Archive of SID

عنوان مقاله

روش تبدیل موجک پیوسته و اسپکتروفتومتری مشتقی جهت آنالیز همزمان تئوفیلین و گایافنزین، در فرمول‌بندی دارویی

Simultaneous Quantitation of Theophylline and Guaifenesin in Syrup by CWT and Derivative Spectrophotometry for Quality Control Purposes

نویسندگان

محمودرضا سهرابی[۱]، انسیه علاالدینی*[۱]، مهران جوانبخت[۲]، منیره ساربان[۱] و پری مرندی[۱]

۱- دانشکده شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

۲- گروه مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران.

چکیده

شربت تئوفیلین- جی ترکیب شده ازتئوفیلین و گایافنزین، ازرایج ترین داروها برای درمان وکنترل بیماری آسم است. در این پروژه، از تبدیل موجک پیوسته جهت آنالیز همزمان تئوفیلین و گایافنزین، که دارای همپوشانی طیفی گسترده‌ای هستند، در شربت تئوفیلین- جی استفاده شده و با روش اسپکتروفتومتری مشتقی مرتبه اول مقایسه شده است. در روش تبدیل موجک، ابتدا خانواده‌های موجک متفاوت و مقیاس‌های متفاوت جهت به‌دست آوردن دقت و درستی بیشتر در نتیجه‌ها، بررسی و ciof5 (ciof5 از خانواده Coiflet wavelet family) با پارامتر مقیاس ۳۰۰ انتخاب شد. منحنی های کالیبره‌کردن با اندازه گیری شدت سیگنال های تبدیل موجک در نقاط گره صفر (zero crossing point) رسم گردید. در تمام موارد انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۰/۵۹ درصد به‌دست آمد و میانگین بازیابی برای تئوفیلین و گایافنزین به ترتیب ۹۹/۹۰ درصد و۱۰۱/۲ درصد در روش تبدیل موجک و ۹۶ و ۹۸ درصد در روش اسپکتروفتومتری مشتقی است. هر دو روش با بررسی تکرارپذیری و صحت و خطی بودن معتبرسازی شدند. دو روش کم هزینه، دارای درصد خطای پایین و سرعت بالایی هستند که به عنوان یک وسیله قدرتمند، با درستی و حساسیت بالا می توانند جهت آنالیزهای روزمره در آزمایشگاه‌های کنترل کیفی مورد استفاده قرار بگیرند.

واژه های کلیدی

تئوفیلین؛ گایافنزین؛ موجک؛ موجک پیوسته؛ اسپکتروفتومتری مشتقی؛ آنالیز همزمان.

www.SID.ir

* E. mail:ensieh_alaeddin@Yahoo.com

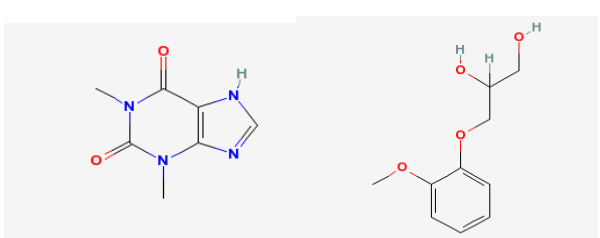
Archive of SID

مقدمه

آسم نوعی بیماری التهابی مزمن راه های هوایی و دوره‌ای با حمله‌های حاد و دوره های بدون علامت است. ۳ تا ۵ درصد تمام افراد، در زمانی از عمر خود به آسم دچار هستند.کنترل آسم زیاد آسان نیست بلکه احتیاج مداوم به درمان درست دارد که ممکن است سال ها طول بکشد و حتی در برخی از موارد تمام عمر به درازا می کشد. در این میان مسأله چگونگی استفاده درست از داروهای متفاوت برای آسم مهم است. رایج ترین نوع آن‌ها شربت تئوفیلین–جی می باشد.

تئوفیلین متعلق به خانواده گزانتین‌ها است. این ترکیب موجب شل شدن ماهیچه‌های صاف شده و تنش‌ها و گرفتگی‌های ناگهانی را از بین می برد. گایافنزین به‌عنوان یک ماده‌ی خلط آور مصرف می شود. استفاده از مخلوط تئوفیلین و گایافنزین در درمان علائم آسم های برونشیتی و سایرشرایط و عوارض ناشی از برونشیت به‌خوبی ثابت شده است [۱].

داروی ضد آسم مثل تئوفیلین– جی دارای دو ماده‌ی موثره‌ی تئوفیلین (1H-Purine-2,6-dione, 3,7-dihydro-1,3-dimethyl) و گایافنزین (3-(2-methoxyphenoxy) propane -1,2-diol) بوده که نسبت تئوفیلین به گایافنزین در دوز تجاری آن در شربت تئوفیلین–جی ۵ به ۳ است. تجزیه این دو ماده در فهرست کتاب‌های دارویی آمریکا (USP) و بریتانیا (BP) موجود است [۲,۳]. چندین روش تجزیه‌ای مانند روش های اسپکتروفتومتری مشتقی نسبی، کالیبره‌کردن چند متغیره، کاپیلاری الکتروفورز، HPLC و... برای تعیین و تشخیص تئوفیلین و گایافنزین پیشنهاد شده است [۱۸–۴]. ساختار شیمیایی این دو دارو درشکل (۱) نشان داده شده است.



ب آ

شکل ۱–(آ) تئوفیلین (ب) گایافنزین

اخیراً روش تبدیل موجک CWT۱ نقش مهمی در فن پردازش سیگنال‌ها دارد از جمله:

۱– در تفکیک همپوشانی پیک ها

۲– برای باز شناسایی پیک ها

1-Continuous wavelet transform

WTو کاربرد آن در شیمی تجزیه و شاخه های آن برای اندازه گیری همزمان داروها درترکیب‌های چند جزیی انجام می شوند [۲۵–۱۹].

در این مطالعه، روش های CWT و اسپکتروفتومتری مشتقی ۲DS برای اندازه گیری همزمان تئوفیلین و گایافنزین به‌کار رفته است.

بخش تجربی

دستگاه ها و نرم افزار

دستگاه Bio-TEK kon 922 double beam UV–vis spectrophotometer مجهز به سلی از جنس کوارتز، نرم افزار Mathlab و نرم افزار Excel

مواد

تئوفیلین، گایافنزین، شربت تئوفیلین– جی تهیه شده از شرکت داروسازی رازک، آب مقطر.

روش کار

تهیه محلول استاندارد تئوفیلین و گایافنزین

ابتدا به طورجداگانه محلول۱۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از تئوفیلین و گایافنزین به عنوان محلول stock ساخته شد. (۱۰/۰۰ میلی گرم از هر کدام توزین و به طور جداگانه با آب مقطربه حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسید). سپس محلول های استاندارد با برداشتن حجم مشخصی از محلول stock و به حجم رساندن آن ها با آب مقطر ساخته شدند. محلول های استاندارد تئوفیلین شامل غلظت های ۱۵–۲ میکروگرم بر میلی لیتر و محلول های استاندارد گایافنزین شامل غلظت های ۳۰–۲ میکروگرم بر میلی لیتر هستند.

تهیه محلول حقیقی

جهت تهیه محلول حقیقی از شربت تئوفیلین– جی که شامل ۱۵۰ mg تئوفیلین و ۹۰ mg گایافنزین در ۵ mL شربت می‌باشد و ساخت شرکت داروسازی رازک استفاده شد. ۰/۲۵ میلی لیتر شربت تئوفیلین– جی با آب مقطربه حجم ۲۵۰ میلی لیتررسید. به این ترتیب محلول تئوفیلین با غلظت مورد انتظار ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر و محلول گایافنزین با غلظت مورد انتظار ۶ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد.

طیف بینی

طیف جذبی محلول های استاندارد تئوفیلین و گایافنزین و محلول های

2- Derivative Spectrophotometry

www.SID.ir

حقیقی و محلول های سنتزی در ناحیه طول موج ۲۰۰– ۴۰۰ نانومتر به دست آمد (شکل های ۲–۳).

روش WT

این روش موفق شد آنالیزاسپکتروفتومتری را در ترکیبات چند جزیی انجام دهد [۲۷–۲۶]. WT را با تابع $\Psi_{a,b(\lambda)}$ نشان می دهیم:

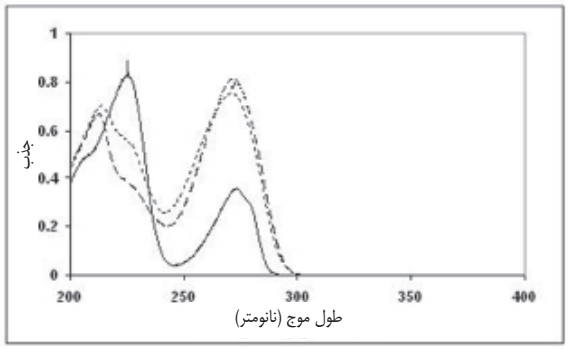
$$\Psi_{a,b}(\lambda) = \frac{1}{\sqrt{|a|}} \Psi\left(\frac{\lambda - b}{a}\right) \qquad \begin{cases} a, b \in R \\ a \neq 0 \end{cases} \qquad (۱)$$

a پارامتر مقیاس و b پارامتر انتقال است و به ازاء یک مقدارثابت a، تغییرهای b موجب انتقال و حرکت تابع Ψ در طول زمان می شود. CWT یک سیگنال معین به وسیله‌ی $f(\lambda)$ مشخص می شود که با فرمول زیر تعریف می‌شود:

$$CWT\{f(\lambda), a, b\} = \frac{1}{\sqrt{a}} \int_{-\infty}^{+\infty} f(\lambda)\, \psi\, \frac{(\lambda - b)}{a}\, d\lambda \qquad (۲)$$

بحث و نتیجه‌گیری

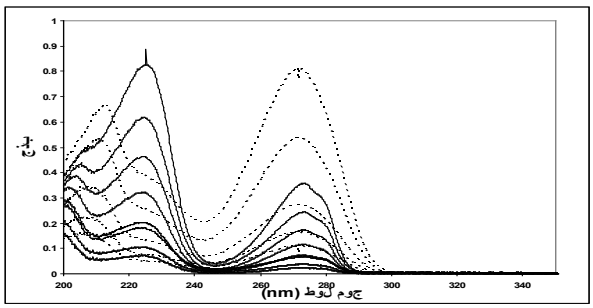
از جمله کاربردهای تبدیل موجک در شیمی کاهش داده ها، حذف نویز، افزایش تفکیک پذیری، برداشتن زمینه، تصحیح خط پایه، تشخیص الگوی طیفی، Smooting و... است که در این کار هدف از استفاده ی روش CWT، تشخیص الگوی طیفی است. روش ها بر مبنای CWT و DS (جهت مقایسه) از طیف های جذبی به‌دست آمده و از بررسی داروهای تئوفیلین و گایافنزین انجام شد که طیف های حاصل در شکل های۳–۲ ارائه شده است.



شکل ۲ – همپوشانی طیف های تئوفیلین ۱۵ میکروگرم بر لیتر(– –) و گایافنزین ۳۰ میکروگرم بر لیتر (_) و شربت تئوفیلین–جی (....)

www.SID.ir

با توجه به شکل ۳ مشخص می شود که این دو دارو در گستره‌ی طیفی ۲۰۰–۲۹۰ نانومتر همپوشانی قوی دارند و به دلیل مزاحمت متقابل دو دارو آنالیز همزمان تئوفیلین و گایافنزین در نمونه های مشابه به‌وسیله‌ی روش های تجزیه‌ای کلاسیک امکان پذیر نیست. برای حل این مشکل روش های CWT و DS استفاده شدند که این روش ها توانستند آنالیز همزمان دو دارو ی تئوفیلین و گایافنزین را با موفقیت انجام دهند (شکل های ۴و۷). در این کار، مزاحمت ها کاهش یافته و در نتیجه قابلیت پیشگویی بهتری حاصل می شود.

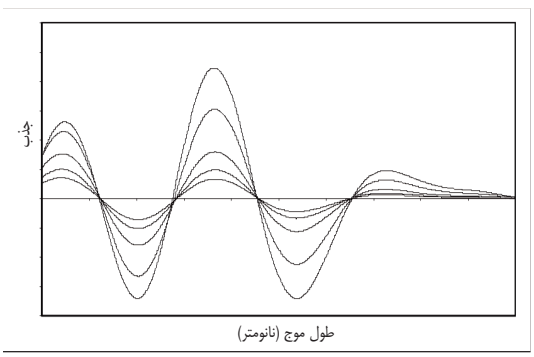


شکل ۳– همپوشانی طیف های تئوفیلین (– –) و گایافنزین (_) با غلظت های متفاوت

با توجه به مزایای اشاره شده کنترل کیفیت، بلادرنگ می تواند اجرا گردد و د رنتیجه سبب کاهش هزینه و نیز مصرف درست مواد اولیه طبق فرمول‌بندی شود که این موضوع در صنایع دارویی بسیار حائز اهمیت است.

– روش CWT

در این روش طیف‌های جذبی تئوفیلین و گایافنزین در محدوده غلظتی ذکر شده و در دامنه‌ی طیفی ۲۰۰–۳۵۰ نانومتر ثبت می شوند و از موجک (5 coif) خانواده‌ی Coiflets با پارامتر مقیاس (a=300) استفاده شد (شکل۴).



شکل ۴– همپوشانی طیف های تئوفیلین (_) و گایافنزین (– –) با روش CWT

با توجه به شکل ۴ در تبدیل موجک Coiflets طول موج ۲۷۰/۲ گره نقطه صفرگایافنزین و طول موج ۲۲۴/۴ گره نقطه صفرتئوفیلین هستند.

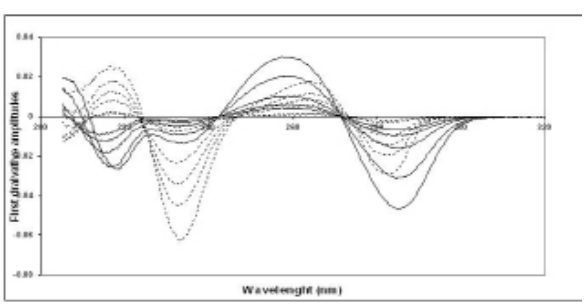
Archive of SID

سپس منحنی کالیبره‌کردن تئوفیلین با اندازه‌گیری شدت طیف تبدیل موجک تئوفیلین در طول موج مربوط (۲۷۰/۲ نانومتر) به گره نقطه صفر گایافنزین در غلظت های متفاوت رسم شد. همچنین منحنی کالیبره‌کردن گایافنزین با اندازه گیری شدت طیف تبدیل موجک گایافنزین در طول موج مربوط (۲۲۴/۴ نانومتر) به گره نقطه صفر تئوفیلین در غلظت های متفاوت رسم شد.

انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۰/۱۵ درصد به‌دست آمد و میانگین بازیابی۱۰۰/۵۵ درصد است. این روش با بررسی تکرارپذیری و صحت و خطی بودن معتبر سازی شدند. نتیجه‌ها در جدول ۱ آمده است.

– روش DS

در روش اسپکتروفتومتری مشتقی ابتدا طیف مشتق مرتبه اول محلول های استاندارد تئوفیلین و گایافنزین و محلول های حقیقی رسم و نسبت به طول موج به دست آمد که در شکل ۵ ارائه شده است. $\Delta\lambda$ =۱۰ nm جهت به دست آمدن طیف مشتقی مطلوب با نسبت سیگنال به نویز بالا و شدت مناسب انتخاب شد. در طیف مشتق اول طول موج ۲۴۲/۴ و ۳۰۵ به عنوان zero cross point تئوفیلین و گایافنزین هستند.



شکل ۵– همپوشانی طیف های تئوفیلین (–) و گایافنزین (––) با روش DS

منحنی کالیبره‌کردن تئوفیلین با اندازه گیری شدت طیف مشتق با مرتبه مورد نظر در طول موج مربوط ۳۰۵ به zero cross point گایافنزین به دست آمد و برعکس.

سپس منحنی کالیبره‌کردن تئوفیلین با اندازه گیری شدت طیف اسپکتروفتومتری مشتقی نئوفیلین در طول موج مربوط (۳۰۵ نانومتر) به گره نقطه صفر گایافنزین در غلظت های متفاوت رسم شد. همچنین منحنی کالیبره‌کردن گایافنزین با اندازه گیری شدت طیف اسپکتروفتومتری مشتقی گایافنزین در طول موج مربوط (۲۴۲/۴نانومتر) به گره نقطه صفر تئوفیلین در غلظت های متفاوت رسم شد. در اسپکتروفتومتری مشتقی طول موج ۳۰۵ گره نقطه صفر گایافنزین و طول موج ۲۴۲/۴ گره نقطه صفر تئوفیلین هستند (شکل ۵).

انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۰/۵۹ درصد به‌دست آمد و میانگین بازیابی۹۷ درصد است. این روش با بررسی تکرارپذیری و صحت و خطی بودن معتبر سازی شدند. نتیجه‌ها در جدول ۲ آمده است.

– معتبرسازی روش ها

یک رابطه‌ی خطی خوبی برای تئوفیلین و گایافنزین در گستره‌ی غلظتی ۲–۱۵ و ۲–۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد. مطابق نتیجه‌های ارائه شده در جدول‌های (۱–۳) ارزیابی می شودکه آنالیز محلول شامل مخلوط دو دارو که از محلول استوک رقیق شده به‌دست آمده‌اند نتیجه‌های مطلوبی به ما می دهند.

جمع بندی

از طریق طیف جذبی که از همپوشانی تئوفیلین و گایافنزین در ناحیه طیفی یکسان ۲۰۰–۳۰۰ نانومتر به‌دست آمده است، تجزیه‌ی همزمان با

جدول ۱ – نتیجه‌های کالیبره‌شدن تئوفیلین و گایافنزین با روش تبدیل موجک پیوسته

روش	آنالیت	دامنه غلظت (µg/ml)	شیب (a)	عرض از مبدا (b)	ضریب همبستگی (r)	حد تشخیص (µg/ml)	حد کمی سازی (µg/ml)
coif5 λ=۲۷۰/۲	THEO	۲-۱۵	۰/۲۸۳۷	۰/۰۹۱۴	۰/۹۹۹۹	۰/۰۹	۰/۳۱
coif5 λ=۲۲۴/۴	GU	۲-۳۰	۰/۱۳۷۸	۰/۱۴۸۹	۰/۹۹۸۹	۰/۲۲	۰/ ۷۲

r: ضریب همبستگی، a: شیب منحنی کالیبره‌کردن، b: عرض از مبدا .LOD و LOQ: حد تشخیص و حد کمی‌سازی.

www.SID.ir

روش های CWT و DS امکان پذیراست.

در این پژوهش، روش های CWT و DS با موفقیت اجرا شدند. با توجه به نتیجه‌های به‌دست آمده، می توان بیان نمود که اندازه گیری همزمان اجزای موجود در یک مخلوط از اهمیت ویژه ای برخوردار است لذا با استفاده از روش پیشنهادی قابلیت تجزیه‌ی کمی همزمان اسپکتروفتومتری دو ترکیب که دارای همپوشانی طیفی گسترده ای هستند، بدون جداسازی، با دقت و درستی کافی و با استفاده از روش طیف سنجی UV-visible و فن‌های شیمی سنجی، امکان پذیر است.

قابل ذکر است که روش تبدیل موجک، روشی است که با انتخاب ناحیه طول موجی مورد نظر، اثر سیگنال های مزاحم احتمالی را حذف می‌کند. به‌عنوان یک وسیله‌ی قدرتمند، بسیار کارآ، با درستی و حساسیت بالا مورد استفاده قرار گرفته است. نتیجه‌ها نشان دادند که این دو روش می توانند برای کنترل کمی، از دوزهای متفاوت چند جزئی تئوفیلین و گایافنزین استفاده شوند.

روش پیشنهادی، یک روش آسان، سریع، ارزان و بدون نیاز به هیچ جداسازی و افزودن مواد آزمایشگاهی است. به طوری که درصد خطا برای جزء تئوفیلین و گایافنزین حدود یک درصد به‌دست آمده است. لذا روش پیشنهادی جهت تجزیه‌ی کمی همزمان در آزمایشگاه‌های کنترل کیفیت داروسازی و سایر صنایع می توانند مورد استفاده قرار بگیرند.

جدول ۲- نتیجه‌های کالیبره‌شدن تئوفیلین و گایافنزین با روش اسپکتروفتومتری مشتقی

روش	آنالیت	دامنه غلظت (µg/ml)	شیب (a)	عرض از مبدا (b)	ضریب همبستگی (r)	حد تشخیص (µg/ml)	حد کمی سازی (µg/ml)
DS λ=۳۰۵	THEO	۲-۱۵	۰/۰۵۹۴	۰/۰۹۱۴	۰/۹۹۸۲	۱/۵۱	۵/۱
DS λ=۲۴۲/۴	GU	۲-۳۰	۰/۰۵۶۳	۰/۱۴۸۹	۰/۹۹۹۱	۱/۰۸	۳/۶

r: ضریب همبستگی، a: شیب منحنی کالیبره‌کردن، b: عرض از مبدا .LOD و LOQ: حد تشخیص و حد کمی‌سازی.

جدول ۳- نتیجه‌های آزمایشی (میکروگرم بر میلی لیتر) به‌دست آمده با استفاده از روش های پیشنهادی برای تعیین مقادیر تجاری

	غلظت مورد انتظار گایافنزین ۶ میکروگرم بر میلی لیتر		غلظت مورد انتظار تئوفیلین ۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر	
روش	روش موجک λ=۲۲۴/۴	روش مشتقی λ=۲۴۲/۲	روش موجک λ=۲۷۰/۲	روش مشتقی λ=۳۰۵
میانگین	۵/۹۱	۵/۸۸	۹/۹۷	۹/۹۲
انحراف استاندارد (S.D)	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۴
انحراف استانداردنسبی (R.S.D)	۰/۰۳	۰/۵۹	۰/۱۵	۰/۴۳
CL(P = ۰/۰۵)	۰/۰۴	۰/۰۸	۰/۰۳	۰/۳۸
ریکاوری	۹۹/۹۰٪	۹۸٪	۱۰۱/۲٪	۹۶٪
t(بحرانی) -تست t=	۴/۳		۱۲/۷	

نتیجه‌های به‌دست آمده برای ۳ بار تکرار CL: حد اطمینان

www.SID.ir

مراجع

[1] Hardman, J. G.; Limbird, L. E.; Gilman, A. G.; Goodman &Gilman'sThe Pharmacological Basis ofTherapeutics; tenth ed. McGraw-Hill Professional, NY; 2001.

[2] USP28-NF23, the United States Pharmacopoeial Convention, Inc., Twin brook Parkway; 2005.

[3] BP 2004, the Stationary Office; London, 2004.

[4] Indrayanto, G.; Sunarto, A.; Adriani, Y.; J. Pharm

Archive of SID

Biomed. Anal.; 13:1555-9; 1995.
[5] Nakashima, K.; Inoue, K.; Mayahara, K.; Kuroda, N.; Hamachi, Y.; Akiyama, S.; J. Chromatogr. A.; 722:107-13; 1996.
[6] Vogt, C.; Conradi, S.; Rohde, E.; J. Chem. Educ.; 74:1126-30; 1997.
[7] Ni Y, Zhang, G.; Kokot, S.; Food Chemistry; 89: 465-73; 2005.
[8] Morelli, B.; J. Pharm. Biomed. Anal.; 32:257-67; 2003.
[9] Kazemipour, M.; Noroozian, E.; Tehrani, M. S.; Mahmoudian, M.; J. Pharm. Biomed. Anal.; 30:1379-84; 2002.
[10] Yılmaz, B.; Öztürk, M.; Kadıolu, Y.; Il Farmaco.; 59:723-7; 2004.
[11] Oliveira, E. J.; Watson, D. G.; Morton, N. S.; J. Pharm. Biomed. Anal.; 29:803–9; 2002.
[12] Rasmussen, B. B.; Brosen, K.; J. Chromatogr. B.; 676:169-74; 1996.
[13] Schreiber-Deturmeny, E.; Bruguerolle, B.; J. Chromatogr. B.; 677:305-12; 1996.
[14] Gaillard, Y.; Pépin, G.; J. Chromatogr. A.; 763:149-63; 1997.
[15] Stavchansky, S.; Demirbas, S.; Reyderman, L.; Chai, C. K.; J. Pharm. Biomed. Anal.; 13:919-25; 1995.
[16] Dinc, E.; Kdil, G. K.; Onur, F.; J. Pharm. Biomed. Anal.; 26:769–78; 2001.
[17] Karpinski, J.; Mularczyk, B.; Spectrochimica Acta Part A.; 60:2189–94; 2004.
[18] Dinc, E.; J. Pharm. Biomed. Anal.; 21:723–30; 1997.
[19] Din, E.; Baleanu, D.; J. Pharm. Biomed. Anal.; 30 (3), 715–723; 2002.
[20] Din, E.; Baleanu, D.; Spectrochim. Acta, Part A; 63(3), 631–638; 2006.
[21] Dinc, E.; Baleanu, D.; A. Tas, Rev. Chim.(Bucharest); 57(6), 626–631; 2006.
[22] Dinc, E.; Baleanu, D.; J. AOACInt. 87, 360–365; 2004.
[23] Dinc, E.; Baleanu, D.; J. AOACInt. 87, 834–841; 2004.
[24] Dinc, E.; Ozdemir, A.; Baleanu, D.; Talanta 65 (1), 36–47; 2005.
[25] Dinc, E.; Baleanu, D.; Farmaco; 57, 33–37; 2002.
[26] Walczak, B.; Waveletsin Chemistry, Elsevier Press, Amsterdam,T he Neter-lands; 2000.
[27] Daubechies, I.; TenLectureson Wavelets, Society for Industrial and Applied Mathematics, Philadelphia; 1992.

www.SID.ir