

## دراسة تحليلية لتحديد النورفلوكساسين بحالته النقية و في مستحضراته الصيدلانية باستخدام كاشف الألزارين بالطريقة الطيفية الضوئية في المجال المرئي

د. مالك عقدة\*

خلود قصاب\*\*

(تاريخ الإيداع 21 / 11 / 2017. قبل للنشر في 1 / 3 / 2018)

### □ ملخص □

طُورت طريقة طيفية سريعة، اقتصادية و سهلة التطبيق، دقيقه وحساسة لتحديد النورفلوكساسين (NOR) في حالته النقية وفي مستحضراته الصيدلانية باستخدام كاشف الألزارين (AZ). تعتمد هذه الطريقة على تشكيل معقد أحمر اللون عند قيمة لل pH=7.15، ويمتلك المعقد المتشكل قمة امتصاص أعظمية عند طول الموجة 508 nm . كانت العلاقة ما بين الامتصاصية وتركيز النورفلوكساسين (NOR) طردية خطية وتحقق قانون بيير ضمن مجال التراكيز 6.38-95.79µg/mL، وبانحراف معياري نسبي منوي لم يتجاوز RSD=±0.910 ، مع معامل ترابط 0.999، وبلغ معامل الامتصاص الجزيئي  $\epsilon = 0.227 \times 10^4 \text{ (L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1})$  . استخدمت هذه الطريقة بنجاح في تحديد النورفلوكساسين بشكله النقي وفي المستحضرات الصيدلانية حيث تمّ التوصل إلى حد كشف  $0.67 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ، وتم التحقق من صحة النتائج إحصائياً ، ودلت النتائج على أن الطريقة المطورة ذات دقة وحساسية عاليتين.

**الكلمات المفتاحية:** تحديد النورفلوكساسين ، الألزارين، تشكيل معقد، تحليل طيفي ضوئي .

\* أستاذ - قسم الكيمياء\_ كلية العلوم\_ جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

\*\* طالبة ماجستير تحليلية\_ قسم الكيمياء\_ كلية العلوم\_ جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

## Analytical Study for the Determination of Norfloxacin in Pure and Pharmaceutical Formulations using Alizarin by Visible Spectrophotometric Method

Dr.Malek okdah\*  
kholoud kassab\*\*

(Received 21 / 11 / 2017. Accepted 1 / 3 /2018)

### □ ABSTRACT □

A Simple, accurate and highly sensitive spectrophotometric method have been developed for the rapid determination of Norfloxacin (NOR) in pure form and pharmaceutical formulations. The visible spectrophotometric method was based on the formation of a Red colored complex between the norfloxacin and Alizarin(AZ) at value of pH 7.15 and  $\lambda_{max}$  at 508 nm. The effects of analytical parameters on the reported system were investigated. Beer's law was obeyed in the concentration range of 6.38-95.79 $\mu\text{g/mL}$ , with a percentage relative standard deviation not exceed  $\text{RSD} = \pm 0.910$  and the molar absorptivity coefficients was  $\epsilon = 0.227 \times 10^4$  (L/mol.cm). Interferences of the other ingredients and excipients were not observed, limit of detection for norfloxacin was  $0.67 \mu\text{g.ml}^{-1}$ , the results showed the high accuracy and sensitivity of the developed method.

**Keywords** : Determination of Norfloxacin , Alizarin, Complex formation, Spectrophotometry.

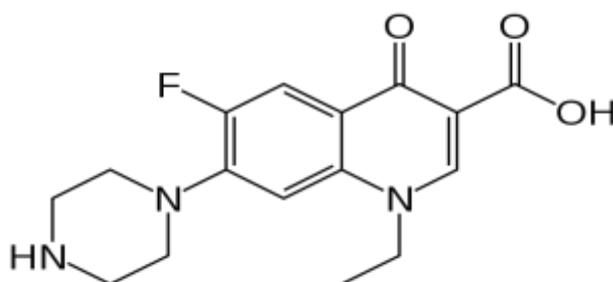
---

\*Professor in the chemical Department - Faculty of science - Tishreen University.

\*\*Master student in analatical chemistry(electrochemical analysis)- chemical Department - Faculty of science - Tishreen University.

**مقدمة:**

النورفلوكساسين مركب مطور ينتمي الى الجيل الثاني من مركبات الفلوروكينولونات المصنعة ، يعرف اسمه التجاري Noroxin. يتصف بأنه مضاد حيوي واسع الطيف ، يستخدم في علاج العدوى في المسالك البولية والتهاب المثانة والموتة (البروستات) ، عن طريق تثبيط إنزيم الحمض الريبي النووي المنزوع الأوكسجين (DNA جيراز اللازم لتكرار الحمض النووي) وبالتالي يمنع تخليقه [1] . وهو مسحوق بلوري أبيض عديم الرائحة ، صيغته الكيميائية المجملة  $C_{16}H_{18}F_1N_3O_3$  ووزنه الجزيئي (319,331 g/mol) أما صيغته الكيميائية المفصلة فهي:



وتسميته النظامية :

1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(piperazinyl)quinolone-3-carboxylic acid

نُشرت العديد من الدراسات المتعلقة بتحديد النورفلوكساسين (NOR) في كل من حالته النقية و في مستحضراته الصيدلانية، فُحِّد بالطريقة الكمونية [2] ، كذلك قام قصاب وتريفيدي وآخرون بتحديد بطريقتي الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC [3,4] ، في حين استخدم جابر وزملاؤه التحليل الطيفي الضوئي المرئي لتحديد النورفلوكساسين عن طريق تشكيل معقدات مع أيونات الحديد (III) وأيونات النحاس (II) Cu(II) ، حيث امتلك المعقد مع Fe(III) قمة امتصاص أعظمية عند طول الموجة 425 nm ، وقمة امتصاص أعظمية مع Cu(II) عند طول الموجة 415 nm [5] ، أيضاً طُبِّق زايد وزملاؤه هذه الطريقة لتحديد النورفلوكساسين (NOR) باستخدام الكاشف ثنائي فنيل أمين سلفونات (DPAS) [6] ، كما طُبِّق ريدي وزملاؤه الطريقة الطيفية لتحديد النورفلوكساسين باستخدام أيونات Fe(III) في وسط حمضي [7]، في حين قام التمارا وزملاؤه بتحديد النورفلوكساسين طيفياً عن طريق تشكيل معقد أصفر اللون مع البروموفينول الأزرق [8]، كذلك حدّد كورونا وزملاؤه النورفلوكساسين طيفياً باستخدام الميتيل الأحمر لتشكيل معقد زوج- أيوني [9] .

**أهمية البحث وأهدافه:**

تكمن أهمية هذا البحث في إطار ربط الجامعة والبحث العلمي بالمجتمع من خلال المساهمة في تطوير طرائق تحليلية جديدة لتحديد المستحضر الدوائي النورفلوكساسين بهدف مراقبة فعاليته وجودته عن طريق تشكيل معقد بين النورفلوكساسين وكاشف الألزارين ومن ثم قياس امتصاصية المعقد الملون في المجال الطيفي المرئي، ودراسة الخصائص الطيفية للمعقد المتشكل . تميزت هذه الطريقة بأنها سهلة وبسيطة وذات دقة وحساسية جيدتين ويمكن تطبيقها بدون أية تداخلات جانبية مع السواغات الداخلة في تركيب المستحضرات الصيدلانية.

**طرائق البحث ومواده :****1-الأجهزة المستخدمة :**

أُستخدمت في هذا البحث الأجهزة التالية:

- جهاز تحليل طيفي ضوئي يعمل في المجال المرئي وفوق البنفسجي UV-Vis-Spectrophotometer كوري الصنع نموذج (SP3000 OpTMA) ثنائي الحزمة مزود بحاسوب وطابعة، يعمل هذا الجهاز ضمن مجال من الطيف الكهرومغناطيسي يتراوح بين 190-1100 nm، ومزود بحجيرات من الكوارتز بعرض 10mm .
- ميزان تحليلي من شركة Sartorius الألمانية نموذج 2474 حساسيته 0.1 mg .
- مقياس pH رقمي إنتاج شركة Sartorius نموذج PB-11 مزود بمسرى زجاجي جمعي مع مجس حراري.
- ماصات آلية متغيرة الحجم ذات ساعات 1000µL و 5000µL من شركة Ependorf و ماصات ودوارق زجاجية حجمية.

**2-المواد والمذيبات المستخدمة:**

تتصف جميع المواد المستخدمة في هذا البحث بأنها من النوع التحليلي عالي النقاوة، تم الحصول على النورفلوكساسين من شركة افنتس للصناعات الدوائية، الهند.

**3- تحضير المحاليل العيارية الرئيسية:****1-3-المحاليل المنظمة (الواقية) :**

حُضرت المحاليل المنظمة الآتية تبعاً للمراجع [10,11,12]:

**مُنظّم البريتون:** يحضر محلول مُنظّم بريتوني بتركيز 0.2M وذلك بإذابة 12.37gr من حمض البور في ماء ثنائي التقطير، و يضاف إليه 13.72ml من حمض الفوسفور المركز و 11.44ml من حمض الخل و إتمام الحجم بماء ثنائي التقطير في دورق عياري سعة 1 لتر. حُضرت من المحلول السابق نفسه سلسلة من محاليل بريتون المنظمة تتراوح قيمة pH الوسط فيها ما بين (2.0-12.0) بأخذ 50ml من محلول مُنظّم بريتوني و إضافة محلول هيدروكسيد الصوديوم ذي التركيز 0.2M حتى الوصول إلى قيمة pH المطلوبة وذلك في دورق حجمي سعة 100ml، و يكمل الحجم حتى اشارة التدرج بماء ثنائي التقطير .

**منظّم الفوسفات :** يُحضر محلول منظّم الفوسفات بتركيز 0.1 M وذلك بإذابة 13.61gr من  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  في لتر واحد من الماء ثنائي التقطير ، كذلك أذيب 17.8 gr من  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  في لتر واحد من الماء ثنائي التقطير ، فصلنا على محولين تركيز كل منهما 0.1M . حضرنا سلسلة محاليل تتراوح قيمة pH الوسط فيها بين (5.3-8.04) - بإضافة كميات معينة من المحولين للحصول على قيمة ال pH المطلوبة .

**2-3- محلول النورفلوكساسين العياري :**

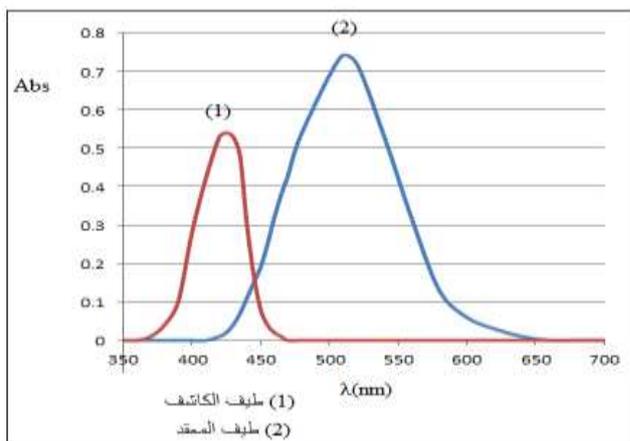
حُضر محلول عياري بتركيز ( $1.10^{-3}\text{M}$ ) عن طريق اذابة 31.93 mg من النورفلوكساسين النقية في كمية من المذيب (الأسيتونتريل)، ثم يُكمل الحجم بالمذيب المستخدم حتى اشارة التدرج في دورق حجمي سعة 100ml .

**3-3-محلول الكاشف الأزارين :**

حضر محلول عياري للكاشف (AZ) بتركيز ( $1.10^{-3}\text{M}$ ) عن طريق إذابة 24.0 mg من الأزارين في المذيب (الأسيتونتريل) ، ثم يُكمل الحجم بالمذيب المستخدم حتى إشارة التدرج في دورق حجمي سعة 100ml .

## النتائج والمناقشة:

يشكل النورفلوكساسين (NOR) مع الكاشف الأزراين (AZ) معقدًا ثابتًا يمتلك قمة امتصاص عظمى عند طول الموجة  $\lambda_{\max} = 508 \text{ nm}$  مقارنة بمحلول الكاشف الذي يمتلك امتصاصية عظمى عند طول الموجة  $430 \text{ nm}$  كما هو موضح في الشكل (1).



شكل (1): طيف الامتصاص لمعقد (NOR-AZ) من أجل تركيز  $95.79 \mu\text{g/ml}$  للنورفلوكساسين

وطيف الكاشف الأزراين

يُحضّر المحلول المقارن أي محلول الكاشف وفق طريقة التحضير نفسها المتبعة للمعقد المدروس عدا المركب الدوائي علماً أن التمديد يتم بالمذيب المستخدم الأسيتونتريل .

درست العوامل و الشروط المثلى اللازمة في تشكل معقد بين النورفلوكساسين (NOR) و كاشف الأزراين (AZ) و ذلك بتغيير إحدى القرائن في كل مرة وتثبيت القرائن الأخرى، و لتحقيق ذلك أُجريت الدراسات الآتية:

### 1- دراسة تأثير كل من درجة الحرارة و زمن التسخين في تشكيل المعقد بين النورفلوكساسين

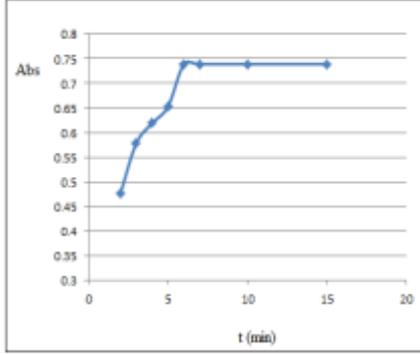
والأزراين (NOR-AZ):

تم تحديد درجة الحرارة المثلى لتشكيل المعقد، حيث حُضرت لذلك سلسلة دوارق حجمية سعتها  $10 \text{ ml}$ ، و نقل إلى كل منها  $3 \text{ ml}$  من النورفلوكساسين بتركيز  $10^{-3} \text{ M}$ ، و  $3 \text{ ml}$  من كاشف الأزراين بتركيز  $10^{-3} \text{ M}$ ، و بوجود  $1 \text{ ml}$  من المحلول المنظم الفوسفاتي عند قيمة لل  $\text{pH} = 7.15$ . أُكمل الحجم حتى إشارة التدرج بالمذيب المستخدم، ثم سُخن كل محلول من محاليل المعقد المتشكل في حمام مائي عند درجات حرارة مختلفة. قيس امتصاصية المحاليل بعد تبريدها إلى درجة حرارة المختبر و المقدر بـ  $(25 \pm 2) \text{ C}^\circ$  بالمقارنة مع محلول المقارن المحضر بالطريقة نفسها عدا المركب الدوائي النورفلوكساسين (NOR) عند طول موجة الامتصاص الأعظمية  $\lambda_{\max} = 508 \text{ nm}$ .

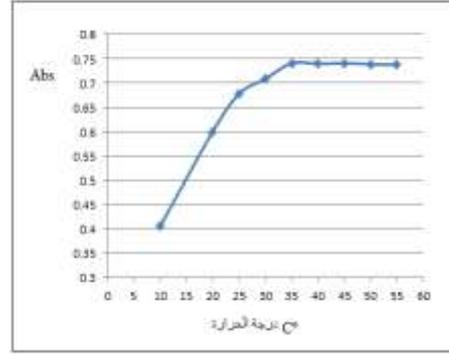
رُسمت العلاقة ما بين قيم الامتصاصية العظمى (A) للمعقد المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية  $508 \text{ nm}$  بدلالة درجة الحرارة (t)، و تم الحصول على المنحني الموضح في الشكل (2). يُلاحظ من هذا الشكل أن التسخين لدرجة الحرارة  $35 \text{ C}^\circ$  تعطي أفضل امتصاصية و ثبات للمعقد المتشكل NOR-AZ عند طول موجة الامتصاص الأعظمي للمعقد  $\lambda_{\max} = 508 \text{ nm}$ .

درُس تأثير زمن التسخين عند درجة الحرارة  $35 \text{ C}^\circ$  على امتصاصية المعقد المتشكل NOR-AZ، حُضرت لذلك سلسلة محاليل عيارية للمعقد وفق الطريقة السابقة نفسها، ثم ثُبِتت درجة حرارتها عند الدرجة  $35 \text{ C}^\circ$  بواسطة حمام مائي و عُرِضت لأزمنة تسخين مختلفة عند درجة الحرارة المذكورة. قيس الامتصاصية للمحاليل المسخنة بأزمنة

مختلفة بعد تبريدها إلى درجة حرارة المختبر و المقدره بـ  $C^{\circ} (25 \pm 2)$  بالمقارنة مع المحلول المقارن المحضر بالطريقة نفسها عدا المركب الدوائي النورفلوكساسين (NOR) عند طول موجة الامتصاص الأعظمية 508 nm. رُسمت العلاقة ما بين قيم الامتصاصية العظمى للمعد (A) المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية 508nm بدلالة زمن التسخين (t)، وتم الحصول على المنحني الموضح في الشكل (3). يُلاحظ من هذا الشكل أن التسخين لمدة 6 دقائق يعطي أفضل امتصاصية عند طول موجة الامتصاص الأعظمية للمعد 508nm و يكون المعد المتشكل NOR-AZ ثابتاً .



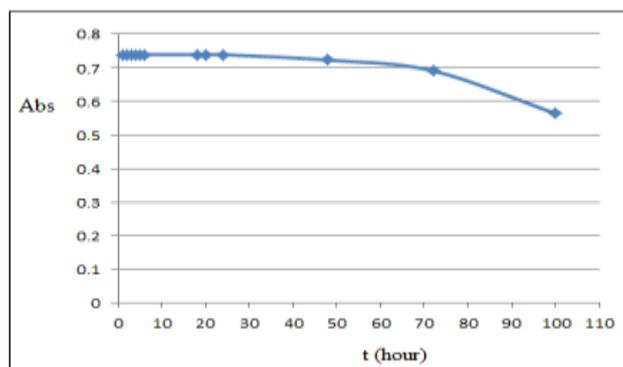
شكل (3): تأثير زمن التسخين عند درجة الحرارة  $35C^{\circ}$  في امتصاصية المعد عند  $\lambda_{max}=508nm$  من أجل تركيز ثابت من النورفلوكساسين  $95.79\mu g/ml$



شكل (2): تأثير درجة الحرارة في امتصاصية المعد عند  $\lambda_{max}=508nm$  من أجل تركيز ثابت من النورفلوكساسين  $95.79\mu g/ml$

## 2- دراسة تأثير الزمن في ثباتية المعد النورفلوكساسين - ألزارين (NOR-AZ):

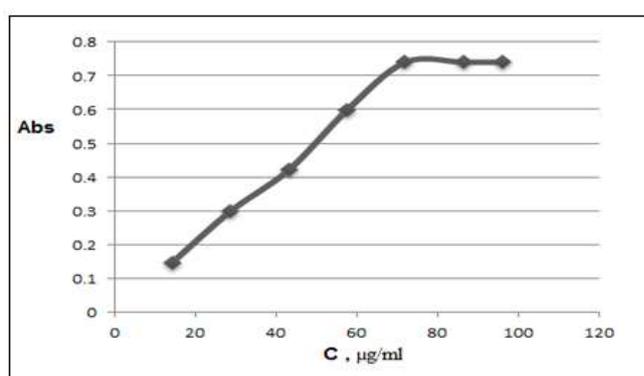
دُرُس تأثير الزمن في ثباتية المعد حيث أخذ دورق حجمي سعة 10ml، نُقل إليه 3mL من محلول النورفلوكساسين (NOR) بتركيز  $10^{-3}M$  و 3 mL من محلول كاشف الألزارين (AZ) ذي تركيز  $10^{-3}M$  و إضافة حجم ثابت مقداره 1ml من محلول المُنظّم الفوسفاتي تركيزه 0.1M عند  $pH=7.15$  ، وأُكْمِل الحجم حتى إشارة التدرج بالمذيب المستخدم، سُخِن المحلول لمدة ست دقائق عند درجة الحرارة  $35C^{\circ}$  حتى ثبات المعد المتشكل (NOR-AZ)، قيس امتصاصية محلول المعد عند أزمنة مختلفة بعد تبريدها إلى درجة حرارة المختبر و المقدره بـ  $C^{\circ} (25 \pm 2)$  عند طول موجة الامتصاص الأعظمية  $\lambda_{max}=508nm$  . رُسمت العلاقة ما بين قيم الامتصاصية العظمى (A) للمعد المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية 508nm بدلالة الزمن (t)، وتم الحصول على المنحني الموضح في الشكل (4).



شكل (4): تأثير الزمن في ثباتية المعقد NOR-AZ عند  $\lambda_{max} = 508nm$  من أجل تركيز ثابت من النورفلوكساسين  $95.79\mu g/ml$  يبيّن الشكل أن المعقد المتشكل يبقى ثابتاً حتى زمن قدره 48 ساعة عند درجة حرارة المختبر.

### 3- دراسة تأثير تركيز الكاشف الألزارين:

دُرس تأثير تغير تركيز الكاشف الألزارين (AZ) في امتصاصية المعقد المتشكل، بثبات حجم و قيمة pH محلول المُنظم الفوسفاتي و بوجود تركيز وحجم ثابت من المادة الدوائية النورفلوكساسين (NOR) ضمن مجال لتركيز الكاشف يتراوح ما بين  $(14.41-96.08\mu g/ml)$ ، حيث أُخذت سلسلة دوارق معايرة بسعة 10ml يحتوي كل منها على  $95.79\mu g/ml$  من النورفلوكساسين و 1ml من محلول المُنظم الفوسفاتي ذي قيمة  $pH=7.15$  و تراكيز مختلفة متزايدة من الكاشف (AZ) ثم أُكمل الحجم بالمذيب المستخدم حتى إشارة التدرج. سُخنت المحاليل لدرجة الحرارة  $C^\circ$  35 لمدة ست دقائق. قيس بعدا امتصاصية المحاليل بعد تبريدها إلى درجة حرارة المختبر و المقدر بـ  $(25 \pm 2) C^\circ$  عند طول موجة الامتصاص الأعظمية  $\lambda_{max}=508nm$ ، ثم رُسمت العلاقة  $A_i=f(C_i)$  بين تغيرات امتصاصية المعقد المتشكل بدلالة تغير تركيز الكاشف الألزارين (AZ).

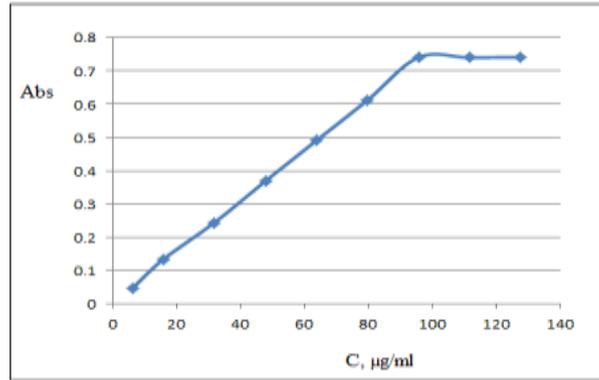


شكل (5): تأثير تركيز الكاشف في امتصاصية المعقد NOR-AZ عند  $\lambda_{max} = 508nm$  من أجل تركيز ثابت من النورفلوكساسين  $95.79\mu g/ml$

يُلاحظ من الشكل (5) أن تركيز  $72.06\mu g/ml$  من الكاشف الألزارين هو التركيز الأمثل لأعلى قيمة امتصاص.

#### 4-دراسة تأثير تركيز المادة الدوائية النورفلوكساسين :

دُرِس تأثير تغير تركيز المادة الدوائية النورفلوكساسين (NOR) في امتصاصية المعقد المتشكل، بثبات حجم وقيمة pH محلول المُنظَّم الفوسفاتي و بوجود تركيز وحجم ثابت من الكاشف الألزارين (AZ) ضمن مجال لتركيز المادة الدوائية  $(6.38-127.73)\mu\text{g/ml}$ ، حيث أُخذت سلسلة دوارق معايرة بسعة 10mL يحتوي كل منها على تركيز  $(72.06)\mu\text{g/ml}$  من الكاشف (AZ) و 1ml من محلول المُنظَّم الفوسفاتي ذي قيمة  $\text{pH}=7.15$ ، وتركيز مختلفة متزايدة من المادة الدوائية (NOR) ثم أُكْمِل الحجم بالمذيب المستخدم حتى إشارة التدرج. سُخِنَت المحاليل لدرجة الحرارة  $35\text{ }^\circ\text{C}$  لمدة ست دقائق. قيسَت بعدها امتصاصية المحاليل بعد تبريدها إلى درجة حرارة المختبر والمقدرة ب  $25\pm 2\text{ }^\circ\text{C}$  عند طول موجة الامتصاص الأعظمية  $508\text{nm}$ ، ثم رُسمت العلاقة  $A_T=f(C_i)$  بين تغيرات امتصاصية المعقد المتشكل بدلالة تغير تركيز النورفلوكساسين (NOR).



شكل (6): تأثير تركيز النورفلوكساسين في امتصاصية المعقد NOR-AZ عند  $\lambda_{\text{max}} = 508\text{nm}$  من أجل تركيز ثابت من الكاشف (AZ)  $72.06\mu\text{g/ml}$

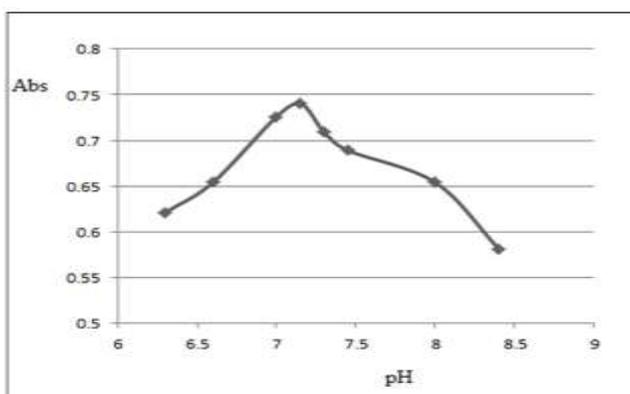
يُلاحظ من الشكل (6) أن تركيز  $95.79\mu\text{g/ml}$  من النورفلوكساسين هو التركيز الأمثل لأعلى قيمة امتصاص.

#### 5- تأثير قيمة الدليل الهيدروجيني pH المحلول المُنظَّم :

دُرِس تأثير بعض المحاليل المُنظَّمة (مُنظَّم برينوني، منظم فوسفات) في تشكيل المعقد (NOR-AZ). لُحِظ أن هذه المحاليل المُنظَّمة أعطت نتائج متقاربة من حيث طول موجة الامتصاص الأعظمي  $\lambda_{\text{max}} = 508\text{ nm}$  و قيمة الامتصاصية (A) عندها وثبات المعقد، لكن محلول المُنظَّم الفوسفاتي كان الأفضل بين تلك المحاليل المُنظَّمة المستخدمة، لأنه أعطى أعلى امتصاصيات عند طول موجة الامتصاص الأعظمية للمعقد ، لذلك حُضِرَت سلسلة من المحاليل المُنظَّمة من مُنظَّم فوسفات ضمن مجال قيم للدليل الهيدروجيني تراوح ما بين  $(\text{pH}=5.3-8.4)$  رُسمت طيُوف الامتصاص المرئي للمعقدات المتشكلة بين (NOR-AZ) بوجود تركيز ثابت من النورفلوكساسين  $95.79\mu\text{g/ml}$  بأخذ 3ml من محلول الدواء  $10^{-3}\text{M}$  وإضافة حجم ثابت من محلول الكاشف (AZ) قدره 3ml بتركيز  $10^{-3}\text{M}$ ، وإضافة حجم ثابت مقداره 1ml من محلول المُنظَّم الفوسفاتي تركيزه  $0.1\text{M}$ ، ثم إكمال الحجم بالمذيب المستخدم حتى إشارة التدرج، و التسخين لدرجة الحرارة  $35\text{ }^\circ\text{C}$  لمدة ست دقائق. لُحِظ تشكل معقد أحمر اللون له قمة امتصاص أعظمية عند  $508\text{nm}$ ، لذا قيسَت امتصاصية المعقد الملون المتشكل في كل محلول بعد تبريده إلى درجة حرارة

المختبر و المقدرة  $C^{\circ} (25 \pm 2)$  مقابل محلول المقارن المحضر بالطريقة نفسها والخالي من المركب الدوائي النورفلوكساسين (NOR).

رُسمت العلاقة بين تغيرات الامتصاصية للمعقد المتشكل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية  $\lambda_{\max} = 508$  nm لكل معقد بدلالة قيمة pH المحلول المُنظم كما هو موضح في الشكل (7).



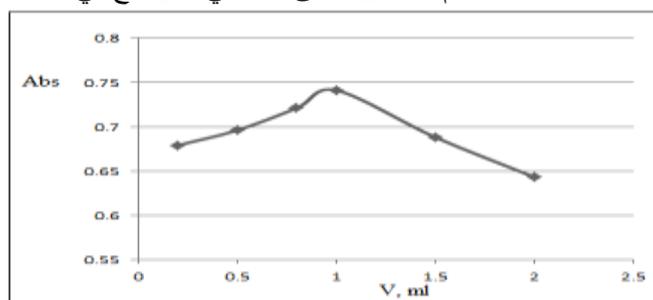
شكل (7): تأثير pH الوسط في امتصاصية المعقد NOR-AZ عند  $\lambda_{\max} = 508$  nm من أجل تركيز ثابت من النورفلوكساسين  $95.79 \mu\text{g/ml}$

أظهرت النتائج أنّ القيمة المثالية للدليل الهيدروجيني هي عند القيمة (pH=7.15) من أجل أفضل قيمة امتصاص أعظمي للمعقد المتشكل (NOR-AZ).

#### 6- تأثير حجم المحلول المُنظم:

دُرِس تأثير الحجم المضاف من محلول المُنظم الفوسفاتي عند قيمة لـ pH=7.15 ضمن مجال للحجوم تتراوح بين (0.2-2 ml) في امتصاصية المعقد (NOR-AZ)، حُضرت سلسلة محاليل عيارية في دوارق حجمية سعتها 10ml، وُضع في كل منها حجم ثابت من محلول النورفلوكساسين مقداره 3ml بتركيز  $10^{-3} \text{M}$  و حجم ثابت مقداره 3ml من محلول الكاشف AZ بتركيز  $10^{-3} \text{M}$  و حجوم متغيرة من محلول المُنظم الفوسفاتي عند قيمة لـ pH=7.15، ثم أكمل الحجم حتى إشارة التدرج بالمذيب المستخدم، و سُخِن المحلول لدرجة الحرارة  $35^{\circ}\text{C}$  لمدة ست دقائق، قيست امتصاصية محاليل المعقد المتشكل بعد تبريدها إلى درجة حرارة المختبر عند طول موجة الامتصاص الأعظمية  $\lambda_{\max} = 508 \text{ nm}$ .

رُسمت العلاقة ما بين قيم الامتصاصية العظمى للمعقد المتشكل بدلالة حجم المحلول المُنظم المضاف عند طول موجة الامتصاص الأعظمية 508nm، فتم الحصول على المنحني الموضح في الشكل (8).



شكل (8): تأثير حجم المحلول المُنظم الفوسفاتي (pH=7.15) في امتصاصية المعقد NOR-AZ عند  $\lambda_{\max} = 508 \text{ nm}$  من أجل تركيز ثابت من النورفلوكساسين  $95.79 \mu\text{g/ml}$

يُبين الشكل أنه عند إضافة 1ml من المحلول المنظم نحصل على امتصاصية عظمى للمعدن (NOR-AZ). بناءً على النتائج السابقة لخصت الشروط المثلى اللازمة لتشكيل معدن النورفلوكساسين - أزرين و إجراء قياساته الطيفية الأخرى في الجدول (1) :

جدول (1) الشروط المثلى لتشكيل معدن النورفلوكساسين - أزرين (NOR-AZ)

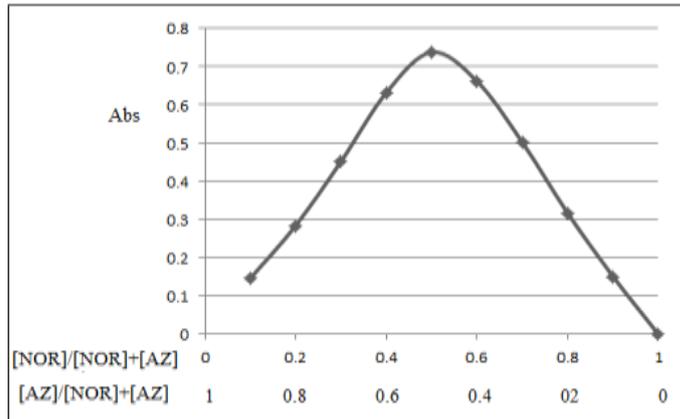
|   |  |
|---|--|
| محضر وفق طريقة تحضير المحلول المدروس<br>نفسها بتركيز $10^{-3}M$ | المحلول المقارن (الشاهد):<br>الكاشف الأزرين AZ |
| محلول منظم فوسفاتي عند $pH=7.15$                                | $pH$ المحلول المنظم                            |
| 95.79 $\mu g/ml$  | تركيز المادة الدوائية النورفلوكساسين NOR       |
| 72.06 $\mu g/ml$  | تركيز الكاشف AZ                                |
| 1 ml  | حجم المحلول المنظم                             |
| $35^{\circ}C$ مدة ست دقائق                                      | درجة الحرارة ومدة التسخين                      |
| الأسيتونتريل  | المذيب المستخدم                                |
| 48 h  | زمن ثبات المعدن في درجة حرارة الغرفة           |

### 7- تحديد نسبة الارتباط في معدن النورفلوكساسين - أزرين (NOR-AZ):

حُدثت نسبة الارتباط المثلى بين النورفلوكساسين والكاشف في المعدن الملون المتشكل باستخدام طريقتي التغير المستمر [13] والنسبة الجزئية [14] حيث ثبتت الشروط المثلى المعتمدة سابقاً في تشكيل المعدن المدروس، وفيما يلي وصف لكل طريقة على حده بالتفصيل:

#### 1-7- طريقة التغير المستمر:

تعتمد هذه الطريقة على تحضير سلسلة من محاليل المعدن (NOR-AZ) وفق الشروط المثلى التي تم التوصل إليها مع تغيير تركيز النورفلوكساسين و تركيز الكاشف، بحيث يبقى مجموع تركيزيهما في كل المحاليل ثابتاً و يساوي  $600\mu M$  ، ثم حُدثت قيم الامتصاصية العظمى لكل محلول عند  $\lambda_{max}=508nm$ ، و رسمت تغيرات الامتصاصية لمحاليل المعقدات المتشكلة بدلالة الكسر المولي  $[NOR]/[NOR]+[AZ]$  أو  $[AZ]/[NOR]+[AZ]$ ، حُدثت نسبة تشكل المعدن من نقطة الانعطاف التي توافق الامتصاص الاعظمي كما هو موضح الشكل (9).



شكل(9): حساب نسبة الارتباط لمعدن (NOR-AZ) بطريقة التغير المستمر

نستنتج من الشكل أن:

$$[\text{NOR}]/([\text{NOR}]+[\text{AZ}])= 0.5 \quad (1)$$

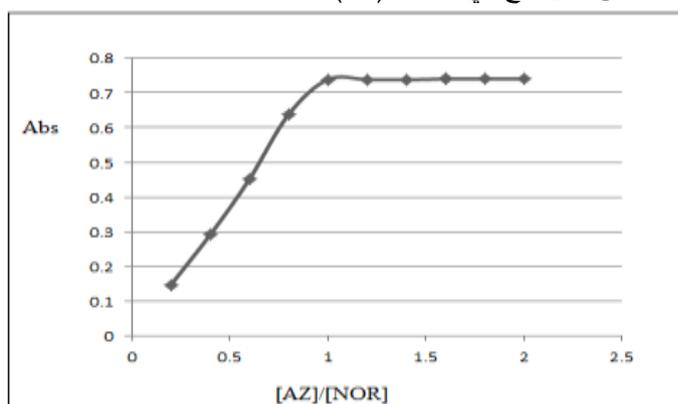
وكذلك:

$$[\text{AZ}]/([\text{NOR}]+[\text{AZ}])=0.5 \quad (2)$$

أي أن نسبة الارتباط هي (1:1) بين NOR:AZ ومنه نستنتج أن صيغة المعقد من الشكل NOR(AZ) .

## 2-7- طريقة النسبة الجزيئية :

تعتمد هذه الطريقة على تحضير سلسلة من محاليل المعقد (NOR-AZ) حيث يتغير فيها تركيز الكاشف ضمن مجال  $60-600 \mu\text{M}$  مع إبقاء تركيز النورفلوكساسين ثابتاً في كل محلول و يساوي  $95.79 \mu\text{g/ml}$ ، سُجلت قيم الامتصاصية لهذه المحاليل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية  $508 \text{nm}$  باستخدام محلول مقارن محضر بالطريقة نفسها عدا المركب الدوائي النورفلوكساسين، رُسمت بيانياً علاقة الامتصاصية بدلالة النسب الجزيئية  $[\text{AZ}]/[\text{NOR}]$  للحصول على المنحنى الموضح في الشكل (10).

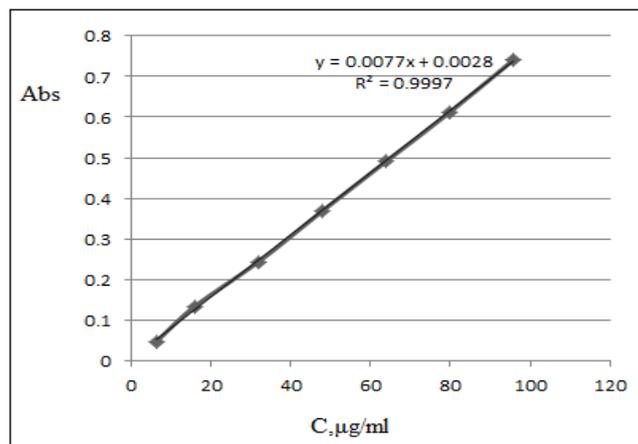


شكل (10): حساب نسبة الارتباط لمعقد (NOR-AZ) بطريقة النسبة الجزيئية

يُلاحظ من الشكل حدوث انكسار عند النسبة الجزيئية 1 مما يشير إلى وجود نسبة ارتباط وحيدة لمعقد (NOR-AZ) المتشكل هي (1:1) و هذا يؤكد ما تم التوصل إليه بتطبيق طريقة التغير المستمر.

## 8- التحديد الكمي للمركب الدوائي النورفلوكساسين مع كاشف الألزارين:

حُدّد النورفلوكساسين كميّاً بالطريقة الطيفية الضوئية اللونية ضمن مجال خطي من تراكيزه تحقق قانون بيير-لامبرت وفق الشروط المثلى التي تم التوصل إليها لتشكيل المعقد. حُضرت سلسلة محاليل عيارية من المعقد تراوح تركيز النورفلوكساسين فيها ضمن المجال  $6.386-95.799 \mu\text{g/ml}$  بوجود تركيز ثابت من كاشف الألزارين (AZ) قدره  $72.06 \mu\text{g/ml}$  بعد الأخذ بالحسبان الشروط المثلى الأنفة الذكر لتشكيل المعقد. سُجلت قيم الامتصاصية العظمى للمعقد المدروس عند طول الموجة  $508 \text{nm}$ . رُسمت العلاقة بين امتصاصية المعقد المتشكل و تركيز النورفلوكساسين كما في الشكل (11).

شكل (11): المنحني العياري لمعقد النورفلوكساسين مع الكاشف (AZ) عند  $\lambda_{\max} = 508 \text{ nm}$ 

حُسبت انطلاقاً من المعطيات المعيارية القيمة الوسطية لمعامل الامتصاص الجزيئي  $\epsilon$  للمعدن المتشكلة عند طول موجة الامتصاص الأعظمية  $508 \text{ nm}$  بالاعتماد على قانون بير-لاميرت و حساسية ساندل  $S$  و حد الكشف، كما تم تحديد كل من معامل الارتباط  $R^2$  ونقطة تقاطع منحنى المعايرة مع محور الامتصاصية  $b$  و الميل  $m$  للمعطيات العيارية، كما هو موضح في الجدول (2).

جدول (2): العوامل الكمية للمعقد النورفلوكساسين-الزارين

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| 6.386–95.799 µg/ml                  | مجال قانون بير، µg/ml  |
| $2.27 \times 10^3$                  | معامل الامتصاص الجزيئي عند طول الموجة الاعظمي $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ |
| 0.140                               | حساسية ساندل ( $A=0.001$ )، $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$                     |
| 508                                 | طول الموجة الاعظمي nm  |
| 0.910                               | الانحراف المعياري النسبي المئوي ( RSD% )   |
| 7.15                                | pH محلول المُنظم الفوسفاتي   |
| 5.70                                | لوغارتم ثابت التشكل بالتغير المستمر  |
| 5.93                                | لوغارتم ثابت التشكل بالنسبة الجزيئية   |
| 72 h                                | زمن ثبات المعقد  |
| 1:1                                 | نسبة الارتباط NOR-AZ   |
| 0.67                                | حد الكشف (LOD) $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$                                  |
| 2.23                                | حد التحديد الكمي (LOQ) $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$                          |
| معادلة المنحني العياري $A = mC + b$ |  |
| 0.0077                              | الميل ( m )  |
| 0.0028                              | التقاطع ( b )  |
| 0.999                               | معامل الارتباط ( $R^2$ )   |

حُسبت حساسية ساندل (*Sandell Sensitivity*)  $S$  بوحدة  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  من العلاقة التالية:

$$S = C_{\min} \times F_w \times \ell \times 10^3$$

حيث  $F_w$  وزن الصيغة بوحدة  $\text{g}/\text{mol}$  و  $\ell$  عرض ممر الضوء في خلية القياس بوحدة  $\text{cm}$  و  $10^3$  معامل

تحويل و  $C_{\min}$  التركيز الجزيئي الأدنى بوحدة  $\text{mol}/\text{l}$  والمعطى بالعلاقة:  $C_{\min} = A_{\min} / \epsilon \times \ell$  حيث  $A_{\min}$  أصغر امتصاصية يتمكن الجهاز من قياسها وتساوي  $0.001$  والموافقة لأصغر تركيز يمكن قياسه من أجل جهاز التحليل الطيفي الضوئي المستخدم (*Jasco Spectrophotometer V-530*).

و  $\epsilon$  معامل الامتصاص الجزيئي بوحدة  $\text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1} \times \text{L}$  ويحسب من العلاقة:

$$\epsilon = A/C \times \ell$$

حُسب من المعطيات العيارية القيمة الوسطية لمعامل الامتصاص الجزيئي  $\epsilon$  للمعدتات المتشكلة عند طول

موجة الامتصاص الأعظمي  $508\text{nm}$ .

و حُسب حد الكشف (*The detection limit*)  $\text{LOD}$  وهو معامل تحديد نوعي للتعبير عن حساسية الطريقة

بوحدة  $\mu\text{g}/\text{mL}$  من العلاقة التالية:  $\text{LOD} = 3 \times \text{SD}/m$

حيث  $m$  هو ميل المنحني العياري للبلاتك اي المحلول المقارن.

حُسب حد التحديد الكمي (*limit of The Quality*)  $\text{LOQ}$  وهو معامل تحديد كمي بوحدة  $\mu\text{g}/\text{mL}$  من

العلاقة التالية:  $\text{LOQ} = 10 \times \text{SD}/m$

حددت ثوابت تشكل المعقدات المدروسة باعتماد الطرائق الطيفية الضوئية المستخدمة في تحديد نسبة الارتباط،

حيث تُحسب ثوابت التشكل الإجمالية من نتائج تطبيق طريقتي التغير المستمر و النسبة الجزيئية باستخدام العلاقة التالية [15]:

$$\beta = \frac{A / A_{\max}}{(1 - A / A_{\max})^{n+1} \times C_L^n \times n^2}$$

حيث أن:  $A$  امتصاصية المعقد المتشكل عند نسبة الارتباط بوجود تركيز ثابت من الكاشف قدره  $C_L$  و

$A_{\max}$  الامتصاصية العظمى للمعقد و  $n$  نسبة الارتباط.

لسهولة التعبير عن ثوابت التشكل تؤخذ القيمة اللوغاريتمية لها أي:

$$p\beta = -\log \beta$$

و لتعيين دقة وصحة الطريقة الطيفية المعتمدة في تحديد المركب الدوائي النقي الافلوكساسين، جرى تحضير

سلسلة محاليل عيارية مختلفة التركيز من النورفلوكساسين ، وبتطبيق طريقة العمل المقترحة، أجريت جميع الحسابات

[16,17] بعد اعتماد نتائج خمسة تجارب  $n=5$  اي تكرار تحضير كل محلول خمس مرات، حيث حسبنا القيمة

الوسطية (*Average Value*)  $\bar{X}$  من العلاقة التالية:  $\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$

حُسب الانحراف المعياري  $\text{SD}$  من العلاقة:  $\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$

والانحراف المعياري النسبي المئوي  $\text{RSD}\%$  من العلاقة:  $\text{RSD}\% = 100 \times \text{SD} / \bar{x}$

والمردود النسبي المئوي (الاسترجاعية النسبية)  $\text{R}\%$  (Recovery Percent)  $\text{R}\%$  المتعلق بالتركيز المأخوذ  $C_{\text{taken}}$

والتركيز المحدد  $C_{\text{found}}$  [18]، من العلاقة:  $\text{R}\% = 100 \times C_{\text{found}} / C_{\text{taken}}$

وحد الثقة (CL) (Confidenc Limit) [19] عند درجة الثقة 95% من العلاقة:

$$CL = \bar{X} \pm [t \times SD / (n)^{1/2}]$$

حيث t عامل إحصائي يعتمد على عدد درجات الحرية (n-1) ودرجة الثقة المطلوبة (%). ويساوي إلى 2.776 من أجل عدد درجات الحرية n-1=4 ودرجة ثقة مقدارها 95%.

كما هو وارد في الجدول (3). تميزت نتائج الطريقة الطيفية المطورة بحساسية ودقة عاليتين وتبين ذلك من قيمة الانحراف المعياري النسبي المئوي %RSD الذي لم تتجاوز قيمته 0.910% لأصغر تركيز محدد وبناتج صحيحة ودقيقة من خلال الاسترجاعية النسبية الجيدة.

جدول رقم (3): الدراسة الإحصائية للنتائج التي تم التوصل إليها بالطريقة الطيفية المقترحة

لتحديد النورفلوكساسين NOR باستخدام الأزران AZ

| التركيز<br>المأخوذ<br>( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) | التركيز<br>المحدد*<br>( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) | الانحراف<br>المعياري<br>SD | RSD%  | خطأ القياس<br>التحليلي<br>$SD \backslash (n)^{1/2}$ | حد الثقة<br>$\bar{X} \pm [t \times SD / (n)^{1/2}]$ | المردود النسبي<br>المئوي R%<br>(الاسترجاعية) |
|---|---|----------------------------|-------|---|---|--|
| 6.386   | 6.263   | 0.057                      | 0.910 | 0.025   | 6.263±0.0694  | 98.07  |
| 15.960  | 15.930  | 0.045                      | 0.283 | 0.020   | 15.930±0.055  | 99.8   |
| 31.930  | 31.932  | 0.039                      | 0.122 | 0.017   | 31.932±0.047  | 100.0  |
| 47.899  | 47.841  | 0.030                      | 0.062 | 0.013   | 47.841±0.037  | 99.87  |
| 63.866  | 63.887  | 0.020                      | 0.031 | 0.008   | 63.887±0.0251                                       | 100.03                                       |
| 79.832  | 79.716  | 0.019                      | 0.023 | 0.008   | 79.832±0.007  | 99.85  |
| 95.799  | 95.880  | 0.006                      | 0.006 | 0.002   | 95.880±0.008  | 100.08                                       |

\*متوسط خمس تجارب (كررت التجربة خمس مرات لكل تركيز اي كُرر تحضير كل محلول من السلسلة العيارية خمس مرات وقيست الامتصاصية لهم عند طول موجة الامتصاص الأعظمية 508nm ثم حساب التركيز من قانون بير- لامبرت او باسقاط الامتصاصية على المنحني العياري وحساب التركيز المحدد بأخذ القيمة المتوسطة لهم).

تمت المقارنة بين هذه الطريقة الطيفية الضوئية و الطرائق المرجعية المستخدمة عالمياً كما هو موضح في الجدول (4) حيث لُحظ تقارب نتائج هذه الطريقة مع نتائج الطرائق المرجعية.

جدول (4): مقارنة بين نتائج الطريقة المقترحة والطرائق المرجعية

| المرجع | $\mu\text{g/mL}$ الخطية<br>$\epsilon = L/\text{mol.cm}$ | طول الموجة الأعظمي<br>$\lambda_{\text{max}}$ (nm) | اسم الكاشف   |
|--------|---|---|--|
| [2]    | 5-150   | 416   | bromophenol blue                                   |
| [3]    | 2.00-18.00<br>$\epsilon = 0.597 \times 10^4$            | 461   | 1, 2 -<br>naphthoquinone-<br>4-sulphonate<br>(NQS) |

|  |     |  |         |
|--|-----|--|---------|
| Fe(III)                                | 425 | $\epsilon = 1.98 \times 10^3$                  | [5]     |
| Cu(II)                                 | 415 | $\epsilon = 2.17 \times 10^3$                  |         |
| Fe(III)                                | 430 | 2-30<br>$\epsilon = 1.253 \times 10^4$         | [7]     |
| diphenyl amine<br>sulphonate<br>(DPAS) | 550 | 15.9-127.7<br>$\epsilon = 0.1039 \times 10^4$  | [8]     |
| Alizarin                               | 508 | 6.386-95.799<br>$\epsilon = 0.227 \times 10^4$ | دراستنا |

### 5- تحديد النورفلوكساسين في المستحضرات الصيدلانية باستخدام كاشف (AZ) :

استخدمت الطريقة الطيفية المطورة في هذا البحث لتحديد النورفلوكساسين في مستحضراته الصيدلانية (مضغوطات) باستخدام كاشف الأليزارين (AZ)، كما هو مبين في الجدول (5).

جدول(5): تحديد كمية النورفلوكساسين في المضغوطات

| اسم المستحضر | كمية<br>النورفلوكساسين<br>mg | التركيز المأخوذ<br>( $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) | التركيز<br>المحدد <sup>a</sup><br>( $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) | الكمية<br>المحددة <sup>a</sup><br>Mg | الانحراف<br>المعياري<br>SD | %RSD  | المردود النسبي<br>R%<br>المئوي<br>(الاسترجاعية) |
|--------------|------------------------------|---|--|--------------------------------------|----------------------------|-------|---|
| Uriflox      | 400                          | 50  | 49.96  | 397.65                               | 0.125                      | 0.250 | 99.92   |
|              |                              | 25  | 24.95  | 397.81                               | 0.267                      | 1.070 | 99.8  |

<sup>a</sup> متوسط خمسة قياسات (متوسط خمس تجارب، أي كُرر تحضير المحلول خمس مرات وقيست الامتصاصية للمحاليل عند طول موجة الامتصاص الأعظمية 508nm وحساب التركيز المحدد بأخذ المتوسط لهم).

وأشارت النتائج إلى أن تحديد النورفلوكساسين في مستحضراته الصيدلانية لا يتأثر بوجود المواد المساعدة.

### الاستنتاجات والتوصيات :

اقترحت هذه الدراسة طريقة طيفية لونية جديدة باستخدام كاشف الأليزارين (AZ) لتحديد النورفلوكساسين في حالته النقية وفي مستحضراته الصيدلانية، امتازت هذه الطريقة بأنها سهلة التطبيق وسريعة النتائج وذات تكلفة منخفضة، كما امتازت هذه الطريقة بحساسيتها، إذ بلغ أصغر تركيز تم تحديده  $6.386 \mu\text{g}/\text{ml}$  بانحراف معياري نسبي مئوي لا يتجاوز  $\pm 0.91\%$ ، ويمكن استخدامها في التحليل الروتيني للمستحضرات الصيدلانية للنورفلوكساسين في مختبرات مراقبة الجودة.

## المراجع

- [1] SHETTY, D. N.; NARAYANA, B. *A New, Sensitive spectrophotometric method for the determination of norfloxacin using 1, 2-naphthoquinone-4-sulphonate in pure and dosage form.* Indo American Journal of Pharmaceutical Research ,Vol.6,No.07, 2016, pp. 5974-5980.
- [2] MANDIL,H.; ALHAJ SAKUR,A.; NASSER,B. *Use of Cerium(IV) in Potentiometric Titration of Norfloxacin in Pharmaceutical Preparations.* Asian Journal of Chemistry, Vol. 24, No. 7, 2012, pp. 2985-2988.
- [3]KASSAB,N.M.;SINGH,A.K.;KEDOR-HACKMAM,E.R.M.;SANTORO,M.I.R.M. *Quantitative determination of ciprofloxacin and norfloxacin in pharmaceutical preparations by high performance liquid chromatography.* Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 41, No.4, 2005, pp. 507-513.
- [4] TRIVEDI, K. D.; CHAUDHARY, A. B.; MOHAN, S. *Development and validation of RP-HPLC method for estimation of Metronidazole and Norfloxacin in suspension form .* Int. J. Adv. Pharm.,Vol.2,No.1, 2013, pp. 5-11.
- [5]GABER,M.;KHEDR,A.M.;EL-KADY,A.S. *Spectrophotometric determination of norfloxacin in pure and dosage forms by complexation with Fe(III) and Cu(II) ions.* International Research Journal of Pharmacy and Pharmacology ,Vol. 2,No.5 , 2012, pp. 97-102.
- [6] ZAYED,M.A.;BELAL,R.M. *Spectrophotometric micro-determination of three quinolones antibacterial drugs in pure and in pharmaceutical dosage forms by reactions with diphenylamine sulphonate redox indicator.*Egypt. J. Chem.,Vol. 58,No. 3, 2015, pp. 333-347.
- [7] REDDY,M. A.; GIRI, A.; SARITHA,B.;REDDY,T.S. *Validated, visible spectrophotometric method for the assay of norfloxacin in pharmaceutical formulations.* IJPRBS, Vol. 3, No. 4, 2014, pp. 613-621.
- [8]AL-TAMARAH,S.A.;ABDALLA,M.A.;AL-OTIBI,A.A.*Spectrophotometric determination of norfloxacin using bromophenol blue .* Arabian Journal of Chemistry, (2015).
- [9] Korkuna,O.; Zhak,T.; Smolinska, M. *Ion-pair complexes formation between fluoroquinolone antibiotics and methyl red and their use for the extraction-spectrophotometric analysis.* Adsorption Science & Technology,Vol.35,No.(7-8), 2017, pp.612-622.
- [10] WOLF,D; KUHLMANN, M. D. *Buffer solutions.* Division of Radiooncology, Deutsches Krebsforschungszentrum, 69120 Heidelberg, Germany, 2006.
- [11] MARTINDALE. *The complete Drug Reference*, 33rd ed., pharmaceutical press. Taunton, Massachusetts, USA, 2002, 1.P 1000-1001.
- [12] HELY, DAVID . *The psychopharmacologists.*1. London; Chapman and Hall. 1996, ISBN 978-1-86036-008-4.
- [13] YOE,H.; JONES,L.*Colorimetric Determination of Fe with disodium 1,2-dihydroxybenzene-3,5-disulfonate.*JOURNAL OF Journal of Industrial & Engineering Chemistry, Vol. 16,No. 3, 1944, pp. 14-19.
- [14] WARREN, C; COOPER, R. *the Identification of Complex ions in Solution by Spectrophotometric measurements;* Journal of the American Chemical Society, Vol.63, No. 2, 1941, pp. 437-442.

[15] HARVEY, A. E; MANINNG, D. L. *Spectrophotometric Method of Establishing Empirical Formulas Colored Complexes in Solution*, J. Am. Chem. Soc, 1950, pp. 72-4488.

[16] CHRISTIAN, G.D. *Analytical Chemistry*, 3rd ed., John Wiley & sons, inc., New York, 1980.

[17] HOLSCHER H. H. *Simplified Statistical Analysis: Handbook of Methods, Examples and Tables*. 1st ed., Massachusetts, Cahners Books, 1999, pp.234.

[18] JOHN, M. *The Statistical Analysis of experimental Data* (1964),pp.106-107.

[19] MILLER, J. C.; MILLER,J.N.; *Statistics for Analytical Chemistry*, 3rd ed., Ellis Horwood, New York 1993.