

## طريقة تحليلية طيفية جديدة لتحديد Etoricoxib

### في المستحضرات الصيدلانية

الدكتور أحمد أبو حجر\*، جمال الحليب\*\*

\*قسم الكيمياء التحليلية والغذائية، كلية الصيدلة، جامعة ادلب

\*\*طالب دراسات عليا (دكتوراه)، قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة ادلب

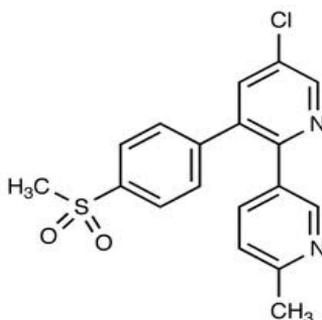
### الملخص

طورنا طريقة طيفية ضوئية جديدة وسريعة وحساسة وسهلة لتحديد Etoricoxib (ETOR) في الحالة النقية وفي المستحضرات الصيدلانية باستخدام الكاشف اريوكروم الأسود (EBT) T. تعتمد الطريقة على تشكيل معقد أحمر اللون بين ETOR و EBT عند  $\text{pH} = 1.44$  يبدي قمة امتصاص عظمى عند طول الموجة  $\lambda_{\text{max}} = 588 \text{ nm}$ ، وبمعامل امتصاص جزيئي مقداره  $2903.442 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ . درسنا تأثير القرائن التحليلية في الطريقة المطورة. تحقق قانون بيرير ضمن مجال من التركيز يتراوح ما بين  $14 - 64 \mu\text{g.mL}^{-1}$  بحد للكشف  $\text{LOD} = 0.440 \mu\text{g.mL}^{-1}$  وحد للتحديد الكمي  $\text{LOQ} = 1.333 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . كانت قيمة الانحراف المعياري النسبي المئوي (RSD%) لم يتجاوز % 2.435 وقيمة معامل الارتباط الخطي  $r = 0.9998$ . طبقنا الطريقة بنجاح لتحديد ETOR كمادة أولية وفي المستحضرات الصيدلانية. تحققنا من صحة النتائج التحليلية إحصائياً من خلال مقارنتها مع طريقة HPLC مرجعية. وقد بينت النتائج على أن الطريقة الجديدة ذات دقة وحساسية عاليتين.

الكلمات المفتاحية: الإيتروكوكسيب، اريوكروم الأسود T، تشكيل معقد، تحليل طيفي ضوئي، مركبات دوائية.

## 1- المقدمة

يُعد الإيتروكوكسيب (**ETOR**) **Etoricoxib** من المشتقات الثنائية البيريدين كما في الشكل (1)، من الجيل الثاني لمثبطات الـ **Cyclooxygenase-2 (COX-2)** النوعية، كما يُعد الأفضل انتقائية من حيث تثبيطه لعائلة الـ **COX** ويكون تثبيطه أكبر في الـ **COX-2** مقارنةً مع الـ **COX-1**، يُستقلب بواسطة جملّة الأنزيمات **P450** الكبدية متنوعة بإفراز كلوي، له عمر نصف حيوي قدره 22 ساعة [1]. ويجب الحذر عند استخدام الـ **ETOR** عند المصابين بالجفاف، ومن المُستحسن تعويض السوائل عند المرضى قبل بدء المعالجة باستخدام **ETOR** [2].



الشكل (1): صيغة **ETOR** الكيميائية نصف المنشورة ( $C_{18}H_{15}N_2O_2S$  = 358.842 g.mol<sup>-1</sup>)  
5-Chloro-2-(6-methyl-3-pyridinyl)-3-(4-methylsulfonylphenyl)pyridine

لقد وجدنا من خلال الدراسة المرجعية عدم اعتماد طريقة تحليلية لتحديد المركب الدوائي **Etoricoxib** في كل من دستور الأدوية الأمريكي **USP** أو في دستور الأدوية البريطاني **BP**. بينما يوجد عدد قليل من الطرائق التحليلية في المراجع المتوفرة لدينا لتحديد **Etoricoxib** في المستحضرات الصيدلانية. حيث استخدم التحليل الطيفي الضوئي [7-3] والتحليل بطريقة **HPLC** [9-8] لتحديد المركب الدوائي المدروس، وعليه فقد كان الهدف من البحث الحالي تطوير طريقة طيفية جديدة وبسيطة وسريعة وذات دقة عالية واقتصادية لتحديد **ETOR** في مستحضراته الصيدلانية باستخدام الكاشف اريوكروم الأسود **T (EBT)**، ويمكن اعتمادها في مخابر الصناعات الدوائية ومخابر الرقابة الدوائية كطريقة للتحليل اليومي.

## 2- القسم العملي

### 2-1- الأجهزة

استخدم في هذا البحث كل من الأجهزة الآتية:

- جهاز مطيافية الأشعة ما فوق البنفسجية والمرئية **UV-VIS Spectrophotometer** من إنتاج شركة **PG INSTRUMENTS LIMITED** البريطانية نموذج **T80** ثنائي الحزمة يغطي المجال (**190-1100 nm**) يتسع لتسع خلايا دفعة واحدة، مزود بكمبيوتر وطابعة لإظهار النتائج.
- جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء **UHPLC+** من إنتاج شركة **Thermo Scientific** الأمريكية نموذج **UltiMate 3000 RS**.
- جهاز أمواج ما فوق الصوتية **Ultrasonic** من إنتاج شركة **Wincom** الصينية نموذج **.WT-615HTD**.
- مقياس درجة الحموضة **pH** رقمي إنتاج شركة **Thermo** الأمريكية نموذج **G10199**.
- ميزان تحليلي حساس من إنتاج شركة **DENSI** التركية نموذج **.HZY-420 A**.
- ماصات آلية متغيرة الحجم ذات ساعات مختلفة إنتاج شركة **JOANLAB** الصينية.
- مرشحات ميكرونية  $0.45 \mu m$  من إنتاج شركة **SHIMADZU-GL SCIENCES** اليابانية.

### 2-2- المواد الكيميائية

جميع المواد الكيميائية والكاشف اريوكروم الأسود **(EBT) T** والمُجَلات المستخدمة في هذا البحث كانت عالية النقاوة من درجة **GR** ومنها من إنتاج شركة **Merck** الألمانية. حصلنا على المركب الدوائي النقي **ETOR** بنقاوة **99.7%** من إنتاج شركة **ASTRICA** الهندية. والماء المستخدم هو ثنائي التقطير في جميع مراحل التحضير.

### 2-3- تحضير المحاليل

حضرنا محلولاً عيارياً من **ETOR** بتركيز  $1 \text{ mg.ml}^{-1}$  بإذابة الوزن اللازم من المركب الدوائي النقي في الميثانول.

وحضرنا محلول الكاشف **EBT** بإذابة  $0.300 \text{ g}$  في حمض كلور الماء تركيزه  $0.1 \text{ M}$  في دورق حجمي سعة  $100 \text{ mL}$ .

#### 2-4-4- طريقة العمل

2-4-4-1- الخط البياني العياري: حضرنا سلسلة من المحاليل العيارية ضمن مجال من التراكيز  $14 - 64 \mu\text{g.mL}^{-1}$  في دوارق حجمية سعة  $25 \text{ mL}$  وأضفنا  $0.9 \text{ mL}$  من الكاشف **EBT** ثم ضبطنا قيمة الـ  $\text{pH} = 1.44$  بحمض كلور الماء  $0.1 \text{ M}$  وأتممنا بالماء المقطر وبعدها تم قياس الامتصاصية لنواتج التعقيد لكل محلول مقابل محلوله الشاهد (البلانك) عند طول موجة الامتصاص العظمى  $588 \text{ nm}$ .

#### 2-4-4-2- تحديد نسبة الارتباط:

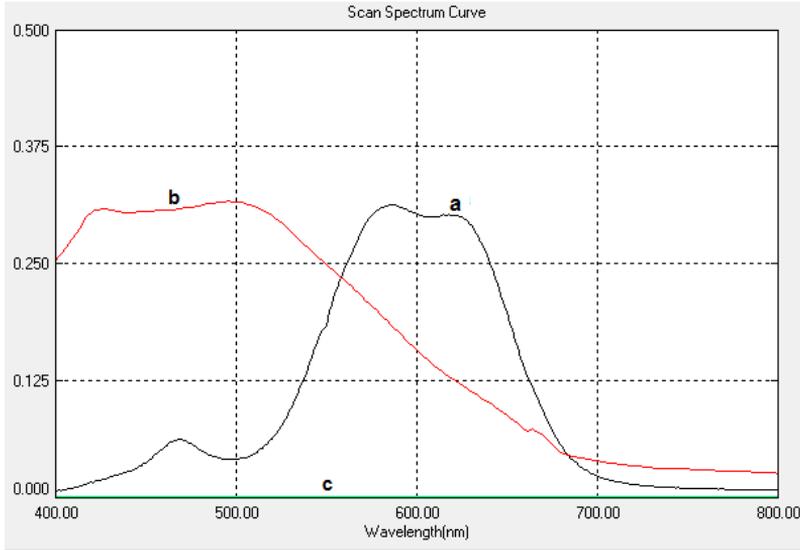
قمنا بالاعتماد على طريقتي التغيرات المستمرة (**Continuous Variation**)

(**Method, Job Method**) [10] وطريقة النسبة المولية (**Molar Ratio Method**) [11]

في تحديد نسبة الارتباط ما بين المركب الدوائي والكاشف المستخدم.

#### 3- النتائج والمناقشة

تعتمد هذه الطريقة على تشكيل معقد زوج شاردي **Ion-Pair** ملون بين المادة الدوائية المدروسة الـ **ETOR** مع الكاشف العضوي **EBT** والذي لم يستخدم من قبل في تحديد الـ **ETOR** في وسط حمضي حيث يتشكل معقد أحمر اللون يعطي أعلى امتصاصية في المجال الطيفي المرئي عند الطول الموجي  $588 \text{ nm}$  مقابل المحلول الشاهد المحضر بنفس طريقة تحضير المحلول المدروس عدا المركب الدوائي، حيث أن الـ **ETOR** والمحلول الشاهد ليس لهما قيمة امتصاص عند طول الموجة المشار إليها، كما هو مبين في الشكل (2).



الشكل (2): (a) طيف الامتصاص لمعقد (ETOR-EBT) مقابل المحلول الشاهد.  
 (b) طيف امتصاص الكاشف EBT مقابل HCl 0.1 M كمحلول شاهد.  
 (c) طيف امتصاص ETOR مقابل الميثانول كمحلول شاهد.

### 3-1-1- ضبط الشروط المثلى للطريقة

درسنا العوامل المؤثرة في تشكل معقد الزوج الشاردي بين ETOR وكاشف EBT بهدف التوصل للشروط المثلى لتشكيل المعقد.

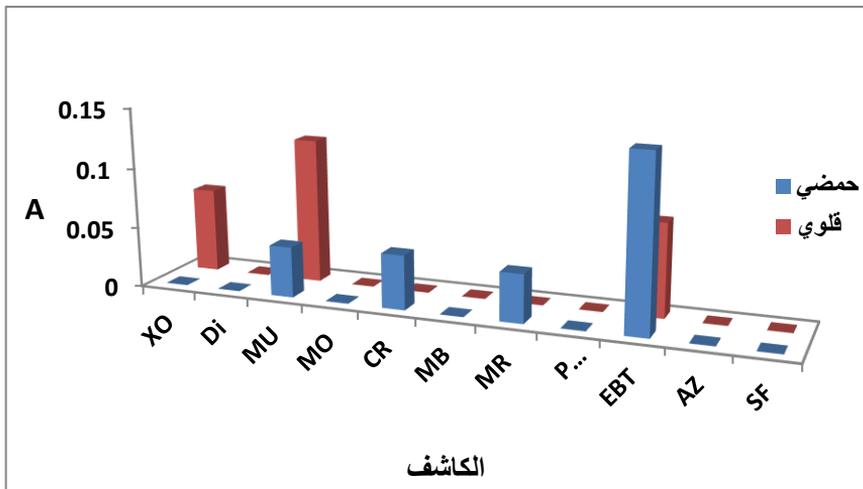
#### 3-1-1-1- انتقاء المذيب الأمثل لـ ETOR

على اعتبار أن الـ ETOR لا ينحل عملياً في الماء قمنا بالبحث عن المذيب الأنسب فتبين أنه أيضاً ضعيف الذوبانية في هيدروكسيد الصوديوم وينحل جيداً في حمض كلور الماء والميثانول والايثانول، لكن عند إذابة الـ ETOR في حمض كلور الماء أعطى راسب قليل الانحلال في التجارب اللاحقة لذا تم استخدام الميثانول كمذيب لـ ETOR في جميع التجارب اللاحقة.

#### 3-1-1-2- انتقاء الكاشف الأمثل لتحديد الـ ETOR

من أجل الوصول إلى طريقة طيفية بسيطة وحساسة ودقيقة لتحديد الـ ETOR في مستحضراته الصيدلانية، اخترنا عدد من الكواشف الكيميائية التي من الممكن أن تشكل معقدات ثابتة مع الـ ETOR ويمكن قياس امتصاصيتها عند طول موجي معين وهي:

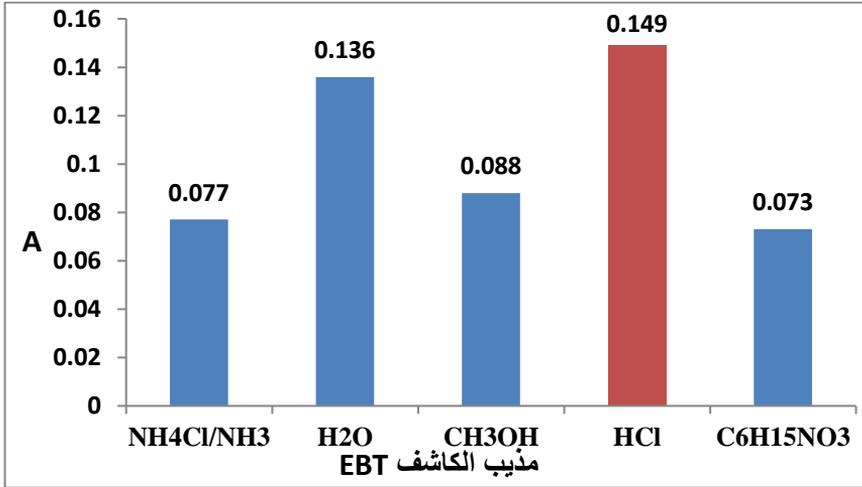
**Xylenol Orange, Phenolphthalein, Murexide, Congo Red, Methyl Red, Eriochrome Black T, Dithizone, Methyl Orange, Methylen Blue.** الوسطين الحمضي والقلوي بتركيز  $1 \times 10^{-2} \text{ M}$  لكل منها وبحجم 1 mL أضيفت الى 1.5 mL من محلول الـ ETOR بتركيز  $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$  في دورق حجمي سعة 25 mL وأكمل الحجم بالماء المقطر حتى العلامة العيارية، وقد بينت نتائج الدراسة التمهيديّة أن كاشف اريوكروم الأسود EBT في الوسط الحمضي أعطى أفضل معقد ملون وكان أكثر حساسية وثبات من باقي الكواشف الكيميائية، كما هو موضح في الشكل (3).



الشكل (3): اختيار الكاشف الأمثل لتفاعل التعقيد مع الـ ETOR من خلال تحديد قيمة الامتصاصية الأعلى للمعقد الملون

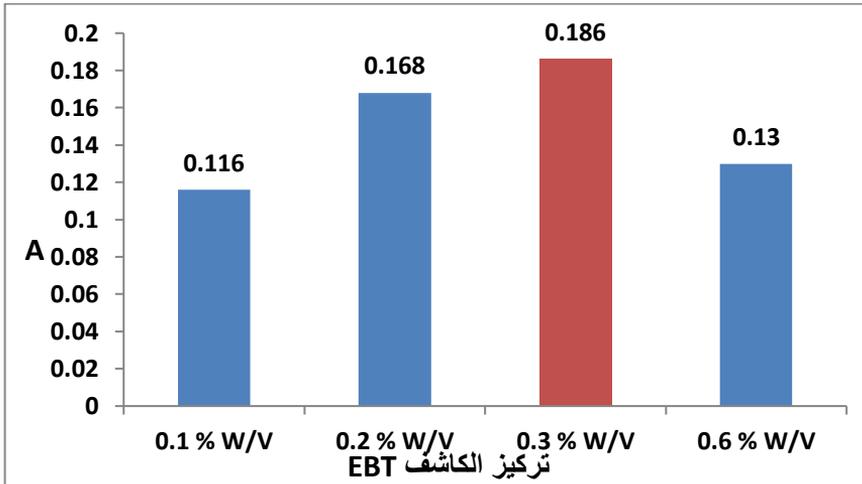
### 3-1-3- انتقاء المذيب الأمثل للكاشف EBT ودراسة تأثيره على امتصاصية المعقد الملون:

بغية تحديد المذيب الأمثل للكاشف EBT قمنا بإذابته في محلات مختلفة هي [وقاء نشادري  $\text{PH} = 9.3$ ، ماء، ميثانول، حمض كلور الماء، ثلاثي إيثانول أمين] وتم تثبيت بقية المتغيرات ومن ثم قياس الامتصاصية لكل منهم، ويبين الشكل (4) أن المذيب الأمثل للكاشف EBT هو حمض كلور الماء  $0.1\text{M}$  حيث أن المعقد الناتج أعطى قمة امتصاص واضحة وكانت قيمة الامتصاصية أكبر ما يمكن.



الشكل (4): اختيار المذيب الأمثل لكاشف الـ EBT من خلال تحديد قيمة الامتصاصية الأعلى للمعقد الملون

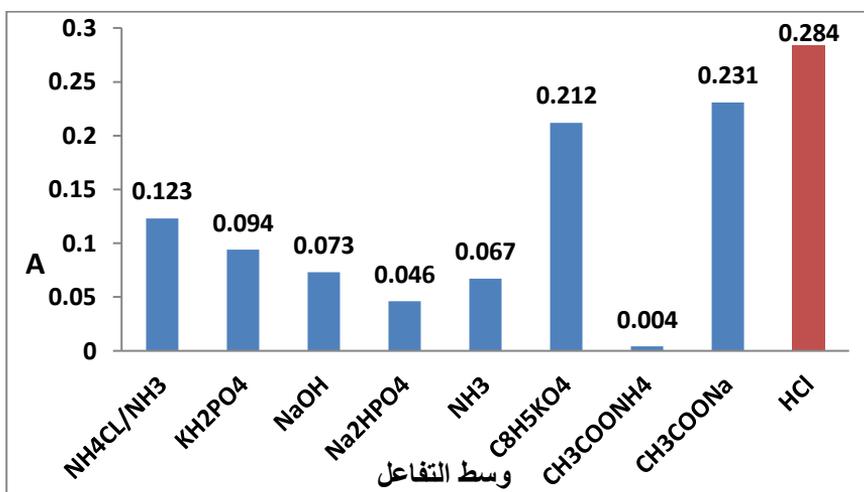
وبغية تحديد التركيز الأمثل للكاشف EBT المناسب لتشكيل المعقد الملون قمنا بدراسة تراكيز مختلفة منه وهي % w/v (0.1, 0.2, 0.3, 0.6) وقد بينت النتائج التجريبية أن أفضل تركيز للكاشف هو % w/v 0.3 كما هو مبين في الشكل (5):



الشكل (5): اختيار التركيز الأمثل للكاشف EBT من خلال تأثيره على امتصاصية المعقد الملون

## 3-1-4- دراسة تأثير وسط التفاعل على امتصاصية المعقد الملون

بعد أن تم تحديد المذيب الأمثل لـ **ETOR** و **EBT** قمنا بالعمل على اختيار الشروط المثلى للتعقيد حيث أجرينا التجارب اللاحقة باستخدام **1.5 ml** من محلول الـ **ETOR** بتركيز  $1 \text{ mg.ml}^{-1}$  و **1 ml** من **EBT** تركيزه **0.3 % w/v** في حجم نهائي **25 ml** وقيست امتصاصية الناتج الملون مقارنة مع المحلول الشاهد. درسنا تأثير أوساط مختلفة على امتصاصية المعقد الملون بإضافة **5 mL** منها من وقاءات وأملاح بتركيز ثابت وقدره **0.01 M** وحمض كلور الماء وهيدروكسيد الصوديوم بتركيز ثابت وقدره **0.1 M** إلى محاليل تحتوي على حجوم ثابتة من الـ **ETOR** ومن الـ **EBT** كما هو مبين في الأعلى وإكمال الحجم حتى **25 mL** بالماء المقطر الثنائي التقطير ثم قمنا بقياس امتصاصية المحاليل مقارنة مع محاليلها الشاهدة. انظر إلى الشكل (6).

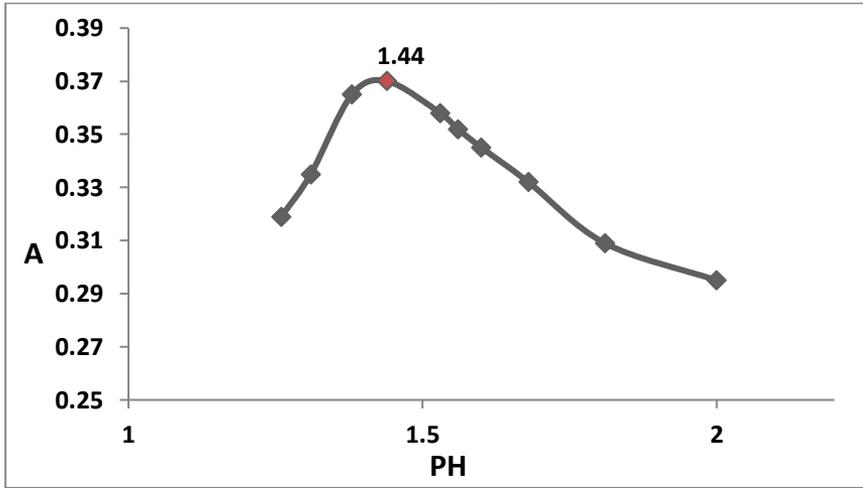


الشكل (6): تأثير الوسط الأمثل لتفاعل التعقيد على امتصاصية المعقد الملون

نلاحظ من الشكل (6) أن استخدام محلول حمض كلور الماء **0.1M** كوسط للتفاعل كان له أفضل امتصاص للمعقد الملون لذا سيتم استخدامه في كافة التجارب اللاحقة.

### 3-1-5- دراسة تأثير pH المحلول على امتصاصية المعقد الملون

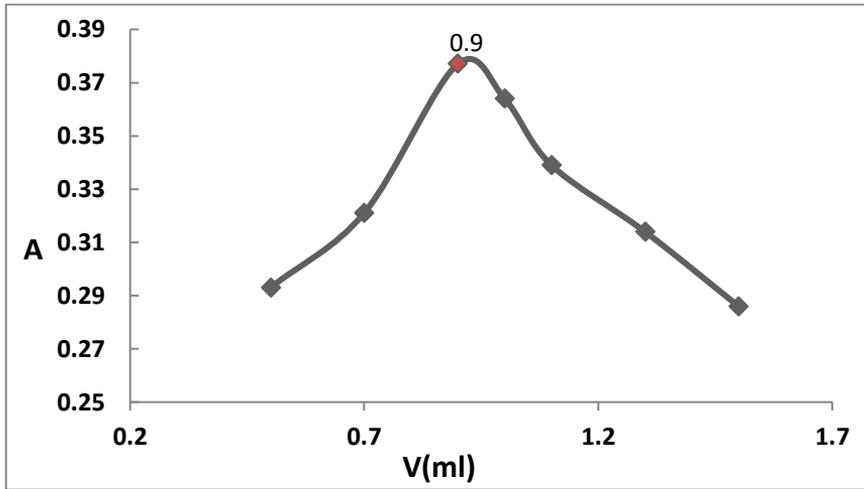
لاختبار قيمة الـ pH المثلى والمرتبطة مع حجم الوسط الحمضي **HCl 0.1M** المضاف والذي تم تحديده في الفقرة السابقة، تم قياس الامتصاصية عند مجال من قيم الـ pH تتراوح بين (2 - 1.25) وكانت قيمة الـ pH المثلى هي 1.44 والتي توافق إضافة 7 mL من **HCl 0.1M** كما هو موضح في الشكل (7)



الشكل(7): تأثير PH المحلول على امتصاصية المعقد الملون

### 3-1-6- دراسة تأثير حجم الـ EBT

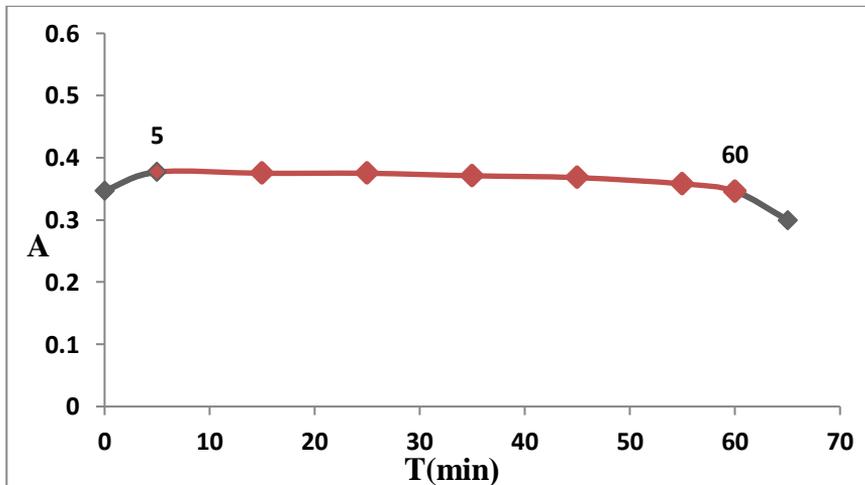
لمعرفة تأثير حجم كاشف الـ EBT المضاف على امتصاصية المعقد الملون قمنا بدراسة إضافة حجوم مختلفة من الكاشف تتراوح بين 0.5 - 1.5 mL وبفارق قدره 0.2 mL في كل إضافة إلى محلول التفاعل مع ثبات حجم الـ ETOR ومن ثم قياس امتصاصية المعقد الملون الناتج، ثم رسمنا العلاقة بين تغيرات امتصاصية المعقد المتشكل بدلالة تغير حجم الكاشف المضاف. ويوضح الشكل (8) أن الحجم الأمثل لكاشف الـ EBT هو 0.9 mL حيث أعطى المعقد الناتج امتصاصية عظمى.



الشكل (8): تأثير حجم كاشف الـ EBT على امتصاصية المعقد الملون

### 3-1-7- دراسة تأثير زمن ثبات المعقد الملون المتشكل بين الـ ETOR والكاشف

قمنا بدراسة تأثير الزمن على ثبات المعقد الملون خلال فترات زمنية مختلفة بدءاً من لحظة تشكله وحتى أكثر من ساعة، مبيّنة النتائج الموضحة في الشكل (9) أن المعقد بين الـ ETOR والـ EBT سريع التشكل ويعطي امتصاص أعظمي بعد 5 min تقريباً ثم تثبت الامتصاصية لمدة ساعة وتبدأ بالتناقص بعد ذلك، وبالتالي يمكن قياس الامتصاصية بعد 5 min وتعد هذه نقطة إيجابية للبحث.



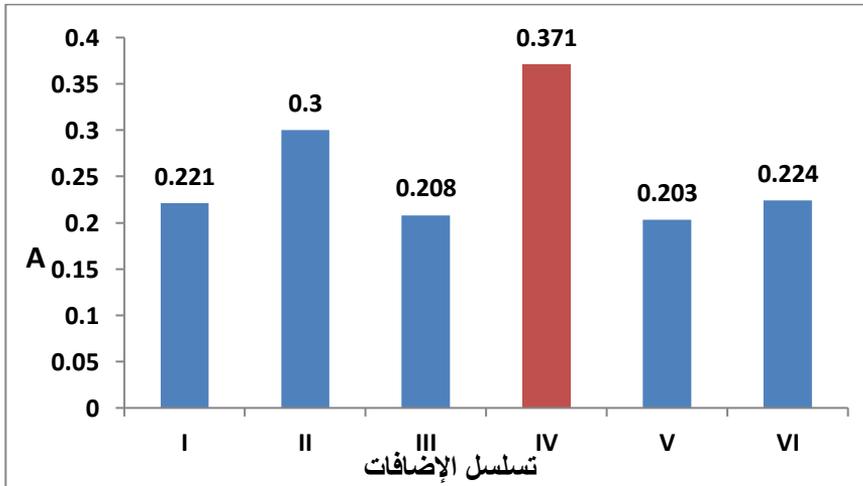
الشكل (9): تأثير الزمن على امتصاصية المعقد الملون

### 3-1-8- دراسة تأثير تسلسل الإضافات للمواد المشكلة للمعقد (ETOR-EBT):

لتحديد تسلسل الإضافات الأمثل لتشكيل المعقد بين الـ ETOR والـ EBT قمنا باختبار تسلسلات مختلفة لكل من الكاشف R والوسط الحمضي A والإيتروكوكسيب E كما هو مبين في الجدول (1)، ومن ثم قياس امتصاصية المعقد الناتج، حيث لاحظنا أن لتسلسل إضافة المواد المشكلة للمعقد أثر كبير وفعال في تشكيل المعقد، وتبين النتائج الموضحة في الشكل (10) أن امتصاصية المعقد الملون تكون أكبر ما يمكن عندما يُضاف الكاشف أولاً ثم الـ ETOR ومن ثم الوسط الحمضي وبالتالي هو التسلسل الأفضل وذلك من خلال مقارنة قيم الامتصاصية للمعقد الناتج.

الجدول (1): تسلسل ترتيب إضافات المواد المشكلة للمعقد

| التسلسل   | الترتيب          | A            |
|-----------|------------------|--------------|
| I         | E + A + R        | 0.221        |
| II        | E + R + A        | 0.300        |
| III       | R + A + E        | 0.208        |
| <b>IV</b> | <b>R + E + A</b> | <b>0.371</b> |
| V         | A + R + E        | 0.203        |
| VI        | A + E + R        | 0.224        |



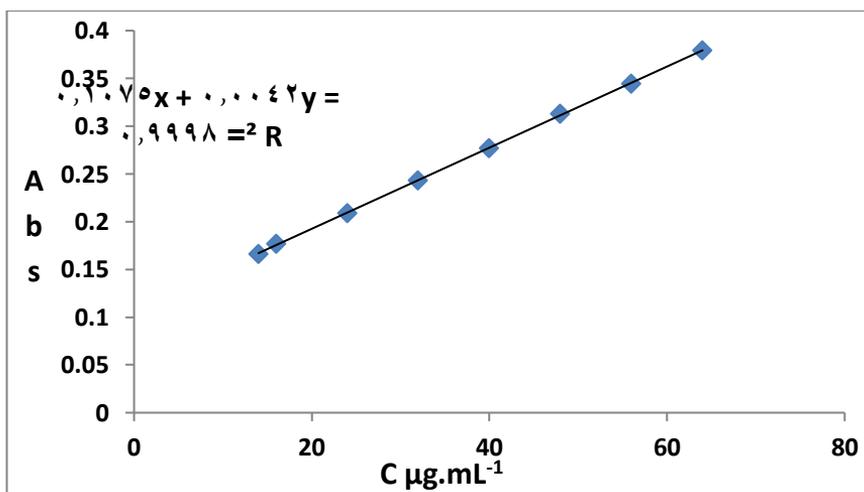
الشكل (10): تأثير تسلسل إضافة مواد التفاعل على امتصاصية المعقد الملون

## 3-1-9- دراسة تأثير محلول التمديد

تم استخدام عدد من المذيبات العضوية (ميثانول، إيثانول، أسيتون، كلوروفورم) عوضاً عن الماء المقطر في إكمال الحجم حتى العلامة العيارية ضمن الشروط المثلى المحددة سابقاً ولم تظهر أي نتائج تذكر، وبالتالي فإن الماء المقطر هو المذيب المناسب وهذه نقطة إيجابية واقتصادية للبحث.

## 3-2- التحديد الكمي وحد الكشف (LOD) وحد التحديد الكمي (LOQ)

بعد اعتماد الشروط التجريبية المثلى المؤثرة على امتصاصية المعقد الملون المتشكل بين الـ **ETOR** والـ **EBT** قمنا بدراسة تأثير تراكيز مختلفة من الـ **ETOR** على امتصاصية المعقد الملون وذلك بهدف تحديد المجال الخطي للقياس، كما هو مبين في الفقرة 2-4-1. ولاحظنا أن المجال الخطي لتركيز الـ **ETOR** عند الشروط المثلى يتراوح ضمن المجال  $14 - 64 \mu\text{g.mL}^{-1}$  كما هو مبين في الشكلين (11-12).



الشكل (11): الخط البياني العياري للمعقد الملون الناتج عند  $\lambda_{\text{max}} = 588 \text{ nm}$  من أجل التراكيز الخطية

وباستخدام برنامج Excel تم الحصول على قيمة كل من الانحراف المعياري النسبي والتي لم تتجاوز  $\text{RSD}\% = 2.435$  ومعامل الارتباط الخطي  $r = 0.9998$  ومعادلة المنحني البياني العياري  $Y = 0.0042X + 0.1075$  وحد الكشف  $\text{LOD} = 0.440 \mu\text{g.mL}^{-1}$  وحد التحديد

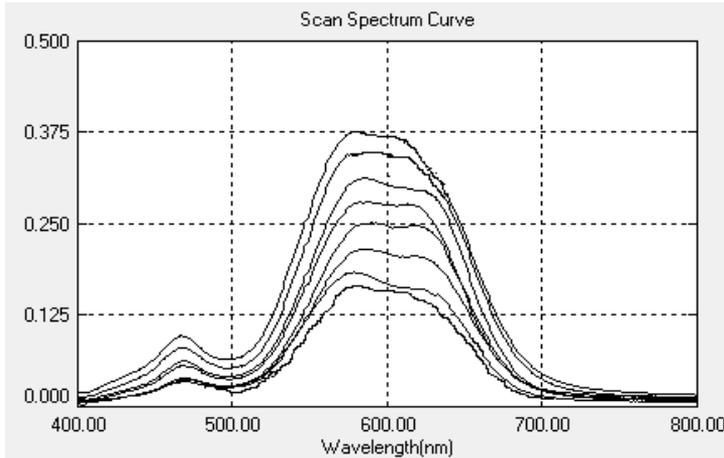
الكمي  $\text{LOQ} = 1.333 \mu\text{g.mL}^{-1}$  [12].

وندرج في ما يلي الخصائص التحليلية لتفاعل تشكيل معقد الزوج الشاردي الملون بين الـ ETOR والـ EBT.

الجدول (2): الخصائص التحليلية للمعقد (ETOR - EBT) عند  $\lambda_{max} = 588 \text{ nm}$

| القيمة المقاسة         | المعامل Parameter  |
|------------------------|--|
| 14 – 64                | مجال التراكيز الخطية $\mu\text{g.mL}^{-1}$                               |
| 2903.442               | معامل الامتصاص الجزيئي ( $\epsilon$ ) $\text{L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ |
| 0.440                  | حد الكشف (LOD) $\mu\text{g.mL}^{-1}$                                     |
| 1.333                  | حد التحديد الكمي (LOQ) $\mu\text{g.mL}^{-1}$                             |
| 588                    | طول موجة الامتصاص الأعظمي ( $\lambda_{max}$ ) nm                         |
| 2.435                  | الانحراف المعياري النسبي % RSD   |
| $A = 0.0042C + 0.1075$ | معادلة المنحني العياري $A = m.C + b$                                     |
| 0.9998                 | معامل الارتباط r   |
| 0.1235                 | حساسية ساندل (S) $\mu\text{g.cm}^{-2}$                                   |

\*فيما يتعلق بالمعادلة  $A = m.C + b$  حيث أن  $A$  الامتصاصية و  $C$  التركيز  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  و  $m$  ميل المنحني و  $b$  نقطة تقاطع المنحني العياري مع محور الامتصاصية  $A$ .



الشكل (12): المنحني الطيفي المعبر عن المجال الخطي للمعدن الملون المتشكل

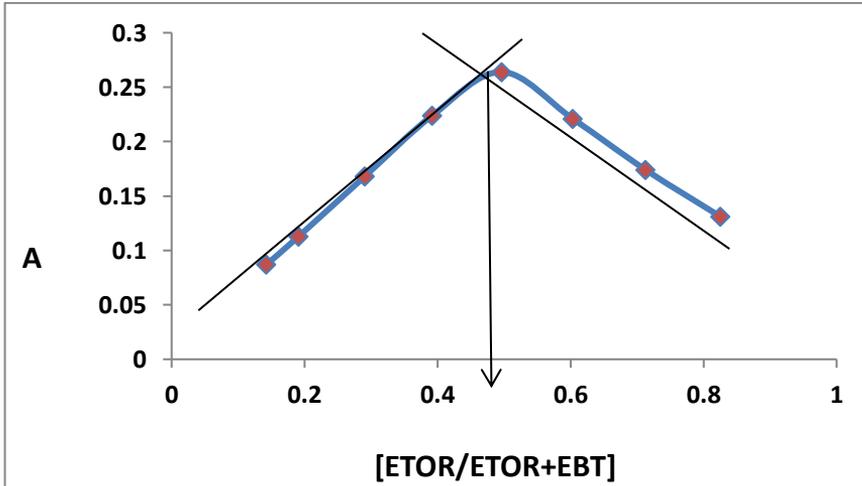
ضمن الشروط التجريبية المثلى

### 3-3- تحديد نسبة الارتباط بين الـ ETOR والـ EBT والآلية المقترحة

من أجل تحديد نسبة ارتباط الـ ETOR مع الـ EBT ضمن المعدن المتشكل، قمنا بتطبيق طريقتي التغيرات المستمرة والنسبة المولية، وفي كلا الطريقتين كان تركيز كل من الـ ETOR والكاشف متقارباً ( $1.12 \times 10^{-4} \text{ M}$ ).

#### 3-3-1- طريقة التغيرات المستمرة

قمنا بإضافة حجوم متزايدة من محلول الـ ETOR (1 - 0.8 - 0.6 - 0.4 - 0.3) mL إلى حجوم متناقصة من الكاشف (1.6 - 1.5 - 1.3 - 1.1 - 0.9 mL) على الترتيب، حيث يكون الحجم الإجمالي لـ ETOR والكاشف 1.9 mL، ثم أكملنا بقية الإضافات وفقاً للشروط المثلى المحددة سابقاً، ومن ثم قمنا بقياس الامتصاصية لهذه المحاليل عند طول الموجة الأعظمي 588 nm. رسمنا العلاقة بين A والنسبة  $[\text{ETOR}/\text{ETOR}+\text{EBT}]$  كما هو مبين في الشكل (13) والذي يبين أن نسبة الارتباط بين الـ ETOR والكاشف هي 1:1



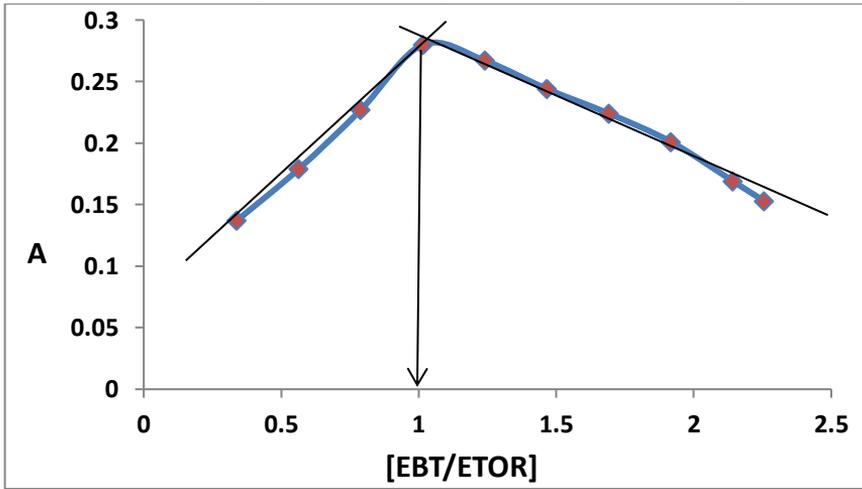
الشكل (13): منحني طريقة التغيرات المستمرة  $A = f [\text{ETOR}/\text{ETOR}+\text{EBT}]$  لتحديد

نسبة الارتباط بين الـ ETOR والـ EBT

#### 3-3-2- طريقة النسبة المولية

ولتأكيد أن نسبة الارتباط هي 1:1 استخدمنا طريقة النسبة المولية حيث وضعنا

1 ml من محلول الـ ETOR وأضفنا إليها حجوم متزايدة من محلول كاشف الـ EBT هي 2 - 1.9 - 1.7 - 1.5 - 1.3 - 1.1 - 0.9 - 0.7 - 0.5 - 0.3)، ثم أكملنا بقية الإضافات وفقاً للشروط المثلى المحددة سابقاً، ومن ثم قمنا بقياس الامتصاصية لهذه المحاليل عند الطول الموجة الأعظمي 588 nm. رسمنا العلاقة بين A والنسبة [EBT/ETOR] كما هو في الشكل (14) والذي بين أن نسبة الارتباط في طريقة النسبة المولية هي أيضاً 1:1 وهو متوافق مع ما تم تحديده في طريقة التغيرات المستمرة.



الشكل (14): منحنى طريقة النسبة المولية [EBT/ETOR] لتحديد A = f [EBT/ETOR]

نسبة الارتباط بين الـ ETOR والـ EBT

### 3-3-3- آلية التفاعل الكيميائي المقترحة لتشكيل المعقد الملون

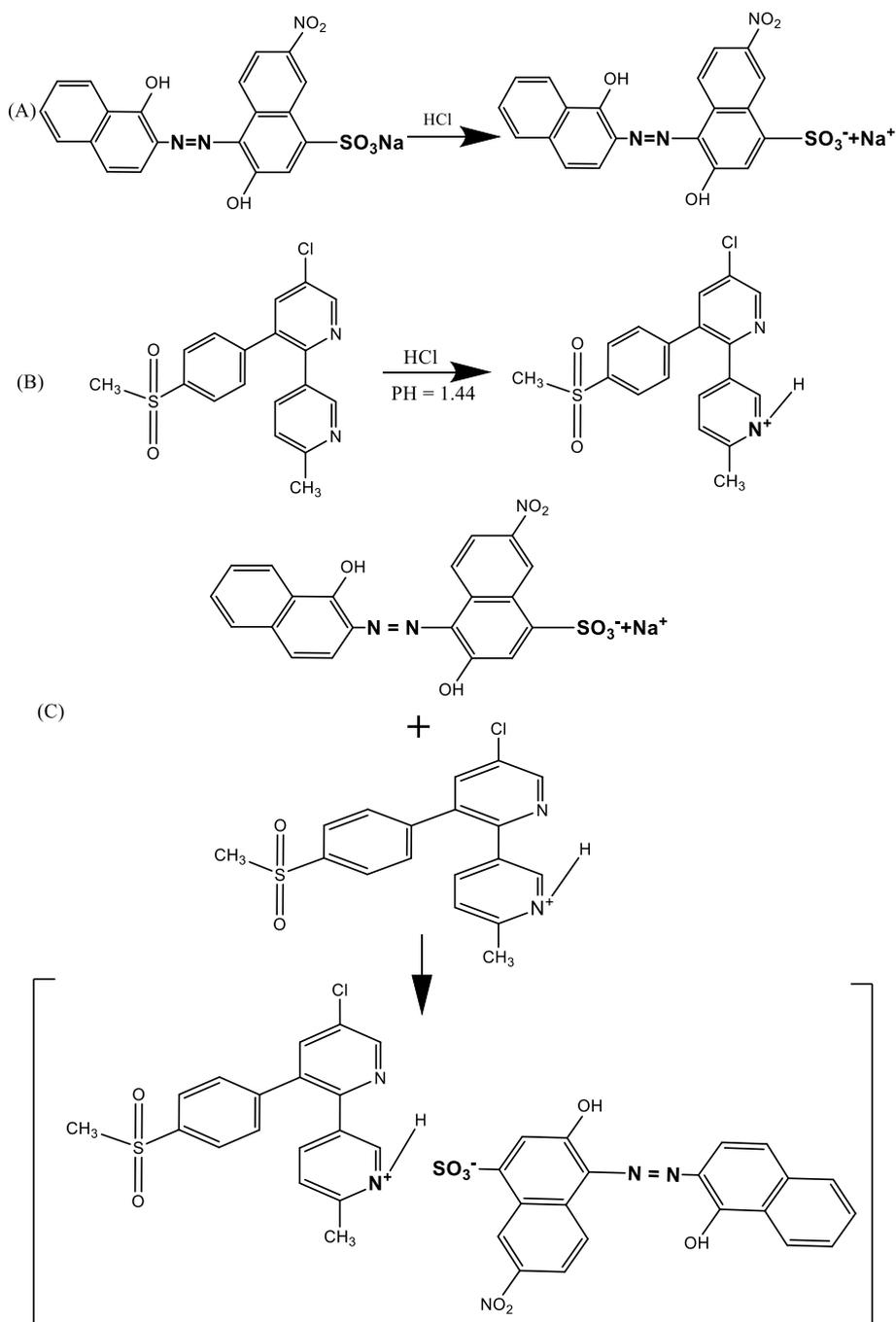
بعد دراسة الشروط التجريبية المثلى لتشكيل المعقد ETOR-EBT وتحديد نسبة الارتباط بين الـ ETOR والـ EBT فإننا نقترح أن آلية التفاعل الكيميائي يتم إنجازها وفقاً لثلاث مراحل هي:

المرحلة الأولى (A) يتم فيها تشريد الكاشف EBT في الوسط الحمضي.

المرحلة الثانية (B) يتم فيها برتنة الـ ETOR أيضاً في الوسط الحمضي.

المرحلة الثالثة (C) يحدث فيها الارتباط الشاردي لنواتج المرحلتين الأولى والثانية كما

هو مبين الشكل رقم (15):



الشكل (15): آلية التفاعل الكيميائي المقترحة لتشكيل المعقد الملون (ETOR-EBT) حيث أن:

A- تشرية الكاشف EBT    B- برتنة الـ ETOR    C- الارتباط الشاردي

#### 4- التطبيق العملي

بعد أن درسنا جميع الشروط التجريبية المثلى لتشكيل المعقد الملون ETOR-EBT وتحديد المجال الخطي للتركيز واقتراح آلية التفاعل الكيميائي الحاصل وبهدف ربط هذه الطريقة بالواقع العلمي طبقنا الطريقة المطورة لتحديد الـ ETOR في مستحضراته الصيدلانية لشركتي يونيفارما وابن الهيثم (Coxibet 120 - Toricox 90) على الترتيب. بوزن 20 مضغوطة وحساب متوسط الوزن الذي يعادل وزن مضغوطة واحدة، طحنا المضغوطات جيداً إلى مسحوق ناعم وأخذنا وزن يعادل مضغوطة واحدة وأذناه في الميثانول، ثم رشنا المحلول مرتين متتاليتين باستخدام مرشحات ميكرونية  $45 \mu\text{m}$ ، وأكدت النتائج على التقارب بين المحتوى النظري من الـ ETOR في المستحضر وبين المحدد بالطريقة المطورة كما هو موضح في الجدول (3).

الجدول (3): التحديد الكمي لـ ETOR في مستحضري Toricox 90 و Coxibet 120

| المستحضر    | الكمية النظرية<br>mg/tab | *الكمية المحددة<br>mg/tab | RSD%  |
|-------------|--------------------------|---------------------------|-------|
| Toricox 90  | 90                       | 90.974                    | 1.041 |
| Coxibet 120 | 120                      | 120.779                   | 1.299 |

\*n = 5 (كل قيمة هي معدل خمس قراءات)

#### 5- الدراسة الإحصائية للطريقة المطورة

أجرينا مقارنة بين الطريقة التحليلية الطيفية المطورة مع طريقة كروماتوغرافيا السائل عالية الأداء HPLC مرجعية لتحديد الـ ETOR باستخدام عمود فصل من نوع C-18 بأبعاد (250 × 4.6mm, 5µm) وطور متحرك مزيج من الـ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (PH=3.5) واسيتونتريل وفق النسب الحجمية (45:55 v/v) وبمعدل تدفق  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  وحجم حقن  $20 \mu\text{L}$  وطول موجة القياس 220 nm [13]. وأدرجنا نتائج الطريقتين في الجدول (4) الموضح أدناه:

الجدول(4): التحديد الكمي لـ ETOR في المستحضرات الصيدلانية باستخدام الطريقة الطيفية الجديدة المطورة  
وطريقة HPLC المرجعية

| الطريقة التحليلية  | المستحضر الصيدلاني | المحتوى النظري mg/tab | المحدد mg/tab±SD | RSD%  | Recovery% |
|--------------------|--------------------|-----------------------|------------------|-------|-----------|
| الطريقة المطورة*   | Toricox 90         | 90                    | 90.974±1.052     | 1.041 | 101.083%  |
|                    | Coxibet120         | 120                   | 120.779±1.316    | 1.299 | 100.649%  |
| الطريقة المرجعية** | Toricox 90         | 90                    | 92.535±0.917     | 0.893 | 102.816%  |
|                    | Coxibet120         | 120                   | 120.388±2.084    | 2.083 | 100.323%  |

\* n = 5 (كل قيمة هي معدل خمس قراءات)

\*\* n = 3 (كل قيمة هي معدل ثلاث قراءات)

ولتحديد مدى دقة التطبيق التحليلي للطريقة المطورة مقارنة مع الطريقة المرجعية تم تطبيق الاختبارين F و T الآتين [14]:

5-1- اختبار F:

وجدنا أن قيمة F المحددة هي (0.759) , (2.505) لمستحضر Coxibet 120 ولمستحضر Toricox 90 على الترتيب، وهذه القيم هي أقل من قيمة F الجدولة والتي تساوي 6.94، وبالتالي يمكن القول أنه نحكم بثقة % 95 أنه لا يوجد فرق معنوي بين الطريقتين، وأن الانحراف القياسي لكلتا الطريقتين ناتج عن أخطاء عشوائية، وبهذا تكون الطريقة المطورة ذات صلاحية تطبيق جيدة على المستحضرات الصيدلانية.

5-2- اختبار T:

وجدنا أن قيمة T المحددة (-1.071) , (2.062) لمستحضر Coxibet 120 ولمستحضر Toricox 90 على الترتيب، وهذه القيم هي أقل من قيمة T الجدولة والتي تساوي 2.447 من أجل عدد درجات حرية  $2 = n_1 + n_2 - 2 = 6$ ، وبالتالي فإننا نؤكد أن كلا الطريقتين الطيفية المطورة والمرجعية لا تختلفان من حيث المصادقية.

## 6- الخلاصة Conclusion

قمنا في هذا البحث بتطوير طريقة طيفية ضوئية لتحديد الـ **ETOR** بصورته النقية وفي مستحضراته الصيدلانية، وذلك اعتماداً على تشكيل معقد زوج شاردي ملون يمتلك امتصاص أعظمي عند الطول الموجي **588 nm** دون حدوث إعاقة من المواد المضافة إلى المستحضر الدوائي، ولا تحتاج لفصل السواغات كما لا تحتاج إلى معالجة كيميائية للمستحضر قبل التعقيد أو استخلاص بعد التعقيد، كما امتازت هذه الطريقة بالدقة والحساسية العاليتين والتكرارية الممتازة من خلال قيم الانحراف المعياري النسبي المنوي والذي لم يتجاوز **2.435 %**، وتعد هذه الطريقة من الطرائق غير المكلفة بالمقارنة مع طرائق **HPLC** المرجعية، وبالتالي يمكن استخدام الطريقة المطورة في التحليل الروتيني للمستحضرات الصيدلانية الحاوية على الـ **ETOR** في مختبرات المعامل الدوائية وضمن مختبرات الرقابة الدوائية.

## 7- المراجع:

- [1] B. G. Katzung, "Special aspects of geriatric pharmacology," in Basic & Clinical Pharmacology. 9th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2004, p. 817.
- [2] S. C. Sweetman, "Martindale: the complete drug reference," Pharmaceutical press London, 2009, p. 53.
- [3] P. B. Purneshwar, M. M. Annapurna, and N. Anusha, "New Spectrophotometric Methods for the Assay of Etoricoxib," Asian J. Pharm., vol. 12, no. 2, pp. 709–712, 2018.
- [4] S. Singh, A. Mishra, A. Verma, A. Ghosh, and A. Mishra, "A simple Ultraviolet spectrophotometric method for the determination of etoricoxib in dosage formulations," J. Adv. Pharm. Technol. Res., vol. 3, no. 4, p. 237, 2014.
- [5] B. N. Suhagia, H. M. Patel, S. A. Shah, I. S. Rathod, and B. P. Marolia, "spectrophotometric estimation of Etoricoxib in bulk drug and dosage forms," Indian J. Pharm. Sci., vol. 67, no. 5, p. 634, 2005.
- [6] and B. S. P. Sunitha, N. Deattu, R. Kumar, S. Rudhra, P. Kalaimathi, "Development and validation of spectrophotometric methods for quantification of etoricoxib in tablets," Ann. Chem. Med. Sci., vol. 1, no. 1, pp. 36–38, 2015.
- [7] K. Shah, A. Gupta, and P. Mishra, "Extractive spectrophotometric methods for the determination of etoricoxib in tablets," J. Chem., vol. 6, no. 1, pp. 207–212, 2009.
- [8] R. Chandra, D. K. Ashwani Sanghi, and K. Kumar, "Develop a Simple RP-HPLC and UV-Visible Method for Estimation of Etoricoxib from Pharmaceutical Dosage," Br. Biomed. Bull., vol. 2, no. 4, pp. 703–713, 2014.
- [9] P. S. Gangane, S. M. Bagde, S. G. Mujbaile, K. D. Niranjane, and P. S. Gangane, "Development and Validation of HPLC Assay Method for Etoricoxib in Bulk Drug and Tablet Formulation," Indian J. Nat. Sci., vol. 4, no. 24, pp. 1565–1572, 2014.
- [10] W. Likussar and D. F. Boltz, "Theory of continuous variations plots and a new method for spectrophotometric determination of extraction and formation constants," Anal. Chem., vol. 43, no. 10, pp. 1265–1272, 1971.
- [11] A. S. Meyer Jr and G. H. Ayres, "The Mole Ratio Method for Spectrophotometric Determination of Complexes in Solution1," J.

- Am. Chem. Soc., vol. **79**, no. **1**, pp. **49–53**, **1957**.
- [12] M. Valcarcel, “Principles of Analytical Chemistry,” Springer Verlag, Berlin, Ger., pp. **67–68**, **2000**.
- [13] M. Zaveri and A. Khandhar, “Quantitative determination of Etoricoxib and Paracetamol in pharmaceutical dosage form and in-vitro comparison by reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC),” Asian J. Pharm. Res. Heal. Care, vol. **2**, no. **4**, pp. **307–313**, **2010**.
- [14] H. H. Holscher, Simplified Statistical Analysis: Handbook of Methods, Examples and Tables. Massachusetts. Cahners Books, **1999**.