

Determination of sodium methylparaben levels in some locally marketed parenteral pharmaceutical products

Dr. Faten Alchab*
Nour Sharaf**

(Received 18 / 9 / 2023. Accepted 18 / 10 / 2023)

□ ABSTRACT □

This study aims to investigate the presence of sodium methylparaben and determine its concentration in some locally marketed pharmaceutical forms. Therefore, we studied 8 ampoules and two oral syrup locally manufactured samples marketed in the Syrian market, packaging and labelling test applied to all samples. The studied samples belonged to six pharmaceutical companies. The concentration of sodium methylparaben was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) using a column (BDS Hypersil C18 250 mm* 4.6 mm) , mobile phase: methanol as the organic solution with an acetate buffer in the ratio of 82:18, flow rate: 1 ml/minute, UV detection: 254nm. Packaging test revealed that all of the locally manufactured samples matching to WHO guidelines, The results of HPLC analyse showed presence of sodium methylparaben in all studied samples, and all samples were within the allowable limit (0.25% for ampoules, 0.2% for oral syrups) according to the Food and Drug Administration (FDA). The specific concentrations ranged between (1.7-2.28 mg/ml for ampoules and 1.2-1.5 mg/ml for medicinal syrups), depending on the HPLC device.

Keywords: sodium methylparaben, pharmaceutical ampoules, oral syrups, high-performance chromatography (HPLC).



Copyright :Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

*Professor, Department of pharmaceutical chemistry and drug control, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.

**Postgraduate Student, Department of pharmaceutical chemistry and drug control, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria. nour.sharaf@tishreen.edu

تحديد سويات صوديوم ميتيل بارابين في بعض المنتجات الصيدلانية المسوقة محلياً

د. فاتن الشب*

نور شرف**

(تاريخ الإبداع 18 / 9 / 2023. قبل للنشر في 18 / 10 / 2023)

□ ملخص □

تهدف هذه الدراسة إلى التحري عن وجود صويوم ميتيل بارابين وتحديد تركيزه في بعض المستحضرات الصيدلانية السائلة الفموية والحقنية المسوقة محلياً لذا قمنا بدراسة 8 عينات لأمبولات حقنية و عيناتان لشرايات فموية مصنعة محلياً، مسوقة في السوق السورية، كما أجري لها اختبار التغليف ولصاقات التوسيم. تتبع العينات المدروسة لست شركات دوائية، وتم اقتطاع 3 عينات من كل مستحضر. حُدد تركيز صويوم ميتيل بارابين في العينات المدروسة باتباع تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) باستخدام عمود (Column BDS Hypersil C18 250 mm*) 4.6mm و قطر حبيباته 5 ميكرون، كان الطور المتحرك المستخدم الميثانول كمحل عضوي مع وقاء الأسيتات بنسبة 82:18 ومعدل تدفق 1مل/دقيقة وتم الكشف عند طول موجة 254 نانومتر. بينت نتائج الكشف الكمي والكيفي عن وجود صويوم ميتيل بارابين في جميع العينات المدروسة وكانت جميع العينات ضمن الحد المسموح به (% 0.25 للأمبولات و % 0.2 للشرايات الفموية) حسب منظمة الغذاء والدواء العالمية (FDA). تراوحت التراكيز المحددة بين (1.7-2.28 ملغ/مل بالنسبة للأمبولات و 1.2-1.5 ملغ/مل بالنسبة للشرايات الدوائية) وذلك اعتماداً على جهاز HPLC.

الكلمات المفتاحية: صوديوم ميتيل بارابين، أمبولات دوائية، شرايات فموية، الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).

حقوق النشر: مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04



* أستاذ - قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية .

** طالبة دراسات عليا (ماجستير) - قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

مقدمة:

تعتبر المواد الحافظة (Preservatives) من أهم المواد المضافة إلى المنتجات الدوائية وذلك من أجل حمايتها من الفساد وزيادة عمرها على الرف مما يؤمن الحفاظ على سلامة الدواء وبالتالي المريض.^[1] تعمل المواد الحافظة على تثبيط أو منع النمو الميكروبي في الأدوية حيث يمكن لهذه الميكروبات أن تتكاثر خلال فترة الحفظ أو فترة الاستخدام مما يمكن أن يؤدي إلى تخرب المادة الفعالة أو/و يجعلها مصدراً للتلوث والعدوى بفعل البكتيريا.^[2] أكثر المواد الحافظة استخداماً البارابينات وأملاحها، استخدمت منذ أكثر من خمسين عاماً كمواد حافظة في مختلف المجالات الصناعية.^[3, 4] تم تصنيف مادة البارابين قديماً على أنها آمنة بشكل عام من قبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) ولكن بسبب كثرة المخاوف من آثارها الجانبية المحتملة المتمثلة بحالات تهيج و حساسية الجلد مباشرة أو بعد فترة من استخدام المنتجات الحاوية على البارابينات سواء المطبقة موضعياً أو المأخوذة حقناً أو فمويماً، وتأثيرها الهرموني الشبيه بتأثير الأستروجين والشك بارتباطها بسرطان الثدي و تأثيرها على الغدد الصماء مما يجعلها مرتبطة بأمراض كالسمنة والسكري، أصبحت محط دراسة واهتمام كبير.^{[5] [6] [7] [8]}

البارابينات كيميائياً هي استرات لبارا هيدروكسي بنزونيك أسيد، تعتبر ذات خصائص مضادة للخمائر والفطور والميكروبات وهي فعالة ضمن مجال واسع من درجة الحموضة pH، من أهم أفرادها ميتيل بارابين، بروبيل بارابين، بوتيل بارابين وأملاحها.^[3, 4] لكن وبالرغم من مميزات المتعددة كمواد حافظة لوحظ وجود بعض الآثار الجانبية لاستخدامها خصوصاً أنها تستخدم على نطاق واسع في مختلف المنتجات الاستهلاكية وبالتالي يكون تعرض الإنسان لها بنسبة كبيرة مما يجعلها تسبب خطراً تراكمياً على صحته.^[4] أهم أفراد البارابينات وأكثرها استخداماً هو الميتيل بارابين وملحه الصودي.^[9, 10]

لذلك وبسبب كل ما سبق كان من الضروري التأكد من أن نسبة صوديوم ميتل بارابين في المستحضرات الصيدلانية المدروسة ضمن الحدود المسموح بها حيث أن اضافتها بكمية أقل من اللازم تكون غير فعالة لتثبيط نمو الجراثيم و الفطور، أما إضافتها بكميات أكبر من الحدود المسموح بها يؤدي إلى زيادة المدخول اليومي منها مما ينعكس سلباً على صحة الإنسان.

أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث من أهمية صوديوم ميتيل بارابين كمادة حافظة حيث يعتبر من أكثر المواد الحافظة استخداماً في مختلف المجالات مما يعني تعرض الانسان له بكثرة و بتواتر مرتفع لذلك يجب أن تكون تراكيزه في هذه المنتجات ضمن الحدود المسموح بها و بالتراكيز الدنيا الفعالة لكي نقلل من أخطاره التي تتمثل بكونه مرتبط باضطراب الهرمونات و سرطان الثدي عند النساء بالإضافة لتسببه بحساسية جلدية.^[11]

يهدف هذا البحث إلى التحري عن صوديوم ميتيل بارابين وتحديد تركيزه في بعض الأشكال الصيدلانية في السوق السورية باستخدام HPLC.

طرائق البحث ومواده:

المواد والتجهيزات المستخدمة:

- استخدم في إنجاز هذه الدراسة مجموعة من المواد وهي موضحة في الجدول (1)
الجدول (1) المواد المستخدمة في الدراسة

المصدر	اسم المادة
Labchem	الميتانول (HPLC grade Methanol % 99.4)
Eurolab	حمض الخل الثلجي %99.5
Eurolab	خلات الصوديوم %99
salicylates and chemicals privte limited	صوديوم ميتيل بارين عياري %99.07
-----	ماء عالي النقاوة purified water

- استخدمت الأجهزة التالية، كما هو موضح في الجدول رقم (2)
الجدول رقم (2) يبين الأجهزة المستخدمة في الدراسة

المواصفات	الجهاز
SHIMADZU(SPD_M20A)	جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء High performance liquid chromatography
selectra PS-80A	جهاز الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic bath
PRECISA XB 220A	ميزان إلكتروني ذو حساسية 0.0001 غ
BURETE 24 CHINA	مقياس درجة الحموضة
MILIPORE FRANCE الفرنسية	جهاز الماء المقطر
E.S.L.C	ميكروبييت
SARTORIVS بقطر 0.45µm	ورق ترشيح عادي وميكروي

أقسام جهاز الكروماتوغرافيا المستخدم في الدراسة ومواصفاتها مبينة بالجدول رقم (3).

جدول رقم (3) يبين أقسام جهاز الكروماتوغرافيا المستخدم في الدراسة

جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء High performance liquid chromatography شركة SHIMADZU اليابانية (SPD_M20A)	
(LC-20ACHT)	مضخة
M20A230V-SPD	الكاشف الطيفي في المجال المرئي وفوق البنفسجي
(C2A-20A)	فرن
(SIL-20ACHT)	حاقن آلي
(DGU_20A3R)	طارذ غازات آلي
ملم BDS Hypersil c18 (4.6*250) قطر حبيباته 5 ميكرون شركة thermos	عمود الفصل Column thermos

جمع العينات

شملت الدراسة 10 عينات من المستحضرات الصيدلانية حيث تم تحليل 8 عينات دوائية حقيقية و عينتان لشرايات فموية، تم أخذ المستحضرات من ستة شركات محلية مختلفة متوافرة في مدينة اللاذقية، تم اقتطاع 3 عينات من كل مستحضر سميت كما يلي:

Aa, Ab, Ac, Ad, Ae, Af, Ag, Ah امبولات (ampoules) تعود لشركات (1,2,3,4).

Sa Sb تعود لشركات (5,6).

فحص التغليف الخارجي ولصاقة التوسيم Labeling

قبل تحضير عينات المستحضرات الدوائية المدروسة كان لا بد من مراقبة لصاقة التوسيم والتأكد من سلامة عبوات العينات الدوائية المدروسة.

تتطلب دساتير الأدوية وقواعد التصنيع الجيد وجود لصاقة على العبوة الخارجية للدواء بالإضافة إلى نشرة داخلية، ويجب أن تحوي اللصاقة التي توضع على العبوة مباشرة على المعلومات التالية:

اسم المنتج الصيدلاني، اسم المكون الفعال، اسم وتركيز أي مادة حافظة مضافة واسم السواغات الأخرى ضمن الدواء وذلك لمحاولة تجنب أثارها الجانبية^[98]، تاريخ الانتاج وتاريخ انتهاء الفعالية ورقم الطبخة، شروط التخزين وأي تحذيرات بشأن هذا الموضوع، توجيهات الاستعمال والتحذيرات وأخيراً اسم المصنع المنتج للشكل الصيدلاني وعنوانه. تم فحص سلامة التغليف الخارجي من خلال مراقبة وجود أي تسرب للمحتوى الدوائي من العينات وكذلك من خلال وجود عبوة كرتونية خارجية للمنتجات الدوائية. كما ويتطلب دستور الأدوية وجود نشرة تعليمات داخلية في عبوة كل مستحضر دوائي، ويجب أن تحتوي على المعلومات التالية:

اسم الشكل الصيدلاني ونوعه، المادة الفعالة مع تركيبها وكميتها في الدواء ومعلومات عنها، معلومات عن الاستطابات وطريقة الاستعمال والجرعة، مضادات الاستطاب ومحاذير الاستعمال، الآثار الجانبية، تاريخ الانتاج والانتهاء، اسم المصنع ورقم الطبخة.^[15,17,16]

التحديد الكمي والكيفي لصاديوم ميتيل بارابين في العينات المدروسة:

تحضير العينات

عينة الامبولات:

أخذ محتوى خمس امبولات دوائية من كل مستحضر صيدلاني ووضعت في بيشر، أخذ 4 مل أي ما يعادل محتوى امبولة واحدة ثم مددت الى 100 مل في دورق حجمي.

وضع الدورق الحجمي السابق على حمام الأمواج فوق الصوتية بدرجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة. رشح المحلول باستخدام مرشحات ميكرونية (0.45µm) ثم فحص باستخدام جهاز HPLC. (نسبة التمديد = 4/100 = 25).

عينة الشرابات:

أخذ 4 مل من الشراب ثم مددت الى 100 مل في دورق حجمي وضع الدورق الحجمي السابق على حمام الأمواج فوق الصوتية بدرجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة.

رشح المحلول باستخدام مرشحات ميكرونية (0.45µm) ثم فحص باستخدام جهاز HPLC. (نسبة التمديد = 4/100 = 25).

تحضير الطور المتحرك

تحضير المحلول الواقي الخلي Acetate Buffer Solution Preparation

حضرنا محلول من خلات الصوديوم بوزن 2.48 غ من مسحوقه بعد أخذ نقاوة المادة بالحسبان وهي 99% لنحصل على محلول خلات الصوديوم بتركيز 0.03% تم ضبط المحلول PH=4±0.05 باستخدام حمض الخل الثلجي. الطور المتحرك يتكون من الميثانول 82% ووقاء خلي بنسبة 18%.

الفصل باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)

استخدمت هذه التقانة للكشف الكيفي والكمي في العينات المدروسة، حيث حقنت المحاليل العيارية لصاديوم ميتيل بارابين، ومحاليل العينات المحضرة بالطريقة المذكورة سابقاً في جهاز ال HPLC وفق شروط العمل الموضحة في الجدول رقم (4).^[12]

جدول رقم (4) يبين الشروط الكروماتوغرافية المتبعة في التحليل

Column BDS Hypersil C18 250 mm* 4.6mm أبعاد الجزيئات 5 µm	عمود الفصل Column
methanol Acetate buffer(18:82) (pH 4)	الطور المتحرك mobile phase
1 mL/min	معدل التدفق flow rate
30 °C	درجة الحرارة temperature of injector
Detector UV 254 nm	الكاشف Detector
20 µL	حجم الحقنة injection volum

. دراسة مصدوقية الطريقة التحليلية المتبعة:**. دراسة دقة الطريقة التحليلية:**

لتقييم دقة الطريقة التحليلية المتبعة تم دراسة تكرارية النتائج خلال يوم واحد (Intra-day precision) والدقة الوسطى خلال عدة أيام (Inter-day precision)، حيث قيس تراكيز الميتيل بارابين العياري التالية (20-50-100-150-200) µg /mL بواسطة جهاز HPLC وكل تركيز تم قياسه ثلاث مرات وأخذ المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والانحراف النسبي.

. دراسة الاسترداد للطريقة التحليلية المتبعة:

تم حساب الاسترداد لصوديوم ميتيل بارابين بتقنية HPLC وذلك بإضافة تراكيز معلومة إلى عينة معلومة التركيز حيث تم مجانستها وحققها في جهاز HPLC ثلاث مرات لكل تركيز وحساب المتوسط الحسابي للنسبة المئوية للاسترداد والانحراف المعياري النسبي RSD: Relative Standard Deviation .

. دراسة خطية الطريقة التحليلية

تم تحضير سلسلة عيارية لميتيل بارابين الصوديوم بتراكيز تتراوح بين 20-200 ميكروغرام/مل وتم حقن كل تركيز ثلاث مرات، ثم قياس مساحات القمم الناتجة عن المحاليل، حسب القيمة المتوسطة لهذه المساحات، ثم مثلت العلاقة بين متوسط المساحات والتراكيز المستخدمة الموافقة بيانياً.

النتائج والمناقشة:**فحص التغليف الخارجي ولصاقة التوسيم:**

أجري الاختبار على جميع العينات الدوائية التي تمت دراستها في البحث. كانت جميع العينات مطابقة لإرشادات منظمة الصحة العالمية من حيث الغلاف الخارجي ولصاقة التوسيم. تم ذكر السواغات المستخدمة في النشرة الداخلية لعينتي الشراب المدروستين، أما بالنسبة لعينات الامبولات الدوائية فقد تم ذكر السواغات في النشرة الداخلية لستة منها.

فحص العينات باستخدام HPLC :

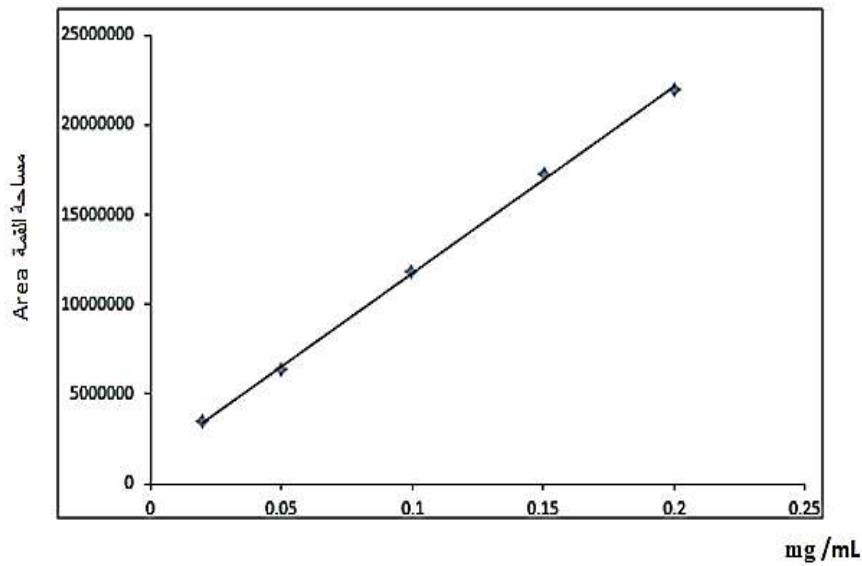
تم استخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لدراسة العينات حيث حضرت سلسلة عيارية من صوديوم ميتيل بارابين اعتباراً من المحلول الأم ذي التركيز 1 ملغ /مل وأخذت حجوم متعددة من المحلول الأم و مددت في بالون معايرة، وحصلنا على التراكيز التالية: (0.2، 0.15، 0.1، 0.5، 0.2) ملغ / مل، حقنت جميعها في جهاز ال HPLC وقيست المساحات تحت المنحني للقمم الناتجة عنها، و مثلت العلاقة بين قيم المساحات وقيم التراكيز بيانياً، كما هو موضح بالشكل رقم (1)

وكانت معادلة الخط المستقيم الذي تم الحصول عليه:

$$y = 104102759.8x + 1352502.585$$

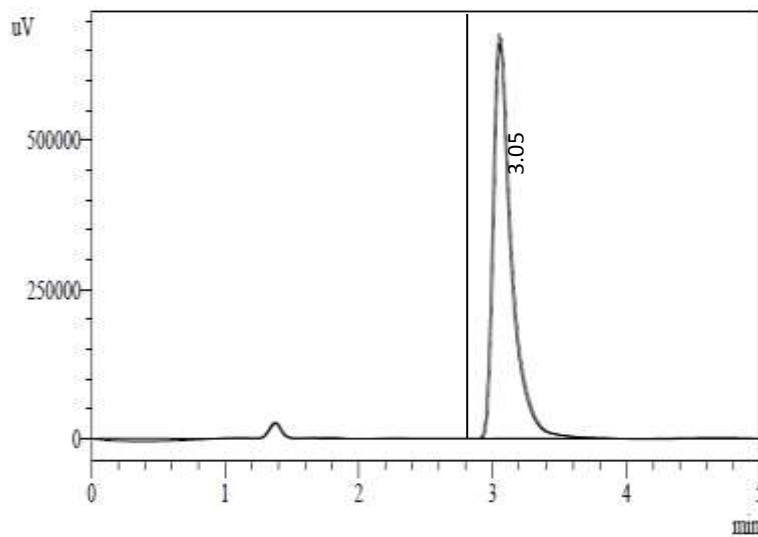
حيث Y: تعبر عن مساحة القمة، X تعبر عن التراكيز ملغ/مل

أما R² فقد بلغت قيمتها (0,9992) مما يدل على أن العلاقة خطية في المجال المدروس، وهذا ما تم تمثيله في الشكل رقم (1).



الشكل رقم (1) الخط البياني للسلسلة العيارية لميثيل بارابين الصوديوم

عند حقن المحلول العياري لصوديوم ميثيل بارابين (0.05 ملغ / مل) بجهاز ال HPLC حصلنا على الكروماتوغرام الموضح بالشكل (1)، وكان زمن احتباس صوديوم ميثيل بارابين العياري $R_t = 3.05$ min و مساحة تحت المنحني $AUC = 3944118$



شكل رقم (2) كروماتوغرام صوديوم ميثيل بارابين العياري عند استخدام تقنية HPLC (كاشف UV-حجم حقنة 20 ميكروليتر-معدل التدفق 1 مل/دقيقة)

. التحديد الكمي لصوديوم ميثيل بارابين باستخدام ال HPLC:

لإجراء التحديد الكمي تم تعويض قيمة المساحة تحت المنحني (AUC) العائدة لصوديوم ميثيل بارابين في معادلة السلسلة العيارية، وحساب التركيز (ملغ /مل).

	sample code	Concentration of methyl Paraben mg/ml	standard deviation SD	RSD percentile standard deviation
Oral syrups	Sa1	1.520	0.004	0.2599
	Sa2	1.204	0.006	0.5368
Ampoules	Aa2	1.912	0.013	0.6730
	9Ab	2.282	0.022	0.9734
	Ac2	2.270	0.009	0.4061
	Ad3	1.753	0.008	0.4360
	Ae9	2.009	0.010	0.4842
	Af10	2.304	0.009	0.409
	Ag2	2.298	0.019	0.8301
	Ah2	1.973	0.015	0.7614

تراوحت تراكيز صوديوم ميتيل بارابين في عينات الامبولات المدروسة بين (1.7-2.28) ملغ/مل والتي تكافئ (0.17-0.23) %، وبالمقارنة مع المجال المسموح به لتركيز صوديوم ميتيل بارابين في الأشكال الصيدلانية الحقيقية (0.065-0.25%) نجد أن جميع عينات الامبولات ضمن المجال المسموح به أما بالنسبة لتراكيز صوديوم ميتيل بارابين في عينات الشرابات المدروسة فكانت (1.2-1.5) ملغ/مل والتي تكافئ (0.12-0.15) %، وبالمقارنة مع المجال المسموح به لتركيز صوديوم ميتيل بارابين في الأشكال الصيدلانية الفموية (0.015-0.2%) نجد أن التراكيز المحددة ضمن المجال المسموح به، وهذا يتوافق مع دراسة قامت بها دينا وآخرون في مصر بينت أن التراكيز المحددة من المادة الحافظة في الأمبولات والشرابات المدروسة ضمن المجال المسموح به.^[13]

نتائج دراسة مصدوقية طريقة HPLC المستخدمة في البحث:

. نتائج دراسة دقة الطريقة التحليلية:

يعبر عن التكرارية بالانحراف المعياري النسبي (RSD)، ومن أجل دقة جيدة يجب أن يكون الانحراف المعياري النسبي أقل من 10%.^[14] تشير قيم الانحراف المعياري النسبي للقياسات المكررة في اليوم الواحد وبين الأيام إلى أن الطريقة المتبعة تتمتع بتكرارية جيدة، كما هو موضح في الجداول، حيث لم تتجاوز قيمة RSD (1.3%).

concentration µg/ml	Intraday a ±SD(CV%)	RSD	Interday b±SD(CV%)	RSD
20	20.16 ± 0.208	1.032	20.16 ± 0.25	1.24
50	49.53 ± 0.5859	1.1829	49.93 ± 0.602	1.207
100	99.3 ± 1.0511	1.058	99.83 ± 1.25	1.25
150	149.33 ± 0.862	0.5773	149.266 ± 1.069	0.7163
200	200.56 ± 1.52	0.765	200.16 ± 1.70	0.84

. نتائج دراسة الاسترداد للطريقة التحليلية المتبعة:

يجب أن تكون النسبة المئوية للاسترداد ضمن المجال (90-110%) حتى تكون الطريقة التحليلية ذات استرداد مقبول.^[14] كان متوسط النسبة المئوية لاسترداد صوديوم ميتيل بارابين 98.77% مما يؤكد أن النتائج ضمن المجال المطلوب، كما هو موضح في الجدول

Concentration of methylparaben in samples before adding ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration of methyl Paraben adding ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration of methylparaben in samples after Adding (true value) ($\mu\text{g/mL}$)	Concentration of methylparaben calculated in samples (Calculated value) ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (%)	RSD** (%)
80.92	10	90.92	90.8	98.8	0.7
	14	94.92	94.66	98.14	0.719
	18	98.92	98.866	99.66	0.86
91.28	10	101.28	101.166	98.8	0.840
	14	105.28	105.22	99.57	0.875
	18	109.28	109.23	99.7	0.762

الاستنتاجات والتوصيات الاستنتاجات

- فحصت العينات باستخدام جهاز HPLC لتحديد محتواها من صوديوم ميتيل بارابين وتبين وجوده في جميع عينات الشرابيات الفموية و الأمبولات الدوائية المدروسة.
- كانت التراكيز المحددة في الشرابيات الدوائية الفموية المدروسة (1.5، 1.2 ملغ/مل) والتي تكافئ (0.12، 0.15%) جميع العينات ضمن المجال المسموح به.
- تراوحت التراكيز المحددة في الأمبولات المدروسة بين 1.1-2.28 ملغ/مل والتي تكافئ 0.11-0.22 %، حيث كانت جميع العينات ضمن المجال المسموح به (0.065-0.25 %).

التوصيات

- خلص هذا البحث الى مجموعة من التوصيات و المقترحات وهي:
- ضرورة التقيد بقواعد ضبط الجودة لضمان احتواء المستحضرات الصيدلانية الكمية المحددة من المواد الحافظة، واتباع طرق عقامة تضمن خلوها من أي ميكروبات ناتجة عن المواد الأولية أو بيئة العمل أو شروط النقل والتخزين.
- بذل المزيد من الجهود لضمان التقيد بالتراكيز المسموح بها لكافة السواغات بما فيها المواد الحافظة تحديداً صوديوم ميتيل بارابين .
- التأكيد على ضرورة مراقبة الأشكال الصيدلانية الموجهة للأطفال وخاصة بعض الشرابيات الدوائية كونها موجهة للرضع وحديثي الولادة، والتأكد من مطابقتها لتعليمات منظمة الصحة العالمية.
- متابعة الدراسة على عدد أكبر من المستحضرات الصيدلانية والتأكد من مطابقتها للحدود المسموح بها.

Reference

1. Chaudhari, S.P. and P.S. Patil, *Pharmaceutical excipients: a review*. Int J Adv Pharm Biol Chem, 2012. **1**(1): p. 21-34.
2. Bean, H., *Preservatives for pharmaceuticals*. 1972.
3. Shaikh, S.M., et al., *A Review on: Preservatives used in Pharmaceuticals and impacts on Health*. PharmaTutor, 2016. **4**(5): p. 25-34.
4. Lincho, J., R.C. Martins, and J. Gomes, *Paraben compounds—part I: an overview of their characteristics, detection, and impacts*. Applied Sciences, 2021. **11**(5): p. 2307.
5. Yang, H., F. Zhang, and H. Wu, *Review on life cycle of parabens: synthesis, degradation, characterization and safety analysis*. Current Organic Chemistry, 2018. **22**(8): p. 769-779.
6. Shabir, G.A., *Determination of combined p-hydroxy benzoic acid preservatives in a liquid pharmaceutical formulation by HPLC*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2004. **34**(1): p. 207-213.
7. Routledge, E.J., et al., *Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic*. Toxicology and applied pharmacology, 1998. **153**(1): p. 12.19-
8. Darbre, P.D., et al., *Concentrations of parabens in human breast tumours*. Journal of Applied Toxicology: An International Journal, 2004. **24**(1): p. 5-13.
9. Andersen, F.A., *Final amended report on the safety assessment of methylparaben, ethylparaben, propylparaben, isopropylparaben, butylparaben, isobutylparaben, and benzylparaben as used in cosmetic products*. Int J Toxicol, 2008. **27**(Suppl 4): p. 1-82.
10. Aubert, N., T. Ameller, and J.-J. Legrand, *Systemic exposure to parabens: pharmacokinetics, tissue distribution, excretion balance and plasma metabolites of [14C]-methyl-, propyl- and butylparaben in rats after oral, topical or subcutaneous administration*. Food and Chemical Toxicology, 2012. **50**(3-4): p. 445-454.
11. Farag Ambarak, M., *Determination of methylparaben in some cosmetics and pharmaceuticals using liquid-liquid extraction and spectrophotometric technique*. Asian Journal of Green Chemistry, 2019. **4**(2): p. 192-201.
12. Antakli, S., R. Kabani, and D. Shawa, *Determination of Preservative Parabens in Oral and Injection Formulations by HPLC*. Asian Journal of Chemistry, 2013. **25**(2): p. 1123.
13. El Sherbiny, D. and M.E. Wahba, *Development and validation of liquid chromatographic methods for the estimation of the acceptance values of some hazardous preservatives in pharmaceutical formulations. A comparative study*. Journal of Taibah University for Science, 2020. **14**(1): p. 294-304.
14. Q10, I., *International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*. 2005, Topic Q9: Quality Risk Management Geneva.
15. Honey, P., *United States Pharmacopeia: USP 30–NF 25*. 2007, Rockville.
16. Fabiano, V., C. Mameli, and G.V. Zuccotti, *Paediatric pharmacology: remember the excipients*. Pharmacological research, 2011. **63**: p. 362-365.
17. Kumar, A., R.D. Rawlings, and D.C. Beaman, *The mystery ingredients: sweeteners, flavorings, dyes, and preservatives in analgesic/antipyretic, antihistamine/decongestant, cough and cold, antidiarrheal, and liquid theophylline preparations*. Pediatrics, 1993. **91**(5): p. 927-933.

