مجلة جامعة دمشق للعلوم الطبية المجلد: (41) العدد: 2 (2025) الصفحات: (1-14)

طريقة طيفية ضوئية خضراء لتحديد الإيمباغليفلوزين في المضغوطات في السوق السورية

علا محمود يونس[*1]، عبد الرحمن سعيد حليمة[2]، يزن سلطان التيناوي[3]، زكاء محمد علي السيد علي[4]

[1] دكتورة في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق (Ola31.younes@damascusuniversity.edu.sy).

[2] حاصل على ماجستير في الكيمياء التحليلية التطبيقية، قسم الكيمياء التحليلية والغذائية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق (abdulrahman96.halimeh@damascusuniversity.edu.sy).

[3] حاصل على ماجستير في الكيمياء التحليلية التطبيقية، قسم الكيمياء التحليلية والغذائية، كلية الصيدلة، جامعة دمشق (yazan.altinawe1998@damascusuniversity.edu.sy)

[4] طالبة سنة خامسة/ كلية الصيدلة، جامعة دمشق (zokaa1.alsayedali@damascusuniversity.edu.sy).

الملخص:

المقدمة: يُعدُّ التّحليل الطّيفي في مجال الأشعّة المرئيّة وفوق البنفسجيّة من الطّرائق التّحليليَّة البسيطة والنوعيَّة، لذا يتمُّ استعماله بشكلٍ واسع في العديد من المجالات. الإيمباغليفلوزين من الأدوية المستعملة حديثاً في علاج داء السّكري من النّمط الثّاني، وهو من زمرة مثبّطات النّاقل المشترك صوديوم/ غلوكوز 2، ولكن إلى الآن لم يُدرج في أيّ من دساتير الأدوية. تمّ التّحقّق من مصدوقية طريقة تحليلية منشورة في الأدبيات لمقايسة الإيمباغليفلوزين كمادة أوليّة وفي أشكاله الصّيدلانية ولكن بعد تغيير المذيب المستخدم وكمّيته لجعلها أكثر خضرة، تعتمد هذه الطّريقة على قياس امتصاص الإيمباغليفلوزين في مجال الأشعّة فوق البنفسجيّة باستخدام مقياس الّطيف الضوئي نظراً لوجود مجموعات مولدة للّون في بنيته الكيميائية، ثمّ جرى تقييم خضرة الطريقة المطبّقة باستخدام أداتي AGREE و.Eco-scale

المواد والطرائق: تعتمد هذه الطّريقة على مقايسة الإيمباغليفلوزين بالاعتماد على امتصاصه في مجال الأشعّة فوق البنفسجيّة عند طول موجة nm223 ، كما تمت دراسة تأثير نوع المذيب المستعمل للحصول على أفضل النتائج.

النتائج: أظهرت الطّريقة المطبّقة خطّية لمجال التراكيز 4-20ppm ، وبلغت قيمة معامل الارتباط R2=0.9998 ، كما تمّ التّأكد من دقّة الطّريقة(RSD<2%) ، والمضبوطية فتراوحت قيم الاستعادة بين 100.01-99.78%. بلغ حَدُّ الكشف (LOD) 0.295 ppm، وحَدُّ القياس الكمّيppm 0.894 (LOQ) ، كما تمّت مقايسة الإيمباغليفلوزين بنجاح في شكله الصّيدلاني (المضغوطات) بالاعتماد على الطّريقة المدروسة، وتبيَّن أنَّها تتمتع بنوعيَّة وانتقائيّة عاليتين، حيث لم تُبدِ السّواغات الموجودة في الأشكال الصَّيدلانية امتصاصاً أو تداخلاً عند طول الموجة المدروس، وتراوحت قيم الاستعادة بين 102.52-98.09%. وبيّن تقييم الخضرة باستخدام الأداتين أنّ الطّريقة المتّبعة خضراء وصديقة للبيئة بالمقارنة مع إحدى طرائق HPLC المنشورة.

الاستنتاجات: تمّت مقايسة الإيمباغليفلوزين بنجاح كمادة أوّليّة وفي أشكاله الصّيدلانية الموجودة في السّوق المحليّة بالاعتماد على امتصاصه في مجال الأشعّة فوق البنفسجيّة بالاعتماد على طريقة تحليليّة خضراء.

الكلمات المفتاحية: إيمباغليفلوزين، داء السّكري، مجال الأشعّة فوق البنفسجيّة، مقياس الطّيف الضّوئي، تقييم المصدوقيّة، تقييم الخضرة.

تاريخ الإيداع: 2024/8/6 تاريخ القبول: 2024/9/4

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب CC BY-NC-SA

ISSN: 2789-7214 (online)

http://journal.damascusuniversity.edu.sy

Green Spectrophotometric Method for the Determination of Empagliflozin in Tablets in Syrian Market

Ola Mahmod younes[*1], Abdulrahman Said Halimeh[2], Yazan Sultan Altinawe [3], Zokaa Mohamed ali Alsayed Ali [4]

[*1]PhD at Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria (Ola31.younes@damascusuniversity.edu.sy).
[2]MSc of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria (abdulrahman96.halimeh@damascusuniversity.edu.sy).
[3] MSc of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria (yazan.altinawe1998@damascusuniversity.edu.sy)
[4] Fifth year student/ Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria (zokaa1.alsayedali@damascusuniversity.edu.sy).

Abstract:

Introduction: visible and ultraviolet spectroscopy is considered a simple and specific analytical method; therefore, it is widely used in many fields. Empagliflozin has recently been used in the treatment of Type II diabetes mellitus, it is classified as a sodium glucose cotransporter-2 inhibitor (SGLT-2 I), but so far it has not been included in the Pharmacopoeias. A published analytical method for the determination of empagliflozin in bulk and pharmaceutical dosage has been validated but with modification to the solvent used and its quantity to enhance the greenness of the method, depending on its UV absorption, due to the existence of chromophore groups in its chemical structure. The greenness of the method was assisted by AGREE and Eco-scale tools.

Materials and methods: This method depends on the measurement of empagliflozin based on its UV absorption at 223 nm wavelength. The effect of the used solvent was also investigated to get the best results.

Results: The analytical method showed a linear relationship between absorbance and concentration in the range of (4-20 ppm), with a linear regression correlation coefficient of R2=0.9998. The precision of the method (RSD <2%), and accuracy were determined as recovery which values ranging between 100.01-99 .78%, the detection limit (LOD) is 0.295 ppm, and the quantitation limit (LOQ) is 0.894 ppm. Empagliflozin was successfully determined in its pharmaceutical forms (tablets), based on the studied method, and it was found to be specific and selective, with no response or interference from the excipients in pharmaceutical forms at the desired wavelength, with recovery values ranged between 102.52-98.09%. The used method is greener and eco-friendlier than the published HPLC method.

Conclusions: Empagliflozin has been successfully determined as a raw material and in its pharmaceutical forms in the local market based on its UV absorption using a green analytical method.

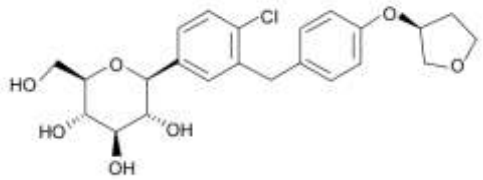
Keywords: Empagliflozin, Diabetes Mellitus, Uv Region, Spectrophotometer, Validation, Greenness Assessment.

Submitted: 6/8/2024 Accepted: 4/9/2024
Copyright: Damascus University Syria.
The authors retain copyright under CC BY-NC-SA

المقدمة Introduction:

يعدّ الإيمباغليفلوزين من خافضات السّكر الفمويّة الحديثة المنتمية لمجموعة مثبّطات النّواقل المشتركة للغلوكوز والصوديوم sodium glucose cotransporter-2 inhibitors (SGLT-2 I)، والتي تعمل من خلال تثبيط إعادة امتصاص الغلوكوز والصوديوم على مستوى النبيب الكلوي القريب في الكلية، ممّا يؤدّي إلى إطراح الغلوكوز والصوديوم في البول وبالتالي انخفاض مستويات الغلوكوز في الدم، يُستخدم في علاج داء السكري من النمط الثاني، ويؤمّن حماية قلبيّة وكلويّة للمرضى سواء أكانوا سكريّين أم غير سكريّين[1,2] .

التسمية الكيميائية للإيمباغليفلوزين حسب **IUPAC:**
(2S,3R,4R,5S,6R)-2-[4-chloro-3-[[4-[(3S)-oxolan-3-yl]oxyphenyl]methyl]phenyl]-6-(hydroxymethyl)oxane-3,4,5-triol [3].



الشكل (1) الصيغة الكيميائية المفصلة للإيمباغليفلوزين [4].

يوضّح الشكل (1) الصيغة الكيميائية المفصلة للإيمباغليفلوزين.

الصّيغة المجملة له $C_{23}H_{27}ClO_7$، ووزنه الجزيئي $450.9\ g{\cdot}mol^{-1}$ [4]. يُوصف بأنّه مسحوق صلب أبيض إلى أصفر اللون، غير ماصّ للرطوبة non- hygroscopic، منحل بشكل قليل جداً very slightly soluble في الماء، ومنحل بشكل معتدل sparingly soluble في الميتانول، وينحل بشكل قليل slightly soluble في الإيتانول [5].

الإيمباغليفلوزين مادة غير دستورية، ولدى مراجعة أدبيات البحث تبيّن وجود بعض الطّرائق المنشورة لمعايرة الإيمباغليفلوزين في العينات الحيوية وفي الأشكال الصّيدلانية، باستخدام الكروماتوغرافيا السّائلة عالية الأداء HPLC [6,7]، تقنية الكروماتوغرافيا السائلة الموصولة مع مطياف الكتلة LC-MS/MS [8]، وبطرائق تعتمد على التّألق الضّوئي [9] والامتصاص الضّوئي[10-12].

ورغم تعدّد الطّرائق التحليلية لمعايرة المركبات الدّوائية تبقى الطّرائق المعتمدة على مقايسة المركبات الدّوائية باستخدام مقياس الطّيف الضّوئي من الطّرائق المفضلة للمقايسة، نظراً لبساطتها ومصدوقيّتها وكلفتها القليلة، فجميع الطّرائق السابقة تحتاج إلى أجهزة أو كواشف مكلفة الثّمن وقد يصعب تأمينها بالإضافة إلى وجود خطوات إضافيّة للتّحليل وقسم كبير منها لا يعدّ صديقاً للبيئة ولاسيما طرائق HPLC التي تستخدم الأسيتونتريل بشكل أساسي أو الميتانول في الطّور المتحرك، حيث تهدف الكيمياء التّحليلية الخضراء (هاجس الأدبيات الحالية) بأهدافها الاثني عشر إلى تطوير طرائق تحليلية صديقة للبيئة ما أمكن، والتي يجب أن تعتمد على المذيبات الأكثر أماناً والأقل سميةً على البيئة والمحلل وتجنّب الاشتقاق وتقليل إنتاج المخلفات[13].

لذلك تمّت مقايسة الإيمباغليفلوزين في هذا البحث اعتماداً على طريقة تحليلية منشورة[10] ولكن تمّ تغيير المذيب فيها لتكون أكثر خضرة، حيث تعتمد على إذابة الإيمباغليفلوزين في الإيتانول (70%) وتمّت مقايسة الإيمباغليفلوزين بشكل دقيق بطريقة يتمّ فيها تجنب التّداخلات مع السّواغات المستخدمة في المستحضر الصّيدلاني ما أمكن، بالتّزامن مع الحصول على أفضل النّتائج من حيث الدقّة والمضبوطيّة كما تمّ تقييم خضرة الطّريقة بأداة AGREE (Analytical greenness) وطريقة المقياس البيئي (Eco- scale)[14].

المواد والكواشف Materials and Reagents

– معياري من مادة الإيمباغليفلوزين Empagliflozin إنتاج شركة – Anhui Haikang Pharmaceutical Co., Ltd China بنقاوة 99.5%.

- ميتانول Methanol من الدرجة التحليلية إنتاج شركة Merck.
- إيتانولEthanol بتركيز 70%، إنتاج شركة سكر-حمص.
- ماء مقطر Distilled water.
- مضغوطات إيمباغليفلوزين عيار 25 ملغ من السوق السورية:

1. التّحضيرة رقم 23E25T4 من إنتاج شركة محلية أولى وسيرمز لها بالحرف A.
2. التّحضيرة رقم 9745 من إنتاج شركة محلية ثانية وسيرمز لها بالحرف B.
3. التّحضيرة رقم 15692 من إنتاج شركة محلية ثالثة وسيرمز لها بالحرف C.
4. التّحضيرة رقم A0980 من إنتاج شركة محلية رابعة وسيرمز لها بالحرف D.
5. التّحضيرة رقم 009 من إنتاج شركة محلية خامسة وسيرمز لها بالحرف E.

الأجهزة والأدوات Apparatus and Instruments

- مقياس الطّيف الضّوئي Spectrophotometer إنتاج شركة Hitachi من نوع U-1800 مع محافد كوارتز 1cm.
- ميزان حسّاس Analytical balance من نوع Sartorius A200S (0.0001 g).
- جهاز تقطير الماء من نوع NOVA4.
- مثفلة من نوع Heraeus Christ Labofuge II.
- أدوات زجاجية (دوارق معايرة، ممصات مدرجة وأخرى معايرة، فيول، وعاء إشباع، ميجرة) إنتاج شركة LMS ilmenau.
- حوض للأمواج فوق الصوتية من نوع BANDELIN Sonorex TK52.
- ورق ترشيح Filter Papers.

تحضير المحاليل والكواشف

1. محلول معياري من الإيمباغليفلوزين بتركيز 100 ppm

بدايةً تمّ تحضير محلول أم من الإيمباغليفلوزين بتركيز 1000 ppm، ثمّ تمديده للحصول على المحلول المعياري ذي التّركيز 100 ppm وفق الآتي:

وُزن 100 mg من معياري الإيمباغليفلوزين بدقّة باستخدام الميزان الحساس، ثمّ أُذيبت في وعاء إشباع بحوالي 20 ml من الايتانول (70%) بعد وضعها في حوض الأمواج فوق الصوتية لمدة خمس دقائق، نُقلت بعدها إلى دورق معاير سعة 100 mlوتمّ التمديد بالماء المقطر حتى خطّ العيار، وذلك للحصول على المحلول ذي التّركيز 1000 ppm، أُخذ من هذا المحلول 10 ml باستخدام ممصّ معاير سعة 10ml ووُضعت في دورق معاير سعة 100 ml وأُكمل

الحجم بالماء المقطر حتّى خطّ العيار للحصول على المحلول المعياري ذو التّركيز 100 ppm.

2. تحضير السّلسلة المعيارية:

تمّ تحضير السلسلة المعيارية من الإيمباغليفلوزين بتراكيز (4-8-12-16-20) ppm وذلك بنقل حجوم ملائمة من المحلول المعياري ذي التركيز 100 ppm بوساطة ممصّ معاير إلى دوارق معايرة سعة 50 ml ومن ثم إكمال الحجم بالماء المقطر إلى 50 ml وفقاً للجدول (1).

الجدول (1): الحجوم المستعملة لتحضير تراكيز السلسلة المعيارية.

رقم المحلول	1	2	3	4	5
الحجم المأخوذ من المحلول المعياري للإيبماغليفلوزين 100 ppm (ml)	2	4	6	8	10
حجم التّمديد النّهائي(ml)	50	50	50	50	50
التّركيز النهائي (ppm)	4	8	12	16	20

الطّرائق Methods:

مقايسة الإيمباغليفلوزين كمادة أوّليّة

تمّ تحضير السّلسلة المعيارية من الإيمباغليفلوزين وفق التّراكيز التّالية (4–8–12–16–20) ppm كما هو موضّح في الفقرة السّابقة. تمّ إجراء مسح طيفي لمحلول الإيمباغليفلوزين ذي التّركيز 20 ppm في مجال الأشعّة فوق البنفسجيّة (200–380) nm لتحديد طول موجة الامتصاص الأعظمي مقابل المذيب (الماء المقطر) كناصع، ثمّ جرى تسجيل الكثافة الامتصاصيّة لأنابيب السّلسلة عند طول موجة الامتصاص الأعظمي، تمّ بعدها إيجاد معادلة الخطّ المستقيم الّذي يربط بين الامتصاص والتّركيز، وذلك لدراسة خطّية الطّريقة التّحليليّة المطبّقة ضمن المجال المدروس.

مقايسة الإيمباغليفلوزين في المستحضرات الصيدلانيّة (مضغوطات 25 mg):

تمَّ وزن 20 مضغوطة من الإيمباغليفلوزين لكل من الشّركات A وB وC وD وE، ثم تمّ حساب وسطي وزن المضغوطة الواحدة. سُحقت المضغوطات وتم تنعيمها ومجانستها ثمّ أُخذ ما يكافئ 24 mg من الإيمباغليفلوزين ووُضعت في دورق معاير سعة 100 ml وأُضيف لها حوالي 20 ml من الميتانول (لزيادة اذابة الإيمباغلفلوزين بوجود السّواغات) وماء مقطّر (حوالي 40 ml)، ثمّ وُضعت في حوض للأمواج فوق الصوتيّة لمدّة 45 دقيقة في درجة حرارة المخبر ومُدّدت بالماء المقطّر حتّى خطّ العيار، أُخذ حجم كافي من هذا المحلول وتمّ تثفيله لمدة (15 دقيقة) بسرعة 5400 rpm في المثفّلة الدّوّارة وذلك لترسيب السّواغات غير المنحلّة، فُصل في المرحلة التّالية السّائل الطّافي وأُخذ منه 5 ml ووُضعت في دورق معاير سعة 100 ml، ومن ثمَّ أُكمل الحجم بالماء المقطّر حتّى خطّ العيار للحصول على محلول من الإيمباغليفلوزين بتركيز 12 ppm نظرياً.

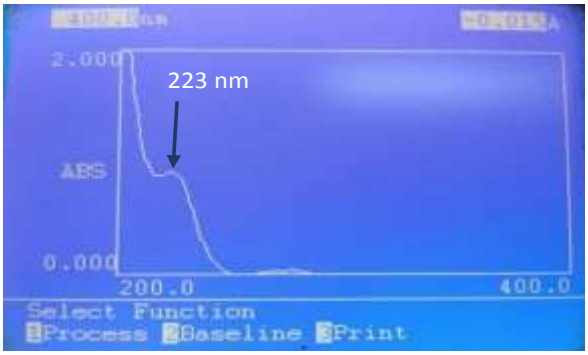
تمّ تكرار الخطوات السّابقة لتحضير ثلاثة مكرّرات لكل شركة، تمّ تسجيل الكثافة الامتصاصية للمحاليل المُحضّرة عند طول موجة 223 nm وتمّ تعويض الامتصاص في معادلة الخطّ المستقيم الذي يربط بين الامتصاص والتّركيز للحصول على التّركيز العملي، ثمّ تمّ حساب قيم الاستعادة والانحراف المعياري النسبي RSD%.

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

النتائج Results:

تحديد طيف الامتصاص في المجال فوق البنفسجي للإيمباغليفلوزين وطول موجة الامتصاص الأعظمي:

أبدى محلول الإيمباغليفلوزين من السّلسلة المعياريّة ذي التّركيز 20 ppm قمّة امتصاص عند طول الموجة 223 nm (مع ملاحظة ازدياد الامتصاص عند الاقتراب من طول الموجة 200 nm، وهذا يدلّ على وجود قمة امتصاص قبل طول الموجة 200 nm، وعملياً لا يمكن القياس عندها، لذلك تمّ الاعتماد على القمّة عند طول الموجة 223 nm) كما هو مُوضّح في الشكل (2).



الشكل (2): طيف امتصاص محلول الإيمباغليفلوزين 20 ppm في مجال الأشعة فوق البنفسجية.

تأثير المذيب المستخدم في امتصاص الإيمباغليفلوزين:

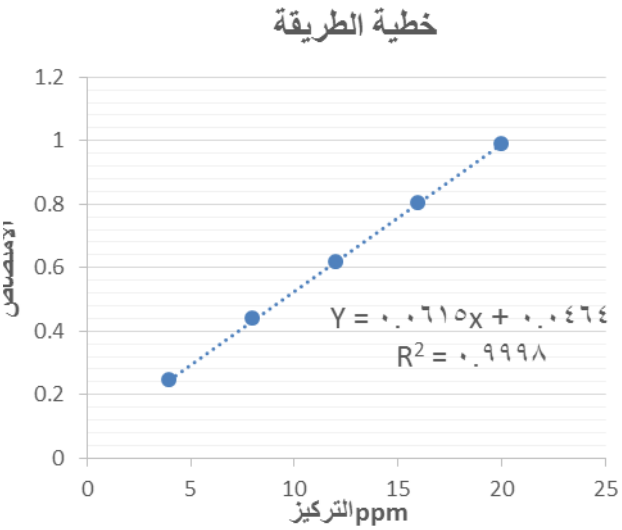
تمّ اختبار تأثير بعض المذيبات والتي تختلف فيما بينها بقدرة إذابتها للإيمباغليفلوزين (كالإيتانول 70% والميتانول) حيث تمّ تحديد الامتصاص عند طول موجة الامتصاص الأعظمي 223 nm لمحلول من الإيمباغليفلوزين بتركيز 20 ppm باستخدام

الإيتانول كمذيب مرّة والميتانول مرّة أخرى فكان الامتصاص يساوي 0.994 و0.988 على التّرتيب ثم حُسب معامل التصحيح فكان يساوي تقريبا 1.006 وذلك لاستخدامه فيما بعد لتصحيح الامتصاص عند مقايسة الأشكال الصيدلانية بوجود الميتانول بدلاً من الإيتانول.

التّحقق من مصدوقيّة الطّريقة Validation:

الخطية Linearity:

درست الخطّيّة ضمن المجال (4–20 ppm) حيث تبيّن أن معامل الارتباط قدره R^2=0.9998، ويبيّن الشّكل (3) معادلة الخط المستقيم بين التّركيز مقدّراً بالـ (ppm) والامتصاص والتي تُوضح خطّيّة الطّريقة.



الشكل (3) منحني السلسلة المعيارية ومعادلة الخط المستقيم ما بين التركيز ppm والامتصاص.

حدّ الكشف Limit of Detection (LOD):

تمّ حسابه من خلال العلاقة:

$$LOD = \frac{3.3 \times SD}{b} = \frac{3.3 \times 0.0055}{0.0615} = 0.295\ mg/l$$

SD: الانحراف المعياري لنقطة تقاطع الخط المستقيم مع محور العينات، b: ميل الخط المستقيم.

حدّ المقايسة الكمي Limit of Quantification (LOQ):

تمّ حسابه من خلال العلاقة:

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{b} = \frac{10 \times 0.0055}{0.0615} = 0.894\ mg/l$$

المضبوطيّة Accuracy:

للتأكد من مضبوطيّة الطّريقة تمّ تحضير ثلاث تراكيز من الإيمباغليفلوزين وفق الآتي (12-16-20 ppm) بثلاث مكررات لكل منها ومن ثمَّ قراءة الامتصاص عند طول الموجة 223 nm وتعويض الامتصاص الوسطي لكل تركيز في معادلة الخط المستقيم التي تمّ الحصول عليها من منحني السلسلة المعيارية للحصول على التّركيز العملي الموافق وحساب النّسبة المئوية للاستعادة Recovery ويُظهر الجدول (2) نتائج الاستعادة حيث تراوحت بين 99.775–100.008 %، مما يدل على أن هذه الطريقة تتمتع بمضبوطية عالية.

الدقّة Precision:

لدراسة دقّة الطريقة التحليلية، تم تحضير ستة مكررات بتركيز 16 ppm من الإيمباغليفلوزين ومن ثمَّ قياس الامتصاص عند طول الموجة 223 nm في اليوم نفسه (لحساب التكرارية Repeatability) وعلى ثلاثة أيام متتالية (لحساب الدقة الوسطى Intermediate Precision) وتعويضها في معادلة الخط المستقيم التي تمَّ الحصول عليها في منحني السلسلة المعيارية للحصول على التركيز العملي الموافق ثمَّ تحديد التكرارية كما في الجدول (3) والدقة الوسطى كما في الجدول (4) من خلال الاستعادة وقيم الانحراف المعياري النسبي RSD%، نجد أن هذه الطريقة تتمتع بدقة عالية.

الجدول (2): مضبوطية الطريقة المتبعة في مقايسة الإيمباغليفلوزين.

التركيز ppm	الامتصاص	التركيز العملي ppm	وسطي التركيز العملي ppm	الاستعادة %	وسطي الاستعادة %	SD	RSD %
12	0.625	12.144	12.001	100.008	99.929	0.134	0.134
	0.61	11.821					
	0.62	12.037					
16	0.803	15.981	15.945	99.775			
	0.799	15.894					
	0.803	15.959					
20	0.991	20.032	20.011	100.005			
	0.989	19.989					
	0.99	20.011					

الجدول(3): تكرارية الطريقة المتبعة في مقايسة الايمباغليفلوزين

التكرارية Repeatability						
التركيز ppm	الامتصاص	التركيز العملي ppm	الاستعادة %	وسطي الاستعادة %	SD	RSD %
16	0.78	15.485	96.780	98.487	1.335	1.303
	0.788	15.657	97.858			
	0.784	15.571	97.319			
	0.803	15.980	99.879			
	0.799	15.894	99.339			
	0.802	15.959	99.744			

الجدول (4): الدقة الوسطى للطريقة المتبعة في مقايسة الايمباغليفلوزين

الدقّة الوسطى Intermediate Precision									
اليوم	التركيز ppm	الامتصاص	التركيز العملي ppm	الاستعادة %	وسطي الاستعادة في اليوم الواحد %	SD	RSD %	وسطي الاستعادة خلال الأيام الثلاث	الانحراف المعياري النسبي لنتائج الأيام الثلاث
1	16	0.78	15.485	96.780	98.487	1.335	1.303	99.991	1.381
		0.788	15.657	97.858					
		0.784	15.571	97.319					
		0.803	15.980	99.879					
		0.799	15.894	99.339					
		0.802	15.959	99.744					
2		0.803	15.981	99.879	100.283	0.341	0.333		
		0.809	16.11	100.687					
		0.807	16.067	100.418					
		0.808	16.088	100.552					
		0.803	15.981	99.879					
		0.806	16.045	100.283					
3		0.816	16.261	101.63	101.203	1.017	0.992		
		0.81	16.131	100.822					
		0.822	16.39	102.438					
		0.817	16.282	101.765					
		0.812	16.175	101.091					
		0.8	15.916	99.475					

المتانة Robustness:

تمت دراسة متانة الطريقة التحليلية وذلك بتحضير ثلاثة محاليل من الإيمباغليفلوزين بتركيز 16 ppm لكل منها، قيس امتصاص المحاليل الثلاثة المحضرة عند طول موجة ± 223) nm (1 وتم تعويض وسطي الامتصاص في معادلة الخط المستقيم للحصول على التركيز العملي، ثم تمّ تحديد الانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي RSD%. كما يظهر في الجدول (5)، حيث تبيّن أن الطريقة التحليلية المتّبعة ذات متانة عالية.

النوعيّة والانتقائيّة Specificity & Selectivity:

تم مزج كمية معلومة من الإيمباغليفلوزين المعياري مع مزيج من السواغات المستخدمة في تصنيع المضغوطات (لاكتوز مونوهيدرات 130 mg، سيللوز فائق النعومة 28 mg، هيدروكسي بروبيل سيللوز 15 mg، كروس كارميللوز 4 mg، سيليكا لامائية غرويدية 2 mg، شمعات المغنيزيوم 1 mg، تالك 2.5 mg، ثاني أكسيد التيتانيوم 7.5 mg، بولي إيتيلين غليكول 10 mg) ثم تم تطبيق الطريقة المقترحة على المزيج السابق فكانت نسبة الاستعادة 0.999±102.82% كما هو موضح في الجدول (6)، مما يشير إلى عدم تأثير السواغات الموجودة في الأشكال الصيدلانية المدروسة على قيم الاستعادة كما تم تحديد طيق امتصاص السواغات لوحدها فلم تبدِ امتصاصاً عند طول الموجة المدروس وهذا يدل على أن هذه الطريقة تتمتع بنوعية وانتقائية عاليتين.

المجال Range:

تم تحضير ستة محاليل من الإيبماغليفلوزين بتركيزين، ثلاثة محاليل بتركيز 3 ppm أي 75% من التركيز الأدنى الموجود في السلسلة المعيارية المستخدمة باختبار الخطية، وثلاثة محاليل بتركيز 24 ppm أي 120% من التركيز الأعلى في السلسلة المعيارية.

قيس امتصاص المحاليل الستة المحضرة عند طول موجة 223 nm وتم تعويض وسطي الامتصاص في معادلة الخط المستقيم للحصول على التركيز العملي ومن ثم تمّ تحديد الانحراف المعياري SD والانحراف المعياري النسبي RSD % كما يظهر في الجدول (7)، وتبين أن مجال هذه الطريقة التحليلية يتراوح بين (4-24 ppm) لأن قيم الانحراف المعياري النسبي للتركيز 3 ppm تجاوزت 2%، أما قيم الانحراف المعياري النسبي للتركيز 24 ppm لم تتجاوز 2%.

مقايسة الإيمباغليفلوزين في المستحضرات الصيدلانية:

يبيّن الجدول (8) نتائج مقايسة الإيمباغليفلوزين في المضغوطات (25 mg مادة فعالة) بالاعتماد على الطريقة المقترحة حيث بلغت نسبة الاستعادة بين 98.09-102.52%.

الجدول(5): متانة الطريقة المتبعة في مقايسة الإيمباغليفلوزين.

التركيز النظري ppm	طول الموجة nm	وسطي الامتصاص	التركيز العملي ppm	الاستعادة %	وسطي الاستعادة %	SD	RSD %
16	222	0.784	15.571	97.32	97.297	0.156	0.16
	223	0.784	15.571	97.32			
	224	0.782	15.528	97.050			

الجدول (6): نوعية الطريقة المتبعة في مقايسة الإيمباغليفلوزين.

التركيز النظري ppm	الامتصاص	التركيز العملي ppm	الاستعادة %	وسطي الاستعادة %	SD	RSD %
12	0.64	12.468	103.897	102.82	0.999	0.972
	0.629	12.231	101.922			
	0.633	12.317	102.64			

الجدول (7): مجال الطريقة المتبعة في مقايسة الإيمباغليفلوزين.

التركيز ppm	الامتصاص	التركيز العملي ppm	وسطي التركيز العملي ppm	وسطي الاستعادة %	SD	RSD %
3	0.196	2.899	2.942	98.067	2.489	2.538
	0.196	2.899				
	0.202	3.208				
24	1.188	24.278	24.156	100.65	0.461	0.458
	1.181	24.127				
	1.178	24.063				

الجدول (8): نتائج مقايسة الإيمباغليفلوزين في المستحضرات الصيدلانية.

الشركة	التركيز النظري المحضر (ppm)	الامتصاص المصحّح	التركيز العملي ppm	الاستعادة %	وسطي الاستعادة %	SD	RSD %
A	12	0.617	11.972	99.767	100.664	0.823	0.824
		0.623	12.101	100.842			
		0.626	12.166	101.383			
B		0.608	11.778	98.15	98.808	0.631	0.643
		0.612	11.864	98.867			
		0.615	11.929	99.408			
C		0.63	12.252	102.1	103.239	0.989	0.965
		0.639	12.446	103.717			
		0.64	12.468	103.9			
D		0.619	12.015	100.125	101.622	1.869	1.852
		0.639	12.446	103.717			
		0.624	12.123	101.025			
E		0.623	12.101	100.842	101.203	0.622	0.619
		0.623	12.101	100.842			
		0.629	12.231	101.925			

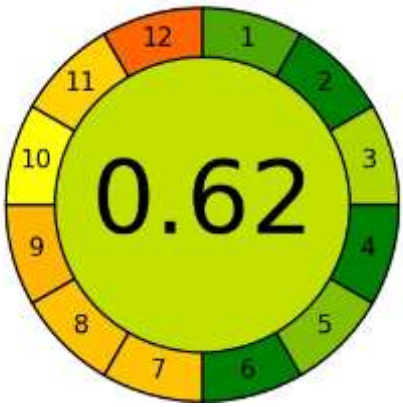
تقييم خضرة الطّريقة:

تمّ تقييم خضرة الطريقة بالاعتماد على أداتي Eco-scale, AGREE وكذلك تمّ تقييم طريقة HPLC منشورة في الأدبيات [7]، فتبيّن أن الطّريقة المستخدمة أكثر خضرة وصداقة للبيئة بالمقارنة مع طريقة HPLC المنشورة، حيث تعتمد أداة Eco-scale على تحديد نقاط جزاء لكل خطوة متبعة في الطريقة التحليلية من شأنها أن تقلل من خضرة الطريقة (استخدام كواشف سامة، تشكيل مخلفات أو نفايات، الحاجة إلى كميات كبيرة من الطاقة) ثمّ يتمّ طرح نقاط الجزاء من العدد 100 وبناءً على العدد الناتج من عملية الطرح يمكن تحديد مدى خضرة الطريقة المتبعة

أما أداة AGREE تعتمد على تقييم خطوات الطريقة التحليلية وفقاً لمبادئ الكيمياء التحليلية الخضراء الاثني عشر حيث يعطى تقييم عددي بين 0–1 لمدى اتباع الطريقة التحليلية لكل مبدأ يتمّ بعدها تمثيل النتيجة بشكل بياني يشبه الساعة تحتوي في منتصفها على التقييم العددي الكلي وعلى لون يدل على مدى خضرة هذه الطريقة[15].

امتلكت الطريقة التحليلية المدروسة درجة أقرب الى الواحد (في نظام AGREE)، حيث تم الاعتماد على برنامج حاسوبي يدعى AGREE للحصول على النتائج الموضحة في الأشكال (4)، (5).

الشكل (4) أداة Agree لتقييم خضرة الطريقة المدروسة



الشكل (5): أداة Agree لتقييم خضرة طريقة HPLC المنشورة

وعدد نقاط أقرب الى المئة (في نظام Eco- scale) كما هو موضح في الجداول (9)، (10)

الجدول (9): أداة Eco-scale لتقييم خضرة الطريقة المدروسة

الكواشف (الطريقة المتبعة)	
الكمية	1
الخطورة	2
4 =2*2*1	
الآلات والأجهزة	
الطاقة	0
المخاطر المهنية	3
النفايات	3
معالجة النفايات	3
87=13−100	

الجدول (10): أداة Eco-scale لتقييم خضرة طريقة HPLC المنشورة

الكواشف (طريقة HPLC المنشورة)	
الكمية	2
الخطورة	3
12 =3*2*2	
الآلات والأجهزة	
الطاقة	0
المخاطر المهنية	3
النفايات	3
معالجة النفايات	3
77=23−100	

المناقشة Discussion:

يعدّ الإيمباغليفلوزين من الأدوية المستخدمة لعلاج داء السكري من النمط الثاني ويؤمن حماية قلبية وكلوية، لا يوجد طريقة دستورية لمعايرة الإيمباغليفلوزين في المستحضرات الصيدلانية، لكن هناك بعض الطرق المذكورة في المراجع الأدبية تعتمد على تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC والتي تحتاج كميات كبيرة نسبياً من المذيبات العضوية غالية الثمن وغير صديقة للبيئة.

في هذا البحث تمت مقايسة الإيمباغليفلوزين كمادة أولية وفي أشكاله الصيدلانية، بعد إجراء مسح طيفي لمحلول الإيمباغليفلوزين ذو التركيز 20 ppm في مجال الأشعة فوق البنفسجية (200-380) nm لتحديد طول موجة الامتصاص الأعظمي والذي أبدى قمة امتصاص عند طول الموجة 223 nm.

تمَّ التأكد من مصدوقية الطريقة وفقاً لتوصيات المؤتمر العالمي للموائمة The International Council of hominization (ICH) تحت الشروط التجريبية المدروسة حيث تراوحت الخطية بين (20−4 ppm) بمعامل ارتباط R^2=0.9998، كما تمت دراسة عدة مقاييس وهي المضبوطية والدقّة والنوعية والمتانة وتبيّن أن نتائج هذه الاختبارات كانت مقبولة مما يدل أن الطريقة ذات مصدوقية جيدة، وصديقة للبيئة حيث أنّ المذيبات المستخدمة (الايتانول 70%) تتميز بمأمونيتها وخضرتها، بعيداً عن الاشتقاق الكيميائي المستهلك للكواشف والمذيبات السامّة بمعظمها. وكانت نتائج مقايسة الإيمباغليفلوزين في المضغوطات المتوفرة في السوق السورية ضمن الحدود المقبولة دستورياً كما تم تقييم الخضرة حيث يظهر من أدوات تقييم الخضرة المستخدمة أن الطريقة المتبعة أكثر خضرة من طريقة HPLC المنشورة وذلك يعود لاستخدام الإيتانول الطبي كمذيب مقارنة مع الطور المتحرك في طريقة HPLC المعتمد بشكل رئيس على الميتانول وزمن تحليل قدره عشرون دقيقة.

الاستنتاجات Results:

تمت مقايسة الإيمباغليفلوزين كمادة أولية وفي المستحضرات الصيدلانية بنجاح بالاعتماد على قياس امتصاصها عند طول الموجة 223 nm، حيث كانت جميع العينات المدروسة في السوق السورية ضمن الحدود المسموح بها حسب دستور الأدوية الأمريكي.

تميزت هذه الطريقة بأنها خضراء وصديقة للبيئة لا تحتاج إلى مذيبات سامة أو كواشف مرتفعة الثمن أو أجهزة غير متوفرة كما أنها تتميّز بالبساطة دون الحاجة لإجراءات معقدة كالاستخلاص أو تحضير وقاءات، واعتمدت على مذيبات صديقة للبيئة، حيث يعد الإيتانول 70% من المذيبات الخضراء المتوفرة في جميع المخابر وغير المكلفة نسبياً وآمنة للمحلل وتصلح هذه الطريقة لإجراء التحاليل الروتينية في مخابر الرقابة الدوائية.

التمويل: هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

References :

1. Heise T, et al. Acute Pharmacodynamic Effects of Empagliflozin With and Without Diuretic Agents in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Clinical Therapeutics. 2016;38(10):2248-2264.e5. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.clinthera.2016.08.008
2. Häring HU, et al. Empagliflozin as add-on to metformin in patients with type 2 diabetes: A 24-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Diabetes Care. 2014;37(6):1650–9.
3. Chu C, Lu YP, Yin L, Hocher B. The SGLT2 Inhibitor Empagliflozin Might Be a New Approach for the Prevention of Acute Kidney Injury. Kidney Blood Press Res. 2019;44(2):149–57.
4. Shubrook JH, Bokaie BB, Adkins SE. Empagliflozin in the treatment of type 2 diabetes: Evidence to date. Drug Des Devel Ther. 2015;9:5793–803.
5. Niguram P, Polaka SN, Rathod R, Kalia K, Kate AS. Update on compatibility assessment of empagliflozin with the selected pharmaceutical excipients employed in solid dosage forms by thermal, spectroscopic and chromatographic techniques. Drug Development and industrial in pharmacy. 2020;46(2):209–18. Available from: http://dx.doi.org/10.1080/03639045.2020.1716371
6. Hanif AM, et al. Empagliflozin: HPLC based analytical method development and application to pharmaceutical raw material and dosage form. Pak. J. Pharm. Sci. 2021;5(3(Supplementary)):1081–7.
7. Siridevi M, Kumar H, Rao S and Rao V. RP-HPLC Method for Quantification of Empagliflozin in Pharmaceutical Formulation. Asian J. Pharm. Tech. 2019; 9(3):208-211.
8. Bartoli E, Fra GP, Schianca GPC. European Journal of Internal Medicine The oral glucose tolerance test (OGTT) revisited. Eur J Intern Med [Internet]. 2011;22(1):8–12. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.ejim.2010.07.008
9. Ayoub B, El Zahar N, Michel H, Tadros M. Economic Spectrofluorometric Bioanalysis of Empagliflozin in Rats' Plasma. Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2021;2021(1):1-7
10. Sushil P. Development and Validation of Simple UV-Spectrophotometric Method for the Determination of Empagliflozin. Asian J Pharm Anal. 2017;7(1):18–22.
11. Ayoub BM. Development and validation of simple spectrophotometric and chemometric methods for simultaneous determination of empagliflozin and metformin: Applied to recently approved pharmaceutical formulation. Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy . 2016;168:118–22.
12. Sen AK ,et al. Novel UV Spectroscopic Methods for Simultaneous Assessment of Empagliflozin , Linagliptin and Metformin in Ternary Mixture. 2022;56(4):669–81.
13. Sarkar A, Karan J, Kaushik P, Narayanan N, Gupta S. Green Metric Tools for Greenness Assessment of Analytical Methods. AGRI JOURNAL WORLD. 2024;4(5):25–30.
14. Armenta S, Garrigues S, Guardia M. Green Analytical Chemistry. TrAC - Trends in Analytical Chemistry. 2008;27(6):497–511.
15. Pena-Pereira F, Wojnowski W, Tobiszewski M. AGREE-Analytical GREEnness Metric Approach and software. Anal Chem. 2020;92(14):10076-10082.

	طريقة طيفية ضوئية خضراء لتحديد الإيمباغليفلوزين....	يونس وحليمة والتيناوي و السيدعلي