‌ای و کروماتوگرافی مایع (۳). این فن‌ها از حساسیت بالایی برخوردار نیستند و فرآیند آنالیز نیاز به صرف زمان طولانی‌تری دارد. از این‌رو در این مطالعه، فن کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) و آشکارساز فلورسانس (۶،۷) به کار گرفته شده است. این فن یک روش دقیق، حساس و با سرعت پاسخ دهی بالا است و با توجه به نوع نمونه مورد آنالیز (اشکال دارویی دکسترومتورفان) نیازی به انجام فرآیندهای پیچیده و طولانی مدت استخراج نمونه و جداسازی قبل از آنالیز نمی‌باشد.

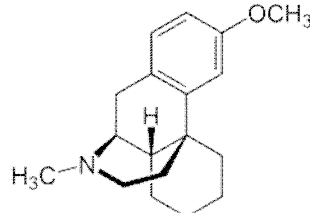
مواد و روش کار

ترکیبات مورد مصرف در این مطالعه از مواد خالص با درجه خلوص در حد کروماتوگرافی بودند که عبارتند از: ارتو فسفریک اسید (۸۵% W/W) تهیه شده از شرکت GPR، استونیتربل و متانول با درجه خلوص در حد کروماتوگرافی تهیه شده از شرکت Merck، تری اتیل آمین و لادانوزین (به عنوان استاندارد داخلی) ساخت شرکت Sigma-Aldrich.

دستگاه‌های مورد استفاده:

- تجهیزات آزمایشگاهی بکار رفته در این مطالعه عبارتند از:
- دستگاه HPLC ساخت شرکت CECIL و شامل تجهیزات: (Biotech 2003 degasser, CN column 10cm, mm0.8)
- دستگاه آشکارساز فلورسانس ساخت کارخانه Chrom Tech
- ترازوی دیجیتال ساخت شرکت ACCULAB (مدل ALC و دقت ۰/۰۰۱ گرم)
- همزن مغناطیسی ساخت شرکت Pars Azma Co مدل ST 04
- شیکر ساخت شرکت Pars Azma Co مدل SH 02

یک دوز خوراکی ۳۰ میلی‌گرم در افراد بالغ، اثر ضد سرفه به مدت ۸-۱۲ ساعت ایجاد می‌نماید اما برخلاف کدئین، اثرات ضد دردی نداشته و روی CNS تأثیر دپرسیون کمتری دارد. این دارو حتی در دوزهای بالا و مصرف طولانی مدت ایجاد وابستگی نمی‌نماید (۱). ساختمان شیمیایی دکسترومتورفان در شکل (۱) نمایش داده شده است.



شکل شماره (۱): ساختمان شیمیایی دکسترومتورفان

دکسترومتورفان در بعضی از اشکال دارویی تحت عنوان داروهای ضد سرماخوردگی به صورت یک جزء فعال وارد می‌شود که می‌تواند علائم سرماخوردگی را کاهش دهد. دکسترومتورفان از طریق لوله گوارش به سرعت جذب می‌گردد که مقداری از آن به صورت دست نخورده از کلیه‌ها دفع می‌گردد و مقداری نیز در کبد به طور اختصاصی توسط آنزیم سایتوکروم (CYP2D6) متابولیزه می‌شود. لذا این دارو معمولاً به عنوان پروپ برای ارزیابی فعالیت آنزیم فوق مورد استفاده قرار می‌گیرد. تعیین میزان کرائی این آنزیم نهایتاً می‌تواند الگویی از فنوتایپ جامعه از نظر سریع متابولیزه کننده (Extensive metabolizer) و یا آرام متابولیزه کننده (Poor metabolizer) باشد (۲،۳).

در مورد مصرف این دارو، وزارت بهداشت در سال ۱۳۸۶ به کلیه مراکز درمانی و آموزشی تابعه، اعلام نمود که مصرف دکسترومتورفان در کودکان زیر ۲ سال توصیه نمی‌گردد و بایستی با احتیاط مصرف گردد و در صورت تجویز بایستی با محاسبه دقیق دوز تحت نظر پزشک انجام گیرد (اطلاعیه شماره ۷۶ مورخ ۱۳۸۶/۱۱/۱۶ مرکز ADR معاونت غذا و دارو، وزارت بهداشت). بدیهی است که میزان اثربخشی یک ترکیب دارویی به مقدار ماده مؤثره دارو بستگی دارد. در برخی موارد ممکن است مقدار ماده مؤثره موجود در شکل دارویی کمتر و یا بیشتر از مقدار ادعای کارخانه سازنده طبق برچسب دارو باشد. سؤالی که مطرح است اینکه آیا مقدار ماده مؤثره دکسترومتورفان در اشکال دارویی موجود دقیقاً با مقدار برچسب کارخانه سازنده مطابقت دارد یا نه؟ در تمامی مراحل ساخت و عرضه داروها بایستی کنترل کیفی و کمی از لحاظ استاندارد بودن و کلیه جوانب ساخت دارو مد نظر قرار گیرد.

توسط آشکارساز فلورسانس انجام گرفت (۷). مدت زمان بازداری برای استاندارد داخلی و دکسترومتورفان به ترتیب ۱/۵۲ و ۱۰ دقیقه مشاهده گردید.

ترکیب فاز متحرک: مخلوطی از استونیتریل و آب دی یونیزه به نسبت ۱۰ به ۹۰ و حاوی ۰/۰۳ درصد تری اتیل آمین بود و تنظیم pH=۳/۱ با استفاده از اسید اورتو فسفریک با سرعت جریان ۳ میلی لیتر در دقیقه صورت گرفت. استاندارد داخلی: لادانوزین با غلظت ۵ میکروگرم بر میلی لیتر و با حجم ۱۵ میکرو لیتر همراه نمونه به ستون تزریق گردید.

نتایج

بررسی خطی بودن منحنی استاندارد:

پس از فراهم نمودن شرایط اجرای آزمایش، ۲۰ میکرو لیتر از نمونه دکسترومتورفان خالص به ستون تزریق گردید و خروج نمونه از ستون توسط آشکار ساز ردیابی گردید. با تزریق غلظت‌های مختلف دکسترومتورفان به داخل سیستم، شدت پاسخ‌های متفاوتی نیز توسط آشکارساز حاصل می‌گردد که با کمک داده‌های بدست آمده، یک منحنی استاندارد برحسب شدت پاسخ آشکارساز نسبت به غلظت‌های مختلف محلول استاندارد دکسترومتورفان ترسیم گردید. نتایج مربوط به این منحنی نشان دهنده وجود یک رابطه خطی بین غلظت ماده مؤثره و شدت پاسخ آشکارساز در محدوده $0.12 \mu\text{M}$ - $127.5 \mu\text{M}$ است. مقدار ضریب همبستگی منحنی $R^2=0.989$ و معادله منحنی برابر $A=0.012X+0.0058C$ حاصل شد. بنابراین با توجه به دوزهای تجاری داروی دکسترومتورفان، این منحنی یک منحنی کاملاً ایده‌آل و قابل اطمینان جهت ارزیابی مقدار دکسترومتورفان در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی می‌باشد. در شکل (۲) منحنی استاندارد مربوطه نمایش داده شده است.

- دستگاه تقطیر آب ساخت شرکت ELGA مجهز به فیلتر

LC 136

- دستگاه pH متر ساخت شرکت Metrohm مدل 827

pHlab

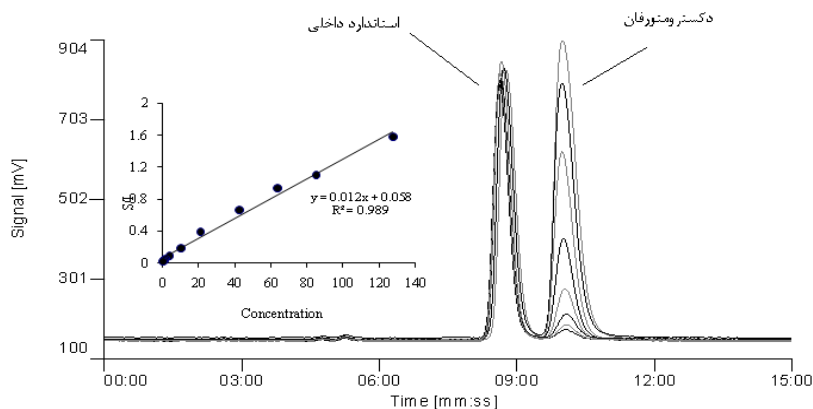
نمونه‌های دارویی:

نمونه‌های مورد مطالعه شامل ۴ نوع بسته بندی از داروی دکسترومتورفان ساخت کارخانجات تولیدی داخل کشور به تعداد ۱۰ بلیستر قرص، ۱۰ شیشه قطره و ۱۰ شیشه شربت ساده و ۱۰ شیشه شربت ترکیبی موجود در بازار دارویی ایران با شماره سریال‌های مختلف در زمان انجام طرح بودند که از داروخانه‌ها و مراکز پخش دارویی سطح شهر ارومیه انتخاب گردیدند.

روش تعیین مقدار ماده مؤثره:

برای تعیین مقدار ماده مؤثره اشکال مختلف دارویی دکسترومتورفان به تعداد ۴۰ نمونه از بازار دارویی جمع‌آوری شد و سعی گردید نمونه‌ها از شماره سریال‌های مختلف و تولید کارخانجات داخل انتخاب شوند. اشکال دارویی دکسترومتورفان رایج در بازار ایران عبارتند از: قرص، قطره، شربت‌های ساده و ترکیبی. ماده مؤثره آن‌ها براساس روش استاندارد فارماکوپه USP به شرح زیر استخراج گردید. ابتدا قرص‌های دکسترومتورفان در هاون خرد و با متانول و اسید فسفریک به خوبی مخلوط و سپس صاف گردید. در مورد شربت‌ها مقدار مشخصی از آن با فاز متحرک مخلوط شده و با آب مقطر رقیق گردید (۸). به این ترتیب نمونه‌ها آماده تزریق به سیستم HPLC شدند. حجم تزریقی هر نمونه به داخل ستون کروماتوگرافی، برابر ۲۰ میکرو لیتر بود.

تعیین مقدار دکسترومتورفان بر اساس متد Heydari و همکاران با تغییرات جزئی در این اندازه‌گیری مورد استفاده قرار گرفت (۶). ردیابی دکسترومتورفان در طول موج تهییجی ۲۷۰ نانومتر (Excitation) و طول موج نشر ۳۱۲ نانومتر (Emission)



شکل شماره (۲): منحنی کالیبراسیون نمونه‌های استاندارد دکسترومتورفان با غلظت‌های مختلف. زمان بازداری دکسترومتورفان ۱۰ دقیقه می‌باشد.

تعیین حد حساسیت روش اندازه‌گیری:

برای تعیین حد حساسیت روش اندازه‌گیری، مقادیر متفاوت از غلظت‌های کاهشی دکسترومتورفان تهیه و به ترتیب به ستون کروماتوگرافی تزریق گردیدند تا حد تشخیص نمونه توسط آشکار ساز مشخص گردد. در این روش حد تشخیص $1/25 \mu\text{M}$ حاصل گردید.

بررسی دقت و صحت روش:

میزان دقت و صحت (تکرارپذیری نتایج) روش تجزیه‌ای انتخاب شده با محاسبه دقت و صحت نتایج حاصل از آنالیز نمونه

قابل ارزیابی است. به این منظور میزان تغییرات بین روزی (Inter-day) و درون روزی (Intra-day) از طریق محاسبه مقدار انحراف استاندارد و ضریب واریانس مورد بررسی قرار می‌گیرد.

بررسی تغییرات درون روزی:

به منظور پایش تغییرات درون روزی، ۳ غلظت مختلف محلول دکسترومتورفان (μM) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج ۳ بار تکرار اندازه‌گیری هر یک از نمونه‌های فوق در یک روز در جدول (۱) آورده شده است.

جدول شماره (۱): نتایج مربوط به بررسی تغییرات درون روزی غلظت‌های مختلف محلول استاندارد دکسترومتورفان

| ردیف | غلظت استاندارد (μM) | میانگین غلظت اندازه‌گیری شده (μM) | SD | Precision | Accuracy |
|------|----------------------------------|--|------|-----------|----------|
| ۱ | ۴ | ۳/۶ | ۰/۴۷ | ۱۳/۲ | ۸۵/۳ |
| ۲ | ۲۰ | ۲۶/۷ | ۱/۲۹ | ۴/۸۳ | ۱۲۶/۰ |
| ۳ | ۸۵ | ۸۶/۳ | ۷/۳۶ | ۸/۵۲ | ۱۰۱/۶ |

بررسی تغییرات بین روزی:

تکرار اندازه‌گیری هر یک از نمونه‌های فوق در ۳ روز متوالی در جدول (۲) آورده شده است.

به منظور پایش تغییرات بین روزی، این بار نیز ۳ غلظت متفاوت محلول دکسترومتورفان مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج

جدول شماره (۲): نتایج مربوط به بررسی تغییرات بین روزی غلظت‌های مختلف محلول استاندارد دکسترومتورفان

| ردیف | غلظت استاندارد (μM) | میانگین غلظت اندازه‌گیری شده (μM) | SD | Precision | Accuracy |
|------|----------------------------------|--|-----|-----------|----------|
| ۱ | ۴ | ۳/۵ | ۰/۵ | ۱۴/۲۸ | ۸۲/۳ |
| ۲ | ۲۰ | ۲۴ | ۱/۵ | ۶/۲۷ | ۱۱۴/۵ |
| ۳ | ۸۵ | ۸۶ | ۷/۳ | ۸/۵۲ | ۱۰۱/۵ |

جدول شماره (۳): نتایج مربوط به مقدار ماده مؤثره در قرص‌های دکسترومتورفان موجود در بازار دارویی ایران (قرص‌های ۱۵ میلی گرمی)

| ردیف | شکل دارویی | شماره Batch | تاریخ ساخت | تاریخ انقضا | نام لابراتوار | مقدار ماده مؤثره |
|------|------------|-------------|------------|-------------|---------------|------------------|
| ۱ | قرص | ۰۱ | ۸۶/۰۸ | ۸۸/۰۸ | پور سینا | ۱۶/۶۲ |
| ۲ | قرص | ۰۱ | ۸۶/۰۸ | ۸۸/۰۸ | پور سینا | ۱۷/۶۴ |
| ۳ | قرص | ۰۵ | ۸۶/۰۸ | ۸۸/۰۸ | پور سینا | ۱۸/۴۸ |
| ۴ | قرص | ۰۷ | ۸۶/۰۸ | ۸۸/۰۸ | پور سینا | ۱۷/۷۴ |
| ۵ | قرص | ۰۳ | ۸۶/۰۸ | ۸۸/۰۸ | پور سینا | ۱۷/۱۲ |
| ۶ | قرص | ۱۴ | ۸۶/۱۰ | ۸۸/۱۰ | پور سینا | ۱۷/۲۶ |
| ۷ | قرص | ۰۲ | ۸۶/۰۸ | ۸۸/۰۸ | پور سینا | ۱۵/۵۷ |
| ۸ | قرص | ۱۴ | ۸۶/۱۰ | ۸۸/۱۰ | پور سینا | ۱۵/۷۲ |
| ۹ | قرص | ۰۶ | ۸۶/۰۸ | ۸۸/۰۸ | پور سینا | ۱۶/۲۸ |
| ۱۰ | قرص | ۰۷ | ۸۶/۰۸ | ۸۸/۰۸ | پور سینا | ۱۷/۲۰ |

جدول شماره (۴): نتایج مربوط به مقدار ماده مؤثره در شربت‌های دکسترومتورفان موجود در بازار داروئی ایران (۱۵ میلی‌گرم بر ۵ میلی‌لیتر)

| ردیف | شکل داروئی | شماره Batch | تاریخ ساخت | تاریخ انقضا | نام لابراتوار | مقدار ماده مؤثره |
|------|------------|-------------|------------|-------------|---------------|------------------|
| ۱ | شربت ساده | ۱۳ | ۸۷/۰۸ | ۸۹/۰۸ | پور سینا | ۱۷/۲۹ |
| ۲ | شربت ساده | ۰۷ | ۸۷/۰۴ | ۸۹/۰۴ | پور سینا | ۱۷/۷۳ |
| ۳ | شربت ساده | ۸۷۰۱۰ | - | ۱۱/۱۱ | تولید دارو | ۱۶/۱۲ |
| ۴ | شربت ساده | ۰۷ | ۸۷/۰۴ | ۸۹/۰۴ | پور سینا | ۱۷/۴۷ |
| ۵ | شربت ساده | ۱۶ | ۸۷/۰۹ | ۸۹/۰۹ | پور سینا | ۱۶/۱۶ |
| ۶ | شربت ساده | ۰۳ | ۸۶/۱۰ | ۸۸/۱۰ | خوارزمی | ۱۴/۷۴ |
| ۷ | شربت ساده | ۸۷۰۱۱ | ۸۷/۰۴ | ۸۹/۰۴ | راموفارمین | ۱۶/۲۳ |
| ۸ | شربت ساده | ۰۸ | ۸۷/۰۴ | ۸۹/۰۴ | پور سینا | ۱۵/۷۰ |
| ۹ | شربت ساده | ۸۰۰۶۰۳۸۸ | ۲۰۰۷/۶ | ۲۰۱۰ | الحاوی | ۱۳/۵۹ |
| ۱۰ | شربت ساده | ۸۷۰۱۱ | ۸۷/۰۴ | ۸۹/۰۴ | راموفارمین | ۱۵/۹۳ |

جدول شماره (۵): نتایج مربوط به مقدار ماده مؤثره در شربت‌های ترکیبی دکسترومتورفان موجود در بازار داروئی ایران (۱۵ میلی‌گرم بر ۵ میلی‌لیتر)

| ردیف | شکل داروئی | شماره Batch | تاریخ ساخت | تاریخ انقضا | نام لابراتوار | مقدار ماده مؤثره |
|------|-------------|-------------|------------|-------------|---------------|------------------|
| ۱ | شربت ترکیبی | ۲۲ | ۸۶/۱۲ | ۸۸/۱۲ | پور سینا | ۱۷/۲۵ |
| ۲ | شربت ترکیبی | ۸۷۰۰۲ | ۸۷/۰۳ | ۸۹/۰۳ | راموفارمین | ۱۶/۹۷ |
| ۳ | شربت ترکیبی | ۰۵ | ۸۶/۰۳ | ۸۸/۰۳ | پور سینا | ۱۷/۳۱ |
| ۴ | شربت ترکیبی | ۴۱۰۰ | ۸۷/۰۹ | ۸۹/۰۹ | راموفارمین | ۱۶/۶۳ |
| ۵ | شربت ترکیبی | ۱۲ | ۸۷/۰۵ | ۸۹/۰۵ | پور سینا | ۱۷/۱۶ |
| ۶ | شربت ترکیبی | ۰۷ | ۸۷/۰۳ | ۸۹/۰۳ | پور سینا | ۱۶/۲۳ |
| ۷ | شربت ترکیبی | ۲۲ | ۸۶/۱۲ | ۸۸/۱۲ | پور سینا | ۱۶/۶۱ |
| ۸ | شربت ترکیبی | ۱۹ | ۸۶/۱۱ | ۸۸/۱۱ | پور سینا | ۱۷/۹۹ |
| ۹ | شربت ترکیبی | ۸۰۲۱۱۶ | - | ۲۰۱۱/۰۲ | سینا دارو | ۱۷/۳۲ |
| ۱۰ | شربت ترکیبی | ۰۰۳۰۷۰۸ | - | ۲۰۱۱/۰۷ | اکسیر | ۱۶/۹۸ |

جدول شماره (۶): نتایج مربوط به مقدار ماده مؤثره در قطره‌های دکسترومتورفان موجود در بازار داروئی ایران (۴ میلی‌گرم بر ۱ میلی‌لیتر)

| ردیف | شکل داروئی | شماره Batch | تاریخ ساخت | تاریخ انقضا | نام لابراتوار | مقدار ماده مؤثره |
|------|------------|-------------|------------|-------------|---------------|------------------|
| ۱ | قطره | ۸۷۰۰۱ | - | ۰۴/۱۱ | تولید دارو | ۳/۶۶ |
| ۲ | قطره | ۸۷۰۰۱ | - | ۰۴/۱۱ | تولید دارو | ۳/۶۶ |
| ۳ | قطره | ۸۷۰۰۱ | - | ۰۴/۱۱ | تولید دارو | ۳/۵۹ |
| ۴ | قطره | ۸۷۰۰۱ | - | ۰۴/۱۱ | تولید دارو | ۳/۴۸ |
| ۵ | قطره | ۰۰۴۱۰۸۵ | ۱/۲۰۰۷ | ۱/۲۰۰۹ | الحاوی | ۳/۶۵ |
| ۶ | قطره | ۳۱۳ | ۰۵/۰۷ | ۰۵/۰۹ | تولید دارو | ۳/۵۴ |
| ۷ | قطره | ۳۱۳ | ۰۵/۰۷ | ۰۵/۰۹ | تولید دارو | ۳/۵۱ |
| ۸ | قطره | ۸۷۰۰۱ | - | ۰۴/۱۱ | تولید دارو | ۳/۵۴ |
| ۹ | قطره | ۳۱۳ | ۰۵/۰۷ | ۰۵/۰۹ | تولید دارو | ۳/۶۶ |
| ۱۰ | قطره | ۸۷۰۰۲ | - | ۰۵/۱۱ | تولید دارو | ۳/۴۹ |

نتایج تعیین مقدار ماده مؤثره:

همان‌طور که در مقدمه اشاره شد، روش‌های متعددی برای اندازه‌گیری دکسترومتورفان در اشکال دارویی معرفی شده‌اند که پس از مطالعه و بررسی این روش‌ها و استفاده از متون منابع معتبر علمی و مراجع بین‌المللی فارماکوپه USP (۹) با توجه به امکانات، سرعت و دقت فرآیند، روش HPLC به‌عنوان مناسب‌ترین روش جهت اندازه‌گیری دکسترومتورفان انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت (۷-۳). در این آزمایشات نمونه‌ها پس از رسم منحنی استاندارد مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. به‌منظور بررسی تکرارپذیری (دقت و صحت) سیستم و روش آنالیز، تغییرات درون روزی و بین روزی نیز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آنالیز نمونه‌ها نشان دادند که ضریب تغییرات درون روزی برای ۳ غلظت ذکر شده، بین ۱۳-۴ قرار دارد. برای تغییرات بین روزی نیز ۳ غلظت مختلف ذکر شده مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج آنالیز این نمونه‌ها نیز نشان داد که ضریب تغییرات بین روزی بین ۱۴-۶ قرار دارد.

پس از اطمینان از دقت و صحت روش، نمونه‌های دکسترومتورفان تجاری مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج به دست آمده از این آزمایشات در جداول (۶)-(۳) آورده شده است. نتایج حاصله از اندازه‌گیری دکسترومتورفان در اشکال دارویی به ترتیب قرص، ۱۵/۵۷ تا ۱۸/۴۸ میلی‌گرم معادل ۱۰۴ تا ۱۲۴ در صد، مقدار موجود در بر چسب فرآورده (۱۵ میلی‌گرم). شربت‌های ساده بین ۱۳/۵۹ تا ۱۷/۷۳ میلی‌گرم معادل با ۹۱ تا ۱۱۹ درصد، مقدار موجود در بر چسب فرآورده (۱۵ میلی‌گرم). شربت‌های ترکیبی بین ۱۶/۲۳ تا ۱۷/۹۹ میلی‌گرم معادل با ۱۰۹ تا ۱۲۰ درصد، مقدار موجود در بر چسب فرآورده‌ها (۱۵ میلی‌گرم) و قطره‌ها بین ۳/۴۸ تا ۳/۶۶ میلی‌گرم معادل ۸۷ تا ۹۲ در صد، مقدار موجود در بر چسب فرآورده (۴ میلی‌گرم) بودند.

بحث

معمولاً در واحدهای تحقیق و توسعه شرکت‌های داروسازی پس از مطالعه و ارائه فرمولاسیون‌های مختلف برای یک دارو، به منظور رسیدن به اثر درمانی مطلوب و کاستن عوارض درمانی، کنترل کیفی فرآورده دارویی در طی مراحل تولید و بررسی اثرات بیولوژیک آن اهمیت فراوانی دارد. به‌طور کلی پس از تولید یک فرآورده دارویی، با توجه به کیفیت و فرمولاسیون دارو و یا به‌واسطه اثرات متقابل مواد متشکله فرمولاسیون، بسته‌بندی، زمان و شرایط انبارش، نحوه حمل و نقل، توزیع، عرضه و حتی روش مصرف، ممکن است تغییراتی در کیفیت یک فرآورده دارویی ایجاد شود و کیفیت فرآورده تنزل نماید. در این راستا کیفیت دارو غیر از

کنترل در آزمایشگاه‌های صنایع داروسازی، در آزمایشگاه‌های ذی‌صلاح نیز قابل ارزیابی است.

ما در این پروژه با استفاده از روش کروماتوگرافی با کرائی بالا و استفاده از دتکتور فلئورسانس نسبت به اندازه‌گیری ماده مؤثره دکسترومتورفان در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی ایران اقدام نمودیم. این روش بسیار حساس بوده و با بکارگیری دتکتور فلئورسانس حساسیت آن افزایش یافته و نسبت به ماده مورد نظر اختصاصی‌تر خواهد بود و بنابراین به صراحت می‌توانیم ادعا کنیم که متد بکار رفته قابل اطمینان می‌باشد.

نتایج حاصله از این پروژه جهت تعیین دکسترومتورفان و مقایسه آن با مقدار ماده مؤثره مورد ادعای لابراتوارهای داروسازی تولیدکننده آن‌ها نتایج قابل قبول و افزون بر برجسب دارویی در مورد اشکال دارویی قرص و شربت‌ها را نشان می‌دهد در حالی که مقدار ماده مؤثره در قطره‌های خوراکی کمتر از مقادیر مورد ادعا است. بر اساس فارماکوپه‌های معتبر بین‌المللی مانند فارماکوپه USP و یا فارماکوپه BP مقدار تغییرات ماده مؤثره بایستی در حد $\pm 10\%$ درصد کل ماده مؤثره در شکل دارویی باشد. معمولاً گذشت زمان می‌تواند مقدار ماده مؤثره را کاهش دهد. اختلافات مشاهده شده در نتایج نسبت به مقدار ده درصدی در رابطه با بالا بودن ایمنی پنجره درمانی داروی دکسترومتورفان اهمیت زیادی نخواهد داشت ولی با این همه لازم است کارخانجات داروسازی کنترل‌های منظم و مرتبی را نسبت به مقدار ماده مؤثره در طی پروسه فرمولاسیون دارویی داشته باشند.

مطالعات مشابهی در این زمینه در مجلات علمی قابل بررسی می‌باشد. به عنوان مثال آقای YU-PEN CHEN و همکاران از کشور تایوان در سال ۱۹۹۹ میلادی مقدار دکسترومتورفان را در دو نوع از اشکال دارویی شامل قرص‌های ۵ میلی‌گرم و کپسول ۱۵ میلی‌گرم با روش کروماتوگرافی مایع اندازه‌گیری نمودند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری آن محققین نشانگر مقدار دکسترومتورفان در قرص و کپسول ۵ و ۱۵ میلی‌گرمی به ترتیب ۹۹/۷ درصد و ۱۰۴ درصد از مقدار ادعای کارخانه سازنده را نشان می‌داد (۱۰). آقای Abdi Ozdemir و همکاران از کشور ترکیه در سال ۲۰۰۶ اقدام به اندازه‌گیری دکسترومتورفان در شربت‌های دارویی با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کرائی، بالا نمودند. مقدار بدست آمده از ماده مؤثره در حدود ۱۰۰/۸ درصد مقدار ادعای کارخانه سازنده بود (۸). آقای Mohamed R. Louhaichi و همکاران از کشور تونس در سال ۲۰۰۹ میلادی در دو نمونه از شربت‌های سرما خوردگی مقدار دکسترومتورفان را با روش کروماتوگرافی مایع اندازه‌گیری نمودند. مقادیر بدست آمده از ماده مؤثره در دو نوع از شربت ضد سرفه ۱۰۲ و ۹۸/۵ درصد مقدار مورد ادعای کارخانه

ضد سرفه نمودند. نمونه‌های آنالیز شده شامل مقادیر مورد ادعای کارخانه، قرص‌های ۱۰ میلی‌گرمی، قطره ۱۰۰۰ میلی‌گرم در ۱۵ میلی‌لیتر از محلول و ۱۵ میلی‌گرم در ۵ میلی‌لیتر از شربت‌های ضد سرفه را در بر می‌گرفت. نتایج بدست آمده از آزمایشات این محققین در نمونه‌های فوق به ترتیب ۹۹/۵، ۹۷/۹ و ۹۸/۴ درصد از مقادیر برچسب داروئی را شامل می‌گردید (۱۴).

بررسی متون علمی در زمینه کنترل‌های داروئی نشان‌گر این واقعیت است که نمونه‌های داروئی انتخاب شده از بازار دارویی ایران، نسبت به نتایج مقالات علمی فوق، از دقت و صحت کافی برخوردار نمی‌باشند. در تمامی این پژوهش‌ها، محدوده غلظتی دکسترومتورفان در مقادیر کمتر از ۱۰ درصد قرار دارند. این در حالی است که این مقادیر در نمونه اشکال داروئی ایرانی به حدود ۲۰ درصد می‌رسد. بنابراین؛ پژوهش حاضر می‌تواند زنگ خطری برای لابراتوارهای سازنده داروها باشد و بیانگر لزوم محاسبه دقیق ماده مؤثره طی فرآیند ساخت و کنترل‌های دقیق در طول مراحل تولید دارو را می‌طلبد.

سازنده (۲۰۰۶ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر شربت) بود (۱۱). آقای Fuad Al – Rimawi در سال ۲۰۱۰ میلادی در مجله فارماسیوتیکال عربستان سعودی با روش کروماتوگرافی مایع مقدار چندین ماده مؤثره از جمله دکسترومتورفان را در شش نمونه از قرص‌ها مورد آنالیز قرار داد. این محقق مقدار واقعی ماده مؤثره را ۹۸/۵ در صد مقدار مورد ادعای کارخانه سازنده گزارش نموده است (۱۲). آقای M. R. Louhaichi و همکاران از کشور تونس در سال ۲۰۰۹ میلادی به کمک روش کروماتوگرافی با کرائی بالا اقدام به اندازه‌گیری دکسترومتورفان در سه نمونه از شربت‌های سرماخوردگی بچه‌ها و شربت ضد سرفه بزرگسالان نمودند. نتایج بدست آمده به ترتیب برای مقادیر مورد ادعای لابراتوارهای سازنده (۱۰۰، ۲۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر شربت) شامل ۹۵/۶، ۱۰۳/۷ و ۱۰۱/۵ درصد از برچسب مورد ادعای کارخانه سازنده بود (۱۳). در سال ۲۰۰۶ آقای Ragaa El-Sheikh و همکاران از کشور مصر با روش اسپکتروفتومتری ساده اقدام به اندازه‌گیری دکسترومتورفان در نمونه‌های قرص، قطره و شربت‌های

References:

1. Fox LM. The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition. Am J Pharm Educ 2006 Jun 15;70(3).
2. Di Marco MP, Edwards DJ, Wainer IW, Ducharme MP. The effect of grapefruit juice and seville orange juice on the pharmacokinetics of dextromethorphan: the role of gut CYP3A and P-glycoprotein. Life Sci 2002;71(10):1149–60.
3. Vengurlekar SS, Heitkamp J, McCush F, Velagaleti PR, Brisson JH, Bramer SL. A sensitive LC-MS/MS assay for the determination of dextromethorphan and metabolites in human urine--application for drug interaction studies assessing potential CYP3A and CYP2D6 inhibition. J Pharm Biomed Anal 2002;30(1):113–24.
4. Tantishaiyakul V, Poeaknapo C, Sribun P, Sirisuppanon K. Simultaneous determination of dextromethorphan HBr and bromhexine HCl in tablets by first-derivative spectrophotometry. J Pharm Biomed Anal 1998; 17: 237–43.
5. Salsali M, Coutts RT, Baker GB. Analysis of dextrophan, a metabolite of dextromethorphan, using gas chromatography with electron-capture detection. J Pharmacol Toxicol 1999; 4: 143–6.
6. Heydari RA. new HPLC method for the simultaneous determination of acetaminophen, phenylephrine, dextromethorphan and chlorpheniramine in pharmaceutical formulations. Analytical Letters 2008; 41; 6: 965-76.
7. Ozdemir A, Aksoy H, Dinc E. Determination of guaifenesin and dextromethorphan in a cough syrup by HPLC with fluorometric detection. Revue Roumaine De Chimie 2006; 5(2): 117-22
8. U.S. Pharmacopeial Convention [Internet]. [cited 2013 Aug 31]. Available from: <http://www.usp.org/pt>
9. Chen YP, Wang P, Shaw CY, Chang BL. Simultaneous determination of Complex Cold Medicine Formulations by HPLC. J Food And Drug Analysis 1997; 7(1): 13-22.
10. Louhaichi MR, Jebali S, Loueslati MH, Monser L. Simultaneous determination of Dextromethorphan Hydrobromide, Pyrilamie Maleate and Sodium

- Benzoate in a Cough Cold Syrup By LC. *Chromatographia* 2009; 69: 421-7.
11. Al-Rimawi F. Normal-phase LC method for simultaneous analysis of pseudoephedrine hydrochloride, dextromethorphan hydrobromide, chlorpheniraminemaleat, and parasetamol in tablet formulation. *Saudi Pharmaceutical J* 2010; 18: 103-6.
 12. Louhaichi MR, Jebali S, Loueslati MH, Monser L. Simultaneous determination of pseudoephedrine, pheniramine, guaifenisin, pyrilamine, chlorpheniramine and dextromethorphan in cough and cold medicines by high performance liquid chromatography. *Talanta* 2009; 78: 991-7.
 13. El-Sheikh R, Zaky M, Mohamed FZ, Amin AS, Gouda AA. Spectrophotometric determination of dextromethorphan hydrobromide and ketamine hydrochloride in pure and dosage forms. *Journal of Chinese Chemical Society (jccs)* 2006; 53; 4: 831-8.

DETERMINATION OF DEXTROMETHORPHAN IN PHARMACEUTICAL FORMULATIONS AVAILABLE IN DRUG MARKET OF IRAN USING HPLC METHOD

Amir Heidari^{1*}, Azam Akbari², Tahmineh Peirouvi³

Received: 14 Apr, 2013; Accepted: 20 Jun, 2013

Abstract

Background & Aims: Quality control is the most common function to test and measure material and product. Quality control of active ingredients in drug formulation is to control the quality of the products of a company and evaluate their stability. The purpose of this study was to determine the amount of dextromethorphan available in drug market of Iran.

Materials & Methods: For this purpose different pharmaceutical formulations of dextromethorphan with different serial number preparations were purchased from the market. Based on their standard methods of extraction (USP Pharmacopeia) the active ingredient dextromethorphan was extracted and determined by using HPLC Colum. The method utilize fluorescence detector.

Results: The results of this project on 40 commercial products were as follow: The respective forms of pharmaceutical tablets were 104-124%; drops 87-92%; simple syrup 91-119%; and syrup mixture 109-120% of labeled.

Conclusion: The assay results obtained from forty commercially available formulations of tablet and syrup were more than the amounts declared which agree with the tolerances indicated by the USP pharmacopeia while the assay results for drops were less than the declared values.

Keywords: Dextromethorphan, Pharmaceutical dosage form, HPLC

Address: Faculty of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

Tel: +98 441 2754991

Email: heydari.866@gmail.com

SOURCE: URMIA MED J 2013; 24(6): 413 ISSN: 1027-3727

¹ Assistant Professor of Pharmacology, Cellular and Molecular Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran (Corresponding Author)

² MSc in Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

³ Associate Professor of Histology, Maternal & Child Obesity Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran