

اندازه‌گیری میزان ماده مؤثره سیپروفلوکساسین در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی ایران (قرص، قطره‌های چشمی و ویال‌های تزریقی) به روش HPLC با دتکتور فلورسانس

اعظم اکبری^۱، امیر حیدری^۲

تاریخ دریافت 1393/01/16 تاریخ پذیرش 1393/03/17

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: کنترل کمی و کیفی اشکال دارویی از حیث دارا بودن مقدار ماده مؤثره جهت پایش اثرات درمانی و سمیت آن، حائز اهمیت هست. پروژه حاضر جهت اندازه‌گیری مقدار سیپروفلوکساسین در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی ایران طراحی گردید. **مواد و روش‌ها:** اشکال دارویی سیپروفلوکساسین موجود در بازار دارویی ایران شامل قرص، قطره‌های چشمی و ویال‌های تزریقی جمع‌آوری گردید. روش اندازه‌گیری شامل کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) به‌عنوان روش ترجیحی در این پروژه به کار گرفته شد. در این سیستم جداسازی تحت شرایط ایزوکراتیکو با استفاده از ستون C18 و محلول فاز شامل استونیتریل و محلول آبی به نسبت ۸۰:۲۰ در محیط بافری فسفات pH=۳ با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و آشکارساز فلورسانس در طول موج تهییجی ۳۳۸ nm و طول موج نشر ۴۲۵ nm انجام گرفت. **یافته‌ها:** نتایج حاصل از این آزمایش نشان‌دهنده وجود یک رابطه خطی بین غلظت ماده مؤثره و شدت پاسخ آشکارساز در محدوده غلظتی ۲/۵ تا ۰/۱ μg/ml بود. مقدار ضریب همبستگی R²=۰/۹۹۲۵ و معادله منحنی H=۴/۸۲۴۷C + ۰/۸۰۹۴ حاصل شد. نتایج حاصله از اندازه‌گیری سیپروفلوکساسین در اشکال دارویی به ترتیب برای محلول‌های تزریقی (با محتوای ۲۰۰ میلی‌گرم) مقدار ۲۰۹-۳۰۹ میلی‌گرم، قطره‌های چشمی (با محتوای ۰/۳ میلی‌گرم) مقدار ۰/۲۷-۰/۲۵ میلی‌گرم، قرص ساده (با محتوای ۲۵۰ میلی‌گرم) مقدار ۲۸۰-۷۰۱ میلی‌گرم و قرص ساده (با محتوای ۵۰۰ میلی‌گرم) ۵۱۱-۹۴۷ میلی‌گرم به دست آمد. **بحث و نتیجه‌گیری:** این نتایج ضرورت کنترل کیفی و کمی اشکال دارویی را هر چه بیشتر مورد تأکید قرار می‌دهد. اگرچه باید قبول نمائیم که مخلوط نمودن دو یا چند ماده جامد و تولید یک مخلوط همگن بسیار مشکل هست ولی به نظر می‌رسد که کنترل مداوم و روتین با نمونه‌برداری منظم جهت سنجش ماده مؤثره می‌تواند اطلاعات مفیدی مبنی بر روند صحیح فرمولاسیون دارویی باشد. **کلیدواژه‌ها:** سیپروفلوکساسین، روش کروماتوگرافی با کارایی بالا و اشکال دارویی

مجله دانشکده پرستاری و مامایی ارومیه، دوره دوازدهم، شماره چهارم، پی‌درپی 57، تیر 1393، ص 275-268

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

Email: heydari.866@gmail.com

مقدمه

این ترکیب حساس هستند و تعداد زیادی از باکتری‌های گرم مثبت نیز به‌طور کامل یا متوسط به این ترکیب حساسیت نشان می‌دهند. سیپروفلوکساسین بعد از تجویز خوراکی و یا وریدی در اکثر مایعات بدن به غلظت مناسب درمانی می‌رسد (۱). از سیپروفلوکساسین در اکثر عفونت‌های ادراری و تنفسی، گوارشی، مفاصل و استخوان‌ها مثل گنوره و استئومیلیت استفاده می‌شود (۲). آنالیز ترکیبات دارویی یکی از مهم‌ترین شاخه‌های علم شیمی تحلیلی است که نقش مهمی در کنترل کیفی و کمی داروها داشته و تأثیر مهمی در بهداشت عمومی دارد.

«سیپروفلوکساسین» یک داروی آنتی‌باکتریال از دسته فلوروکینولون‌ها است که در اشکال دارویی مختلف شامل: قرص، قطره‌های چشمی و محلول‌های تزریقی در کشور تولید و در مراکز درمانی به مقدار زیاد مورد مصرف قرار می‌گیرد. سیپروفلوکساسین از لحاظ ساختاری مشابه نالیدیکسیک اسید می‌باشد. مکانیسم اولیه عملکرد سیپروفلوکساسین مهار آنزیم DNA gyrase باکتری است و طیف اثر گسترده‌ای دارد. به‌طوری‌که اکثر باکتری‌های گرم منفی در محیط Invitro به

^۱ کارشناس ارشد شیمی تجزیه، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
^۲ استادیار گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه (نویسنده مسئول)

در تمامی مراحل ساخت و عرضه دارو بایستی کنترل کیفی و کمی از لحاظ استاندارد بودن و کلیه جوانب ساخت دارو مدنظر قرار گیرد. در طرح حاضر ما بر آن شدیم که به این سؤال با اندازه‌گیری مقدار سیپروفلوکساسین در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی ایران جواب بدهیم. از بررسی مطالعات انجام‌شده در ایران (Iran Medex) به نظر رسید که متأسفانه در این مورد تاکنون هیچ‌گونه بررسی انجام نگرفته و لازم است یک کنترل دقیق در اندازه‌گیری سیپروفلوکساسین به‌عنوان داروی آنتی‌بیوتیک پرمصرف در درمانگاه صورت پذیرد. سؤالی که در این زمینه مطرح می‌شود این است که آیا مقدار ماده مؤثره سیپروفلوکساسین در اشکال دارویی موجود، دقیقاً با برجسب کارخانه سازنده مطابقت دارد یا نه؟ این موضوع در رابطه با داروهایی که پنجره درمانی باریکی دارند بسیار حائز اهمیت می‌باشد. قاعدتاً تمامی کارخانه‌های تولیدکننده دارو بایستی مراحل کنترل مقادیر را در طی پروسه‌های مختلف تولید اعمال نمایند تا از مقدار دارو در انواع اشکال آن اطمینان یابند. فواید طرح مزبور می‌تواند در صحت کمیت داروی مزبور مورد استفاده قرار گیرد و در صورت وجود مغایرت باید به سازندگان دارو جهت تصحیح و دقت در ساخت دارو متذکر شد. همچنین با توجه به نتایج حاصله از آزمایش‌های اندازه‌گیری، نسبت به کنترل تاریخ مصرف دارو اقدام نمود. به عبارتی در مقاطع زمانی مختلف پس از تولید دارو، نمونه‌های موجود را آنالیز نمود. در صورتی که مقدار ماده مؤثره ۹۰ درصد مقدار اولیه را دارا باشد، دارو قابلیت مصرف خود را خواهد داشت. هرکدام از فن‌های فوق از نظر داشتن دقت و صحت کافی، پیچیدگی دستگاهی، صرف زمان طولانی جهت انجام آزمایش، گران بودن دستگاه و نیاز به نیروی متخصص دارای محدودیت می‌باشند. در این طرح از روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) و آشکارساز فلورسانس استفاده شده است که یک روش دقیق، حساس و با سرعت پاسخ‌دهی بالا می‌باشد (۳) و با توجه به شکل تزریقی دارو، نیازی به فرآیندهای استخراج، جداسازی و پیش‌تغلیظ آنالیت نیست.

مواد و روش‌ها

ترکیبات بکار رفته در این پژوهش از مواد خالص با درجه خلوص در حد کروماتوگرافی بودند که عبارت‌اند از: ارتو فسفریک اسید (85% W/W) تهیه‌شده از شرکت GPR، استون نیتریل، متانول، تترا ایتیل آمونیوم و پتاسیم دی هیدروژن فسفات تولید شرکت Merck تهیه گردید. پودر سیپروفلوکساسین خالص نیز از دو کارخانه زیر خریداری گردید:

- کارخانه سینا دارو با منشأ ساخت کشور چین: ZhejiangHuayi Pharmaceutical Co

- کمپانی انگلیسی: Glaxo, UK, Ltd, Greenford, England

دستگاه‌های مورد استفاده:

- تجهیزات آزمایشگاهی بکار رفته در این پژوهش عبارت‌اند از:
 - دستگاه HPLC ساخت شرکت CECIL دارای تجهیزات: (Biotech 2003 degasser, UV detector CE 4300) (Chromatography system manager CE 4900)
 - ترازو دیجیتال ساخت شرکت ACCULAB (مدل ALC) با دقت ۰/۰۰۱ گرم
 - همزن مغناطیسی مدل ST 04 و شیکر مدل SH 02 شرکت Pars Azma Co
 - دستگاه آب دیونیزه ساخت شرکت ELGA مجهز به فیلتر LC 136
 - دستگاه pH متر ساخت شرکت Metrohm مدل pHlab 827
 - شیکر ساخت شرکت Pars Azma Co مدل SH 02
 - دستگاه سونیکاتور ساخت شرکت داخلی (ایران) نمونه‌های دارویی؛

تعداد ۷ بلیستر قرص ۲۵۰ میلی گرمی، ۸ بلیستر قرص ۵۰۰ میلی گرمی از کارخانه‌های مختلف (بر اساس تعداد کارخانه‌های تولیدکننده قرص‌های ۲۵۰ میلی گرمی)، ۵ نمونه قطره از کارخانه سینا دارو (تنها تولیدکننده قطره‌های چشمی) و ۳ نمونه محلول تزریقی (نمونه داخل و خارج) موجود در بازار دارویی ایران تهیه و هرکدام سه بار از نظر اندازه‌گیری تکرار گردید. روش تعیین مقدار ماده مؤثره:

برای تعیین مقدار ماده مؤثره، لازم است که منحنی استاندارد نمونه محلول استاندارد با غلظت‌های استاندارد رسم گردد. بدین منظور پنج محلول استاندارد با غلظت‌های: ۰/۰۱، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۱ و ۲/۵ میکرومولار از پودر خالص سیپروفلوکساسین تهیه گردید. سپس از تمامی محلول‌های استاندارد به مقدار ۲۰ میکرو لیتر به داخل ستون کروماتوگرافی تزریق شد و با توجه به نتایج حاصل، منحنی استاندارد ترسیم گردید. سپس فرآیند اندازه‌گیری ماده مؤثره بر اساس روش استاندارد فارماکوپه (USP) برای انواع اشکال دارویی، به ترتیب زیر انجام گرفت:

قرص: یک قرص را ابتدا در داخل یک بالون ۱۰۰ میلی‌لیتری آب دی یونیزه حل نموده و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه سونیکاتور قرار می‌گیرد تا ذرات موجود کاملاً خرد و حل شوند. مخلوط حاصله توسط قیف بوخنر و کاغذ صافی صاف می‌گردد. در نهایت از فیلتر ۰/۴۵ میکرون توسط سرنگ عبور داده شده تا کاملاً صاف و عاری از ذرات معلق گردد. محلول صاف‌شده را با آب دی یونیزه رقیق نمودیم تا رقت مناسب در محدوده غلظتی مورد نظر به دست آمد (۱ به ۵۰۰).

قطره: مستقیماً بعد از رقیق نمودن (۱ به ۲۰۰۰) توسط آب دی یونیزه به داخل ستون تزریق گردید.

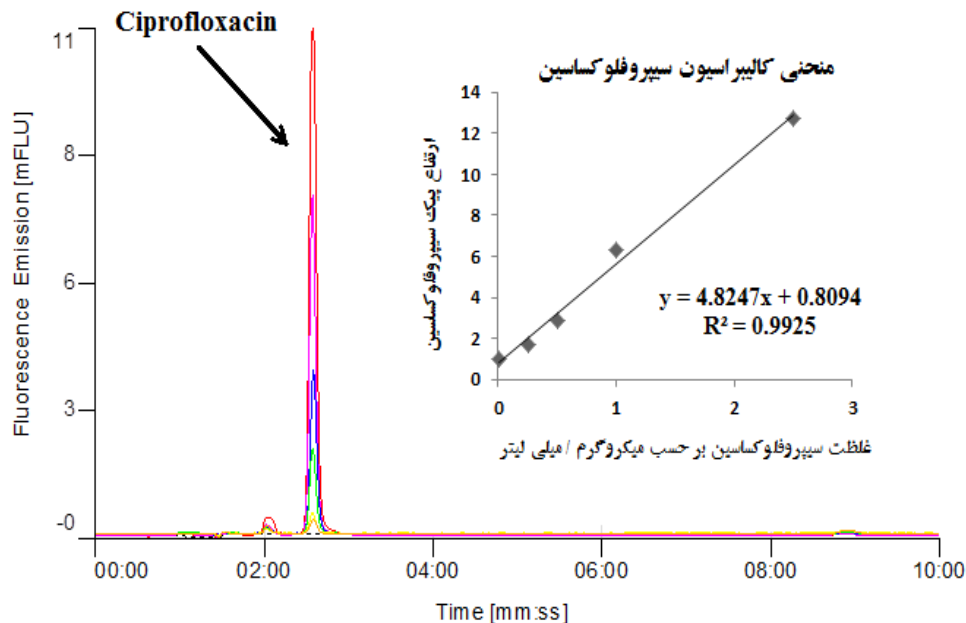
بعد از فراهم نمودن شرایط انجام آزمایش، ۲۰ میکرو لیتر از نمونه سیپروفلوکساسین خالص با غلظت‌های مختلف به ستون تزریق گردید و خروج نمونه از ستون توسط آشکارساز فلورسانس در طول موج تهییجی ۳۳۸ نانومتر ردیابی شد. با تزریق غلظت‌های مختلف سیپروفلوکساسین به درون سیستم، شدت پاسخ‌های متفاوتی نیز توسط آشکارساز حاصل می‌گردد که با کمک داده‌های به‌دست‌آمده، یک منحنی استاندارد برحسب شدت پاسخ آشکارساز نسبت به غلظت‌های مختلف محلول استاندارد سیپروفلوکساسین ترسیم می‌گردد. تصویر کروماتوگرام مربوط به ترکیب سیپروفلوکساسین خالص در شکل (۱) آورده شده است که به صورت یک پیک تیز با زمان بازداری ۲/۲۷ دقیقه مشاهده می‌شود.

محلول تزریقی: مستقیماً بعد از رقیق نمودن (۱ به ۲۰۰۰) به داخل ستون تزریق می‌گردد.

در این آزمایش‌ها ستون کروماتوگرافی C₁₈ Novapack بکار گرفته شد. فاز متحرک شامل استون نیتریل و محلول آبی به نسبت ۲۰:۸۰ در محیط بافری فسفات pH=۳ با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. ردیابی نمونه توسط آشکارساز فلورسانس در طول موج تهییجی ۳۳۸ نانومتر و طول موج نشر ۴۲۵ نانومتر صورت گرفت. تمامی این آزمایش‌ها در دمای اتاق اجرا گردید.

یافته‌ها

کروماتوگرام ترکیب سیپروفلوکساسین:



شکل (۱): منحنی کالیبراسیون نمونه‌های استاندارد سیپروفلوکساسین با غلظت‌های مختلف زمان بازداری ۲/۲۷ دقیقه می‌باشد.

قابل اطمینان جهت ارزیابی مقدار ماده مؤثره آن در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی می‌باشد.

تعیین حد حساسیت روش اندازه‌گیری:

برای تعیین حد حساسیت روش اندازه‌گیری، مقادیر متفاوت از غلظت‌های کاهشی سیپروفلوکساسین تهیه و به ترتیب به ستون کروماتوگرافی تزریق گردید تا حد تشخیص نمونه توسط آشکارساز مشخص گردد. در این روش حد تشخیص ۰/۰۰۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر حاصل گردید.

بررسی دقت و صحت روش:

بررسی خطی بودن منحنی استاندارد:

پس از رسم منحنی استاندارد (شکل ۱) بر اساس شدت پاسخ آشکارساز نسبت به غلظت‌های مختلف محلول استاندارد سیپروفلوکساسین، نتایج مربوط به این منحنی نشان‌دهنده وجود یک رابطه خطی بین غلظت ماده مؤثره و شدت پاسخ آشکارساز در محدوده غلظتی ۰/۰۱ تا ۲/۵ $\mu\text{g/ml}$ بود. مقدار ضریب همبستگی $R^2 = 0.9925$ و معادله منحنی به صورت $C = 0.8094 + 4.8247H$ حاصل شد؛ بنابراین با توجه به دوزهای تجاری داروی سیپروفلوکساسین، این منحنی یک منحنی کاملاً آیدئال و

میزان دقت و صحت (تکرارپذیری نتایج) روش تجزیه‌ای انتخاب شده در این آزمایش نیز با محاسبه دقت و صحت نتایج حاصل شده ارزیابی گردید. به این منظور میزان تغییرات درون روزی و بین روزی از طریق محاسبه مقدار انحراف استاندارد، ضریب واریانس و درصد دقت موردبررسی قرار می‌گیرد.

بررسی تغییرات درون روزی:

به‌منظور پایش تغییرات درون روزی، ۳ غلظت مختلف محلول سیپروفلوکساسین (میکرو مولار) موردبررسی قرار گرفتند. نتایج ۳ بار تکرار اندازه‌گیری هریک از نمونه‌های فوق در یک روز در جدول آورده شده است.

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

ردیف	غلظت استاندارد ($\mu\text{g/mL}$)	میانگین غلظت اندازه‌گیری شده ($\mu\text{g/mL}$)		SD	Precision	Accuracy
۱	۰/۳	۰/۳۱	۰/۳۱	۰/۰۲	۶/۱۷	۱۰۴/۱۵
۲	۱	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۰۶	۶/۱۵	۹۵/۸۴
۳	۴	۳/۹۰	۳/۹۰	۰/۲۷	۶/۹۹	۹۷/۴۷

بررسی تغییرات بین روزی:

به‌منظور پایش تغییرات بین روزی، این بار نیز ۳ غلظت متفاوت محلول سیپروفلوکساسین موردبررسی قرار گرفتند. نتایج

تکرار اندازه‌گیری هریک از نمونه‌های فوق در ۳ روز متوالی در جدول آورده شده است.

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

ردیف	غلظت استاندارد ($\mu\text{g/mL}$)	میانگین غلظت اندازه‌گیری شده ($\mu\text{g/mL}$)		SD	Precision	Accuracy
۱	۰/۳	۰/۳۲	۰/۳۲	۰/۰۱	۲/۰۰	۱۰۵/۵۰
۲	۱	۱/۰۳	۱/۰۳	۰/۰۵	۴/۸۴	۱۰۲/۶۱
۳	۴	۳/۵۸	۳/۵۸	۰/۰۹	۲/۴۹	۸۹/۵۹

نتایج تعیین مقدار ماده مؤثره:

همان‌طور که در مقدمه اشاره شد، روش‌های متعددی برای اندازه‌گیری سیپروفلوکساسین در اشکال دارویی معرفی شده‌اند که پس از مطالعه و بررسی این روش‌ها و استفاده از متون علمی منابع معتبر و مراجع بین‌المللی فارماکوپیه USP مناسب‌ترین روش، انتخاب و مورداستفاده قرار گرفت. در این آزمایش‌ها نمونه‌ها پس از رسم منحنی استاندارد مورداندازه‌گیری قرار گرفتند. به‌منظور بررسی تکرارپذیری (دقت و صحت) سیستم و روش آنالیز، تغییرات درون روزی و بین روزی نیز موردبررسی قرار گرفت. نتایج آنالیز نشان داد که برای ۳ غلظت ذکرشده، ضریب تغییرات درون روزی بین ۶/۹۹-۶/۱۵ و برای تغییرات بین روزی نیز بین ۴/۸۹-۲ قرار داشت.

پس از اطمینان از دقت و صحت روش، نمونه‌های سیپروفلوکساسین تجاری مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج به‌دست‌آمده از این آزمایش‌ها در جداول ۳ تا ۶ آورده شده است. نتایج حاصله از اندازه‌گیری سیپروفلوکساسین در اشکال دارویی به ترتیب محلول‌های تزریقی، ۲۹۰ تا ۳۰۹ میلی‌گرم که معادل ۱۴۵ تا ۱۵۷ درصد مقدار موجود در برچسب فرآورده (۲۰۰ میلی‌گرم)، قطره‌های چشمی بین ۰/۲۵ تا ۰/۲۷ میلی‌گرم که معادل با ۸۳ تا ۹۰ درصد مقدار موجود در برچسب فرآورده (۰/۳ میلی‌گرم)، قرص ساده بین ۲۸۰ تا ۲۸۰ میلی‌گرم که معادل با ۱۱۲ تا ۲۸۰ درصد مقدار موجود در برچسب فرآورده‌ها (۲۵۰ میلی‌گرم) و قرص ساده بین ۵۱۱ تا ۹۴۷ میلی‌گرم که معادل ۱۰۲ تا ۱۸۹ درصد مقدار موجود در برچسب فرآورده (۵۰۰ میلی‌گرم) بودند.

جدول (۳): نتایج مربوط به غلظت سیپروفلوکساسین در قطره‌های چشمی ۰/۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر

ردیف	کارخانه سازنده	تاریخ ساخت	تاریخ انقضاء	سری ساخت	غلظت اندازه‌گیری شده	غلظت مورد ادعای کارخانه
۱	سینا دارو	-	۲۰۱۱ ۰۱	۰۰۱۲۸۱	۰/۲۷	۰/۳
۲	سینا دارو	-	۲۰۱۱ ۰۲	۹۰۲۲۸۴	۰/۲۶	۰/۳
۳	سینا دارو	-	۲۰۱۲ ۰۵	۹۰۵۲۸۹	۰/۲۶	۰/۳
۴	سینا دارو	-	۲۰۱۲ ۰۷	۰۰۷۲۹۹	۰/۲۵	۰/۳
۵	سینا دارو	-	۲۰۱۲ ۰۸	۰۰۸۳۰۲	۰/۲۷	۰/۳

جدول (۴): نتایج مربوط به غلظت سیپروفلوکساسین در محلول‌های تزریقی برحسب میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر

ردیف	کارخانه سازنده	تاریخ ساخت	تاریخ انقضاء	سری ساخت	غلظت اندازه‌گیری شده	غلظت مورد ادعای کارخانه
۱	KRKA Slovenia	۲۰۰۶ ۱۲	۲۰۱۱ ۱۲	۴۳۳۵۰۵	۳۰۶	۲۰۰
۲	شهید قاضی تبریز	-	۲۰۱۰ ۰۹	۸۷۰۷۱۹۱	۳۰۹	۲۰۰
۳	شهید قاضی تبریز	-	۲۰۱۰ ۰۹	۸۷۰۷۱۹۱	۲۹۰	۲۰۰

جدول (۵): نتایج مربوط به غلظت سیپروفلوکساسین در قرص‌های ۲۵۰ میلی‌گرمی

ردیف	کارخانه سازنده	تاریخ ساخت	تاریخ انقضاء	سری ساخت	غلظت اندازه‌گیری شده	غلظت مورد ادعای کارخانه
۱	آریا	-	۸۹ ۱۰	۰۰۵	۳۸۷	۲۵۰
۲	رازک	-	۲۰۱۰ ۰۲	۰۰۵	۳۷۸	۲۵۰
۳	رازک	-	۲۰۰۹ ۰۸	-	۳۳۳	۲۵۰
۴	فارابی	-	۲۰۱۰ ۰۸	۱۰۲	۷۰۱	۲۵۰
۵	روز دارو	-	۲۰۱۰ ۱۱	H۵	۵۸۴	۲۵۰

جدول (۶): نتایج مربوط به غلظت سیپروفلوکساسین در قرص‌های ۵۰۰ میلی‌گرمی

ردیف	کارخانه سازنده	تاریخ ساخت	تاریخ انقضا	سری ساخت	غلظت اندازه‌گیری شده	غلظت موردادعای کارخانه
۱	خوارزمی	-	۲۰۱۰ ۰۲	۲۱	۷۰۸	۵۰۰
۲	اکسیر	-	۲۰۱۱ ۰۴	۰۰۷	۹۴۷	۵۰۰
۳	آریا	-	۸۹ ۱۱	۰۵۱	۷۵۶	۵۰۰
۴	رازک	=	۲۰۱۰ ۰۹	۸۶۳۲۳۳	۷۸۱	۵۰۰
۵	امین	-	۲۰۱۰ ۰۷	۲۰۵	۶۱۴	۵۰۰
۶	تهران دارو	-	۲۰۱۱ ۰۵	۰۷۱	۶۳۸	۵۰۰
۷	فارابی	-	۲۰۱۰ ۰۴	۱۴۶	۵۱۱	۵۰۰
۸	روز دارو	-	۲۰۱۰ ۱۱	H۶۹	۶۸۱	۵۰۰

بحث و نتیجه‌گیری

معمولاً در واحدهای تحقیق و توسعه شرکت‌های داروسازی پس از مطالعه و ارائه فرمولاسیون‌های مختلف برای یک دارو، به‌منظور 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 حمل‌ونقل، 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 دی‌صلاح نیز قابل ارزیابی است.

ما در این پروژه با استفاده از روش کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) و استفاده از دتکتور فلورسانس نسبت به اندازه‌گیری ماده مؤثره سیپروفلوکساسین در اشکال دارویی موجود در بازار دارویی ایران اقدام نمودیم. فن HPLC یک روش بسیار حساس بوده و با بکارگیری دتکتور فلورسانس حساسیت آن افزایش یافته و نسبت به ماده موردنظر اختصاصی‌تر خواهد بود و بنابراین به‌صراحت می‌توانیم ادعا کنیم که متد بکار رفته قابل اطمینان می‌باشد.

نتایج حاصله از این پروژه جهت تعیین سیپروفلوکساسین و مقایسه آن با مقدار ماده مؤثره موردادعای لابراتوارهای داروسازی تولیدکننده آن‌ها نتایج قابل قبول و افزون بر برچسب دارویی در مورد اشکال دارویی قرص را نشان می‌دهد درحالی‌که مقدار ماده مؤثره در قطره‌های چشمی کمتر از مقادیر موردادعا است. بر اساس فارماکوپه‌های معتبر بین‌المللی مثل 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 مشاهده‌شده در نتایج نسبت به مقدار ۱۰ درصدی در رابطه با بالا بودن ایمنی پنجره درمانی داروی سیپروفلوکساسین اهمیت زیادی نخواهد داشت ولی باین‌همه لازم است کارخانه‌های داروسازی کنترل‌های منظم و مرتبی را نسبت به مقدار ماده مؤثره در طی پروسه فرمولاسیون دارویی داشته باشند.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه جهت حمایت مالی در اجرای پروژه حاضر در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، قدردانی می‌نماییم.

References:

1. Campoli-Richard DM, Monk JP, Price A, Benfield P, Todd PA. Ciprofloxacin A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs* 1988; 35 (4): 373-447.
2. Aksoy B, Küçükgülzel İ, Rollas S. Development and Validation of a Stability-Indicating HPLC Method for Determination of Ciprofloxacin Hydrochloride and its Related Compounds in Film-Coated Tablets. *Chroma* 2007;66(1):57-63.
3. Kassab N M, Singh A K, Kedor-Hackmam E R M, Santoro MR. Quantitative determination of ciprofloxacin and norfloxacin in pharmaceutical preparations by high performance liquid chromatography. *Braz J Pharm Sci* 2005; 41: 507-13.
4. Zhang S, Wei S. Electrochemical determination of ciprofloxacin based on the enhancement effect of sodium dodecyl benzene sulfonate. *Bull Korean Chem Soc* 2007; 28(4): 543-6.
5. Novakovic J, Nesmerak K, Nova H, Filka K. An HPTLC method for the determination and the purity control of ciprofloxacin HCl in coated tablets. *J Pharm Biomed Anal* 2001;25(5-6):957-64.
6. Kalam Azad MA, Ullah A, Mahbub AHM, Hasnat A. Bioequivalence and pharmacokinetic study of two oral formulations of ciprofloxacin tablets in healthy male volunteers. (Clinical report). *J Appl Res* 2007;7(2):150-7.
7. Sibirnovic P, Smelcerovic A, Palic R, Dordevic S, Marinkovic V. Ruggedness testing of an HPLC method for the determination of ciprofloxacin. *J Serb Chem Soc* 2005; 70(7): 979-86.
8. Abdel-Gawad F, Issa Y, Fahmy H, Hussein H. Spectrophotometric Determination of Ciprofloxacin in Pure Form and in Tablets Through Charge-Transfer Complexation Reactions. *Mikrochim Acta* 1998; 130: 35-40.
9. Thoppil SO, Amin PD. Stability indicating reversed-phase liquid chromatographic determination of ciprofloxacin as bulk drug and in pharmaceutical formulations. *J Pharm Biomed Anal* 2000;22(4):699-703.
10. Leroy A, Shervington, Michael AB, Bushra Hussain, James Donnelly. The simultaneous separation and determination of five quinolone antibiotics using isocratic reversed - phase HPLC: Application to stability studies on the ofloxacin tablet formulation. *J Pharm Biomed Anal* 2005; 39: 769-75.
11. Xiaoyan Li, Qihua Cao, Fang Wang. Determination of ciprofloxacin hydrochloride in pharmaceutical preparation and biological fluid by Rayleigh Light Scattering Technique. *J Wuhan Univ Natur Sci* 2009; 14: 70-4.
12. Cazes J. Remington's Pharmaceutical Sciences. 21th ed. Lippincott, Williams; 2005.
13. USP NF 2007 [Internet]. [cited 2014 Jun 23]. Available from: http://www.ebook3000.com/USP-NF-2007-United-States-Pharmacopeia-National-Formulary-2007--_19320.html.

DETERMINING THE QUALITY OF CIPROFLOXACINE IN PHARMACEUTICAL FORMULATIONS (TABLETS, EYE DROPS AND INFUSION SOLUTIONS) USING HPLC METHOD WITH FLUORESCENCE DETECTION

Akbari A¹, Heydari A^{2*}

Received: 5 Apr, 2014; Accepted: 7 Jun, 2014

Abstract

Background & aims: Quality control of medicinal products, especially considering the amount of active ingredient of toxic side effects, and their complications is important. The present study was performed to measure Ciprofloxacin which is commercially available in the drug market of Iran.

Materials & Methods: In this study pharmaceutical dosage form of Ciprofloxacin with different brands and dosage forms was prepared from a local pharmacy. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used as the preferred analytical tool. The method uses a C₁₈ column. The mobile phase consisted of acetonitrile/ phosphate buffer with (pH= 3) (20:80) and fluorescence detection at 338 and 425 nm.

Results: The results of these experiments showed a linear standard curve for Ciprofloxacin over the range of 0.1-2.5 µg/ml. The corresponding regression equation was $H = 4.8247 C + 0.8094$ with an r^2 value of 0.9925. Taking one of the bulk samples as 100% references, the determined content was 209-309 µg/ml for infusion solutions of 200 µg/ml, 0.25-0.027 µg/ml for eye drops of 0.3 µg/ml, 280-701 mg for tablets of 250 mg and 511-947 mg for tablets of 500 mg.

Conclusion: These findings confirm the necessity of quality and accurate controls over the industrial pharmaceutical companies.

Keywords: Ciprofloxacin, HPLC, Pharmaceutical dosage form

Address: Faculty of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, **Tel:** (+98)441 2754991

Email: heydari.866@gmail.com

¹M.Sc of Analytical Chemistry, Center for Cellular and Molecular Research Assistant Professor of Pharmacology (PhD, Pharm D), Center for Cellular and Molecular Research, Faculty of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences (Corresponding Author)

² Assistant Professor of Pharmacology (PhD, Pharm D), Center for Cellular and Molecular Research, Faculty of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences (Corresponding Author)