

آنالیز کمی H₂ بلوکرها توسط طیف بینی مادون قرمز (FT-IR) و مقایسه آن

با روش HPLC مندرج در USP

دکتر داود حسن زاده^۱، دکتر بیژن ملائکه^۲

Title : Quantitative fourier transform-infrared (FT-IR) analysis of H₂-blockers : comparison with the (HPLC) methodology.

Authors : Davoud Hassanzadeh¹, Bijan Malaekheh²

Abstract : Cimetidine , Ranitidine and Famotidine occur in a number of dosage forms, and the USP monograph methods has listed a HPLC method as the official assay procedure for quality control.

The goal of this work was to demonstrate an alternative FT-IR technique with ability to determine the amount of drugs in pharmaceutical dosage forms.

In this study the three commercial H₂ blockers were quantitatively analyzed using FT-IR spectrometer. Methods were used for sample preparation and different wave numbers were investigated. The calibration curves were drawn and the commercial tablets were analyzed accordingly. The selected FT-IR method was compared with the HPLC method of USP. The spectra were studied for the pure drug and the tablets. A sharp peak in which the excipients did not show any absorbance was selected for each drug and the peak height was used as a measure of the drug concentration. The selected peaks were in the wavenumbers of 1173.08, 1237.79 and 2168.06 for famotidine, ranitidine and cimetidine respectively. The results showed that in tablets containing 200 mg cimetidine 206.7 ± 2.33 (mg) and 201.05 ± 1.31 (mg) was obtained by FT-IR and HPLC methods, respectively. The similar results were obtained for the tablets containing 150mg Ranitidine, and 40 mg Famotidine. For example 150.04 ± 2.87 (mg) and 151.39 ± 12.70 , mg Ranitidine and 40.48 and 40.12 (mg) Famotidine, was obtained by FT-IR and HPLC methods, respectively.

It is clear that the standard deviations of the amount of the drug in tablets are similar in FT-IR and HPLC methods.

Key words : *Fourier transform, Infrared (FT-IR), H2-blockers , Quantitative.*

1. Associate professor, School of Pharmacy Tabriz University of Medical Sciences

۱- دانشیار دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

2. PhD. Student, Mashhad University of Medical Sciences .

۲- رزیدنت فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

خلاصه

از مهمترین مسائلی که امروزه در رشته داروسازی مطرح می‌شود، شناسائی و تعیین مقدار داروهای مختلف می‌باشد. این مسئله در مراحل مختلف ساخت فرآورده‌های دارویی و در مواردی نظیر کنترل الگوی درمان، کنترل کمی و کیفی، و بررسی عوارض داروها و ... از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. روشهای آنالیز دستگاهی بسیار متنوع و گسترده بوده و نسبت به امکانات برحسب نوع دارو، حساسیت، دقت مورد نظر از آن‌ها استفاده بعمل می‌آید. در پژوهش حاضر جهت آنالیز کمی داروهای H_2 بلوکر، از طیف‌سنج FT-IR و HPLC استفاده شده و نتایج حاصل از آنالیز با هم مورد مقایسه قرار گرفته است. بمنظور تعیین مقدار به وسیله HPLC روش مندرج در USP 1995 میناء قرار گرفته و جهت آنالیز، توسط طیف‌سنج FT-IR روشهای مختلفی آزمایش شده و در نهایت برای تعیین مقدار، بدون استفاده از سل مایع IR یک روش قابل قبول و قابل اجرا ارائه گردیده است. با بررسی و محاسبات آماری روی نتایج، مشخص شده که استفاده از طیف‌سنج FT-IR جهت آنالیز کمی سایمتیدین، رانیتیدین و فاموتیدین به صورت خالص و همچنین در قرصهای مربوطه امکان‌پذیر می‌باشد. مقدار متوسط سایمتیدین در قرصهای ۲۰۰ میلی گرمی بوسیله طیف‌سنج FT-IR، $2/23 \pm 206/72$ و توسط HPLC $1/3 \pm 201/05$ میلی گرم بدست آمده است. مقدار متوسط رانیتیدین در قرصهای ۱۵۰ میلی گرمی به وسیله طیف‌سنج FT-IR $2/87$ و $150/04 \pm 2/75$ میلی گرم و توسط HPLC $151/39 \pm 2/75$ میلی گرم، و در مورد قرصهای فاموتیدین 40 میلی گرمی مقادیر محاسبه شده توسط FT-IR و HPLC بترتیب $40/48$ و $40/12$ میلی‌گرم تعیین مقدار گردید. در نهایت با توجه به نتایج حاصل مشخص گردید که با وجود عرضه طیف‌سنج‌های FT-IR امکان آنالیز کمی داروها در کنار آنالیز کیفی فراهم می‌باشد و نتایج بدست آمده از طیف‌سنج FT-IR با نتایج حاصله از HPLC قابل مقایسه و قابل استناد است.

گل واژگان: H_2 بلوکرها، طیف بینی مدرن مادون قرمز، انتقال فوری، کنترل کمی.

مقدمه

USP در مورد داروهای H_2 بلوکر روش HPLC را پیشنهاد کرده است (1, a, b, c). عموماً از دیدگاه آنالیز کمی، طیف‌سنجی مادون قرمز مور توجه چندانی نمی‌باشد و در بعضی از رفرانس‌های قدیمی حساسیت طیف‌سنج ماوراء بنفش را هزار برابر بیشتر از طیف‌سنج مادون قرمز دانسته‌اند. اما با ظهور نسل جدید طیف‌سنج‌های مادون قرمز با تبدیل فوری (Fourier Transformer-Infrared) تحول مهمی در طیف‌بینی مادون قرمز ایجاد شده است (۲). در طیف‌بینی مادون قرمز جهت بررسی محلول‌های دارویی مخصوصاً آنالیز کمی، معمولاً از سل مایع استفاده

روشهای تجزیه دستگاهی، ابزاری است که در کنترل کیفی و کمی از کار آئی مطمئن تری برخوردار است. سهولت، دقت و سرعت عمل روشهای تجزیه از اهم موضوعاتی است که پژوهشگران این رشته در مورد آن تلاش مینمایند کتابهای رسمی داروسازی (فارماکوپها) در مورد آنالیز کمی و کیفی داروها یک روش اختصاصی ارائه می‌کنند که مسئول کنترل موظف به اجرای آن میباشد. روشهای فارماکوپه‌ای معمولاً روشهای پیچیده‌ای بوده و در سالهای اخیر غالباً مبتنی بر تجزیه دستگاهی مخصوصاً HPLC می‌باشد. بطوریکه

می‌شود که با توجه به قیمت بالا، سختی کار، ثابت نماندن ضخامت سل در آزمایش‌های متعدد و عدم دسترسی آسان به سل‌های یاد شده ما را بر آن داشت که روش جایگزینی، در تجزیه کمی پیشنهاد گردد. در پژوهش حاضر کار آئی متد طیف سنجی *FT-IR* با متد *HPLC* مقایسه شده و با استفاده از روشهای مختلف تهیه نمونه، تجزیه کمی H_2 بلوکرها (سایمتیدین، رانیتیدین، فاموتیدین) انجام گرفته است. پس از ارزیابی روشهای مختلف و اطمینان از مطلوب بودن یکی از آن روشها (روش اختلاط) با روش آنالیز مبتنی بر *HPLC* مقایسه گردید. با بررسی و محاسبات آماری روی نتایج، مشخص شده که استفاده از طیف‌سنج *FT-IR* جهت آنالیز کمی سایمتیدین، رانیتیدین و فاموتیدین به صورت خالص و همچنین در قرصهای مربوطه امکان‌پذیر می‌باشد.

داروهای H_2 بلوکرها مانند سایمتیدین، رانیتیدین و فاموتیدین از جمله داروهائی هستند که از سالهای ۱۹۷۰ به بعد در درمان اولسر پپتیک و سایر بیماریهای گوارشی بطور گسترده ای مورد استفاده قرار گرفته است (۳).

سایمتیدین به عنوان اولین آنتاگونیست شناخته شده کیرنده H_2 در سال ۱۹۷۶ وارد بازار داروئی انگلستان شد. با جایگزینی حلقه ایمیدازول سایمتیدین با حلقه فوران، ملکول رانیتیدین طراحی شد. اخیراً فاموتیدین با عمل کرد اختصاصی تر و ساختمان شیمیائی متفاوت و با اثرات جانبی کمتر به بازار عرضه شده است. این دارو از لحاظ ساختار شیمیائی در ساختمان حلقه و زنجیر جانبی با سایمتیدین و رانیتیدین تفاوت هائی دارد. فاموتیدین نسبت به داروی قبلی اختصاصی تر عمل کرده و اثرات جانبی کمتری ایجاد مینماید (۴).

طیف مادون قرمز، مشخصه تمامی ساختمان مولکولی یک ترکیب را دارا میباشد، بدینجهت حضور بعضی از

باندهای جذبی خاص، به ما اجازه می‌دهد که اطلاعات مفیدی را درباره ساختمان مولکولی ترکیب آلی بدست آوریم. چون احتمال انطباق کامل طیف مادون قرمز دو ترکیب بجز آنانتیومرهای نوری آن ترکیب خیلی اندک است (۵). در واقع به بیانی دیگر میتوان گفت اکثر گروههای عاملی را میتوان به وسیله فرکانس ارتعاشی مشخصه آن گروه مورد شناسائی قرار داد.

طیف بینی مادون قرمز میتواند یکی از ساده ترین و اغلب معتبرترین روشها جهت نسبت دادن یک ترکیب به طبقه و گروه مربوطه مورد استفاده قرار گیرد (۶). غالباً میتوان از طیف بینی مادون قرمز برای تعیین مقدار یک ترکیب در یک مخلوط استفاده نمود، خصوصاً زمانی که اجزاء تشکیل دهنده مخلوط از لحاظ شیمیائی ماهیت مشابهی داشته و یا خواص فیزیکی همانندی را نشان دهند. در این موارد تعیین مقدار به وسیله طیف بینی ماوراء بنفش و یا کروماتوگرافی مشکل میباشد (۲). در طیف‌بینی *FT-IR* نیز همانند *UV* با استفاده از قانون بیرلامبرت (*Bear Lambert Law*) روند تعیین مقدار صورت می‌گیرد (۷،۸). در حقیقت چون قطبیت و ثابت نیروی هر یک از گروههای عاملی نسبتاً از سایر بخشهای مولکولی مستقل می‌باشد، شدت جذبی و طول موج جذبی در یکسری همولوگ از ملکولها ثابت است. در نتیجه، تعیین مقدار گروههای عاملی اختصاصی امکان‌پذیر می‌گردد. بدین ترتیب امکان ایجاد ارتباط بین ارتعاشات خمشی در یک فرکانس با کل ملکول فراهم میگردد (۸).

در این تحقیق همانند روش *HPLC* از سطح زیر منحنی و یا ارتفاع باند های جذبی خاصی که در اعداد موجی مشخصی بوجود می‌آیند، در حضور سایر مواد تشکیل دهنده قرص یا هر شکل داروئی دیگر در صورت عدم تداخل عدد موجی استفاده شده است (۲)

بخش تجربی

شرایط دستگاهی

الف: در این بررسی، از اسپکتروفتسو متر ما دون قرمز با انتقال فوریه (FT-IR)، مدل MB-Series (BOMEM FT-IR) و جهت بررسی و آنالیز طیفها از نرم افزار ضمیمه دستگاه با مشخصات (BOMEM - Grams/ 386 Version 1/0) استفاده بعمل آمده و طیفها با مشخصات (Res = 16Cm⁻¹, Scane/min ۶۱) تهیه شده است.

ب: دستگاه HPL C مدل Series 1100 CECIL با آشکار ساز UV، لوپ ۲۰ میکرو لیتری و ستون L1, L3, L1 به ترتیب برای اندازه گیری مقادیر سایمتیدین، رانیتیدین و فاموتیدین بکار برده شده است. ج: pH متر کورنینگ مدل ۱۳۰، ترازوی حساس یکصدم میلیگرمی مدل OERTLING R40.

د: مواد شیمیائی بکار برده شده بمنظور رسم منحنی های استاندارد و تعیین مقدار نمونه ها عبارتند از: پودر استاندارد سایمتیدین، رانیتیدین و فاموتیدین ساخت کشور هند تهیه شده از کارخانجات داخلی، قرصهای تجارتي کارخانجات مختلف داخلی - متانول مرک دی متیل فرمامید مرک - پودر KBr (BOMEM Standard Sample).

روشهای مختلف تهیه نمونه برای FT-IR

در این تحقیق جهت دستیابی به یک متد قابل قبول و قابل تکرار، به سه روش مختلف زیر نمونه تهیه گردیده است.

الف- روش قطره ای: در این روش بمنظور اندازه گیری غلظت های مختلف و رسم منحنی رگرسیون و بررسی همبستگی نقاط، افزایش غلظت دارو در روی دیسک

KBr بروش های مختلف انجام گرفت که اجمالا

بشرح ذیل است

مرحله اول، محلول استوکی از سایمتیدین، رانیتیدین و فاموتیدین بغلظت صد میلیگرم در صد میلی لیتر (mg/ml) جداگانه در متانول تهیه گردید، مقدار ۰/۱ میلی لیتر از هر یک از محلول های فوق بر روی دیسک های جداگانه KBr شفاف که در محفظه ساخت قرار داشت، با دقت افزوده شد، بطوریکه لایه ای یکنواخت بر روی دیسک ایجاد شود. با استفاده از حرارت سشوار حلال (متانول) تبخیر گردید. جهت طیف گیری و محاسبه ارتفاع و یا سطح زیر منحنی پیک، نمونه تهیه شده در طیف سنج FT-IR قرار داده شد. پس از پایان طیف گیری دیسک ها از داخل دستگاه خارج گردیده و مجدداً ۰/۱ میلی لیتر از محلول فوق بر روی دیسک افزوده و روند ذکر شده در بالا، چهار بار تکرار گردید. در هر مورد طیف گیری و محاسبات انجام گرفت، تا مختصات چهار نقطه جهت رسم منحنی کالیبراسیون فراهم آید.

مرحله دوم، بجای محلول ۱ mg/ml، از محلول های ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ میلی گرم در میلی لیتر استفاده شده و همان روند مرحله اول تکرار گردید.

ب) روش قطره ای اصلاح شده: در این روش بر روی دیسک های جداگانه، بمقدار ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۴ میلی لیتر از محلولی به غلظت ۲ میلی گرم در میلی لیتر اضافه و پس از خشک کردن کامل دیسک ها، طیف های مربوطه تهیه گردید.

ج) روش اختلاط: در این روش جهت تغییر غلظت ماده مورد نظر، اقدام به تغییر مقدار KBr شد تا بدین ترتیب تأثیر غلظت های مختلف در ضریب همبستگی مشخص شود. شرح روند این روش بشرح ذیل است:

ابتدا محلول متانولی ۸ میلی گرم در میلی لیتر از رانیتیدین را تهیه و از آن بمقدار ۰/۱ میلی لیتر به ترتیب بر روی

مقایسه با روش آنالیز مبتنی بر HPLC مورد استفاده قرار گرفت. تعیین مقدار سایمتیدین، رانیتیدین، فاموتیدین از طریق رسم منحنی استاندارد و محاسبه سطح زیر منحنی و ارتفاع پیک اختصاصی مربوط به هر یک از آنها شرح ذیل مورد مطالعه قرار گرفت.

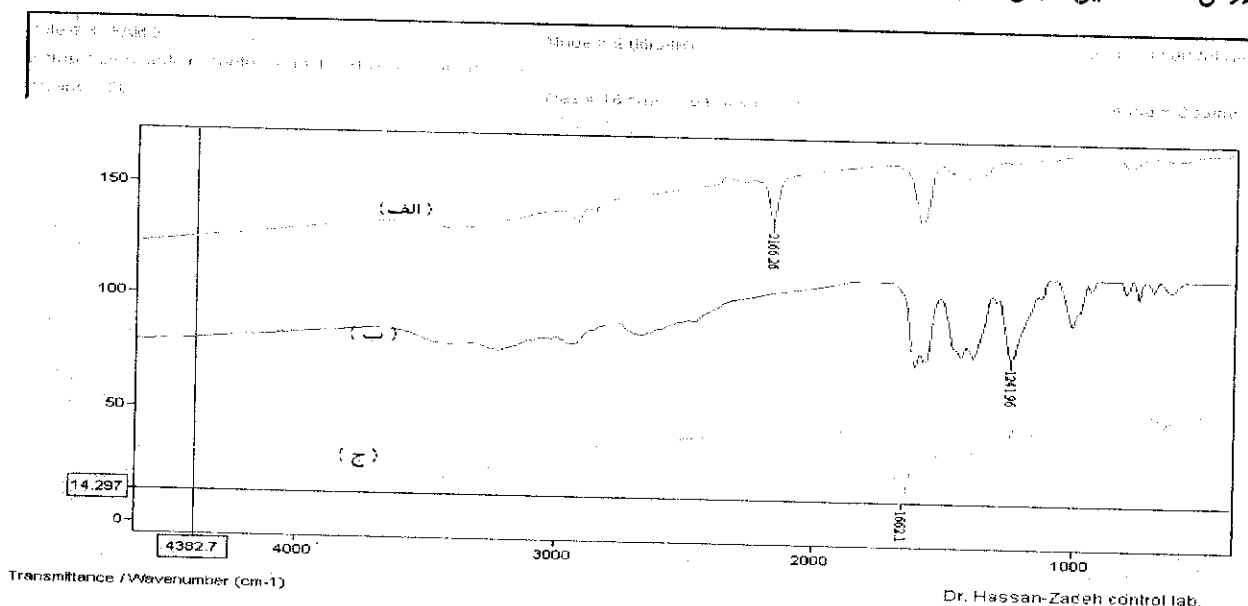
تعیین مقدار سایمتیدین خالص

سایمتیدین در عدد موجی $2166/2 \text{ cm}^{-1}$ دارای پیکی است که میتوان از آن بعنوان تعیین مقدار استفاده نمود. سایر ترکیبات قرصهای سایمتیدین در این عدد موجی پیکی ندارند. رسم منحنی استاندارد توسط محلول الکلی سایمتیدین به غلظت 800 میلیگرم در صد میلی لیتر با گامهای غلظتی $0/1$ و $0/2$ و $0/4$ میلیگرم میباشد (طیف الف از شکل ۱). محاسبه سطح زیر منحنی پیک در محدوده عدد موجی $1998 - 2329/8 \text{ cm}^{-1}$ و ارتفاع پیک در عدد موجی $2166/2 \text{ cm}^{-1}$ انجام گرفته است. رانیتیدین و فاموتیدین خالص نیز طبق روش فوق بررسی شده است (طیف های الف، ب، ج از شکل ۱).

200 ، 300 و 400 میلی گرم KBr اضافه می گردد. پس از اختلاط کامل و خشک نمودن مخلوط KBr، نمونه ها دارای $0/1$ ، $0/15$ و $0/2$ میلی گرم از رانیتیدین خالص می باشد. در ادامه کار مقدار 50 میلیگرم از پودرهای KBr را که حاوی غلظت های مختلفی از رانیتیدین میباشد توزین نموده و از آنها با فشار ثابت قرصهای IR ساخته میشود. در هر مورد طیف های مربوطه بصورت جداگانه ضبط شده است و در نهایت سطح زیر منحنی و یا ارتفاع پیک در عدد موج $2166/2 \text{ cm}^{-1}$ که یکی از پیک های اختصاصی رانیتیدین میباشد، به کمک نرم افزار کامپیوتر دستگاه بدست آمد. بمنظور بررسی دقت (Precision) شامل تغییرات بین روز و تغییرات در طول روز، آزمایشات مورد لزوم انجام گرفته و صحت بازیابی مواد مورد آزمایش موید کارآئی مناسب روش بوده اند.

تعیین مقدار ماده مؤثره در قرصها

پس از ارزیابی روشهای مختلف و اطمینان از مطلوب بودن روش اختلاط، این روش بعنوان روش انتخابی جهت



شکل ۱- طیف مادون قرمز (FT-IR) سه ماده سایمتیدین و رانیتیدین و فاموتیدین

$$C_3 = 0.029 + 0.444 H \quad r^2 = 0.9561$$

$$C_4 = 0.027 + 0.216 H \quad r^2 = 0.9649$$

$$C_5 = 0.0504 + 0.4508 H \quad r^2 = 0.5669$$

پس از انجام روش قطره ای و حصول به نتایج مربوطه، روش قطره ای اصلاح شده با دیسک های جداگانه برای هر گام غلظتی تهیه و مقدار ۰/۱ و ۰/۳ و ۰/۴ میلی لیتر از محلول ۲ میلی گرم در میلی لیتر بر روی دیسک ها ریخته و خشک گردید، نتایج با معادله خط و ضریب همبستگی بشرح ذیل است:

$$C = 0.008 + 0.2615 H \quad r^2 = 0.9514$$

نتایج حاصل از روش اختلاط برای غلظت های ۰/۱ و ۰/۲ و ۰/۳ میلی گرم از KBr بشرح ذیل بدست آمده است. نتایج با معادله خط و ضریب همبستگی نشان داده شده است.

نحوه ساخت دیسک های مربوطه در قسمت روشهای مختلف تهیه نمونه برای FT-IR ذکر شده است.

$$C = 0.0007 + 0.6314 H \quad r^2 = 0.9992$$

تعیین مقدار ماده موثره در قرصها پس از ارزیابی روشهای مختلف و اطمینان از روش اختلاط صورت گرفت. نتایج بدست آمده در جدول شماره ۲ درج گردیده است. نتایج نشان میدهند که آنالیز سایمتیدین در باند جذبی مینا در عدد موجی $1666/26 \text{ cm}^{-1}$ و رانیتیدین در عدد موجی $1241/96 \text{ cm}^{-1}$ و بالاخره فاموتیدین در باند جذبی 1662 cm^{-1} قابل اجرا می باشد. بدیهی است با توجه به ضریب همبستگی و CV بدست آمده از اندازه گیری میزان ماده موثره توسط ارتفاع و سطح زیر منحنی در محدوده اعداد موجی بشرح ذیل انتخاب گردیده است (جدول شماره ۱).

$$1998 - 2329 \text{ cm}^{-1} \text{ سایمتیدین}$$

$$1080 - 1326 \text{ cm}^{-1} \text{ رانیتیدین}$$

$$1502 - 1822 \text{ cm}^{-1} \text{ فاموتیدین}$$

اندازه گیری مواد موثره بروش HPLC

به منظور مقایسه روش FT-IR با HPLC طبق دستور USP در مورد هر یک از مواد سه گانه سایمتیدین، رانیتیدین، فاموتیدین آزمایش بعمل آمد که باتوجه به موجود بودن آنها در USP از ذکر روشهای آزمایش خودداری میشود (A,b,c).

تعیین مقدار ماده موثره قرصها

ده قرص از فراورده های مختلف انتخاب و یکایک آنها توزین گردید، سپس قرصها در یک هاون کاملاً خرد و بصورت پودر در آمدند. از مجموعه حاصل، معادل وزن ماده موثره در هر قرص توزین و در ۱۰۰ میلی لیتر متانول حل و سپس بروش اختلاط ۰/۱ میلی لیتر از آن مورد آزمایش قرار گرفت. تعیین مقدار سایمتیدین، رانیتیدین و فاموتیدین با رسم منحنی استاندارد و تعیین مقدار ماده مورد نظر در قرصها در محدوده اعداد موجی مربوط به هر یک از مواد یاد شده انجام گرفته است. شکل ۲ طیف FT-IR رانیتیدین خالص و استخراج شده از قرص را نشان میدهد که جهت محاسبه مقدار داروی موجود در قرص، سطح زیر منحنی باند جذبی خاص در عدد موجی $1241/26 \text{ cm}^{-1}$ (محدوده $1080 - 1326 \text{ cm}^{-1}$) برای تعیین مقدار ۱۵۰ میلی گرم رانیتیدین در قرص مورد ارزیابی قرار گرفته است

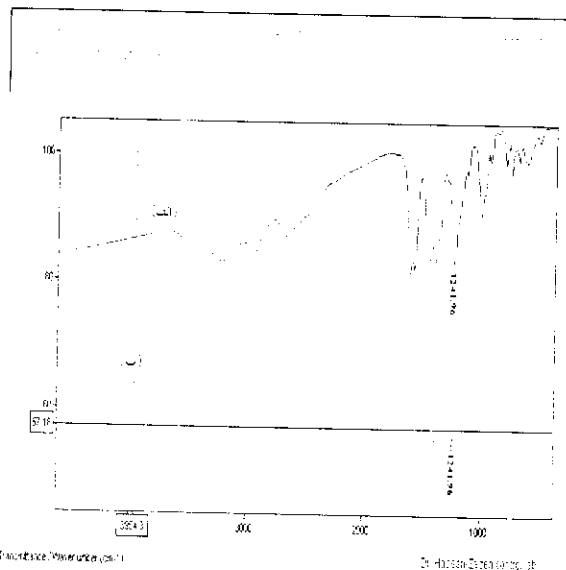
نتایج:

در ارزیابی روش قطره ای با محلول الکلی ۱ و ۲ و ۳ و ۶. ۱۵ میلی گرم در میلی لیتر، ۴ گام غلظتی که در هر نوبت ۰/۱ میلی لیتر از محلول های یاد شده بر روی دیسک شفاف IR ریخته شده، بترتیب معادله خط و ضریب همبستگی میان غلظت و ارتفاع پیک بصورت زیر محاسبه گردیده است.

$$C_1 = 0.0027 + 0.034 H \quad r^2 = 0.8359$$

$$C_2 = 0.0099 + 0.219 H \quad r^2 = 0.9653$$

عدد موجی $1241/96 \text{ cm}^{-1}$ برای تعیین مقدار ۱۵۰ میلی گرم رانیتیدین مورد ارزیابی قرار گرفته است.



شکل ۲ طیف (FT-IR) رانیتیدین خالص و قرص ۱۵۰ میلی گرمی. ضریب همبستگی بین روشهای مختلف اندازه گیری رانیتیدین در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. در این جدول دو متد روش قطره ای اصلاح شده و روش اختلاط، با متد اندازه گیری HPLC مندرج در فارماکوپه آمریکائی در مورد آنالیز قرص های ۱۵۰ میلی گرمی رانیتیدین تجارتي ذکر شده است.

جدول ۲: میزان ضریب همبستگی و مقدار رانیتیدین اندازه گیری

شده توسط روشهای مختلف و مقایسه آن با متد HPLC

روش	r^2	مقدار رانیتیدین موجود در قرصهای ۱۵۰ میلی گرمی رانیتیدین
روش قطره ای	۰/۹۴۷۰	-----
روش اختلاط	۰/۹۹۸۸	$150/04 \pm 2/87$
روش HPLC	۰/۹۹۹۹	$151/33 \pm 2/77$

بحث

استفاده از FT-IR بعنوان ابزاری جهت آنالیز کمی، مستلزم اثبات کارآیی این سیستم در جوابگوئی روش در غلظت های مختلف و ارتباط خطی در بین آنها می باشد. یا بعبارتی دیگر این سیستم نیز می بایست از

جدول شماره ۱ مقادیر محاسبه شده هر یک از سه ماده مورد آزمایش را که ارتفاع و سطح زیر منحنی باندهای جذبی خاص آنها محاسبه شده نشان میدهد.

جدول ۱: اطلاعات مربوط به دوزاژ قرص

اطلاعات مربوط به دوزاژ قرص				نوع ماده مورد آزمایش
شماره نمونه	سطح زیر منحنی A	ارتفاع پیک H	مقدار در هر قرص (mg)	
۱	۴/۸۳۲۱	۰/۱۱۱۰۹	۲۰۵/۹۷۵	رانیتیدین
۲	۴/۹۵۳۱	۰/۱۰۵۵۶	۲۰۹/۳۵۱	
۳	۴/۸۴۶۸	۰/۱۰۸۱۰	۲۰۴/۸۶۱	
استاندارد	۴/۷۳۱	۰/۱۱۴۸۶	۲۰۰/۰۰	
میانگین	۴/۸۴۰۹	۰/۱۰۹۹	۲۰۶/۷۲۹	
SD	۰/۰۹۰۵	۰/۰۰۴۰	۲/۳۳۸	
CV	۱/۸۷	۳/۶۴	۱/۱۳	
۱	۶/۶۵۹۵	۰/۰۷۹۱	۱۴۶/۷۳۱	رانیتیدین
۲	۶/۸۳۲۶	۰/۰۸۱۸	۱۵۱/۹۱۲	
۳	۶/۷۸۵۴	۰/۰۸۱۵۲	۱۵۱/۴۸۵	
استاندارد	۶/۸۴۵	۰/۰۸۰۷۷	۱۵۰	
میانگین	۶/۷۸۰۸	۰/۰۸۰۸	۱۵۰/۰۴۲	
SD	۰/۰۸۴۸	۰/۰۰۱۲	۲/۸۷۵	
CV	۱/۲۵	۱/۵۰	۱/۹۲	
۱	۶/۳۰۳۳	۰/۱۱۶۱	۴۱/۰۹۷	فاموتیدین
۲	۶/۳۸۳۳	۰/۱۱۲۴۵	۳۹/۸۰۵	
۳	۶/۶۲۵۹	۰/۱۱۴۶	۴۰/۵۶۶	
استاندارد	۶/۴۰۱	۰/۱۱۳۰	۴۰	
میانگین	۶/۴۵۵۲	۰/۱۱۴۰	۴۰/۴۸۹۳	
SD	۰/۱۱۴۳	۰/۰۰۲	۰/۶۴۹۴	
CV	۱/۷۷	۱/۴۶	۱/۶۰	

شکل ۲ طیف FT-IR رانیتیدین خالص و استخراج شده از قرص را نشان می دهد که جهت محاسبه مقدار داروی موجود در قرص سطح زیر منحنی باند جذبی خاص در

قانون بیرلامبرت تبعیت نماید. در این متد علاوه بر غلظت مواد، نحوه تهیه نمونه نشان می دهد که اطلاع از همبستگی نقاط در طیف سنج IR-FT ضروری بوده و هر روش نمی تواند بعنوان متدی مناسب بکار رود. استفاده از طیف سنج های FT-IR، HPLC و ... ایجاب می کند که آزمایش کننده با اندازه گیری ارتفاع و یا سطح زیر منحنی باندهای جذبی خاص همبستگی نقاط بدست آمده از غلظت های مختلف را بررسی نماید و نشان دهد که در کدام روش، ضریب همبستگی (r^2) تا چه حدی به عدد نزدیک و CV و یا RSD (انحراف استاندارد نسبی) آزمایش در چه حدودی می باشد. بطور کلی انتخاب ارتفاع و یا سطح زیر منحنی بمنظور تجزیه کمی وابسته به نتایج این بررسی می باشد. نتایج حاصل از روش قطره ای نشان می دهد علی رغم اینکه این روش یکی از روشهای کیفی متداول در طیف گیری FT-IR می باشد بعلاوه استفاده مکرر محلول حاوی ماده مورد آزمایش بر روی دیسک های شفاف موجب کدورت دیسک و عدم پخش یکنواخت ماده بر روی دیسک می گردد. و این موضوع سبب پائین آمدن مقدار عددی ضریب همبستگی نقاط نسبت بهم میشود ($r^2 = 0.8082$) بنابراین استفاده از روش اضافه کردن محلول بر روی دیسک آماده از کارایی پائینی برخوردار است. نتایج سایر روشهای قطره ای در مجموع نشان

می دهد که، در مورد یک محلول معین معمولاً امکان استفاده از روش قطره ای تا بیش از دو گام غلظتی وجود ندارد. و تکرارپذیری در روش قطره ای ایده آل نمی باشد. در روش قطره ای اصلاح شده علی رغم تعویض دیسک ها در هر گام غلظتی، بنظر می رسد که عدم یکنواختی پخش ماده مورد آزمایش در روی دیسک و همچنین افزایش بیش از حد غلظت ماده در روی آن، موجب پائین آمدن مقدار ضریب همبستگی از عدد یک باشد و بدین جهت در این پژوهش از نظر آماری از این روش استفاده به عمل نیامد. نتایج بدست آمده از دو روش فوق توسط FT-IR نشان می دهد که اصولاً استفاده از محلول های حاوی موادی که تجزیه کمی آنها مورد نظر می باشد در مقایسه با روشهای اندازه گیری توسط UV و HPLC از کارایی کمتری برخوردار است و بهتر است از این متد منحصرأدر تجزیه کیفی مواد استفاده شود. در روش اختلاط، ماده مورد آزمایش با غلظت های مختلف، بصورت محلول در یک حلال تهیه شده است و در مقدار معینی از KBr وارد می گردد. تبخیر کامل حلال و پخش یکنواخت ماده در KBr و از طرف دیگر تهیه دیسک های کاملاً شفاف سبب می شود که این روش با توجه به (r^2) بدست آمده از کارایی بهتری برخوردار باشد.

References:

- 1- The United States Pharmacopeia XXIII / National Formulary XXIII, vol. 1, (The United States Pharmacopoeial Convention, Inc; Washington, D.C; 1995; a: vol. 1, pp. 373-374, b: vol. II, pp. 1360-1365; c: vol. 1, pp. 65).
- 2- حسن زاده داود، ملائکه نیکوئی بیژن، (مترجمین). طیف بینی نوین مادون قرمز، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تبریز، صفحه ۷۹-۹۹، ۱۳۷۹.
- 3- Rossing-MA; Scholes-D; Cushing-Haugen-KL; Viogt-LF.. Cimetidine use and risk of prostate and breast cancer. Cancer-Epidemiol-Biomarkers-Prev. 2000 Mar; 9(3):pp 319-23.
- 4- Wingard and Brody & Lamer and Schwartz., Human Pharmacology (Molecular to clinical);1991; pp. 890-898.

- 5- میر محمد صادقی مجید، سعیدی محمد رضا (مترجمین). شناسائی ترکیبات آلی به روش طیف سنجی، انتشارات دانشگاه اصفهان. صفحات ۲۸۹-۱۴۸، ۱۳۵۸.
- 6- حسن زاده امیرخیزی محمد حسن، (مترجم). روشهای طیف بینی در شیمی آلی، مرکز نشر دانشگاهی، صفحات ۸۷-۴۱، ۱۳۷۰.
7. Pungor E. "A Practical Guide to Instrumental Analysis;" CRC Press; 1995, pp. 71-74.
8. Willard Mass J.H. "Basic Infrared Spectroscopy;" Heyfen & Son Ltd.; 2ed ed. 1972; p. 56.