



جامعة كربلاء

التقدير الكروماتوغرافي والطيفي لبعض الأدوية المضادة للاكتئاب
رسالة مقدمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة كربلاء وهي جزء من متطلبات نيل شهادة
الماجستير في علوم الكيمياء

إسراء محمد محسن حيدر

بكالوريوس تربية كيمياء – جامعة كربلاء 2019

بإشراف

الاستاذ المساعد الدكتور

علا مهدي عبد علي

الاستاذ الدكتور

عبد الباري مهدي ماهود

1444 هـ

م 2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

اللَّهُ نُورُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ ۚ مَثَلُ نُورِهِ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا
مِصْبَاحٌ ۚ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ ۚ الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ
دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ مُبَارَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيَّةٍ وَلَا
غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ ۚ نُورٌ
عَلَى نُورٍ ۚ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ مَن يَشَاءُ ۚ وَيَضْرِبُ اللَّهُ
الْأَمْثَالَ لِلنَّاسِ ۚ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ (٣٥)

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيِّ الْعَظِيمِ

سورة النور الاية (35)

قرار المشرف

نشهد أن أعداد هذه الرسالة الموسومة جرى بإشرافي في مختبر الكيمياء الطبية - كلية طب الاسنان-جامعة كركلاء
(التقدير الكروماتوغرافي والطيفي لبعض الأدوية المضادة للاكتئاب).

قد جرى تحت أشرافنا في قسم الكيمياء /كلية التربية للعلوم الصرفة جامعة كركلاء ، وهي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير
علوم الكيمياء للطالب (إسراء محمد محسن)

عضوًا ومشرفًا

عضوًا ومشرفًا

التوقيع:

التوقيع:

الاسم: أ.م. د. علا مهدي عبد علي

الاسم: أ. د. عبد الباري مهدي ماهود

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

المرتبة العلمية: الاستاذ الدكتور

العنوان: جامعة كركلاء /كلية التربية للعلوم الصرفة

العنوان: جامعة كركلاء /كلية الطب الاسنان

التاريخ: 2022/ / /

التاريخ: 2022/ / /

توصية السيد رئيس قسم الكيمياء

إشارة إلى التوصية المقدمة اعلاه من الأساتذتين المشرفين ، أرشح هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها

التوقيع:

الاسم: أ. م. د. ساجد حسن كزار

المصوب: رئيس قسم الكيمياء

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

إقرار المقوم اللغوي

أشهد أني قومت رسالة الماجستير الموسومة: (التقدير الكروماتوغرافي والطيفي لبعض الأدوية المضادة للاكتئاب) لغويا , في كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء , وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير .

التوقيع :

الاسم : مكيه هادي اطلاقاني
المرتبة العلمية : أستاذاً مساعد دكتور
العنوان : جامعة كربلاء - كلية العلوم الإسلامية

التاريخ 27 / 11 / 2022

إقرار لجنة المناقشة

حن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين ادناه نشهد بأننا قد اطلعنا على الرسالة [التقدير الكروماتوغرافي الطيفي بعض الادوية المضادة للاكتئاب] المقدمة من قبل الطالب (إسراء محمد محسن) كجزء من متطلبات نيل درجة ماجستير / قسم الكيمياء ، وبعد اجراء المناقشة العلمية العلنية وجد ان الطالب مستوفي لمتطلبات الشهادة وعلية وصي بقبول الرسالة بتقدير (جيد جداً).

رئيس اللجنة

التوقيع:

الاسم: د. ساجد حسن كزار

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

مكان العمل : جامعة كربلاء ، كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ ٢٠ / ١١ / 2022

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: د. صفا مجيد حميد

المرتبة العلمية : الأستاذ المساعد دكتور

مكان العمل: جامعة الكوفة، كلية طب الاسنان

التاريخ / / 2022

عضو ومشرفا

التوقيع:

الاسم: علامهدي عبد علي

المرتبة العلمية : الأستاذ المساعد الدكتور

مكان العمل : جامعة كربلاء ، التربية للعلوم الصرفة

التاريخ / / 2022

عضو اللجنة

التوقيع:

الاسم: د. كاظم خلف هشام

المرتبة العلمية : الأستاذ المساعد الدكتور

مكان العمل: جامعة القاسم الخضراء ، كلية علوم البيئة

التاريخ . / / 2022

عضو ومشرفا

التوقيع:

الاسم: د. عبد الباري مهدي ماهود

المرتبة العلمية : الأستاذ الدكتور

مكان العمل: جامعة كربلاء ، كلية طب الاسنان

التاريخ / / 2022

مصادقة السيد عميد الكلية المحترم

التوقيع:

الاسم: أ.د. حميدة عيدان سلمان

المرتبة العلمية : أستاذ

المنصب: عميد كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ / / 2022

الاهداء

الى من اطعمني وسقاني وغمرني بفيض نعمه خالتي وحيبي
الى من كان مولده رحمة للعالمين وسفن النجاة..... رسول الله محمد واله الاطهار ... سندي
الى القلب الذي غمرني حبا وحنانا والدي اطال الله عمره
الى قطعة الفردوس وينبوع الحنان الذي لا ينضب امي الحبيبة اطال الله عمرها
الى سواعدي .. واحبائي .. واعزائي ... اخي واخواتي الاعزاء
الى الارواح والانفس النقية التي احاطتني و تحيطني عائلتي الكريمة
الى من ازاح عني ضباب الجهل بنور معرفته .. واضاء طريقي بنبراس علمه .. استاذي
الكريمين الدكتور عبد الباري مهدي ماهود والاستاذ مساعد الدكتورة علا مهدي عبد
علي.

الى كل من يهمة نجاحي..... لهم اهدي جمدي المتواضع

إسراء

الشكر والتقدير

أسجد حمدا وشكرا لله الذي يسر لي أمري ومنحني العزم والصبر ووفقني واعانني على اتمام هذه الرسالة ، والصلاة والسلام على أفضل الخلق نبينا محمد وعلى اله الطيبين الطاهرين .
أتقدم بخالص الشكر والعرفان بالجميل إلى اساتذتي الدكتور عبد الباري مهدي ماهود.....لاقتراحه موضوع البحث . كما اتقدم بالشكر والعرفان للدكتورة علا مهدي عبدعلي لمساعدتها لي باخراج الرسالة بالشكل الامثل . وكان لجهودهم الكبيرة وما قدموه من جهد ونصح ومعرفة وسمو أخلاقهم أكبر الأثر في المساعدة على اتمام هذا العمل فجزاهم الله خير الجزاء. وأقدم وافر الشكر والتقدير إلى الاساتذة الكرام في عمادة كلية طب الاسنان / جامعة كربلاء وبالأخص السيد عميد الكلية الاستاذ المساعد الدكتور مهند صلاح عبدالستار. كذلك الشكر موصول إلى كل من ساندني وعلمني فجزاهم الله عني كل خير ، أمنياتي لهم بدوام الموفقية أجمل عبارات الشكر والتقدير لا بد أن تسبق حروفنا، وتنتهي سطورنا معبرة عن صدق المعاني والحمد لله رب العالمين الشكر والتقدير وعمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة كربلاء فلهم كل التقدير والاحترام النابعة من قلوبنا لكم .

الباحثة

إسراء

الخلاصة:

تضمن العمل (الرسالة) من جزئين رئيسيين :

الجزء الاول: الكروماتوغرافيا السائلة-أطور العكوس Rp-HPLC

تم تطوير طريقة دقيقة وحساسة وسريعة لتقدير الادوية كلورديازبوكسيد والديازيبام وأميتريبنتيلين وألبرازولام بحالتهما المفردة وكمزيج اذ تم الفصل باستخدام عمود الفصل الكروماتوغرافي نوع ODS- C18 وبابعاد (250 ملم× 4.6 ملم وقطر جسيمة الطور الساند 5 ملي ميكرو) وبدرجة حرارة 35 °م وبمعدل جريان 1.0 مللتر / دقيقة باستخدام نظام الازوكراتك للطور المتحرك . الطور المتحرك المستخدم يتكون من محولين منظم لايونات الفوسفات ثنائي الصوديوم مع محولين عضويين هما الميثانول واسيتونتريل بنسبة (40:30:30 v/v) وبدالة حامضية pH=4 , و باستخدام كاشف الاشعة فوق البنفسجية عند طول موجي 241nm . كان زمن الاحتجاز لعقار كلورديازبوكسيد هو 3.512 دقيقة و 3.275 دقيقة لدواء الديازيبام ، و 3.426 دقيقة لدواء أميتريبنتيلين و كذلك 3.703 دقيقة لعقار ألبرازولام . تم تقييم الطريقة من حساب الحدود الخطية (5-5) مايكروغرام / مل ومعامل الارتباط ($R^2=0.9988$) (6-48) مايكروغرام / مل (10-50) و ($R^2=0.9997$) و ($R^2=0.9996$) و ($R^2=0.9982$) لكل من كلورديازبوكسيد والديازيبام وال ألبرازولام وأميتريبنتيلين على التوالي، وكان الانحراف المعياري النسبي لكل من العقاقير اقل من 2% ، مع قيم واطئه لحدود الكشف (0.634 ، 0.616 ، 0.77 و 0.72) مايكروغرام / مل لكل من كلورديازبوكسيد والديازيبام وألبرازولام على التوالي، وحدود الكشف الكمي (1.922 و 1.868 و 2.57 و 2.50) مايكروغرام / مل لكل من كلورديازبوكسيد والديازيبام وأميتريبنتيلين وألبرازولام على التوالي، تم تطبيق الطريقة الكروماتوغرافية بصورتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية وكانت الاستيعادية بحدود (99.207-102.544) %، (99.046-100.858%)، (100.29-100.51%) (99.95-101.12%) لكل من كلورديازبوكسيد والديازيبام وألبرازولام وأميتريبنتيلين على التوالي.

أما الجزء الثاني : الطريقة الطيفية (الاقتران التأكسدي)

تم تطوير طريقة طيفية دقيقة وحساسة وبسيطة ، باستخدام تفاعلات الاكسدة والاختزال حيث شملت تقدير بعض الادوية النفسية في الفقرة الأولى ومنها كلورديازبوكسيد والديازيبام وألبرازولام وأميتريبنتيلين للتقدير الكمي بصورتها النقية وفي المستحضرات الصيدلانية.

تضمنت الطريقة تقدير كل عقار بشكل منفرد عن طريق مفاعله مع الكاشف 3-ميثيل-2-بنزوثيرازولون هيدرازين هيدروكلوريد هيدرات بوجود العامل المؤكسد (كلوريد الحديد الثلاثي) وفي وسط حامضي قوي . اجريت الاختبارات الاولية لتحديد الظروف الملائمة للحصول على حساسية . وتم قياس الطول الموجي الاعظم للمعقد الملون المتكون هي كلورديازبوكسيد 663nm , الديازيبام=609 , أميتريبتيلين=630nm , ألبرازولام =619nm, وكذلك تم دراسة الظروف المثلى للحصول على أعلى شدة للامتصاصية ، وكانت حدود قانون بير ضمن مدى التركيز (5-30) ميكروغرام /مل لعقاقير الديازيبام وألبرازولام وال أميتريبتيلين أما كلورديازبوكسيد (5-25)ميكروغرام / مل وبمعامل الارتباط لكل عقار ألبرازولام وأميتريبتيلين الديازيبام و كلورديازبوكسيد (0.9979,0.9965,0.9980,0.9997) على التوالي، ومن خلال قيم معامل الامتصاص المولاي وحساسية ساندال للمقد المتكون والتي كانت تساوي ، $(5.575 \times 10^3, 3.359 \times 10^3, 7.565 \times 10^3 \text{ و } 7.157 \times 10^3)$ لتر/مول.سم² (0.054,0.085، 0.041، 0.039) ميكروغرام / سم² على التوالي، اظهرت الطريقة حساسية عالية. وكان الانحراف المعياري النسبي لكل من العقار اقل من 2% ، ، حدود الكشف للادوية هي (1.779 1.739 , 0.877 و 1.757) مايكروغرام/مل وحدود الكشف الكمية هي (2.924 ، 2.464 ، 5.930 ، 5.857) مايكروغرام/مل كلورديازبوكسيد والديازيبام وألبرازولام وأميتريبتيلين على التوالي. عن طريق النتائج المذكورة فان هذه الطريقة ذات دقة وضبط عاليين وبالتالي تم تطبيقها في تقدير هذه الأدوية في حالتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية.

المحتويات

رقم الصفحة	العنوان	الفقره
الفصل الأول المقدمة		
1	الفصل الكيميائي	(1-1)
1	تقنية الفصل الكروماتوغرافي	(2-1)
3	نشأة طرق الفصل الكروماتوغرافي و كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء (HPLC)	(1-3)
5	أنواع الفصل الكروماتوغرافي بناء على القطبية	(4-1)
5	كروماتوغرافيا الطور الاعتيادي Normal phase chromatography	(1-4-1)
7	كروماتوغرافيا السائلة ذات الاداء العالي (الطور العكوس) Reverse phase chromatography	(2-4-1)
11	التطبيقات العامة للتقنية الكروماتوغرافية عالية الاداء ذات الطور العكوس High-performance liquid chromatography reverse phase	(5-1)
12	الإشعاع الكهرومغناطيسي	(6-1)
12	التحليل الطيفي المرئي و فوق البنفسجي Ultraviolet and Visible Spectroscopy	(7-1)
13	القوانين الكمية للامتصاص Quantitative Absorption Laws	(8-1)
13	قانون بيير- لامبرت Lambert –Beer Law	(1-8-1)
15	لمحة اونبذة عامه عن الدواء	(9-1)
16	تحليل الأدوية	(10-1)
16	الادوية المستخدمة في الدراسة	(11-1)
16	كلورديازبوكسيد Chlordiazepoxide	(1-11-1)
17	الديازيبام DIAZEPAM	(2-11-1)
18	ألبرازولام Alprazolam	(3-11-1)
19	أميتريبتيلين Amitriptyline	(4-11-1)

21	الدراسات السابقة	(12-1)
21	الدراسات السابقة في طرائق تقدير لادوية كلورديازبوكسيد الديازيبام وألبرازولام وأميتريببتيلين بالطريق الكروماتوغرافيا العكوسة	(1-12-1)
25	طرائق تقدير لادوية كلورديازبوكسيد الديازيبام وألبرازولام وأميتريببتيلين بالطريق الطيفية Uv- visible	(2-12-1)
30	الهدف من البحث	(13-1)

الفصل الثاني الجزء العملي Experimental

30	الاجهزة المستخدمة	1-2
30	الادوية و المواد الكيميائية	2-2
32	محاليل المواد المستخدمة للطريقة الطيفية	3-2
32	تحضير محلول 0.100M من حامض الهيدروكلوريك	1-3-2
32	تحضير 0.100 M من محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH	2-3-2
32	تحضير 0.010 M من صوديوم داي هيدروجين فوسفيت (NaH ₂ PO ₄)	3-3-2
32	تحضير الطور المتحرك ذو دالة حامضية (pH=4) لجهاز HPLC	4-3-2
33	تحضير محلول قياسي لعقاقير كلورديازيبوكسيد و أميتريببتيلين و ألبرازولام ذا تركيز 100µg/mL و ديازيبام 120µg/mL لجهاز HPLC	5-3-2
33	فصل الخليط المكون من العقاقير كلورديازيبوكسيد وال أميتريببتيلين وال ألبرازولام 100 µg/mL و ديازيبام 120 µg/mL	6-3-2
33	تحضير محاليل المستحضرات الصيدلانية	4-2
34	تحضير محلول للمستحضرات الصيدلانية لجهاز HPLC	1-2-4
35	بناء منحنى المعايرة للعقاقير كلورديازيبوكسيد و أميتريببتيلين ألبرازولام 100 µg/m L و ديازيبام 120 µg/mL	2-4-2
35	الطريقة تحضير محلول قياسي للمستحضرات الصيدلانية كلورديازيبوكسيد ، ديازيبام ، ألبرازولام ، أميتريببتيلين لجهاز UV - Vis	3.4.2
36	محاليل المواد المستخدمة في جهاز الأشعة فوق البنفسجية والمرئية ذو حزمة مزدوجة UV-Visible	5-2
36	تحضير كلوريد الحديدك FeCl ₃	1-5-2

36	تحضير 3-ميثيل -2-بنزوثيرازول نون هيدرازين هيدروكلوريد هيدرات ذو تركيز $1.12 \times 10^{-2} \text{ M MBTH}$	2-5-2
36	تحضير محلول البلاتك للجهاز UV-Visible	3-5-2
36	تقدير محلول القياسي لعقاقير كلورديازيبوكسيد و ديازيبام ألبرازولام للجهاز UV-Visible	4-5-2
37	مواد السواغ المضافات Excipients	6-2
Chapter Three Discussion and Conclusion فصل الثالث المناقشة الاستنتاج		
38	النتائج والمناقشة للطريقة الكروماتوغرافيا	1.3
38	الدراسة النوعية Qualitative Study	1-1-3
38	مبدأ العمل Preliminary investigation	2-1-3
39	الظروف المثلى للتجربة	3-1-3
39	تأثير معدل تدفق الطور المتحرك	1-3-1-3
41	تأثير الاس الهيدروجيني	2-3-1-3
47	تأثير نسب المحور العضوي في فصل الادوية الاربعة	3-3-1-3
48	بناء منحنى المعايرة لادوية من كلورديازيبوكسيد و ديازيبام وأميتربيتيلين والبرازولام	4-1-3
51	المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية	5-1-3
52	الدقة و الضبط الطريقة المقترحة	1-5-1-3
58	تطبيقات الطرق المقترحة في المستحضرات الصيدلانية	6-1-3
64	النتائج والمناقشة للطريقة الطيفية Result and discussion for Spectrophotometric method	2-3
64	أطياف المركبات The Spectra of Complexes	1-2-3
66	دراسة منحنى المعايرة للمعقدات	2-2-3
68	الفضلي لتكوين المعقد للحصول على اعلى شدة للامتصاصية دراسة الظروف	3-2-3
68	دراسة تأثير التغير في حجوم تركيز ثابت من الكاشف MBTH على شدة المعقد	1-3-2-3

69	دراسة تأثير التغير في حجم ذوت تركيز ثابت من الكاشف $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ على شدة المعقد الناتج	2-3-2-3
70	تأثير دراسة محلول المنظم pH	3-3-2-3
71	تأثير دراسة استقرارية المعقد مع الزمن	4-3-2-3
71	تأثير دراسة درجة الحرارة	5-3-2-3
72	تأثير ترتيب الاضافة	6-3-2-3
73	تحديد نسبة الدواء :الكاشف	4-2-3
73	دراسة طريقة النسبة المولية	1-4-2-3
76	طريقة التغيرات المستمرة (طريقة جوب)	2-4-2-3
78	دراسة حساب ثابت الاستقرارية محاليل المعقدات	3-4-2-3
79	حسابات معامل الامتصاص وحساسية ساندل	5-2-3
80	حساب الدقة و الضبط Precision and accuracy	6-2-3
82	قياس حد الكشف والكشف الكمي Calculation of Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ)	7-2-3
84	تحضير محلول العينة Preparation of sample solution	8-2-3
85	دراسة تأثير المتداخلات Effect of Excipients	9-2-3
87	مقارنة بين الطريقة المقترحة في المستحضرات الصيدلانية والطريقة القياسية	10-2-3
89	الاستنتاج Conclusion	4-3
90	التوصيات Recommendations	5-3
91	المصادر	

قائمة الجداول

Page	Title	NO.
2	تصنيف تقنيات الكروماتوغرافية	1-1
17	الجدول يبين الخصائص العامة كلورديازبوكسيد	2-1
18	الجدول يبين الخصائص العامة لعقار ديازيبام	3-1
19	الجدول يبين الخصائص العامة لعقار البرازولام	4-1
20	الجدول يبين الخصائص العامة لعقار أميتريبتيلين	5-1
31	يوضح الاجهزة المستخدمة	1-2
32	الأدوية والمواد الكيميائية المستخدمة	2-2
35	المستحضرات الصيدلانية للأدوية المستخدمة	3-2
38	يوضح مواد السواغ (المضافات)	2-4
40	عرض ظروف التشغيل لكل من CH و DIZE و AM و ALP	1-3
41	تأثير معدل التدفق على زمن الاحتجاز لعقار CH بتركيز مايكروغرام /مل 100	3-2
42	يوضح تأثير معدل التدفق على زمن الاحتجاز لعقار DIZE ذو تركيز 120 µg/mL	3-3
42	تأثير معدل التدفق على زمن الاحتجاز لعقار AM ذا تركيز مايكروغرام / مل	4-3
42	يوضح تأثير معدل التدفق على زمن الاحتجاز لعقار ALP ذو تركيز 100µg/mL	5-3
43	يوضح تأثير pH على زمن بتركيز CH 100µg/mL	6-3
44	يوضح تأثير الاس الهيدروجيني على زمن الاحتجاز لعقار DIZE بتركيز 120 µg / mL	7-3
45	تأثير (pH) على زمن الاحتجاز لعقار AM بتركيز 100µg/mL	8-3
46	يوضح تأثير pH على زمن الاحتجاز لعقار ALP بتركيز 100µg/mL	9-3
48	تأثير نسب المكونات في الطور المتحرك	10-3
53	المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية لعقار كلورديازيبوكسيد	11-3
53	المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية لعقار ديازيبام	12-3
54	المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية لعقار أميتريبتيلين	13-3

54	المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية لعقار ألبرازولام	14-3
55	معدل النتائج التي تم حصول عليها لثلاث تراكيز مختلفة من عقار CH.	15-3
56	معدل النتائج التي تم حصول عليها لثلاث تراكيز مختلفة من عقار DIZE	16-3
58	معدل النتائج التي تم حصول عليها لثلاث تراكيز مختلفة من عقار AM	17-3
59	معدل النتائج التي تم حصول عليها لثلاث تراكيز مختلفة من عقار ALP	18-3
61	نتائج تطبيق للطريقة المقترحة على بعض المستحضرات الصيدلانية كلورديازيبوكسيد وال أميتريبتيلين وال ألبرازولام ديازيبام	19-3
67	القيم التحليلية المتعلقة لقياس الامتصاصية الالارية وحساسية سنل للطريقة الطيفية في تقدير المركبات الدوائية	20-3
71	تأثير الدوال الحامضية لدواء CH بتركيز $2 \mu\text{g} / \text{mL}$ مع البلاك	21-3
74	تأثير ترتيب الاضافة ل كلورديازيبوكسيد وال أميتريبتيلين وال ألبرازولام ديازيبام ذو تركيز $10 \mu\text{g}/\text{mL}$	22-3
75	يمثل طريق النسب المولية لحساب النسبة التفاعلية بين الادوية الاربعة المثبة في الجدول مع الكاشف MBTH	23-3
77	يمثل طريق جوب لحساب النسبة التفاعلية بين الادوية الاربعة المثبة في الجدول مع الكاشف MBTH	24-3
79	حساب درجة التفكك وثابت الاستقرارية للمعقد المتكون	25-3
82	الطريقة المقترحة لتعين الدقة والضبط دواء الكلورديازيبوكسيد	26-3
82	الطريقة المقترحة لتعين الدقة والضبط لعقار ديازيبام	27-3
82	الطريقة المقترحة لتعين الدقة والضبط لعقار أميتريبتيلين	28-3
83	الطريقة المقترحة لتعين الدقة والضبط لعقار البرازولام	29-3
83	القيم التحليلية المتعلقة بمنحني المعايرة للطريقة الطيفية لتقدير داوع CH	30-3
83	القيم التحليلية المتعلقة بمنحني المعايرة للطريقة الطيفية لتقدير داوع DIZE	31-3
84	القيم التحليلية المتعلقة بمنحني المعايرة للطريقة الطيفية لتقدير داوع AM	32-3
84	القيم التحليلية المتعلقة بمنحني المعايرة للطريقة الطيفية لتقدير داوع ALP	33-3
85	نتائج تطبيق للطريقة المقترحة على بعض المستحضرات الصيدلانية ل CH,DIZE ,AM ,ALP	34-3
86	تأثير المتداخلات على الادوية الاربعة كل منها بتركيز $20 \mu\text{g}/\text{mL}$ كلورديازيبوكسيد ،ديازيبام أميتريبتيلين ،ألبرازولام	35-3

قائمة الاشكال

Page	Title	NO .
5	يوضح الترابط الحاصل بين دقاتق السليكا مع السلسة الهيدروكربونية	1-1
5	الترابط الناتج بين دقاتق السليكا مع السلسلة الهيدروكربونية المحتوية ل , C8C18	2-1
6	يوضح سطح السليكا	3-1
7	يبين سطح السليكا قبل وبعد صوله لمرحلة النهائية	4-1
9	يوضح مكونات جهاز كروماتوغرافيا السائل	5-1
10	رسم توضيحي لالية العمل كروماتوغرافيا الطور الاعتيادي (لانظرية المنافسة وتأثر المذيب لاحتجاز المادة المحللة) .	6-1
13	توضيح لأقسام الاطياف الكهرومغناطيسي	7-1
14	شكل يوضح امتصاصية العينة للإشعاع	8-1
16	شكل يوضح العلاقة البيانية بين التركيز والامتصاصية	9-1
40	مخطط يمثل حساب عامل التناظر	1-3
42	يوضح تأثير pH=4 زمن الاحتجاز لعقار CH بتركيز 10µg/mL	2-3
42	يوضح تأثير pH=5 على زمن الاحتجاز لعقار CH بتركيز 10 µg/mL	3-3
43	يوضح تأثير pH=6 على زمن الاحتجاز لعقار CH بتركيز 10 µg/mL	4-3
43	يوضح تأثير pH=4 على زمن الاحتجاز لعقار DIZE بتركيز 20 µg/mL	5-3
43	يوضح تأثير pH=5 على زمن الاحتجاز لعقار DIZE بتركيز 20 µg/mL	6-3
44	يوضح تأثير pH=6 على زمن الاحتجاز لعقار DIZE بتركيز 20 µg/mL	7-3
44	يوضح تأثير pH=4 على زمن الاحتجاز لعقار AM بتركيز 01 µg/mL	8-3
45	يوضح تأثير pH=5 على زمن الاحتجاز لعقار AM بتركيز 10µg/mL	9-3
45	يوضح تأثير pH=6 على زمن الاحتجاز لعقار AM بتركيز 10µg/mL	10-3

46	يوضح تأثير pH=4 على زمن الاحتجاز لعقار ALP بتركيز 10µg/mL	11-3
46	يوضح تأثير pH=5 على زمن الاحتجاز لعقار ALP بتركيز 10µg/mL	12-3
46	يوضح تأثير pH=6 على زمن الاحتجاز لعقار ALP بتركيز 10µg/mL	13-3
47	توضيحي لتأثير نسب المكونات في الطور المتحرك في فصل الادوية الاربعة	14-3
48	توضيحي لتأثير نسب المكونات في الطور المتحرك في فصل الادوية الاربعة	15-3
48	توضيحي لتأثير نسب المكونات في الطور المتحرك في فصل الادوية الاربعة	16-3
49	منحني المعايرة لتقدير عقار CH وحسب الطريقة Rp-HPLC	17-3
49	منحني المعايرة لتقدير عقار DIZE	18-3
50	يمثل منحني المعايرة لتقدير عقار AM	19-3
50	منحني المعايرة لتقدير عقار ALP وحسب الطريقة Rp-HPLC	20-3
55	كروماتوغرام التركيز 5µg/mL لعقار كلورديازيبوكسيد.	21-3
55	كروماتوغرام التركيز 30µg/mL لعقار كلورديازيبوكسيد	22-3
53	كروماتوغرام التركيز 50µg/mL لعقار كلورديازيبوكسيد.	23-3
54	كروماتوغرام التركيز 6µg/mL لعقار DIZE	24-3
55	كروماتوغرام التركيز 24µg/mL لعقار DIZ	25-3
55	كروماتوغرام التركيز 48µg/mL لعقار DIZE	26-3
56	كروماتوغرام التركيز 10µg/mL لعقار AM	27-3
56	كروماتوغرام التركيز 30µg/mL لعقار AM	28-3
56	كروماتوغرام التركيز 50µg/mL لعقار AM.	29-3
57	كروماتوغرام التركيز 20µg/mL لعقار ALP.	30-3
58	كروماتوغرام التركيز 30µg/mL لعقار ALP	31-3
58	كروماتوغرام التركيز 50µg/mL لعقار ALP .	32-3
59	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني كلورديازيبوكسيد ذو تركيز 5µg/mL	33-3
60	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني كلورديازيبوكسيد ذو تركيز 30µg/mL	34-3
60	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني كلورديازيبوكسيد 50µg/mL	35-3
60	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني (الديازيبام) ذو تركيز 6µg/mL	36-3
60	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني (الديازيبام) ذو تركيز 24µg/mL	37-3

61	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني (الديازيبام) ذو تركيز 48 µg/mL	38-3
61	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني الأميتريبيتيلين ذو تركيز 10 µg/mL	39-3
62	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني الأميتريبيتيلين ذو تركيز 30 µg/mL	40-3
62	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني الأميتريبيتيلين ذو تركيز 50 µg/mL	41-3
62	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني الألبرازولام ذو تركيز 20 µg/mL	42-3
63	كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني الألبرازولام ذو تركيز 30 µg/mL	43-3
65	طيف معقد كلورديازيبوكسيد بتركيز 20 µg/ml	44-3
66	طيف معقد ديازيبام بتركيز 20µg /mL	45-3
66	طيف معقد أميتريبيتيلين بتركيز 10µg /mL	46-3
66	طيف معقد ألبرازولام بتركيز 10µg /mL	47-3
68	منحني المعايرة لتقدير دواء كلورديازيبوكسيد	48-3
68	منحني المعايرة لتقدير دواء ديازيبام	49-3
69	منحني المعايرة لتقدير دواء أميتريبيتيلين	50-3
69	منحني المعايرة لتقدير دواء ألبرازولام	51-3
70	تأثير حجوم مختلفة من MBTH بتركيز على شدة المعقد الناتج للعقاقير الأربعة (1.12×10 ⁻² M)	52-3
71	دراسة تأثير حجوم مختلفة من FeCl ₃ بتركيز على شدة المعقد الناتج للعقاقير الأربعة CH ,DIZE ,AM ,ALP	53-3
72	2 µg / mL تأثير الزمن في الامتصاصية لمحاليل معقدات قيد الدراسة ذو تركيز MBTH FeCL ₃ مع الكاشف	54-3
73	تأثير درجة الحرارة في الامتصاصية لمحاليل المعقدات المحضرة قيد الدراسة	55-3
76	النسب المولية لدواء CH مع الليكاند MBTH	56-3
77	النسب المولية لدواء DIZE مع الليكاند MBTH	57-3
78	النسب المولية لدواء AM مع الليكاند MBTH	58-3
78	النسب المولية لدواء ALP مع الليكاند MBTH	59-3
79	يوضح التغيرات المستمرة (جوب) للمعقد DIZE مع الليكاند MBTH	60-3
79	يوضح التغيرات المستمرة (جوب) للمعقد CH مع الليكاند MBTH	61-3

84	للمعقد يوضح التغيرات المستمرة جوب AM مع الليكاند MBTH	62-3
85	للمعقد يوضح التغيرات المستمرة جوب ALP مع الليكاند MBTH	63-3

قائمة المختصرات

Title	Symbol
الاشعة فوق البنفسجية	Uv
اسيتونتريل	AC
شدة الاشعاع الساقط	I_0
قدرة الاشعاع النافذ	I
طول المسار	b
الامتصاصية	A
معامل الامتصاص المولاري	ϵ
التركيز	C
الطول الموجي الاعظم	λ_{max}
كروماتوكرافيا السائل	LC
كروماتوكرافيا الغاز- السائل	GLC
كروماتوكرافيا السائل فوق الحرج	SFC
كروماتوكرافيا السائل عالي الاداء	HPLC
كروماتوكرافيا السائل- الطور الطبيعي	NP-HPLC
كروماتوكرافيا السائل عالي- الطور العكوس	RP-HPLC
كروماتوكرافيا التبادل الايوني	IEC
كروماتوكرافيا الاستثناء او الاستبعاد	SEC
مطيافية الاشعة تحت الحمراء	FT-IR
مطيافية التحليل الذري	AAS
جهاز الرنين النووي المغناطيسي	NMR
تقنية قياس الكتلة	MS

ثابت التفكك	pKa
حد الكشف	LOD
حد الكشف الكمي	LOQ
معامل الانحراف النسبي المنوي	RSD
الانحراف النسبي	SD
الخطأ النسبي	E%
زمن الاحتجاز	t _R
درجة التفكك	a
ثابت الاستقرار	K _{st}
اعظم امتصاص	A _m
معامل الارتباط	R ²
عامل التناظر	A _{max}
كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة	TLC
الشركة العامة لصناعة الادوية في سامراء	SDI
كلورديازبوكسيد Chlordiazepoxide	CH
الديازيبام DIAZEPAM	DIZE
ألبرازولام Alprazolam	ALP
أميتريبتيلين Amitriptyline	AM

Chemical Separation

(1- الفصل الكيميائي :

1)

الفصل الكيميائي: هو أي عملية تحول مادة كيميائية من شكل إلى آخر، كاستخلاص المواد المذابة من المواد السائلة. وتوجد عدة طرق وتقنيات معتمدة في الفصل الكيميائي، أهمها:

1- التقطير Distillation

2- الترشيح Filtration

3- التبخر Evaporation

4- الكروماتوغرافيا Chromatography

5- الاستخلاص Extraction

الكروماتوغرافيا هي إحدى الطرق الفصل المستخدمة في الكيمياء التحليلية والكروماتوغرافيا بكل أنواعها هي في الأساس تستخدم بهدف معرفة نوعية وكمية وعدد مكونات خليط ،

حيث يكون توزيع المكون المراد فصله بين طورين هي الطور يكون ساكن " Stationary Phase " وهذا الطور يكون ثابتا بعمود الفصل و الطور متحرك " Mobile Phase " وهو عبارة عن مذيب واحد او مزيج من المذيبات يمر من خلال الطور الثابت وغالبا يكون غاز او سائل حسب التقنية المستخدمة (1) . والطور الساكن يكون عادة مادة ذات مساحة سطحية كبيرة، أو سائل محمول على مادة صلبة خاملة (2) . وتعد الكروماتوغرافيا في اغلب الاحيان طرائق فصل وتقدير في آن واحد ، أي طرائق تحليلية مزدوجة. حيث تتميز طرائق الكروماتوغرافيا بالسهولة والسرعة ومحافظة على كيان المركبات المراد فصلها بالمقارنة مع طرق الفصل الاخرى ، هناك استخدامات كثيرة لتقنية الكروماتوغرافيا ، تستخدم لدراسة التفاعلات الكيماوية أو في الحصول على معلومات حول بعض الخواص الفزيوكيماوية(3-4) . وبشكل عام يكون تسمية الكروماتوغرافيا حسب نوع الطور المتحرك متبوعا في نوع الطور الثابت وعند حصول عملية الفصل فإن زمن الاحتجاز يكون مختلف في الطورين الثابت والمتحرك(5) .

(2-1) تقنية الفصل الكروماتوغرافي :

أن العملية الكروماتوغرافية تأخذ اسمها عادة من هذين الطورين كما في الجدول ادناه (1-1) يوضح تصنيف الطرق الكروماتوغرافيا

جدول (1-1) يوضح تصنيف تقنيات الكروماتوغرافية (6)

General Classification التصنيف العام	Stationary phase الطور الساكن	Type of equilibrium نوع الاتزان داخل العمود	Specific Method الطريقة النوعية (اسم الطريقة)
Liquid chromatography LC mobile phase: liquid الكروماتوغرافيا السائلة . الطور المتحرك	Liquid absorbed on a solid surface سائل ممتص على سطح صلب	Partition between immiscible liquid	Liquid-liquid or partition سائل - سائل التوزيع
	Solid صلب	Adsorption امتصاص	Liquid-solid or adsorption سائل -صلب الامتزاز
	Ion-exchange resin مبادل الايوني بوليمري	Ion exchange تبادل الايوني	Ion exchange التبادل الايوني
	Liquid in interstices of a polymeric solid سائل في فجوات بوليمر صلب	Partition / sieving التجزئية- النخل	Size exclusion الاحتباس
	Group specific liquid bonded to a solid surface مجموعة سائلة مترابطة مع سطح صلب	Partition between surface liquid and mobile liquid التجزئة بين سطح الطور السائل والطور المتحرك	Affinity التألف
Gas chromatography GC mobile phase: gas الكروماتوغرافيا الغاز . الطور المتحرك .غاز	Liquid adsorption on a solid surface سائل ممتز على سطح صلب	Partition between gas and liquid التجزئة بين غاز وسائل	Gas-liquid سائل -غاز
	Solid صلب	Adsorption امتزاز	Gas-solid صلب -غاز

Supercritical fluid chromatography SFC mobile phase: supercritical fluid الكروماتوغرافيا الموائع فوق الحرجة الطور المتحرك -موائع الحرجة	Organic species bonded to solid surface سوي مترابط مع صلب	Partition between supercritical fluid and bonded surface التجزئة بين سطح السوائل الحرجة وبين سطح مترابط	Supercritical الفوق الحرجة
---	--	--	-------------------------------

(3-1) نشأة طرق الفصل الكروماتوغرافي و الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC):

تم اكتشاف الكروماتوغرافيا من قبل عالم الروسي (ميكائيل تسيفت) Mikhail Tswееft الذي اخترع تقنية الكروماتوغرافيا عام 1900 عن طريق اجراء أبحاثه على مادة الكلوروفيل⁽⁷⁾ ، وقد استخدم عموداً لامتزاز ((ادمصاص)) السوائل يحتوي على كربونات الكالسيوم لفصل الأصباغ النباتية ((مثل الكلوروفيل والكاروتين)). تم تفسير هذه الطريقة للمرة الأولى في 30 ديسمبر عام 1901، في المؤتمر الحادي عشر لعلماء الطبيعة والأطباء. وقد تم استخدام مصطلح (chromatography) لأول مرة في عام 1906 في ورقتين بحثيتين من قبل العالم ميكائيل تسيفت **Mikhail Tswееft** وتم النشر في إحدى المجلات الألمانية لعلم النبات. تخليداً لأعماله التي اعتمد فيها على فصل كروماتوغرافيا والتي تعني حرفياً (الكتابة الملونة) على هذا النوع من الكيمياء الفيزيائي.

لقد تطورت تقنية الكروماتوغرافيا بشكل كبير خلال المدة (1940م – 1950) على يد العالمين (آرشر مارتنين) (Archer Martin) و (ريتشارد لورانس (Richard Laurence) مما أهلهما للفوز بجائزة نوبل للكيمياء عام 1952، الأمر الذي شجع على تطوي التحليل اللوني إلى وقتنا الحالي.⁽⁸⁾ اذ استمرت تسمية الكروماتوغرافيا إلى يومنا هذا ، على الرغم من أن اغلب استخداماتها ليست للمواد الملونة. بشكل عام ، يمكن القول أن الطرق الكروماتوغرافية تشمل توزيع المادة المراد فصلها بين طورين ، إحداها ثابتة والآخر متحرك.

- أذ تستعمل الكروماتوغرافيا لفصل كميات مايكروية وتقديرها من المركبات ، فضلا عن التحليل الكمي والنوعي يوجد استخدامات أخرى منها تحضيرية, Preparative، أي تحضير مواد ذات نقاوة عالية أو لتصفية أو لتنقية مواد أخرى تحتوي على شوائب غير مرغوب فيها، كما تستخدم أيضا في الحصول على معلومات تخص بعض الخواص الفيزيوكيميائية أو لدراسة التفاعلات الكيميائية . اذ ان الكروماتوغرافيا مصطلح عام يستخدم لوصف

تقنيات الفصل التي تعتمد على طبيعة المركبات الكيميائية يمكن أن تكون إما سائلة أو غازية أو مائع فوق الحرج. يعتبر HPLC على سبيل المثال هو أحد أنواع تقنية التحليل الكروماتوغرافيا والتي تستخدم لفصل وتحديد وقياس كل مكون في الخليط.. يعتمد مبدأ HPLC على ضخ مذيب سائل يجري من خلال عمود يحتوي على طور ثابت مستقر. الفكرة الرئيسية هنا ان عملية توزيع مكون من المكونات بين طورين هي عملية ديناميكية فكل جزيئة من جزيئات المكون تمر عادة بسرعة إلى الخلف و إلى الأمام بين الطورين وهذا الانتقال يصل بسرعة إلى حالة التوازن ويحصل التوازن عند تساوي الطاقة الحرة لجزيئات المكون بين الطورين وإن نشوء حالة التوازن تخضع لقانون نرنست قانون التجزؤ .⁽⁹⁾

الذي يمكن حسابه من المعادلة التالية:

$$Kd = C_s / C_m \quad \text{----- (2-1)}$$

أذ أن :

$Kd =$ معامل التوزيع أو معامل الاستخلاص

$C_s =$ التركيز المولاري للمكون في الطور الثابت

$C_m =$ التركيز المولاري للمكون في الطور المتحرك

وتعد كروماتوغرافيا السائل ذات الاداء العالي (HPLC) من أفضل التقنيات المستخدمة في عمليات الفصل وتقدير في صناعات المختلفة ولاهيتها الكبيرة فقد زادت الدراسات والبحوث بشكل كبير منذ اكتشافها ، ومن ميزات كروماتوغرافيا السائلة ذات الاداء العالي HPLC :-

- 1- ذا كفاءة وانتقائية وحساسية عالية واستعمالات واسعة.
- 2- تحتاج إلى كميات صغيرة جدا من النموذج .
- 3- غير تالفة للمادة المحللة او نموذج.
- 4- تكون سهلة التحليل والفصل و قياسها كميًا .
- 5- يمكنها تقبل نماذج غير طيارة وحراريا غير مستقرة.
- 6- يمكن تطبيقها بشكل عام على الايونات العضوية واللاعضوية .
- 7- تمتاز بسرعتها عالية في الفصل بالمقارنتها مع بقية طرق الفصل الكيميائي.⁽¹⁰⁾

تم تصنيف كروماتوغرافيا العمود حسب نوع القوى المسؤولة عن الفصل أو حسب القطبية إلى ما يأتي:

- 1- كروماتوغرافيا السائل العالي الأداء ذو الطور الاعتيادي "Normal phase HPLC"
- 2- كروماتوغرافيا السائل العالي الأداء ذو الطور العكوس "Reversed phase HPLC"
- 3- كروماتوغرافيا التبادل الأيوني "Ion-exchange HPLC" ⁽¹¹⁾

من شروط الطور الساكن (الصلب) في HPLC⁽¹²⁾ هي مادة قطبية ذات خواص إمتزازية جيدة وتعد الألومينا وهلام السيليكا من أكثر الأطوار اوالمواد استخداماً على الرغم من أن هناك الكثير من المواد التي يمكن استخدامها كطوراً ساكناً، اذ تتميز الألومينا بكونها اكثر قطبية واكثر فعالية، ولا يمكن استخدام الألومينا الامع مركبات ذات قطبية منخفضة، لان مركبات التي تكون قطبيتها عالية تمتز بشدة مع الألومينا أي يصعب فصلها او تخليصها بواسطة المذيب، ومن شروط التي يجب مراعاتها عند اختيار الطور الساكن هي :

- 1- أن لا يذوب أو لا يتأثر مع المذيبات (الطور المتحرك) .
- 2- أن لا يتفاعل كيميائياً مع مذيبات الطور المتحرك، أو مع بقية مكونات الخليط المراد فصلها.
- 3- أن تمتلك فعالية إمتزازية عالية وجيدة إذ تعتمد هذه الخاصية على التكوين الكيميائي للطور المستخدم
- 4- مساحة سطح حبيباته كبيرة بالنسبة لحجمها . ⁽¹²⁾

(4-1) أنواع الفصل الكروماتوغرافي بناء على القطبية⁽¹³⁾ :

1-4-1 كروماتوغرافيا الطور الاعتيادي: Normal phase chromatography

يشير مصطلح الطور الاعتيادي إلى إحدى الأشكال التقليدية لتقنية الكروماتوغرافيا ويعرف أيضا بكروماتوغرافيا سائل - الصلب او كروماتوغرافيا الامتزازية ، التي يكون فيها الطور الساكن الثابت "أشد قطبية" والطور المتحرك يكون "عديم القطبية"، وبالتالي تخرج المركبات اللاقطبية أولاً ، ومن ثم مركبات القطبية ، ولتحسين دقة وكفاءة الفصل يمكن زيادة قطبية الطور المتحرك وذلك بإضافة مذيبات أكثر قطبية بنسب معينة مثل الميثانول أو الأسيتونتريل بتركيز مناسب⁽²⁰⁾ . إن معظم أعمدة الكروماتوغرافيا بالطور الاعتيادي تستخدم دعامة سيليكا صرفة (سيليكا جل) وهي نوع من انواع NH₂ ومن صفاتها تكون ذو تركيب عضوي

حامضي و قطني⁽²¹⁾ ، او مصنوعة من الالومينا كمواد قطبية مرتبطة بالسليكا وتكون ضعيف القطبية من سطح السليكا، ويفضل الاستخدام دعامة السليكا وذلك نتيجة توافرها بكثرة ورخص ثمنها . إذ يتم الفصل فيها ضمن نظام الطور العادي معتمدا على قطبية المادة المراد فصلها ، إذ تتأثر المجاميع القطبية الموجودة على سطح الطور الساكن بتأثيرات ثنائي قطب ثنائي قطب او الترابط الهيدروجيني إذ يتم احتجاز الفصائل القطبية بسطح الطور الساكن (22-23) .

وهناك نظريتان لوصف ميكانيكية الاحتجاز في كروماتوغرافيا السائلة للطور الاعتيادي :-

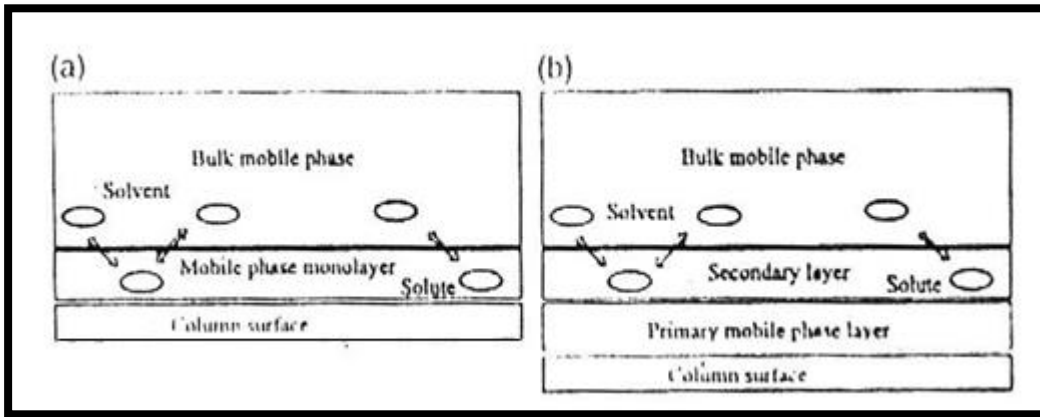
(1) نظرية المزاومة أو المنافسة "Competition Theory"

في هذا النظرية تتم تغطية السطح الكلي للطور الثابت بجسيمات الطور المتحرك ويحصل عملية الأمتزاز نتيجة المنافسة على مواقع الامتزاز adsorption sites بين جزيئات المذاب (نموذج) وجزيئات الطور المتحرك.

(2) نظرية تأثير المذيب "Solvent interaction Theory"

افتترضت هذه النظرية بتكون طبقتين من جزيئات المذيب حول دقائق الطور الثابت تعتمد على قطبية المذيب في الطور المتحرك . حيث يحدث الاحتجاز نتيجة تأثير جزيئة النظرية "المذيب" مع الطبقة الثانية لجزيئة الطور المتحرك الممتز.

وتعتبر هذه التقنية أقل استخداما بالمقارنة مع تقنية الطور العكوس وذلك بسبب قلة انتقائيتها وطول زمن استقرارها فضلا عن حاجة هذه التقنية الى مذيبات عالية النقاوة وخالية من المواد العضوية التي تمتص ضمن مدى تقنية الفوق بنفسجية⁽²⁴⁻²⁵⁾ . يمثل الشكل (5-1) رسما توضيحيا لأنموذج المنافسة وتأثير المذيب



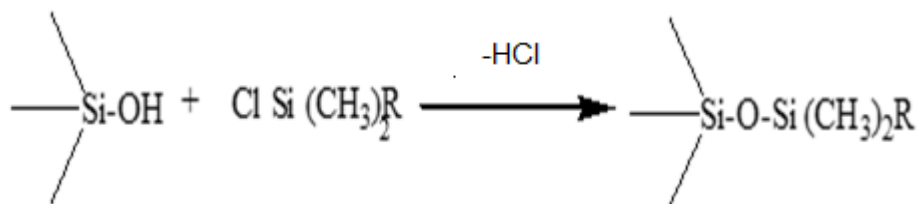
الشكل (6-1) رسماً توضيحياً لآلية العمل كروماتوغرافيا الطور الاعتيادي (لانظرية المنافسة وتأثير المذيب لاحتجاز المادة المحللة).

إذ لا يمكن استعمال المحاليل المنظمة و الماء كاطوار متحركة ، لأنها تقلل من نشاط مجموعة الهيدروكسيل الموجودة في مادة السليكا ، وهذا يؤدي إلى زيادة كلفة التحليل نتيجة ارتفاع اسعار المذيبات العضوية المستخدمة مقارنة بالطور المتحرك المستخدم في تقانة كروماتوغرافيا الطور العكوس Rp-HPLC (29-26)

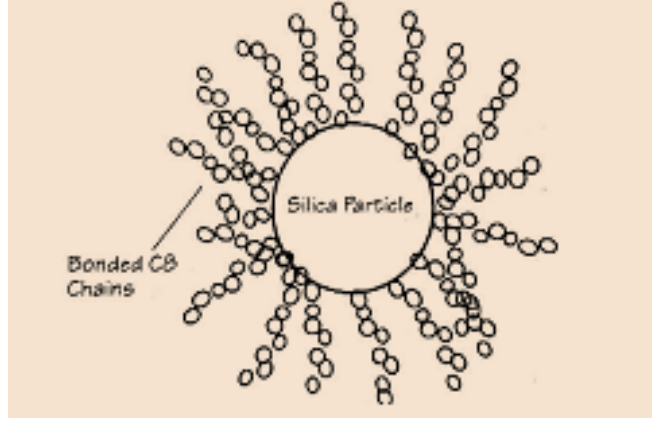
(2-4-1) كروماتوغرافيا السائلة ذات الاداء العالي (الطور العكوس) :

High-performance liquid chromatography (reverse phase)

وهي أحد أنواع الكروماتوغرافيا التوزيع⁽¹⁴⁾ و هي أيضا تعتبر من التقنيات الأكثر استخداما والأكثر شيوعا في التحليل او الفصل عند مقارنتها مع طرائق الكروماتوغرافية المعروفة . يكون الطور المتحرك قطبي أو معتدل القطبية وأما الطور الثابت يكون غير قطبي وتستخدم بشكل واسع في فصل المركبات التي تكون محبة للماء أو الكارهة للماء . وقد تم استخدامها بكثرة في السنوات الاخيرة حتى وصل استخدامها حوالي (80-90%) من عمليات الفصل الحديثة ، تستخدم في كروماتوغرافيا الطور العكوس طورا ثابتا متأصر كيميائيا مع الطور الساكن ، إذ تكون المجموعة الوظيفية متأصرة مع المجموعة العضوية وكما في المعادلات التالية⁽¹⁴⁾ .

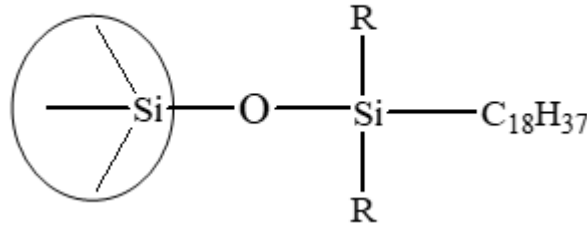


الشكل (1-1) يبين الترابط الحاصل بين دقائق السليكا مع السلسلة الهيدروكربونية.



الشكل (2-1) الترابط الناتج بين دقائق السليكا مع السلسلة الهيدروكربونية المحتوية على C8 , C18 .

وتتكون الأطوار المتاصرة من تفاعل المركب ثلاثي مثيل كلوروسيلين مع مجاميع الهيدروكسيد الموجود على سطح دعامة السليكا مكونه سلاسل هيدروكربونية (الكيالية) قد تحتوي $C_2, C_3, C_4, C_8, C_{18}$ من ذرات الكربون . ويعد الباحث والعالم الجيولوجي (Kirkland) أول من استخدم الأطوار المتاصرة الهيدروكربونية (السلاسل الالكيلية) في تقنية Rp-HPLC ، وتم تسميتها تجاريا باسم "ODS" إذ تتكون السلسلة الهيدروكربونية من ثمانية عشر ذرة كربون متاصرة مع سطوح دعامة السليكا بوساطة اصرة سيليل ايثر (مجموعة اللايكوسين) ⁽¹⁴⁾ كما هو موضح في الشكل (3-1) أدناه



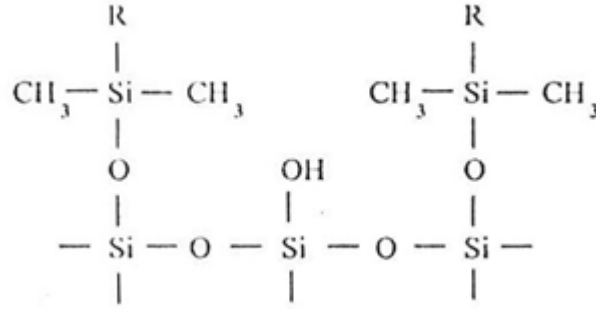
الشكل (3-1) يوضح سطح السليكا

هناك العديد من الاطوار المتاصرة والتي تحتوي على مجاميع الالكيل ($C_{18}H_{37}, -C_8H_{17}, -C_4H_9, -$) و مجاميع الفيل ($-C_6H_5$) لقد لوحظ أن زمن احتجاز المادة المراد تحليلها يزداد بزيادة طول السلسلة⁽¹⁴⁾ الهيدروكربونية وتناثر دقة و كفاءة الأطوار المتاصرة بعديد من العوامل ومنها :

- 1- طبيعة العوامل الاولية لسطح الساند لسليكا.
- 2- تحديد او اختيار المجاميع الوظيفية للمذيب المستخدم في التجربة.
- 3- عدد ذرات الكربون المتاصرة أو المترابطة بسطح السليكا.

4- مرحلة تفاعلات التغطية النهائية End capping

نتيجة لعدم تفاعل مجاميع السيليونيل كليا مع المجاميع الوظيفية ولأسباب فراغية أي الشكل هندسي للمركب . إذ تتفاعل المجاميع الموجودة على سطوح دعامة السليكا بنسبة (45%) أما المجاميع التي لا تتفاعل فيتم تغطيتها بمركب كلوريد ثلاثي ميثيل السيليل في مرحلة التغطية النهائية⁽¹⁵⁾ وكما موضح في الشكل (1-3)



الشكل (1-4) يبين سطح السليكا قبل وبعد صوله لمرحلة النهائية

وهذا النوع من الأطوار الثابتة واسعة الاستخدام وذلك بسبب كونه غير مكلفة ماديا وتكون مستقرة بالمقارنة مع المذيبات العضوية الأخرى ، والتي تجعل من هذه التقنية استخدامات كثيرة ومتعددة في مجال التحاليل والطبية والصيدلانية و العضوية و البيئية وغيرها⁽¹⁶⁾

يتكون جهاز الكروماتوغرافيا السائلة ذات الاداء العالي⁽¹⁷⁾ (HPLC) من ثمانية

مكونات رئيسية:

- 1- مستودع حفظ الطور المتحرك (mobile phase reservoir) :- هو عبارة عن وعاء ذو حجم معين نظيفا يحوي الطور المتحرك المفرغ من الهواء والغازات مسبقا، حتى لا يتسبب خطأ في التحليل. كما يجب تنقيته الطور المتحرك من الشوائب عند إعداده بعملية الترشيح؛ لمنع انسداد العمود التحليلي.
- 2- نظام توصيل المذيب (المضخة) (solvent delivery system) :- هو مضخة (pump) و هنالك شروط أو متطلبات رئيسية لعمل هذه المضخة منها :-

(أ) توليد ضغط حتى. 6000 psi

(ب) خالية من الذبذبة.

(ج) معدل تدفق او سريان من 0.1 إلى 10 مليلتر / دقيقة.

(د) مقاومة للتآكل اي لاتتأثر بالمذيبات الكيميائية المختلفة.

النظام الحديث المستخدم في الأجهزة الحديثة ذات التكلفة العالية، حيث استعمال مضخة ذات رأس ترددي (مكبس للأمام وآخر للخلف) بحيث إن أحد المكبسين يلغي ذبذبة الآخر، وهذا يؤدي الى تكون سريان الطور المتحرك خاليا من الذبذبة. ومن الواجب والضروري امرار الميثانول في منظومة المضخة قبل وبعد اجراء التجربة وذلك لمنع حدوث ظاهرة التآكل.

3 - نظام إدخال العينة (الحاقن):- أن ادخال أو حقن النموذج إلى المنظومة يتم عبر صمام موجود في المنظومة يدعى الصمام الحاقن (valve injector) المزود بوصلة التحميل loop لمواجهة مشكلة الضغط العالي للمنظومة. ويحقن النموذج السائل داخل الصمام تحت الضغط المنخفض ثم يتم تحريك عتلة الصمام الى الاسفل وهذا يسمح بملئ النموذج السائل داخل الحلقة ومنه يسري الى العمود التحليلي وعادة يتراوح حجم حلقة تحميل النموذج من 200-2 μ L والشكل (5-1) يوضح تصميم الحاقن وما تبقى من المكونات الجهاز HPLC .

4 وحدة الفصل (العمود):- تصنع الأعمدة في الـ HPLC عادة من أنبوب معدني مصنوع من الفولاذ المقاوم للصدأ وبسبك يتحمل ضغط عالي وتتكون أعمدة الـ HPLC بأطوال محدودة تتراوح (5-50) cm وبقطر داخلي 4.6mm. في الغالب. وإن أساس الفصل

المستخدم في الـ HPLC يشمل:

التوزيع

الامتزاز

التبادل الأيوني

الاستبعاد الحجمي

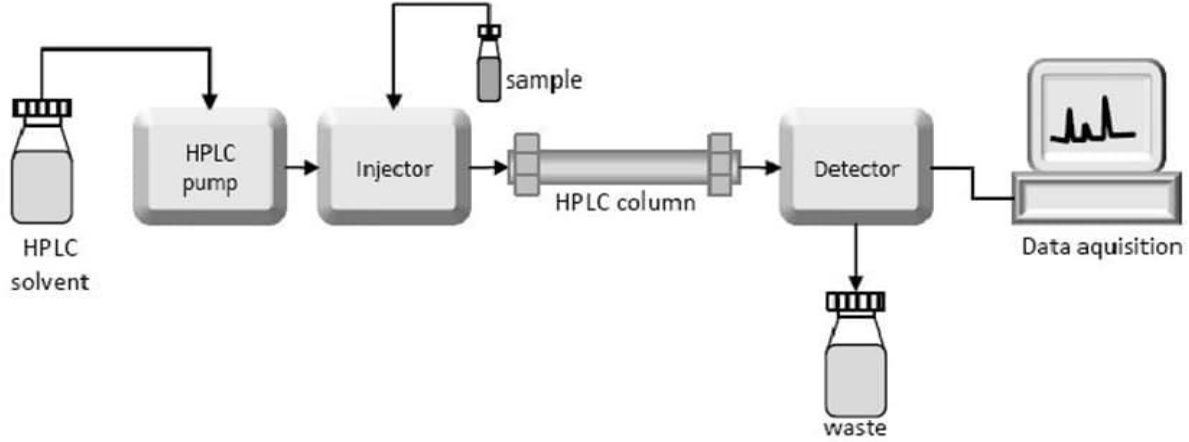
5- وحدة الكشف : (Detector) لتحسس المركبات المفصولة.

6- انابيب التوصيل :- وتكون مصنوعة عادة من مادة خاملة كالحديد غير القابل للصدأ أو من البلاستيك الخامل او من الزجاج كي لا تتفاعل مع مكونات طور المتحرك .

7- جهاز حاسوب أو مسجل:- data collection ليساعد على تفسير النتائج و تخزينها.

8- وعاء المخلفات.

و يلعب كل جزء من اجزاء جهاز HPLC دورا مهما في عملية تحليل العينة اذ بعد عملية حقن النموذج في الجهاز تبدا عملية فصل المكونات من خلال العمود التحليلي وبعدها يتم الكشف عنها بمتحسس معين (كاشف) اذ يتم رسم الاشارة الخارجة على شكل قمم وتكون مفصولة عن بعضها وتقرن أزمان احتجازها مع المواد القياسية⁽¹⁸⁾ والشكل (1-4) يوضح مكونات جهاز HPLC



الشكل (1-5) يوضح مكونات جهاز الكروماتوغرافيا السائل HPLC⁽¹⁹⁾

(5-1) التطبيقات العامة للتقنية الكروماتوغرافية عالية الاداء ذات الطور العكوس

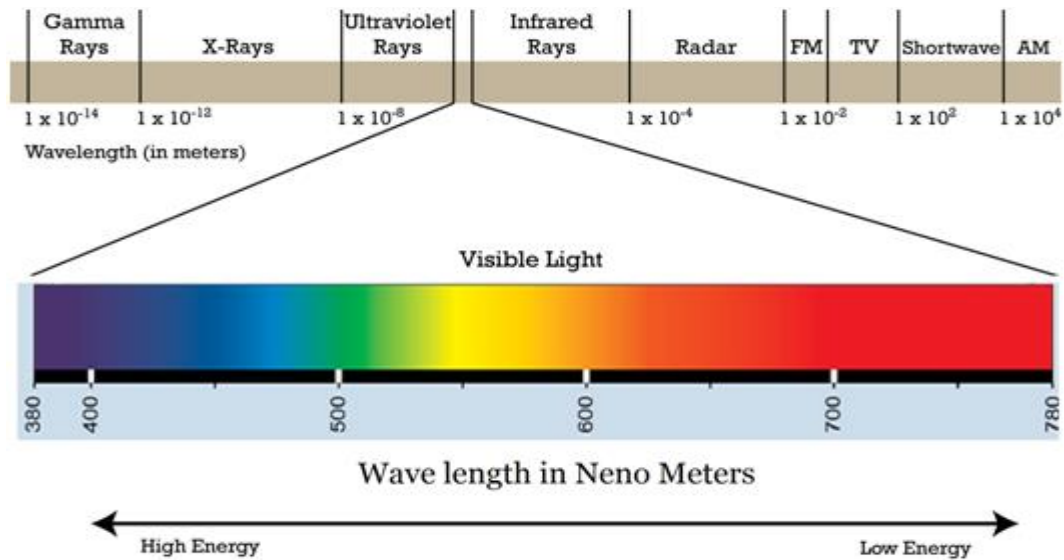
ومن التطبيقات الشائعة لتقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء للطور العكوس Rp-HPLC

هي:^(37,39)

- ا- السيطرة النوعية في معامل الأدوية عن طريق قياس نسبة المواد الفعالة في التركيبات الصيدلانية
- ب - قياس نواتج تحلل المركبات الدوائية في المراكز البحثية.
- ج- تنقية وفصل المركبات الدوائية المستخلصة من النباتات.
- د-فصل البوليمرات وتقدير الوزن الجزيئي للبوليمر والمركبات العضوية الأخرى عبر اقترانها من تقنية طيف الكتلة.
- هـ - متابعة ومراقبة تفاعلات المواد العضوية المختلفة.
- د-تحديد مستوى الأحماض الأمينية والأحماض النووية في النماذج البايولوجية.

(6-1) الإشعاع الكهرومغناطيسي :

وهو نوع من أنواع الطاقة التي تنتقل على شكل موجات أو جسيمات ذات أطوال موجية وترددات مختلفة , يقسم هذا الطيف بشكل عام الى سبع مناطق ,اي يتكون من الأشعة الكونية و أشعة كما عالية الطاقة , والتردد ذات الطول الموجي القصير جداً و اشعة-اكس (السينية) الاشعة فوق البنفسجية والأشعة المرئية ، الاشعة تحت الحمراء وأشعة الميكروويف إلى الأشعة الراديوية ذات الطول الموجي الطويل (طاقة والتردد الواطيء) ، مختلفة كما في الشكل. (1-1) (40-41)



(7-1) الشكل توضيحي لأقسام الاطياف الكهرومغناطيسي (42)

(7-1) التحليل الطيفي المرئي والفوق البنفسجي:

تستخدم الطريقة الطيفية لقياس تراكيز المواد الكيميائية التي تمتص الاشعاع الكهرومغناطيسي وهي من الطرق النوعية والكمية وتتعامل مع الأشعة فوق البنفسجية، والمرئية و الأشعة تحت الحمراء (43)، تمثل الأشعة المرئية و الأشعة فوق البنفسجية جزءاً صغيراً من منطقة الطيف الكهرومغناطيسي والتي تقع بين 190 nm إلى حوالي 800 nm (45- 46) وتعتبر منطقة الأشعة فوق البنفسجية القريبة من 200-400nm والمنطقة المرئية من 400-800nm من المناطق التحليلية المهمة لقياس امتصاص الأشعة فوق بنفسجية

والمرئية من خلال محاليل المواد اللاعضوية والعضوية ويتم الامتصاص بواسطة إثارة الكثرونات التكافؤ⁽⁴⁷⁾ ، كما إن الطاقة في هاتين المنطقتين تكون كافية للاثارة ويرافق الانتقال الإلكتروني في الجزئيات متعددة الذرات انتقالات دورانية وانتقالات اهتزازية لذا يكون الطيف الناتج بحالة حزمية، عكس الطيف الناتج من امتصاص الذرات الذي يكون بحالة خطية لغياب الانتقالات الدورانية والاهتزازية⁽⁴⁸⁾ ، وتعطي الاطياف الخطية والاطياف الحزمية معلومات فقيرة حول طبيعة الروابط الموجودة في الجزيئة ويمكن قياس تراكيز المواد غير الماصة للإشعاع بتحويلها إلى مشتقات قابلة للامتصاص والتقدير في المنطقة المرئية عن طريق التفاعل مع كاشف عضوي.⁽⁴⁹⁻⁵⁰⁾ إذ أن الطرائق الطيفية في تقنية UV- Visible تتميز بعدة خصائص منها السرعة و الدقة، والحساسية عالية و البساطة و الانتقائية ، تتطلب كميات صغيرة من مادة التحليل و غير محطمة لمكونات النموذج⁽⁵¹⁻⁵²⁾ .

ومن التطبيقات المهمة للطرق الطيفية هي تقدير تراكيز كثير من المواد الكيميائية والجيولوجية وكذلك المواد الصيدلانية والفيتامينات والمنشطات والمخدرات . و في الطب يتم الاعتماد على الأشعة فوق البنفسجية لمعالجة بعض الامراض الجلدية كحالات البهاق والصدفية وكذلك استخدمها في تعقيم ادوات الجراحة لامكانية الأشعة فوق البنفسجية لقتل البكتريا والفيروسات⁽⁵³⁻⁵⁴⁾ .

Quantitative Absorption Laws

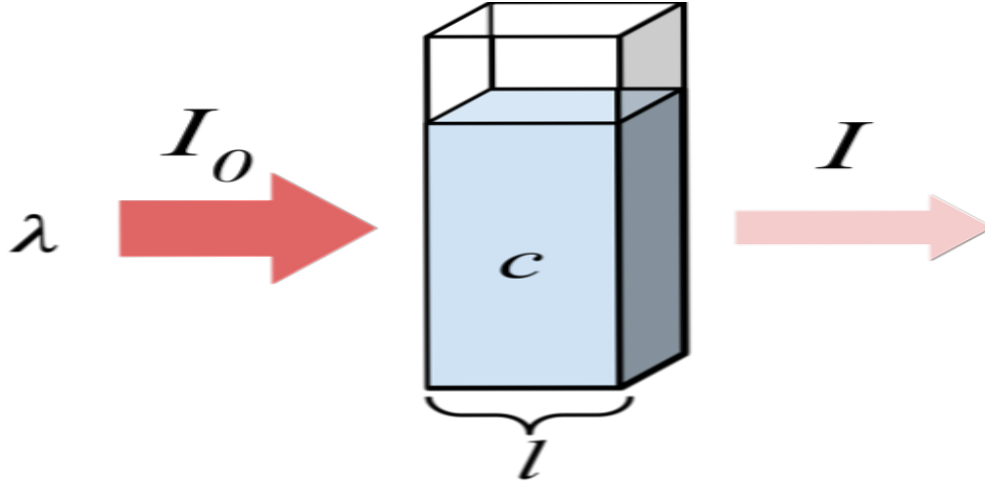
(8-1) القوانين الكمية للامتصاص

(1-8-1) قانون بيير- لامبرت : Lambert –Beer Law

يعد "قانون بيير لامبرت هو من أهم القوانين الكمية في علم البصريات، حيث يصف العلاقة التجريبية التي تربط بين امتصاص "الضوء وخصائص المادة التي يعبر" الضوء من خلالها، ولقد تم اكتشاف القانون من قبل العالم الفرنسي (بيير- بوغير) عام 1729م، ثم جاءت جهود العالم (لامبرت) في اختبار تجربة (بوغير) الضوئية في كتابه (Photometria) في عام 1760. وفي عام 1852م، وسّع (أوغست بيير) قانون الامتصاص الأسّي ليتضمن قياس تراكيز المحاليل بعد معرفة قيمة معامل الامتصاص المولي ، ويعتبر قانون بيير-لامبرت عبارة علاقة تجريبية تربط امتصاص الضوء بخصائص المادة التي يعبر الضوء من خلالها.⁽⁵⁵⁻⁵⁶⁾

وقد جمعت العلاقتين في علاقة رياضية واحدة تدعى قانون بيير - لامبرت تخليدا للعالمين وعندما يتم التعبير عن التركيز بدلالة التركيز المولاري يؤخذ ثابت التناسب الرمز (ϵ) ويدعى عامل الامتصاص

المولاري وفي الكتب القديمة يسمى (بعامل الاطفاء المولي) الذي تعتمد قيمته المذيب و الطول الموجي الذي يتم عنده القياس (57-58) . أما عندما يتم التعبير عن التركيز بدلالة g/L فيتخذ الثابت a الذي يدعى الممتصية وهذا يطبق في حالة المواد غير معلومة الوزن الجزيئي ويتطلب القانون أعلاه إشعاع احادي الطول الموجي. كما هو موضح في الشكل (8-1) (59) .



الشكل (8-1): امتصاصية العينة للإشعاع (59)

والشكل الرياضي لقانون الامتصاص بالعلاقة الكمية بين تركيز محلول قياسي وشدة الإشعاع الممتص وفقاً للعلاقة التالية :

$$A = \text{Log } I_0 / I = \epsilon bc \quad \dots\dots (1-)$$

1)

إذ أن :

I_0 : يعبر عن الإشعاع الساقط ، والتي يمكن أن يمتصها المركب قيد التحليل

I : يعبر عن شدة الاشعاع النافذ من المحلول.

A : الامتصاص (Absorbance) مجرد من الوحدات

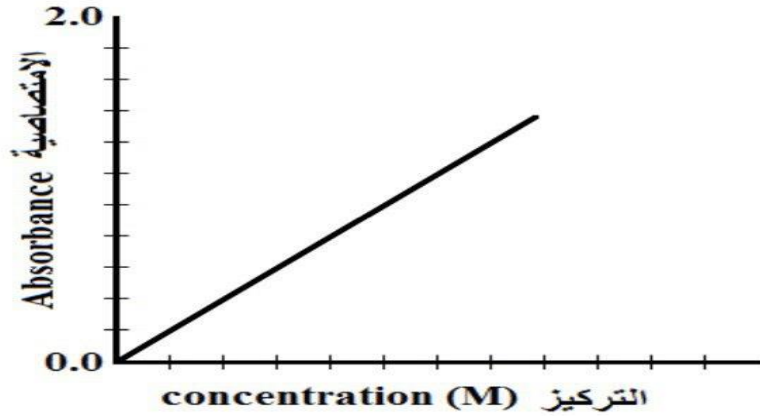
b : طول المسار بوحدة السنتيمتر cm

ϵ : معامل الامتصاصية المولارية بالوحدة $(L.mol^{-1}.cm^{-1})$

c : التركيز بوحدة مول/ لتر

إن العلاقة بين الامتصاصية A و b ، وبين الامتصاصية A والتركيز C حسب قانون بيبير لمبيرت يجب أن تكون خطية، وتمر بنقط الاصل نظريا، بينما وجد عمليا إن العلاقة بين امتصاصية A وطول المسار عرض الخلية b هي علاقة خطية دائما . (61-59)

ويتم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي الأعظم والذي يمثل أعلى قيمة للامتصاصية عند تركيز معين أي التركيز الذي يعطي أعلى امتصاصية، ويتم حساب تركيز المادة المجهولة من المنحني القياسي كما هو في شكل المجاور (1-4)



شكل (9-1) رسم يوضح العلاقة البيانية بين التركيز والامتصاصية

(9-1) لمحة اونبذة عامه عن الدواء:

الأدوية هي عباره عن مركبات كيميائية طبيعية أو مصنعة ذا انتقائية عالية تستخدم على شكل منتجات صيدلانية تهدف إلى معالجة حالة مرضية ، وتحتوي المنتجات الصيدلانية على واحد أو أكثر من الادوية تنتج تأثيرات البيولوجية عند اعطائها للكائنات الحية (62) ، وفي علم الصيدلة فأن العقار يسمى بالأدواء التي تستعمل لمعالجة الأعراض السريرية التي تصيب الانسان والحيوان وكذلك تستخدم لمعالجة الأمراض المشخصة أو لتعزيز السعادة (63) ، حيث يوجد أشكال مختلفة من الأدوية مثل الأحماض أو القواعد. أدناه نلخص الأشكال واسع الانتشار والاكثر شيوعا وأهمها (64-65) :

- 1-حيث المواد التي يفنقر إليها الكائن الحي مثل "البروتينات ، الفيتامينات ، الهرمونات"
- 2-يستخدم للوقاية من الأمراض أو العدوى مثل اللقاحات.

- 3- بعض الأدوية تستخدم كمضاد حيوي حيث العلاج الكيميائي على سبيل المثال .
- 4- وأيضاً يستخدم لتصليح الوظيفة المشوشة مثل cardio tonics مثل مقويات القلب والتي تستخدم لعلاج قصور أو ضمور وظيفة معينة مثل ارتفاع الضغط الشرياني.

(10-1) تحليل الأدوية :

- يعتبر التحاليل الدوائية من الفروع المهمة في الكيمياء التحليلية⁽⁶⁶⁻⁶⁷⁾ ، حيث من خلال التحاليل نستطيع الإجابة على
- 1- هل إن المادة الدوائية مطابقة للمواصفات القياسية.
 - 2- معرفة المواد الموجودة في المستحضر الصيدلاني .
 - 3-نسبة وكمية المادة الموجودة في التركيبة الصيدلانية .
 - 4 معرفة استقرار التراكيب الدوائية وبواسطها يتم معرفة التركيب الدوائي.

(111-1) الادوية المستخدمة في الدراسة :

(1-11-1) كلورديازبوكسيد : Chlordiazepoxide

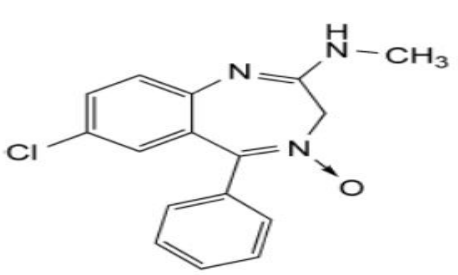
تم اكتشاف هذا دواء عن طريق الصدفة بعد سلسلة من التجارب تضمنت الاخطاء والاختافات العلمية التي تحولت الى نجاحات غير متوقعة ،في عام 1955 العالم الكيميائي هوفمان- لاروش ليو عن طريق الصدفة اكتشف أول بنزوديايبين ، التي تضم كل من كلورديازبوكسيد ، ديازيبام، ألبرازولام ، استخدمت البنزوديازيبينات اول مرة كعلاج لأمراض النفسية الاضطرابات النفسية من القلق والتوتر والخوف والهلع وغيرها ،

إذ أن كلورديازبوكسيد من ضمن الاسماء التجارية المشهورة للدواء هو الليبريوم librium ، حضر هذا الدواء في العلاج السريري في عام 1958 وتم تسويقها في عام 1960 ثم بعد ذلك تم اكتشاف ديازيبام (الفاليوم) في عام 1963.

كما يستعمل كلورديازبوكسيد في علاج القلق والأرق أو التوتر العصبي يعطى للمصابين بحالة الصرع , ومن التأثيرات الجانبية لهذا الدواء هو الشعور بالدوار أو الدوخة أو النعاس أو تشويش الرؤية وغيرها .. لا يمكن استخدامه في المرضى الذين يعانون من التحسس العلاجي، ولا ينصح استخدامه للنساء في فترة الحمل ، يؤخذ عن

طريق الفم أو عن طريق الحقن العضلي، والجدول (1-2) يوضح الخصائص العامة لعقار كلورديازبوكسيد (68-69)

جدول (1-2) الخصائص العامة لكلورديازبوكسيد (70-72)

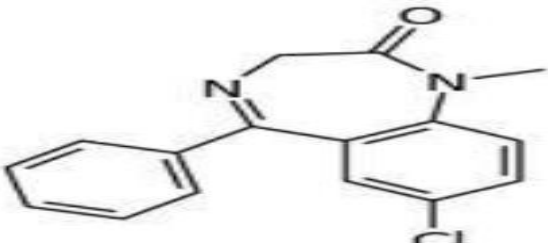
chloro-2-methylamino-5-phenyl-3H-1,4-7 benzodiazepine-4-oxide	الاسم الكيميائي
$C_{16}H_{14}ClN_3O$	الصيغة الجزيئية
299.7549 g/mol	الوزن الجزيئي
سريع الذوبان في الماء ولكنه يذوب بشكل معتدل في الميثانول و الايثانول والاسيتون ولكن لا يذوب في كلورفورم وثنائي الايثر	الذوبانية
مسحوق بلوري ابيض اللون او مائل الى الاصفر عديم الرائحة	المظهر الخارجي
4.8	pKa
236-236.5 °C	درجة الانصهار
	الصيغة التركيبية

(2-11-1) الديازيبام : DIAZEPAM

الاسم التجاري للديازيبام هو فاليوم Valium و لقد ظهر هذا الدواء في الخمسينيات من القرن الماضي، وهو من اكثر الأدوية نجاحا في علم الأدوية النفسية يستخدم كمهدىء للإعصاب (73) . تم صناعة هذا الدواء عام 1959 من قبل شركة Hoffman-LaRoche و تم تقديمه كدواء أو علاج في

الولايات المتحدة عام 1968. ويعد هذا دواء خافضاً للقلق والأضطراب النفسي والهلع ويعطى أيضا للناس المصابين بالصرع (74) (البيغوانيد) وهو خط المعالجة الأولى للمرضى النفسية من الاضطرابات القلق والتوتر يؤخذ عن طريق الفم اوالحقن العضلي (75).

الجدول (1-3) الخصائص العامة لعقار ديازيبام (76-77)

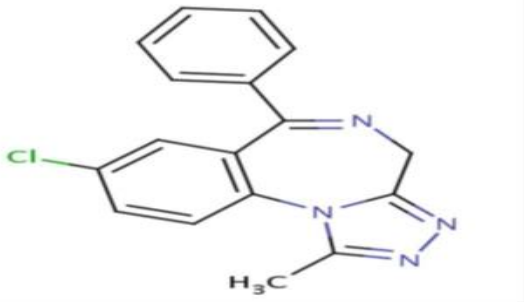
1,4-benzodiazepinone that is 1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	الاسم الكيميائي
$C_{16}H_{13}ClN_2O$	الصيغة الجزيئية
284.7 g /mol	الوزن الجزيئي
يذوب في الماء والايثانول تقريباً لا يذوب في الاسيتون	الذوبانية
مركب اومسحوق بلوري عديم اللون مائل الى اصفر فاتح	المظهر الخارجي
3.4	pKa
497.4°C	درجة الغليان
257-259 °C	درجة الانصهار
	الصيغة التركيبية

Alprazolam : ألبرازولام (3-11-1)

الاسم التجاري لهذا الدواء هو زاناكس (Xanax) ينتمي هذا الدواء إلى مجموعة الادوية المعروفة باسم البنزوديازيبينات (Benzodiazepines) (76)، يستخدم زاناكس في حالات التوتر والقلق الناجم عن ضغوط الحياة والعمل إذ يصفه الاطباء لمن يواجهون ضغوط شديدة في العمل او للطلبة في اوقات امتحاناتهم لتقليل التوتر والقلق ولكنه قد يسبب أيضا فقدان التركيز. لا يستعمل زاناكس لفترات طويلة حيث يسبب ذلك الاعتياد عليه

وادمائه بدرجات متفاوتة ، لا يعطى في حالات القصور التنفسي الحادة ، لا يعطى في الحمل والإرضاع يعطى بحذر في القصور الكبدى أو الكلوي ، لا يستخدم ممن يعانون من مشاكل في العضلات ووهن عضلي (80- 78) .

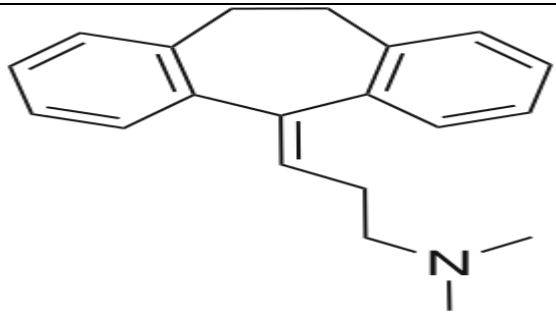
والجدول (1-4) يبين الخصائص العامة لعقار البرازولام (81- 82-83)

8-Chloro-1-methyl-6-phenyl-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a][1,4]benzodiazepine(77)	الاسم الكيميائي
$C_{17}H_{13}ClN_4$	الصيغة الجزيئية
308.765 g /mol	الوزن الجزيئي
لا يذوب في الماء لكنه يذوب في الميثانول والايثانول والكلوروفورم وقليل الذوبان في الاسيتون	الذوبانية
مسحوق بلوري عديم اللون الى اصفر فاتح	المظهر الخارجي
5.08	pKa
228-229.5 °C	درجة الانصهار
	الصيغة التركيبية

(4-11-1) أميتريبتيلين: Amitriptyline

تم اكتشاف لاميتريبتيلين في أوائل الخمسينات من القرن الماضي في تحديد عام 1950 عن طريق شركة فرنسية رون بولينك ، من الأسماء التجارية لأميتريبتيلين هو إيلافيل (Elavil) وهو مضاد للاكتئاب ثلاثي الحلقة يساعد على تعديل مزاج المريض وازالة الاكتئاب ، لا يجوز استخدامها في المرضى الذين يتعافون من احتشاء عضلة القلب ، ومن الاثاره الجانبية هو جفاف الفم النعاس والدوخة وزيادة في الوزن والامساك⁽⁸⁴⁾ ، يؤخذ عن طريق الفم اوالحقن العضلي (85- 86)

والجدول (5-1) يبين الخصائص العامة لعقار أميتريبتيلين (87-89)

IUPAC name	3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cycloheptene-5-ylidene)-N,N-dimethylpropan-1-amine	الاسم الكيميائي
C ₂₀ H ₂₃ N		الصيغة الجزيئية
277.403 g /mol		الوزن الجزيئي
يذوب في الماء والايثانول والميثانول والكلوروفورم و لا يذوب في الايثر		الذوبانية
مسحوق بلوري عديم اللون الى اصفر فاتح		المظهر الخارجي ⁽⁸⁹⁾
9.49		pKa
196-197 °C		درجة الانصهار
410.26°C		درجة الغليان
		الصيغة التركيبية

(12-1) الدراسات السابقة

(1-12-1) الدراسات السابقة في طرائق تقدير لادوية (كلورديازبوكسيد الديازيبام وألبرازولام وأميتريبتيلين) بالطريق الكروماتوغرافيا العكوسة:

Name method	Mobile phase	Column	Detector and λ_{\max}	Linearity	Detection limit LOD&LOQ	Ref
Rp- HPLC	Ortho phosphoric Acid : Methanol in the ratio of 50:50 v/v (Adjust pH -2 with Orthophosphoric Acid) for CH acetonitrile-0.05 M disodium hydrogen phosphate-triethylamine (50 + 50 + 0.2, v/v/v), pH 2.5for AM.	C8 (250mm x 4.6 mm,5 μ m particle size)	(253 – 247) nm UV- Detector	10-30 μ g/mL for CH 25-75 μ g/mL for ANM	LOD=0.130 μ g/mL LOQ=0.395 μ g/mL for CH LOD=0.154 μ g/mL LOQ=0.466 μ g/mL for AM	90
HPLC	Acetonitrile-0.05 M disodium hydrogen phosphate-triethylamine (50 + 50 + 0.2, v/v/v), pH 2.5 acetonitrile-0.05 M disodium hydrogen phosphate (50 + 50, v/v), pH 4.0	C8 (250mm x 4.6 mm,5 μ m particle size)	247 nm 220 nm . UV- Detector	Linearity 2.5-150 μ g/mL for CH Linearity 25- 75 μ g/mL for AM	LOD 0.04 μ g/mL LOQ 0.13 μ g/mL For CH LOD 0.154 μ g/mL LOQ 0.466 μ g/mL For AM	91

RP-HPLC methanol: water (97:03, v/v) C18 column (250mm×4.6 mm id, 5 μm particle size) Phenomene x 262 nm UV-Detector 0.5-5 μg/ml for CH 2.5-75 μ g/mL For AM LOD 0.48 μ g/mL LOQ 1.30 μ g/mL for CH LOD 0.48 μ g/mL LOQ 0.154 μ g/mL,LOQ 0.466 for AM 92

RP-HPLC, HPTLC methanol: acetonitrile: ammonium acetate buffer (50:20:30, v/v/v), final pH adjust to 5.5 ± 0.02 with ortho phosphoric acid silica gel 60 F254 using carbon tetrachloride: acetone: triethylamine (6:3:0.2, v/v/v) as mobile phase 0.065 M C18 (250×4.6 mm id, 5 μm particle size) 240 nm UV-Detector 0.1-1.6 μg/ml For CH 4-25 μg/ml for AM 93

Rp-HPLC Methanol and acetate at a pH 5.50 (60:40, v/v) 0.1 M ammonium acetate C8 (250 mm × 4.6 mm i.d., 5 μm particle size) 274 nm UV-Detector CH -4.0-275.0 μg/mL LOD= 0.48 μ g/mL LOQ=1.59 μ g/mL 94

UV and Rp-HPLC 0.5M :Methanol: Water (3:4:3, v/v/v) ammonium acetate column (250mm×4.6 mm id, 5 μm Phenomene x 506nm UV-Detector LOD= 0.20 μ g/mL LOQ=0.65 μ g/mL for DIZ 95

Rp- 0.065M ammonium acetate C8 (250 270nm 1-20 µg/ml LOD 96
 HPLC :acetonitrile : methanol 50:20:30 mmx UV- ForAM 0.33 µ g/mL
 and UV v/v/v at a pH 5.5 4.6mm Detector 2-24 µg/ml LOQ
 ,id,5µm) For CH 1.0 µ g/mL
 For AM.
 LOD
 0.66 µ g/mL
 LOQ
 2.00 µ g/mL
 For CH

RP- HPLC and UV	25mM-ammonium acetate : acetonitrile: 0.2% triethanol amine at a pH=5.0 35:65:0.2 v/v/v	(150mm×4. 6 mm id, 5 µm particle size) C18 column	258.2 nm UV- Detector	0.5-50 µg/mL For ALP	LOD=0.12 97 µg/mL, LOQ= 0.38 µg/mL for ALP
-----------------------	--	---	-----------------------------	-----------------------------	---

RP- HPLC	0.05M Phosphate buffer :acetonitrile :at a pH of 7.2 55:45 v/v/v	C18 (250mm×4. 6 mm id, 5 µm particle size)	264nm UV- visible detector		98
-------------	--	--	----------------------------------	--	----

RP- HPLC and UV	Methanol :H ₂ O: Acetic acid (35:65:0.1 v/v/v)	C18 (250mm×4. 6 mm id, 5 µm particle size)	210 nm UV- Detector		99
-----------------------	--	--	---------------------------	--	----

Rp- HPLC	0.1 M -OPA(O-phthalaldehyde Buffer : Methanol(50:50) v/v	C18 (250mm×4. 6 mm id, 5 µm particle	253 nm UV- Detector	10-30µg/mL for CH 25-75µg/mL for AM	LOD 100 0.130mg/mL LOQ 0.395mg/mL
-------------	---	---	---------------------------	--	--

		408nm and 482 nm					
0.1M HCl		UV- Visible At λ_{\max} 245nm	1-15 $\mu\text{g/ml}$ and the mole. cm/dm^3 second series contained 2-30 $\mu\text{g/ml}$	3.716261×10^4	Rec%=100.24 \pm 100.34 for CH		104
second derivative Spectrophotometry methanol		UV- Visible at λ_{\max} 280.4nm .	0.5-4 $\mu\text{g/mL}$		Rec% 100.65 \pm 1.257	LOD 0.05 $\mu\text{g/mL}$ LOQ 0.150 $\mu\text{g/mL}$ for ALP	105
methanol		319.4 nm	1-40 $\mu\text{g /mL}$		Rec%=101.19 \pm 1.98for ALP	LOD=0.12 $\mu\text{g/mL}$ LOQ=0.37 $\mu\text{g/mL}$	106
H ₂ O NH ₄ Fe(SO ₄) v/v	with 2.12	UV- Visible at λ_{\max} 460.0nm 	0.5-60 $\mu\text{g/mL}$.		AM for Rec %=99.54 r ² =0.9996		107

Methanol solvent	UV-Visible at λ_{max} 240.0nm	2.0-12.0 μ g/mL		99.66 = Rec % for AM			108
Distilled water	UV-Visible at λ_{max} 530.0nm	0.3–15 μ g/mL	Sandell sensitivity 0.0233 μ g/cm ² Molar absorptivity =1.345 \times 10 ³ L/moL/cm	R%=98.57-100.52% R2 = 0.999	LOQ=0.2430 LOD=0.0802		109
Ethanol solvent with acidic dye, bromocresol green at pH 3.5, which is extractable into chloroform from the aqueous phase.	UV-Visible at λ_{max} 410.0nm	2–60 μ gcmL ⁻¹	Sandell sensitivity 57 μ g.cm ⁻² Molar absorptivity 0.001 L/moL/cm, for DIZE	for DIZE DIZE			110
1.0 M HCl with Ethanol	UV-Visible at λ_{max} 360.0nm	2.0 – 110. mg /L		RSD =3.3% Rec% = 102.6 for DIZE			111
0.1M HCl with H ₂ O	UV-Visible at	3.0-15.0 μ g/ml		Rec% 98.36 to 100.72 %. r2 = 0.999	LOD for DIZE 0.159 and		112

1:1 (v/v)	λ_{\max} 231.0nm			for DIZE	LOQ= 0.482 $\mu\text{g/mL}$	
Acetonitrile as a solvent	UV- Visible at λ_{\max} 357.0nm	2-10 $\mu\text{g/mL}$		Rec% 99. $r^2 = 0.9990$ for DIZE	DIZE LOD= 0.34, LOQ=1.14 $\mu\text{g/mL}$	113
HCl 0.1 M	UV- Visible at λ_{\max} 530.0nm	0.1 - 2 mg/10 mL	DIZE Molar absorptivity, 6.38×10^3		LOD=0.0041 $\mu\text{g/mL}$ LOQ=0.06 $\mu\text{g/mL}$	114
0.1 M HCl with Ethanol 95%	UV- Visible at λ_{\max} 260.0nm	1-70 $\mu\text{g mL}^{-1}$		Rec% 99.4	DIZE	115
solution 0.1N HCl	UV- Visible at λ_{\max} 260.4 nm	1-70 $\mu\text{g mL}^{-1}$	Molar absorptivity 1.404×10^4 L. $\text{Mol}^{-1} \text{Cm}^{-1}$ for ALP Sandell sensitivity	$r^2 = 0.997$ for ALP Rec. % = 101.17 ± 0.421		116

$$0.022 \times 10^4 \text{ L Mol}^{-1}$$

Cm^{-1} for ALP

(13-1) الهدف من البحث

يهدف البحث الى :

تطوير طريقتين جديدتين لتقدير بعض العقاقير الطبية قيد الدراسة باستعمال تقنية الكروماتوغرافيا ذات الاداء العالي HPLC وتقنية الامتصاص الجزيئي .

1- الطريقة الاولى :- تتضمن استخدام الكروماتوغرافيا الطور العكوس لتقدير الادوية الأربعة بشكلها الحر المنفصل نوعيا وكميا ، ثم خلطت مع بعضها و ثم فصلها عبر العمود C_{18} وتم دراسة العوامل التي تؤدي الى فصلها وتقديرها بشكل تام

2- الطريقة الثانية :- وهي الطريقة الطيفية وتضمنت استخدام تفاعلات الأوكسدة والأختزال وتم اختيار الكاشف MBTH والعامل المؤكسد FeCl_3 لتقدير أدوية (كلورديازيبوكسيد و ديازيبام وأميترينبتيلين و ألبرازولام) كميا بعد دراسة الظروف المختلفة التي تعطي حساسية عالية للحصول وحد كشفي عالي .

Experimental

2-أجزاء العملي

الجدول (1-2) الاجهزة المستخدمة:

مكان تواجد الجهاز	الشركة المجهزة	اسم الجهاز	ت
كلية الصيدلة/ جامعة كربلاء	SHIMADZU, JAPAN	HPLC Pump, with CBM-20A Column ODS-C18 (250mmX4.6 mm id) with 5micron particle ، with manual injector (Radional ,loop 20 micro and 100 μ L syringe (hamelton)	1
كلية طب الاسنان جامعة كربلاء	SHIMADZU, JAPAN	Uv-Visible Spectrophotometer, UV-1800, with two quartz Cuvette	2
كلية الصيدلة جامعة كربلاء	China	Ultrasonic Cleaner CLEAN 50 حمام ماني يعمل بالموجات فوق الصوتية	3

كلية الصيدلة جامعة كربلاء	Germany	pH.meter W TW Lab-pH Meter inoLob	4
كلية طب الاسنان جامعة كربلاء		100 µL glass micro-syringe	5
كلية الصيدلة جامعة كربلاء	Germany	Denver - TP- ميزان الحساس، 214	6

2-2 الأدوية و المواد الكيميائية: المواد المستخدمة جميعها ذات درجة عالية من النقاوة و جهزت من شركات مختلفة كما مبينة في الجدول (2-2) و (3-2).

الجدول (2-2) الأدوية و المواد الكيميائية المستعملة

N	Chemical name	Chemical Formula	Formula weight	Purity	Manufactured by
1	Chlordiazepoxide	C ₁₆ H ₁₄ CLN ₃ O	229.75 g/ mol	99.87%	Pioneer Iraq
2	Diazepam	C ₁₆ H ₁₃ CLN ₂ O	284.7 g/mol	99.39%	SDI
3	Amitriptyline	C ₂₀ H ₂₃ N	227.403 g/mol	99.39%	SDI
4	Alprazolam	C ₁₇ H ₁₃ CLN ₄	308.765 g/mol	99.98%	SDI
5	Hydrochloric acid	HCl	36.46	99%	Himedia
6	Ethanol	C ₂ H ₅ OH	46.06	99.98%	Himedia
7	Water HPLC	H ₂ O	18.02	99%	Himedia

8	Methanol HPLC	CH ₃ OH	32.04g/mol	99.8%	Himedia
9	Sodium hydroxide	NaOH	39.997g/mol	99.98%	Himedia
10	Acetonitrile	CH ₃ CN	41.05 g/mol	98%	Himedia
11	Sodium mono Phosphate	NaH ₂ PO ₄	119.98 g/mol	98%	Himedia
12	Starch	C ₆ H ₁₀ O ₅	162.14 g/mol	99.7	Himedia
13	Fructose	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.16 g/mol	99.7	Himedia
14	Lactose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342.3 g/mol	99.7	Himedia
15	Glucose	C ₆ H ₁₂ O ₆	180.16 g/mol	99.7	Himedia
16	Ferric Chloride hydrate	FeCl ₃ .6H ₂ O	270.2957 g/mol	97%	ORATORY MICAL
17	3-Methyl-2-benzothiazolinone-hydrazonehydrochloride	MBTH	215.70g/mol	98%	MACKUN

(3-2) محاليل المواد المستخدمة للطريقة الطيفية:-

(1-3-2) تحضير محلول 0.100 M من حامض الهيدروكلوريك

تحضر بتخفيف حجم مقداره 1.75 مل المحلول الحامض ذو تركيز 11.4214M إلى قنينة حجمية سعة 100mL ثم أكمل الحجم بالماء المقطر لحد العلامة.

(2-3-2) تحضير 0.100 M من محلول هيدروكسيد الصوديوم

تم تحضير محلول 0.100M من هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) وذلك بأذابة 0.4 gm من المادة في المقطر باستخدام قنينة حجمية سعة 100mL ثم أكمل الحجم إلى العلامة بالماء المقطر.

(3-3-2) تحضير 0.010 M من صوديوم داي هيدروجين فوسفيت (NaH_2PO_4)

حضر محلول 0.010M من NaH_2PO_4 بإذابة 0.299g من المادة بالماء المقطر ومن ثم أكمل الحجم إلى العلامة باستخدام قنينة حجمية سعة 250mL.

(4-3-2) تحضير الطور المتحرك ذو دالة حامضية (pH=4) لجهاز HPLC

المحلول الاول :- حضر الطور المتحرك وذلك بخلط حجم 100 مل من محلول فوسفات الصوديوم الحامضية المحضرة سابقا مع حجم 75mL من مذيب $\text{C}_2 \text{H}_3 \text{N}$ اسيتونتريل مع 75 مل الميثانول CH_3OH في قنينة حجمية سعة 250 mL ونظمت الدالة الحامضية pH للمحلول باستخدام جهاز قياس الحامضية الى (pH=4) بواسطة اضافة قطرات من كل من حامض الهيدروكلوريك و هيدروكسيد الصوديوم المخففين والتي تم تحضيرهما سابقا.

المحلول الثاني :- حضر الطور المتحرك نفس طريقة أولى لكن بخلط حجم 40 مل من محلول فوسفات الصوديوم الحامضية المحضرة سابقا مع حجم 30mL من مذيب اسيتونتريل مع 30mL الميثانول في قنينة حجمية سعة 100 مل و (pH=4) والتي نظمت الدالة الحامضية أيضا للمحلول باستخدام جهاز قياس الحامضية كما تم تحضيرها في الطريقة أولى .

(5-3-2) تحضير محلول قياسي لعقاقير كلورديازيبوكسيد و أميتريبتيلين و ألبرازولام ذا

تركيز 100µg/mL و ديازيبام 120 µg/mL لجهاز HPLC

تم تحضير محلول قياسي ذو تركيز (100µg/mL) لكل من ألبرازولام ، أميتريبتيلين ، الكلورديازيبوكسيد وذلك بإذابة 0.0100 g أما بالنسبة لدواء ديازيبام ذا تركيز 120µg/mL ووزن 0.0120g لكل من العقاقير في قنينة حجمية سعة (100mL) باستخدام المحلول المنظم المحضر سابقا كمذيب وكل على انفراد باستخدام الحمام المائي لجهاز الأمواج فوق صوتية ثم أكمل الحجم لحد العلامة بنفس المذيب المحضر سابقا (طور المتحرك).

تم في الطريقة القياسية للتقدير استخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة العكوسة ذات الاداء العالي المعتمدة من قبل المنظمة الأوروبية للدواء وباستخدام الظروف التالية⁽⁶⁹⁾ :

Column length :15.0 cm, id 4.6mm,5µm, C18, cyan silyl silica, Tem,30

Mobile phase: Buffer-40mL of 0.0100M, pH=4.0: CH₃CN₃₀mL: CH₃OH₃₀mL

(6-3-2) فصل الخليط المكون من العقاقير كلورديازيبوكسيد وال أميتريبتيلين وال ألبرازولام 10 µg/mL و ديازيبام 12 µg/mL

تم اخذ حجم 1مل من المحلول القياسي لكل من كلورديازيبوكسيد و ألبرازولام و أميتريبتيلين تراكيز 100 µg/mL و ديازيبام ذا تركيز 120 µg/ml كما تم تحضيرها سابقا في محلول القياسي لجهاز HPLC في قنينة حجمية سعة 10 mL واكمل الحجم إلى حدالعلامة بنفس المذيب المحضر سابقا(الطور المتحرك) .

(4-2) تحضير محاليل المستحضرات الصيدلانية :-

تم استخدام المستحضرات الصيدلانية للأدوية كلورديازيبوكسيد و ديازيبام الأميتريبتيلين ألبرازولام مدونة اسمائها ومحتوياتها والشركات المصنعة لها كما في الجدول (2-3)

الجدول (2-3) المستحضرات الصيدلانية للأدوية المستخدمة

Name of drug	Pharmaceutica	Contains	Company
	l Bran		
Chlordiazepoxide	LIBROXIDE-10	Chlordiazepoxide-10gm	LIBROXIDE SDI Iraq
Alprazolam	XANAX-0.5	Alprazolam-0.5 mg	XANAX,pfizer

	VALIUPAM5	Diazepam-5 mg	AL-Kindi Co.For
Diazepam	TABLET		na.Ind .Baghdad-Iraq
Diazepam	Valium-10gm	Diazepam-10 mg	MfgSiteDEVA
			Kocael
Amitriptyline	Amitriptyline	Tryptizol -25mg	Actavis Barnstaple
			! 8NS UK

(1-4-2) تحضير محلول للمستحضرات الصيدلانية لجهاز HPLC

تم وزن عشرة أقراص (tablet) من كل مستحضر صيدلاني (ديازيبام 5mg كلورديازيبوكسيد 10mg)، (الأميتريبتيلين 25mg والبرازولام 0.5mg) من الشركات المختارة بدقة ثم سحقت ومزجت جيدا باستخدام هاون خزفي وأخذ كل منها واحدة 0.1789g , 0.1195g, 0.1029g, 0.1312g) على التوالي كلورديازيبوكسيد وديازيبام و أميتريبتيلين البرازولام في دورق حتمي سعته 100مل إذابته وإكماله إلى حد العلامة الميثانول للحصول على 100µg/ml لكل عقار (كلورديازيبوكسيد و أميتريبتيلين البرازولام) أما بالنسبة لديازيبام ذوتركيز 120µ g/ml واذابته في الميثانول وفي بيكر حجم 50 mL وبعد التأكد من عملية الاذابة باستخدام جهاز الأمواج الصوتية ولمدة ربع ساعة. تم ترشيح المزيج بواسطة ورق ترشيح حجم 45مايكرون , بعدها نقل الراشح الى قنينة حجمية سعة 100مل وأكمل الحجم إلى العلامة بنفس المذيب المحضر سابقا. ثم بعدها نقوم بعملية التخفيف للحصول على التراكيز التي يتم العمل بها. علما أن النماذج التي تم العمل عليها هي متوفرة في الأسواق المحلية ولشركات مختلفة لعقاقير , كلورديازيبوكسيد و أميتريبتيلين البرازولام وطريقة العمل هذه تطبق على جميع مستحضرات كلورديازيبوكسيد و أميتريبتيلين البرازولام .

(2-4-2) بناء منحنى المعايرة للعقاقير كلورديازيبوكسيد و أميتريبتيلين البرازولام

100 µg/m L وديازيبام 120 µg/mL

أخذت مجموعة من القناني الحجمية سعة 10 مل الحاوية على حجوم متغيرة من المادة القياسية تقع ضمن حدود قانون ببيير-لامبيرت و اكمل الحجم بالعلامة بالطور المتحرك ، وقيست مساحة القمة لكل التركيز ثلاث مرات و أخذ معدل مساحة القمة ، بعدها رسم منحني المعايرة القياسي لكل العقار

(5-2) محاليل المواد المستخدمة في جهاز الأشعة فوق البنفسجية والمرئية ذو حزمة

مزدوجة للجهاز UV-Visible

(1-5-2) تحضير كلوريد الحديدك $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

تم تحضير محلول $3.3 \times 10^{-3} \text{ M}$ من $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ واذ أن الوزن الجزيئي 270.2957 g/mol عن طريق إذابة 0.089g في 1.75 ml من حمض الهيدروكلوريك HCl_3 باستخدام دورق حجمي 100 مل , تم اكمال الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة.

(2-5-2) تحضير 3-ميثيل-2-بنزوثيرازول نون هيدرازين هيدروكلوريد هيدرات ذو تركيز 1.12×10^{-2} M MBTH:

حضر محلول ذو تركيز 1.12×10^{-2} M من MBTH واذا أن الوزن الجزيئي 215.70 g/mol عن طريق إذابة 0.100 g من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية 50 ml , تم اكمال الحجم بالحامض مخفف في الماء المقطر إلى حد العلامة.

(3-5-2) تحضير محلول البلائك للجهاز UV-Visible

تم تحضير البلائك بنفس طريقة تحضير ال stock اضافة $\text{MBTH} + \text{FeCl}_3$ ولكن بدون مادة العقار.

(4-5-2) تقدير محلول القياسي لعقاقير كلورديازيبوكسيد و ديازيبام ألبرازولام للجهاز

UV-Visible

تم تحضير سلسلة من تراكيز مختلفة لعقاقير (كلورديازيبوكسيد و ديازيبام أميتريبتيلين ألبرازولام) في دورق حجمي سعة 10 mL وكانت حدود الخطية لمنحنى المعايرة $(5-50) \mu\text{g/mL}$ (لمركبات) كلورديازيبوكسيد , ديازيبام , ألبرازولام , أميتريبتيلين) . ثم بعد ذلك تم إضافة 1.5 mL من $(1.12 \times 10^{-2} \text{ M})$ من MBTH إلى المحلول ورجها جيداً. تم إضافة 1 mL من $(3.3 \times 10^{-3} \text{ M})$ من كلوريد الحديدك، تم تحضير كل من MBTH و FeCl_3 من خلال اضافة حامض الهيدروكلوريك HCl المخفف تم تحضيرها سابقاً، وترك المحاليل لمدة 15 دقيقة , تم تحضير البلائك الكاشف بنفس الطريقة لكن بغياب الدواء.

(6-5-2) الطريقة تحضير محلول قياسي المستحضرات الصيدلانية كلورديازيبوكسيد ،

ديازيبام ، ألبرازولام ، أميتريبتيلين لجهاز UV -Vis

تم وزن (عشرة) أقراص من كلورديازيبوكسيد و ديازيبام ألبرازولام من كل نموذج من الشركات المختارة. ثم طحنت ومزجت جيدا في هاون خزفي واخذ منها وزن مايساوي 0.100g من المادة الفعالة الذي يحوي 10mg من المادة الفعالة واذيبت في 10ml من ايثانول بالنسبة ل كلورديازيبوكسيد و ديازيبام أمال ألبرازولام، ، أميتريبتيلين اذيب في الميثانول وفي دورق قنينة حجمية سعة 100 ml ووضعت في حمام فوق الأمواج الصوتية ولمدة 15 دقيقة من أجل استخلاص المادة الفعالة في الماء المقطر. تم اكمال الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة ورج جيد بعدها تم فلتره المحلول في ورقة حجم 45 مايكرون. أخذ بعدها حجم مقداره 10ml من الراشح ووضع في قنينة حجمية سعة 100 mL وأكمل الحجم إلى حد العلامة تم بعدها قيست الامتصاصية وباستخدام جهاز المطياف الضوئي وحسب بعدها تركيز المادة الفعالة .

(6-2) مواد السواغ (المضافات) Excipients

وقد حضرت تركيز 100µg/mL بإذابة أوزان ثابتة (0.0100g) من كل مادة وعلى انفراد في الماء المقطر في قنينة حجمية سعة (100 mL). بعدها حضر تركيز مخفف مقداره 20µg/mL بالتخفيف المتعاقب بالماء المقطر استخدمت المواد المضافة المبينة أنواعها والشركات المجهزة لها كما في الجدول (4-2) .

الجدول (4-2) يوضح مواد السواغ (المضافات)

NO	Excipients	Company
1	Starch	Himedia
2	Fructose	Himedia
3	Lactose	Himedia
4	Glucose	Himedia

1-3 النتائج والمناقشة للطريقة الكروماتوغرافية :-

Result and Discussion for HPLC Method

يتضمن هذا الجزء من البحث استخدام تقنية الكروماتوغرافية السائلة عالية الأداء لتقدير كل من العقاقير الأربعة الكلورديازيبوكسيد والديازيبام و الألبرازولام و الأميتريبتيلين و في الحالة النقية وفي بعض المستحضرات الصيدلانية.

1-1-3 الدراسة النوعية : Qualitative Study

بعد تشغيل الجهاز والتأكد من ازالة الهواء من الطور المتحرك واستقرار خط القاعدة لمدة نصف ساعة وذلك بواسطة فعل التفريغ أو تخلخل الضغط بحيث يتم التأكد"من خروج جميع الهواء (الفقاعات) بحيث تصبح المنظومة بأفضل حال . نقوم بحقن المادة النقية والمعلومة التركيز من خلال صمام الحقن الى ال Loop الذي حجمه 20 µL لكل واحد من المركبات التالية DIZE,ALP, CH,AM باستخدام طور متحرك (mobile phase) المكون من المواد الكيميائية التالية: (Buffer pH.4 (40:30:30,0.010M,NaH₂PO₄:Me:Ac, وحسب النسب المذكورة بحيث كان الطول الموجي لتقدير عقار CH 264 nm وتم الحصول على زمن احتجاز 3.512 دقيقة عقار CH, وزمن الاحتجاز لعقار DIZE هو 2.75 دقيقة . بعد تغيير الطول الموجي لمادة الديازيبام إلى nm 230 وزمن الاحتجاز عقار اميتريبتيلين 3.244 دقيقة عند طول الموجي 240 nm وزمن الاحتجاز لعقار البرازولام هو 3.703 دقيقة وطول الموجي 260 nm .

Preliminary Investigation

2- مبدأ العمل

1-3

تم حقن 20µL لكلا من العقاقير الأربعة كلورديازيبوكسيد و ألبرازولام و أميتريبتيلين و بتركيز 10 µg /ml لكل دواء ماعدا ديازيبام بتركيز 12 µg /ml على التوالي كل

منها على إنفراد من المادة القياسية المحضرة لكل عقار وبمعدل جريان 1 مل / دقيقة بعد استقرار خط القاعدة ، وتم قياس زمن احتباس لكل عقار وكما في جدول (1-3) التالي .

الجدول (1-3): عرض ظروف التشغيل لكل من CH و DIZE و AM و ALP

القيم	Parameters
0.01M,NaH ₂ PO ₄ 40mL 30-Methanol 30- acetonitrile	الطور المتحرك
CH 264 nm, DIZE 230 nm AM 240 nm, ALP 260 nm	الطول الموجي
3. 512 min for CH 5.275 min for DIZE 3.244min for AM 3.703 min for ALP	زمن الاحتجاز
pH=4	الدالة الحامضية للطور المتحرك
1.0 mL/ min	معدل الجريان
20 µL	الحجم المحقون
35 C°	درجة الحرارة
Isocratic	طريقة العمل

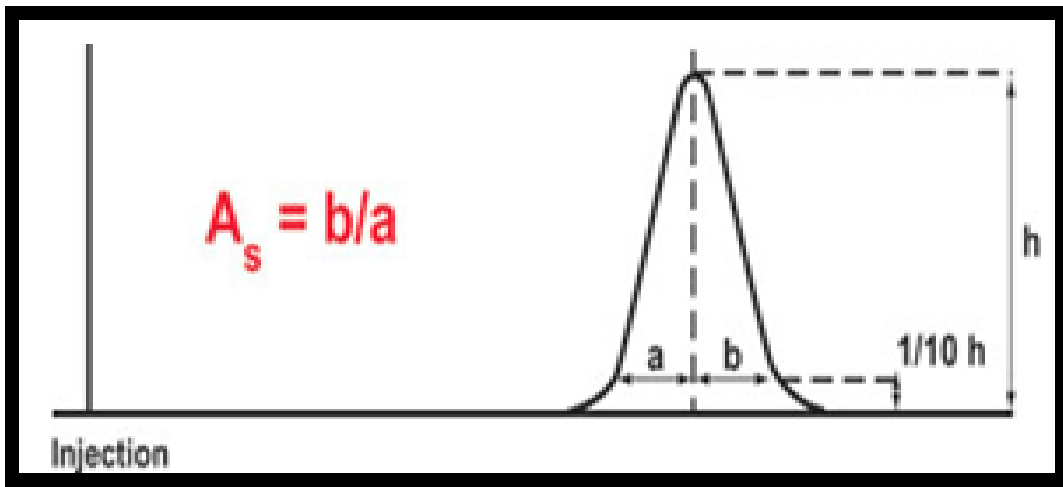
3-1-3 الظروف المثلى للتجربة

1-3-1-3 تأثير معدل تدفق الطور المتحرك

Effects of Flow Rate of Mobile Phase

للحصول على أفضل معدل تدفق للطور المتحرك (90-116)، تم إجراء بعض التجارب عن طريق حقن 20 µL لكل من محلول القياسي كل على انفراد CH وال و ALP ال AM. ذا تركيز 100 µg/mL بالنسبة لعقار DIZE ذا تركيز 120 µg/mL على الانفراد على العمود C18-ODS باستخدام (3030:40): 0.010 M NaH₂PO₄, CH₃OH, CH₃CN كطور متحرك وكانت النتائج حسب الشكل (1-3) والجدول (2-3) (3-3) (4-3) و (5-3) وتم حساب معامل التماثل للكروماتوغرام لكل القمم وحسب المعادلة التالية (1-3)

$$A_s = \frac{b}{a} \quad \dots (1-3)$$



الشكل (1-3) مخطط يمثل حساب عامل التناظر.

وتكون A_s (124) عادة محسوبة بقسمة المسافة من الخط المركزي للذروة الى المنحدر الخلفي b على المسافة من خط مركز القمة إلى المنحدر الأمامي a . لكلا من CH, DIZE, AM, ALP كما في جدول (2-3), (3-3), (4-3), (5-3).

الجدول (2-3) يوضح تأثير معدل التدفق على زمن الاحتجاز لعقار CH بتركيز 10 ppm

معدل التدفق (mL/min)	عامل التناظر A_s	زمن الاحتجاز
0.8	1.00	4.982
1.00	0.810	3.965
1.2	1.142	3.314

أثناء التجربة إذ أن تدفق 1 ml/min هو أفضل تدفق للطور السائل الذي يحتوي على اربعة ادوية بناء على حساب As عامل التناظر.

الجدول (3-3): يوضح تأثير معدل التدفق على زمن الاحتجاز لعقار DIZE بتركيز 12µg/mL

معدل التدفق (mL/min)	عامل التناظر	زمن الاحتجاز
0.8	1.200	7.91
1.00	1.133	6.27
1.2	1.000	5.27

الجدول (4-3): يوضح تأثير معدل التدفق على زمن الاحتجاز لعقار AM ذا تركيز

10 µg/mL

معدل التدفق (mL/min)	عامل التناظر	وقت الاحتجاز
0.8	1.142	4.076
1.00	1.048	3.244
1.2	0.832	2.747

الجدول (5-3): يوضح تأثير معدل التدفق على زمن الاحتجاز لعقار ALP ذا تركيز

10 µg/mL

معدل التدفق (mL/min)	عامل التناظر	وقت الاحتجاز
0.8	1.504	4.677
1.00	1.174	3.703
1.2	1.008	3.105

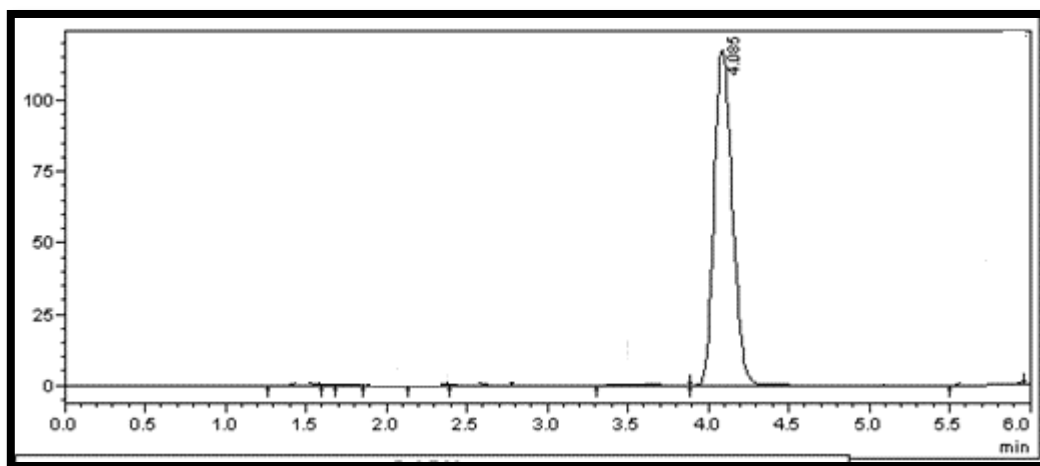
2-3-1-3 تأثير الاس الهيدروجيني

للحصول على أفضل دالة حامضية للطور المتحرك تعطي اقل زمن احتجاز واعلى فصل . أجريت عدة تجارب عن طريق حقن $20 \mu\text{L}$ من محاليل قياسية بتركيز $10 \mu\text{g/mL}$ لكل من CH والAM والALP اما بالنسبة لعقار DIZE حضر بتركيز $12 \mu\text{g/mL}$ باستخدام نفس المحاليل المذكورة أنفا للطور المتحرك فوجد أن أفضل دالة حامضية هي $\text{pH}=4$ بالاعتماد على حساب زمن الاحتجاز وعامل التناظر .

وحسب الجداول (3-6) ، (3-7) ، (3-8) ، (3-9) يوضح تأثير pH على زمن الاحتجاز للعقاقير الاربعة CH , DIZE , AM , ALP.

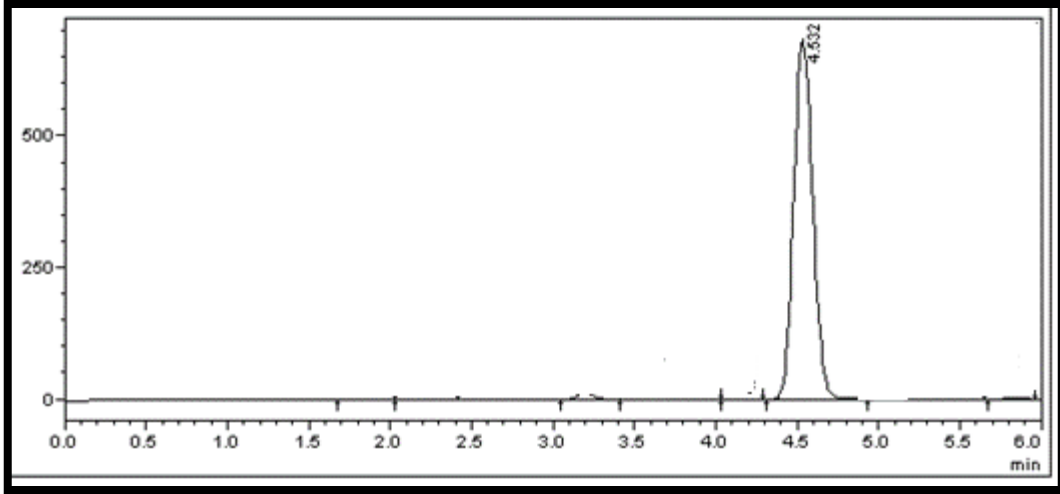
الجدول (3-6) يوضح تأثير pH على زمن احتجاز عقار كلورديازيبوكسيد CH بمعدل جريان 1 مل /دقيقة

pH	عامل التناظر	زمن الاحتجاز
4	0.720	4.085
5	1.166	4.532
6	1.000	5.053



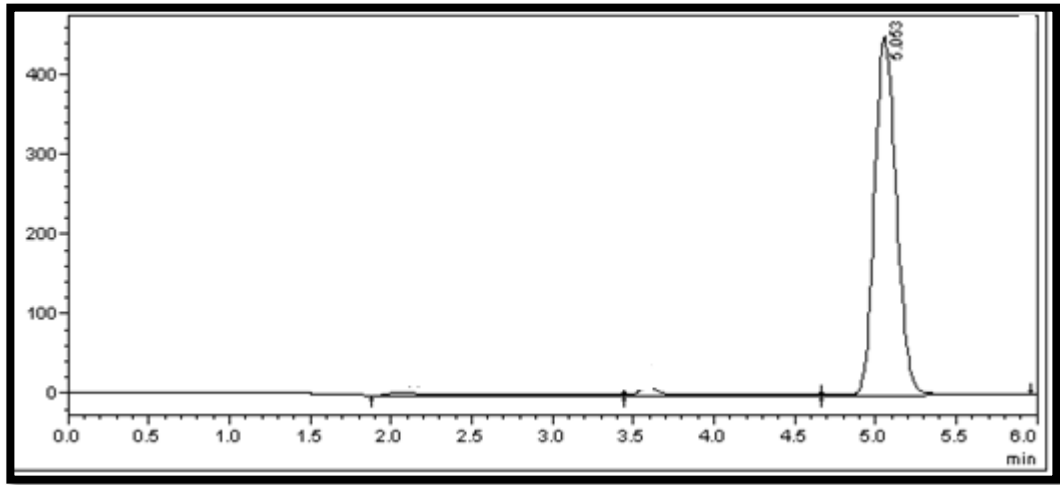
الشكل (3-2) كروماتوغرام يوضح تأثير $\text{pH}=4$ على زمن الاحتجاز لعقار CH بتركيز 10

$\mu\text{g/mL}$



الشكل (3-3) كروماتوغرام يوضح تأثير pH=5 على زمن الاحتجاز لعقار CH بتركيز

10 µg/mL



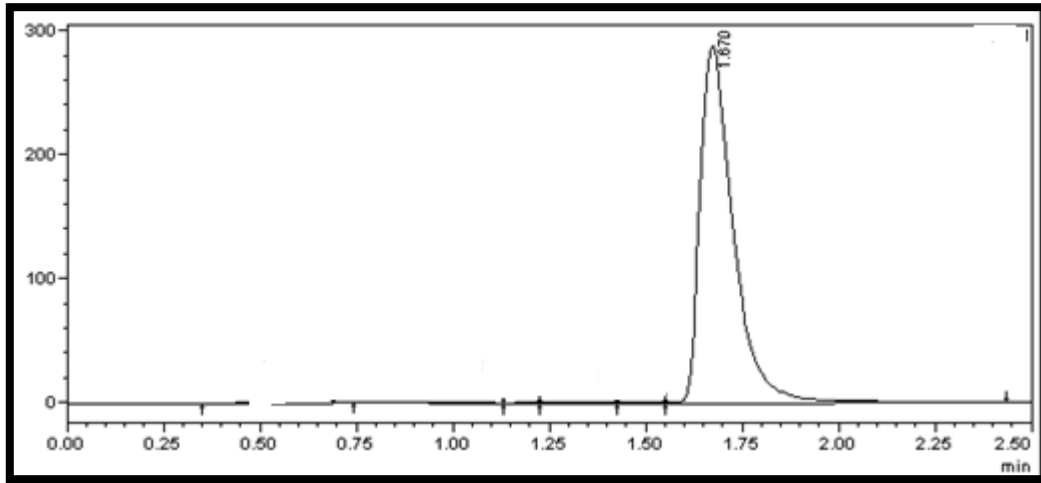
الشكل (4-3) كروماتوغرام يوضح تأثير pH=6 على زمن الاحتجاز لعقار CH بتركيز

10µg/mL

الجدول (7-3) يوضح تأثير pH على زمن الاحتجاز لعقار DIZE بتركيز 12 µg/mL

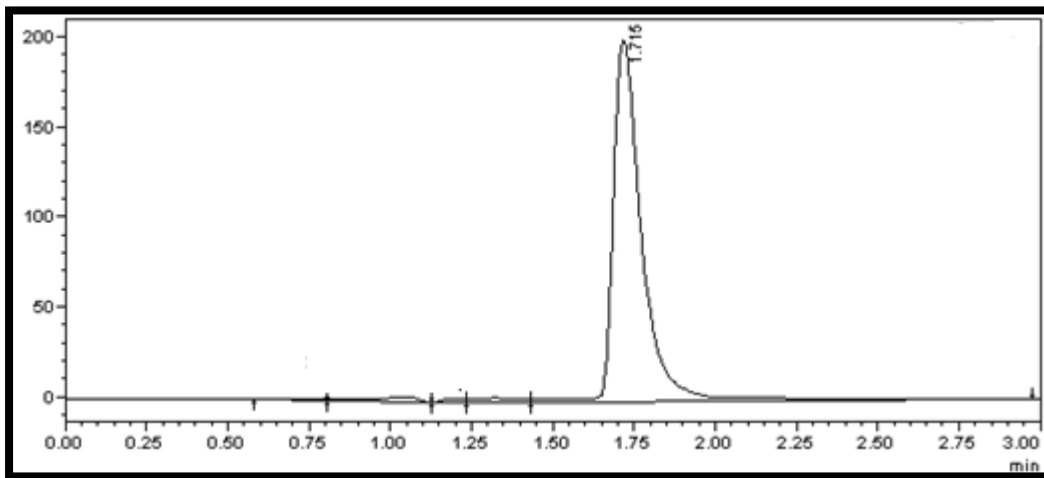
pH	عامل التماثل	زمن الاحتجاز
4	1.142	1.670

5	1.000	1.715
6	0.810	2.483



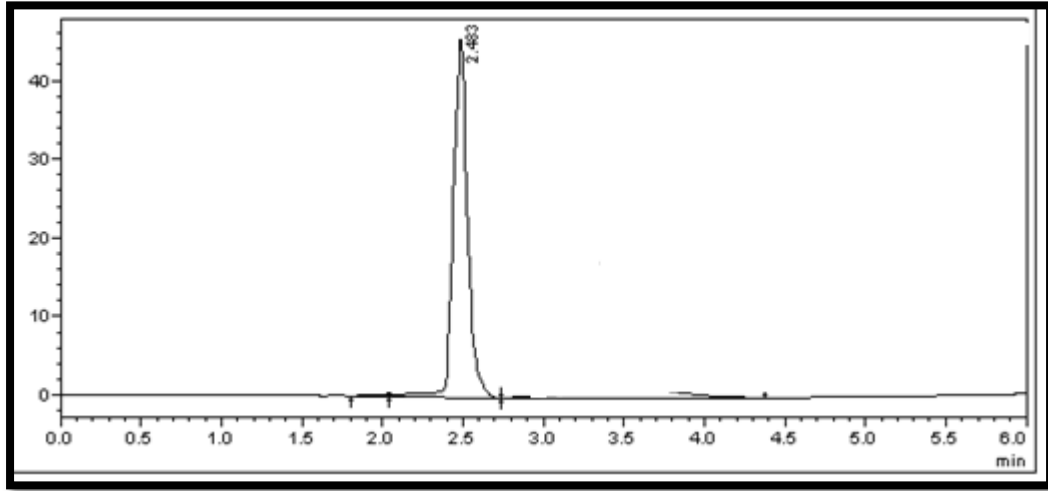
الشكل (3-5) كروماتوغرام يوضح تأثير pH=4 على زمن الاحتجاز لعقار DIZE بتركيز $\mu\text{g/mL}$

12



الشكل (3-6) كروماتوغرام يوضح تأثير pH=5 على زمن الاحتجاز لعقار DIZE بتركيز $\mu\text{g/mL}$

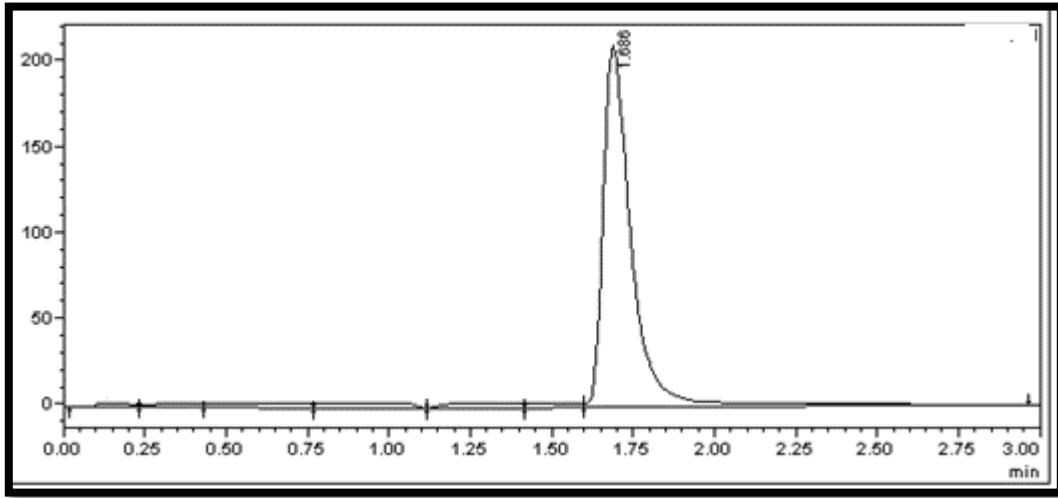
12



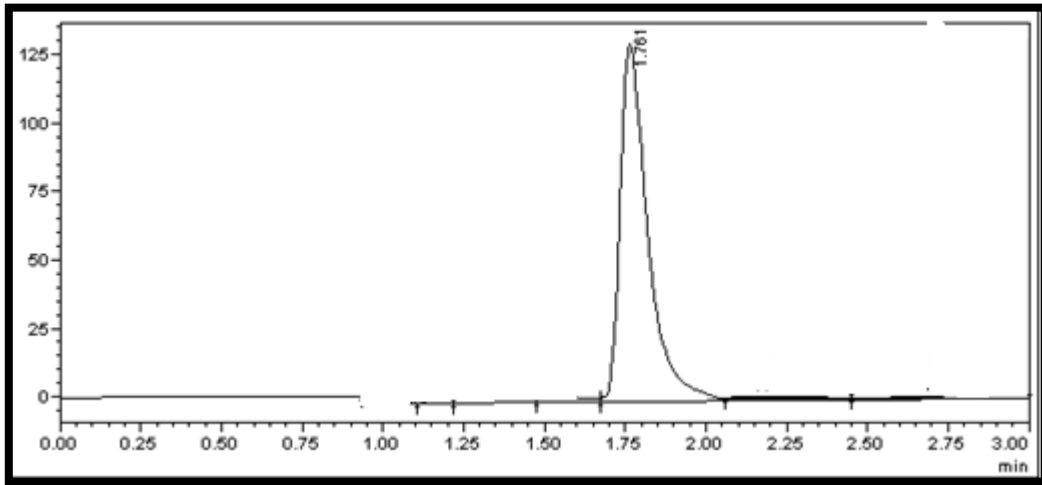
الشكل (7-3) كروماتوغرام يوضح تأثير pH=6 على زمن الاحتجاز لعقار DIZE بتركيز 12 µg/mL

جدول (8-3) يوضح تأثير pH على زمن الاحتجاز لعقار AM بتركيز 10 µg/mL

pH	عامل التناظر	زمن الاحتجاز
4	1.166	1.650
5	1.004	1.781
6	1.020	1.886

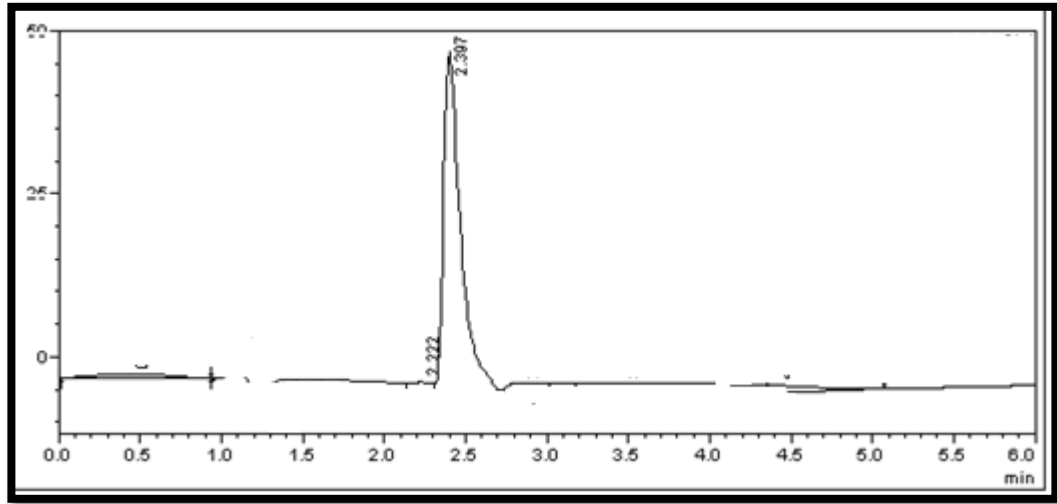


الشكل (8-3) كروماتوغرام يوضح تأثير pH=4 على زمن الاحتجاز لعقار AM بتركيز 10 $\mu\text{g/mL}$



الشكل (9-3) كروماتوغرام يوضح تأثير pH=5 على زمن الاحتجاز لعقار AM بتركيز $\mu\text{g/mL}$

10



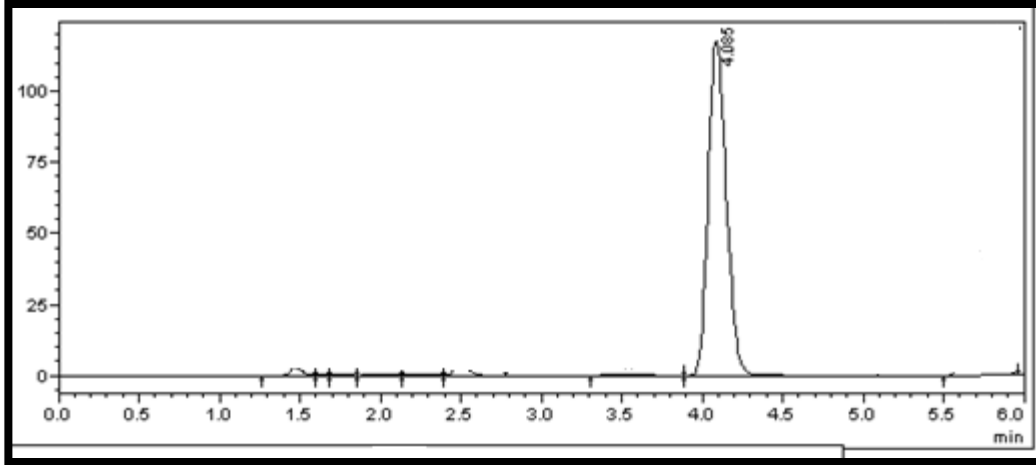
الشكل (10-3) كروماتوغرام يوضح تأثير pH =6 على زمن الاحتجاز لعقار AM بتركيز

$10 \mu\text{g/mL}$

الجدول (9-3) يوضح تأثير pH على زمن الاحتجاز لعقار ALP بتركيز $\mu\text{g/mL}$

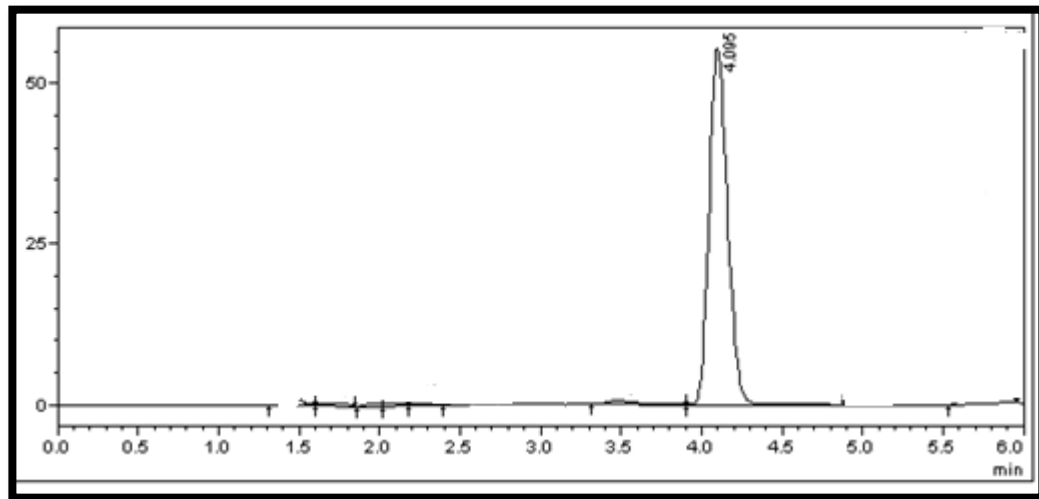
10

pH	عامل التناظر	زمن الاحتجاز
4	1.840	4.085
5	1.086	4.095
6	1.020	6.702



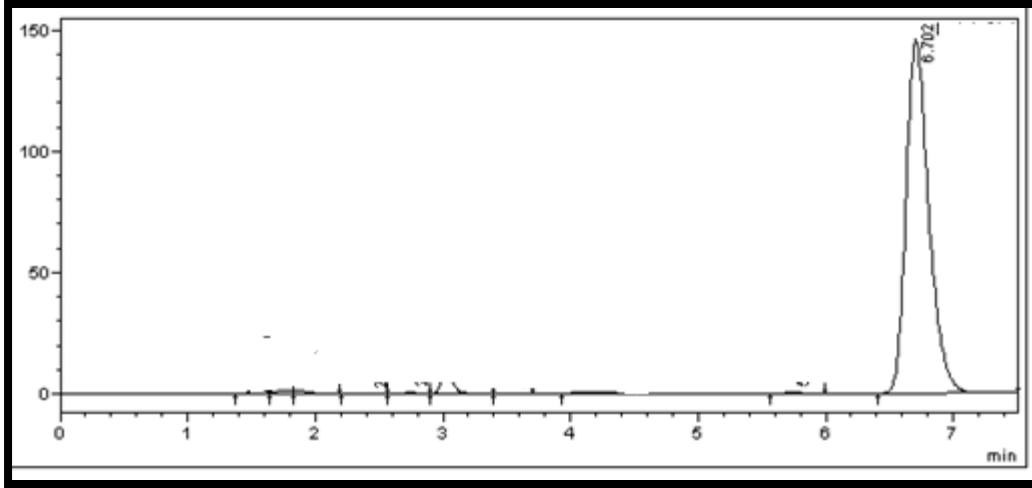
الشكل (11-3) كروماتوغرام يوضح تأثير $\text{pH} = 4$ على زمن الاحتجاز لعقار ALP بتركيز

$10\mu\text{g/mL}$



الشكل (12-3) كروماتوغرام يوضح تأثير $\text{pH} = 5$ على زمن الاحتجاز لعقار ALP بتركيز 10

$\mu\text{g/mL}$



الشكل (13-3) كروماتوغرام يوضح تأثير pH=6 على زمن الاحتجاز لعقار ALP بتركيز 10µg/mL

3-3-1-3 تأثير نسب المذيبات العضوية في فصل الادوية الاربعة:

بعد تثبيت سرعة الجريان والدالة الحامضية لكلا من كلورديازيبوكسيد و ديازيبام وأميتريبتيلين و ألبرازولام وذلك للحصول على فصل جيد لكل من الادوية الاربعة قيد الدراسة ضمن طور متحرك مكون من 30% ميثانول و30% اسيتونيتريل و40% محلول منظم ذو دالة حامضية pH=4 لفصل الادوية الاربعة⁽¹²⁰⁻¹¹⁹⁾. تم حساب عامل الفصل و وحسب الجدول رقم (10-3) والاشكال ()، (14-3) (15-3) ، (16-3)

$$R_s = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2} \quad \dots \quad (2)$$

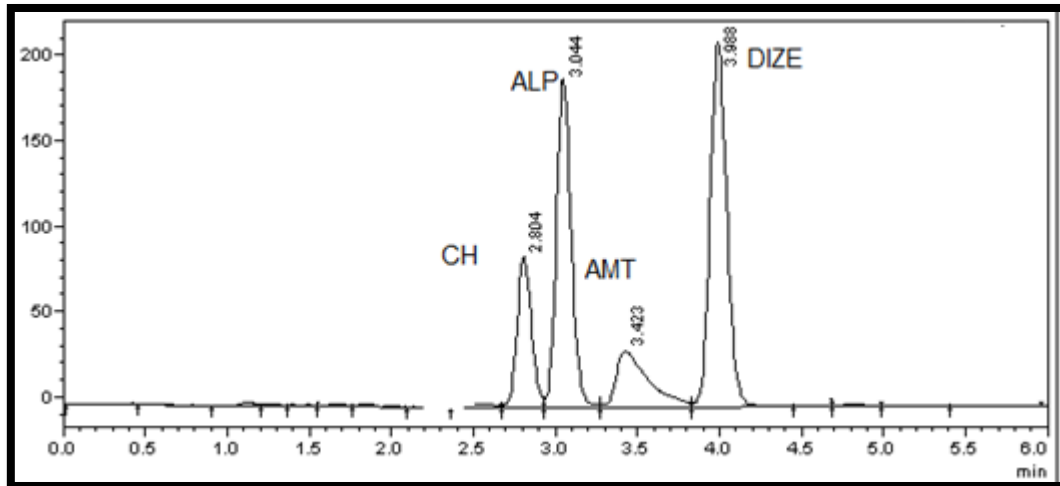
t_R تمثل زمن الاجتياز بالدقيقة للفصائل المفصولة

$W_{1/2}$ عرض القمة عند المنتصف

جدول (10-3) تأثير نسب المكونات في الطور المتحرك

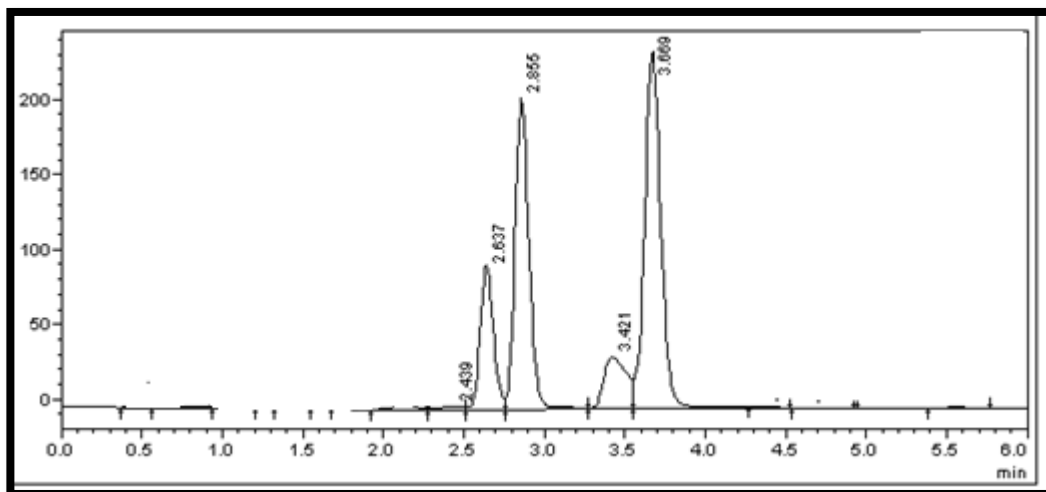
pH	عامل الفصل R_s	الطور المتحرك
pH=4	CH-ALP-1.5	30Me:30Ac:40Bu
	ALP-AMT-1.7	
	AMT-DIZE-1.6	
pH=5	CH-ALP-1.2	30Me:40:Ac:30:Bu
	ALP-AMT-2.0	
	AMT-DIZE-0.9	

PH=6	CH-ALP-1.0 ALP-AMT-1.2 AMT-DIZE-2.0	40Me:30Ac:30Bu
------	---	----------------



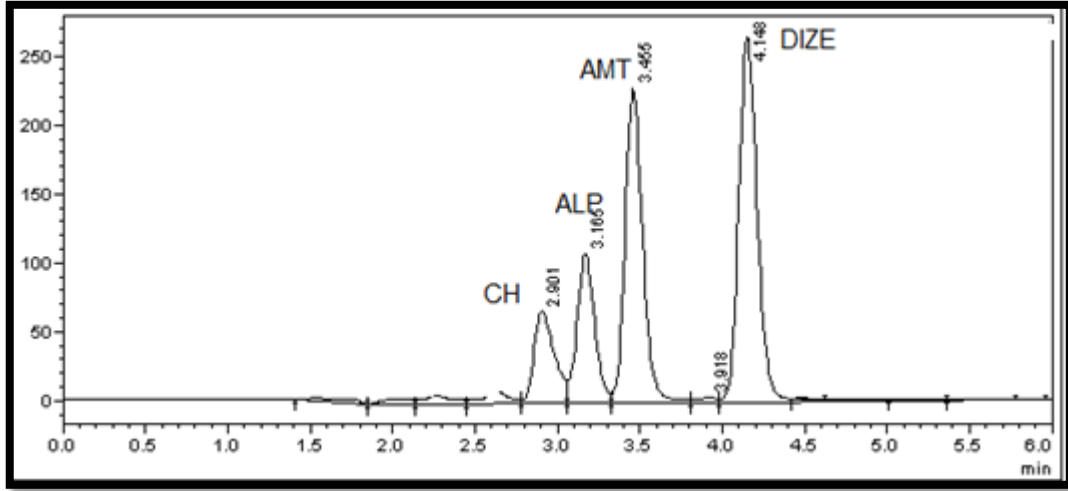
الشكل (3-14) كروماتوغرام تأثير نسب المكونات في الطور المتحرك في فصل الادوية

الاربعة



الشكل (3-15) كروماتوغرام تأثير نسب المكونات في الطور المتحرك في فصل الادوية

الاربعة

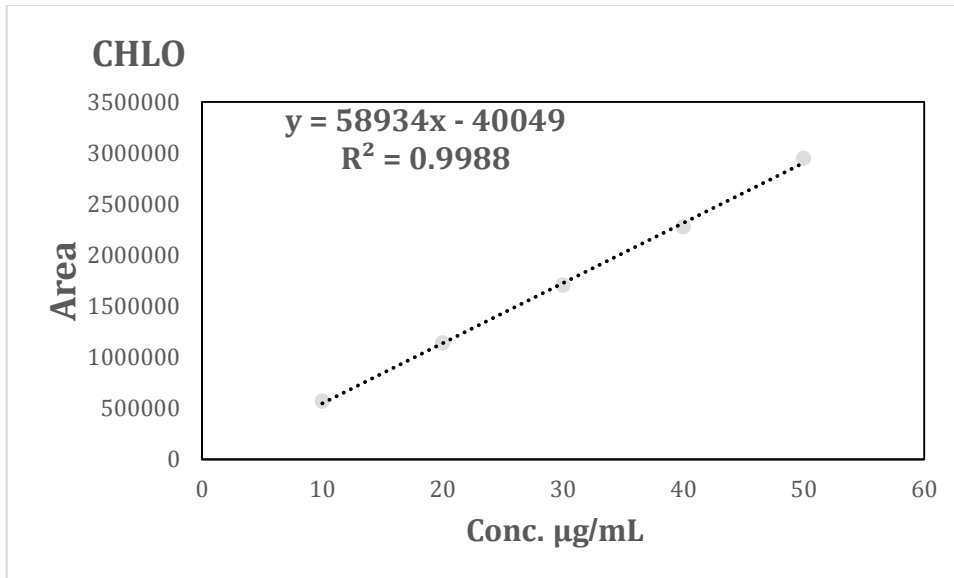


الشكل (3-16) كروماتوغرام تأثير نسب المكونات في الطور المتحرك في فصل الادوية الاربعة

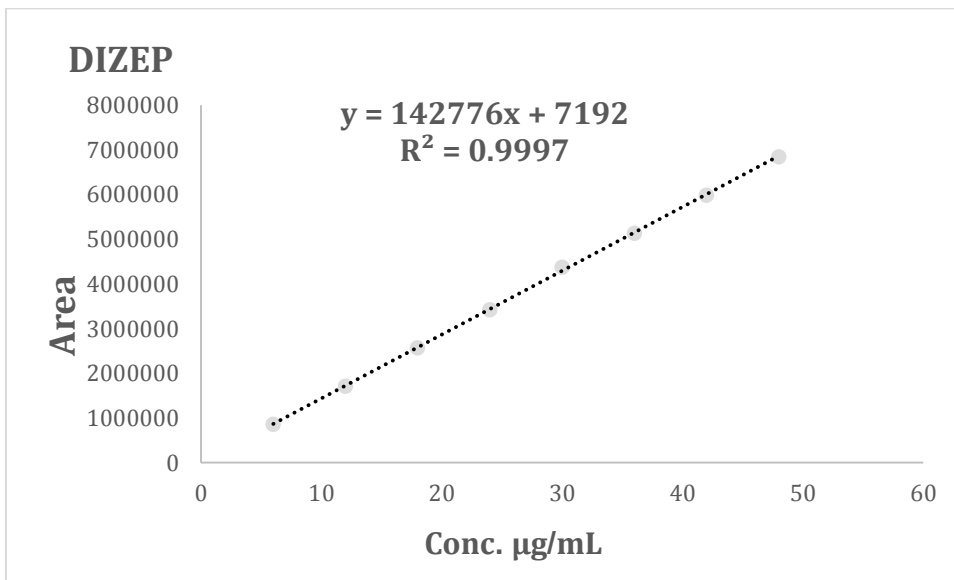
3-1-4 بناء منحنى المعايرة لادوية من كلورديازيبوكسيد و ديازيبام وأميتريبتيلين والبرازولام

في هذه الطريقة⁽¹¹⁶⁻⁹⁰⁾ تم تحضير خمسة تراكيز قياسية لكل مادة دوائية من المحلول القياسي ذا تركيز $100 \mu\text{g/mL}$ لكل من كلورديازيبوكسيد وال أميتريبتيلين وال البرازولام الديازيبام. ومنها حضرة منها سلسلة من التراكيز القياسية والتي تقع ضمن مدى الخطية لكل عقار وفي قناني حجمية سعة 10 مل بواسطة التخفيف بالطور المتحرك المحضر. وذلك ضمن المدى ($50-5 \mu\text{g/ml}$) لكل ALP و AM و CH أما العقار DIZE في مدى الخطي ($5-48 \mu\text{g/mL}$) إذ تم حقن كل تركيز بمقدار ثلاث مرات وقيست المساحات وأخذ معدل المساحة لكل ثلاث تراكيز، بعدها تم رسم المنحنى القياسي بين تراكيز المحاليل بوحدة $\mu\text{g/ml}$ مقابل معدل المساحة لكل تركيز إذ تم الحصول على المنحنيات كما موضحة في الأشكال :

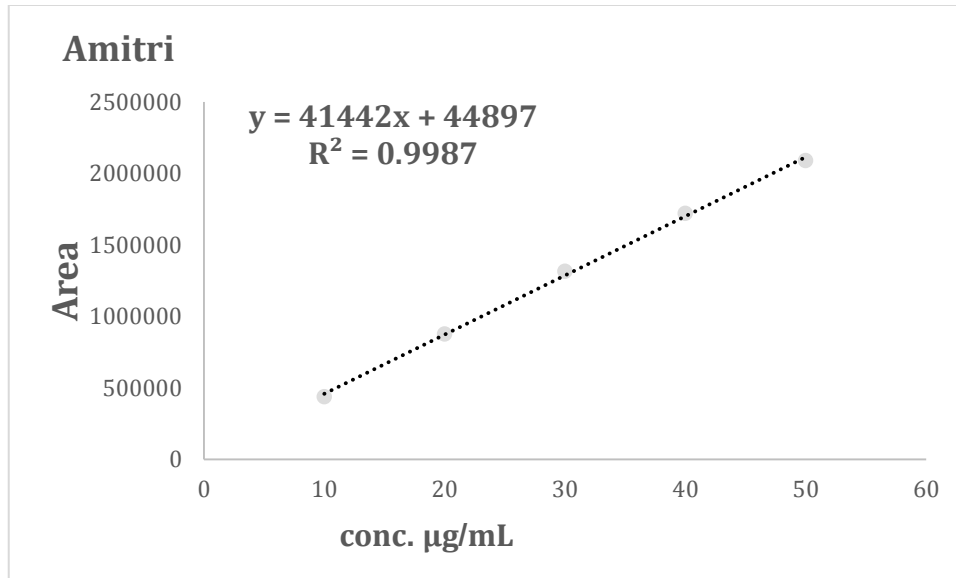
(17-3)، (18-3) (3-19)، (3-20) ومن منحنى المعايرة لدواء يتضح مطاوعته لقانون بيير لامبيرت في الامتصاصية ضمن المدى من التركيز $5-50 \mu\text{g/ml}$ لكلا من, AM ,ALP,CH . إما دواء DIZE فيطواع قانون بيير لامبيرت في الامتصاصية ضمن المدى ($6-48 \mu\text{g/ml}$) .



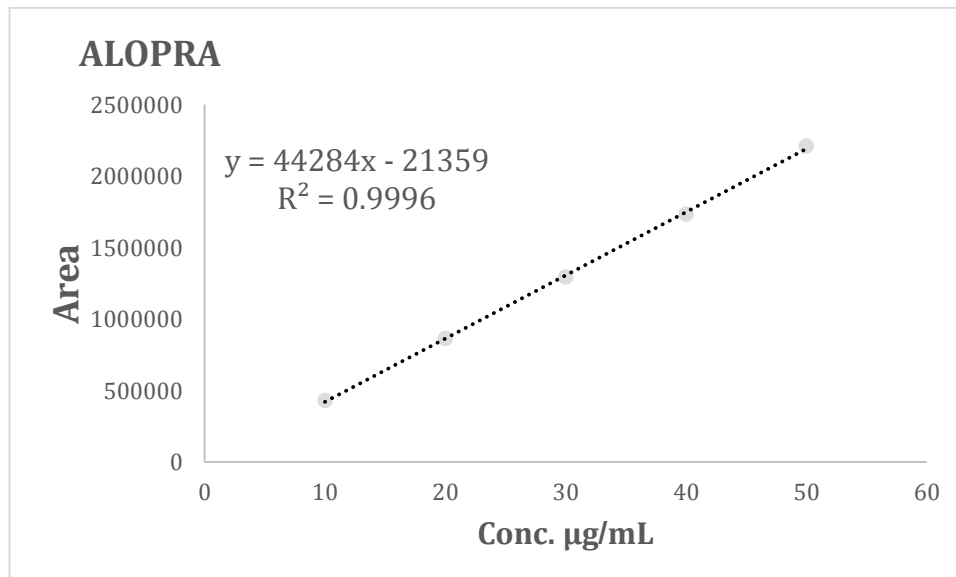
الشكل (3- 17) منحنى المعايرة لتقدير عقار CH وحسب الطريقة Rp-HPLC



الشكل (3-18) منحنى المعايرة لتقدير عقار DIZE وحسب الطريقة Rp-HPLC



الشكل (19-3) يمثل منحنى المعايرة لتقدير عقار AM وحسب الطريقة Rp-HPLC



الشكل (20-3) منحنى المعايرة لتقدير عقار ALP وحسب الطريقة Rp-HPLC

5-1-3 المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية

جدول (3-11) المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية لعقار كلورديازيبوكسيد

القيم	الحدود
264 nm	1. الطول الموجي
(5-50) µg /ml	2. حدود الخطية
(98.3-99.6)%	3. النسبة المئوية للاستيعادية
0.9992	4. معامل الارتباط
0.634µg /ml	5. حد الكشف
1.922 µg /ml	6. حد الكشف الكمي
0.037	7. معامل الانحراف المعياري

الجدول (3-12) المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية لعقار ديازيبام

القيم	الحدود
238 nm	1. الطول الموجي
(6-48) µg /ml	2. حدود الخطية
(98.55-101.03)%	3. النسبة المئوية للاستيعادية
0.9998	4. معامل الارتباط
0.616 µg /ml	5. حد الكشف
1.868 µg /ml	6. حد الكشف الكمي
0.026	7. معامل الانحراف المعياري

الجدول (3-13) المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية لعقار أميتريبتيلين

القيم	الحدود
238 nm	1. الطول الموجي
(10-50) µg /ml	2. حدود الخطية
(98.55-101.03)%	3. النسبة المئوية للاستيعادية
0.9982	4. معامل الارتباط
0.72 µg /ml	5. حد الكشف
2.57 µg /ml	6. حد الكشف الكمي
0.047	7. معامل الانحراف المعياري

الجدول (3-14) المعالجة الإحصائية للنتائج التحليلية لعقار ألبرازولام

القيم	الحدود

238 nm	1. الطول الموجي
(10-50) µg /ml	2. حدود الخطية
(99.03-100.01)%	3. النسبة المئوية للاستيعادية
0.9996	4. معامل الارتباط
0.77µg /ml	5. حد الكشف (115)
2.50 µg /ml	6. حد الكشف الكمي (115)
0.083	7. معامل الانحراف المعياري

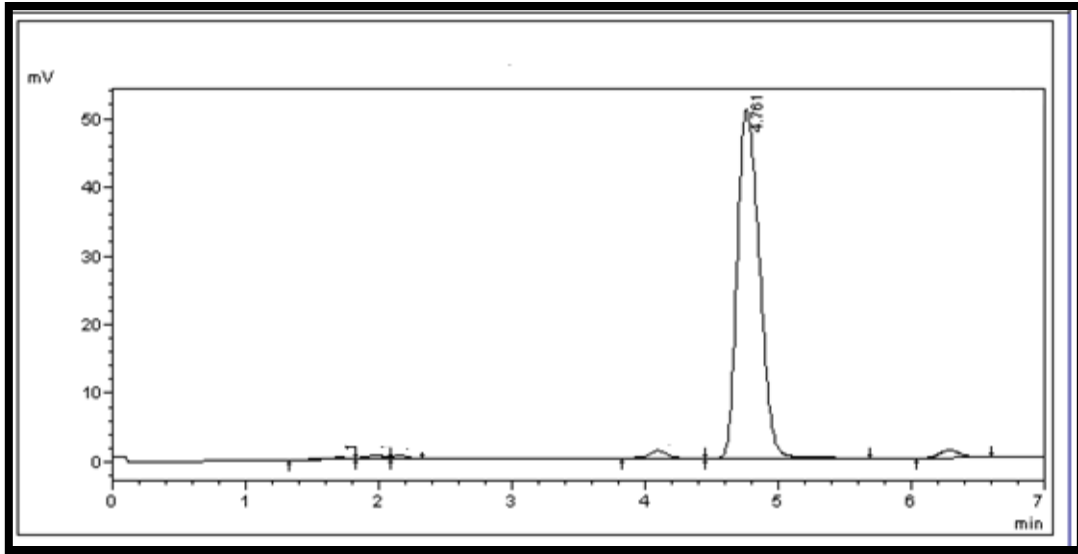
3-1-5-1) الدقة و الضبط للطريقة المقترحة :

أن درجة التقارب بين القيمة التحليلية والقيمة الحقيقية للمادة هو ما يطلق عليه بالدقة (116,117) Accuracy، أما درجة التقارب بين القياسات المتكررة لنفس الكمية المقاسة فيطلق عليها الضبط Precision وقد تم حساب دقة الطريقة الكروماتوغرافية في هذا البحث بحساب كلا من الخطأ النسبي المئوي (E% , Relative Error والنسبة المئوية للاسترداد % Rec , Recovery ، كذلك تم حساب ضبط الطريقة بحساب الانحراف النسبي المئوي Relative Standard deviation RSD% وباستخدام المعادلات السابقة . إذ تم قياس كل تركيز بمعدل ثلاث مرات وتم الحصول على النتائج كما في الجدول 15.3 والجدول 16.17,18

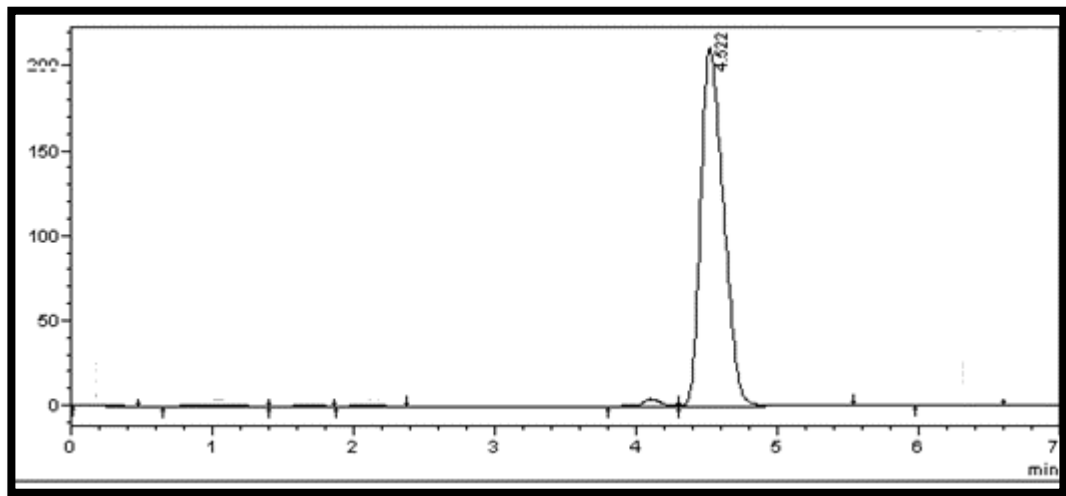
الجدول (3-15) معدل النتائج التي تم حصول عليها لثلاث تراكيز مختلفة من عقار

.CH

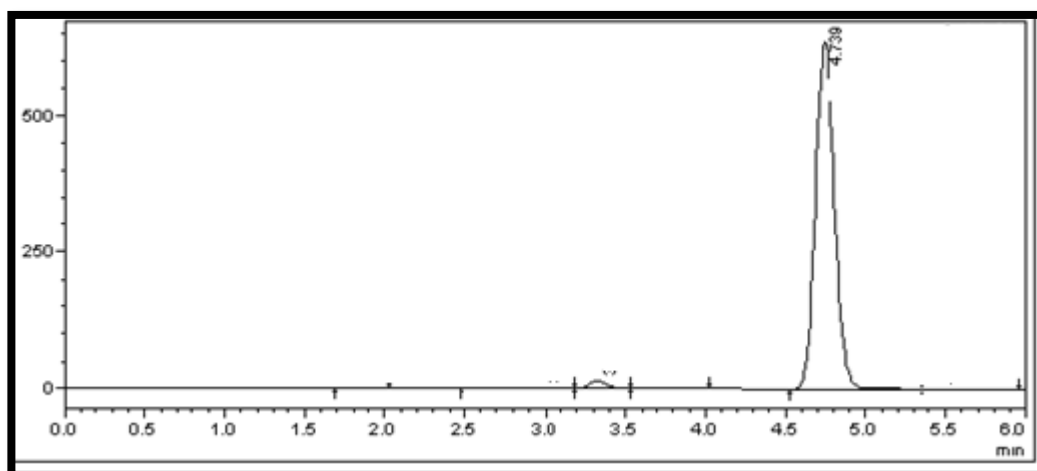
Concentration		µg/mL found	Error %	% Rec	% RSD
Taken					
5	4.900	-1.993	98.01	0.83	
30	29.753	-0.823	99.177	0.236	
50	50.179	0.358	100.36	0.152	



الشكل (21-3) كروماتوغرام لتركيز 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ لعقار كلورديازيبوكسيد



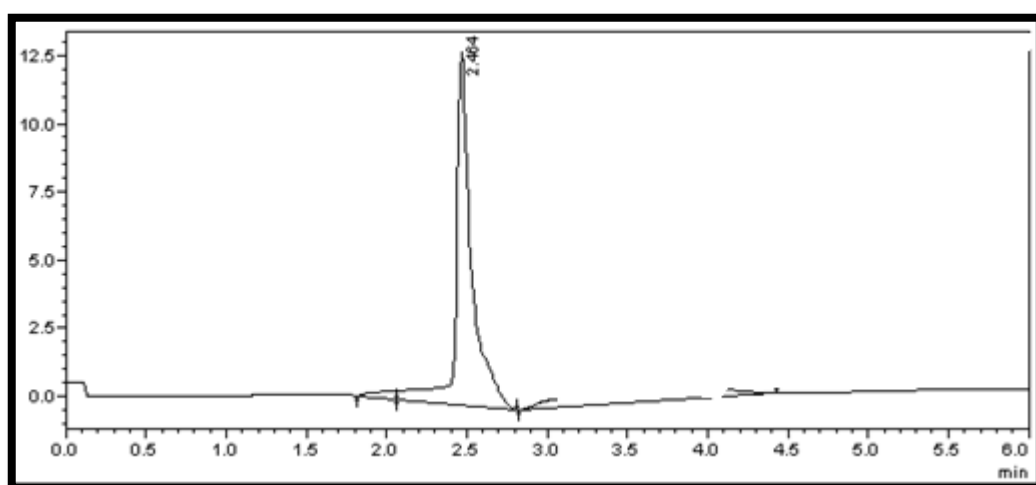
الشكل (22-3) كروماتوغرام التركيز 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ لعقار كلورديازيبوكسيد



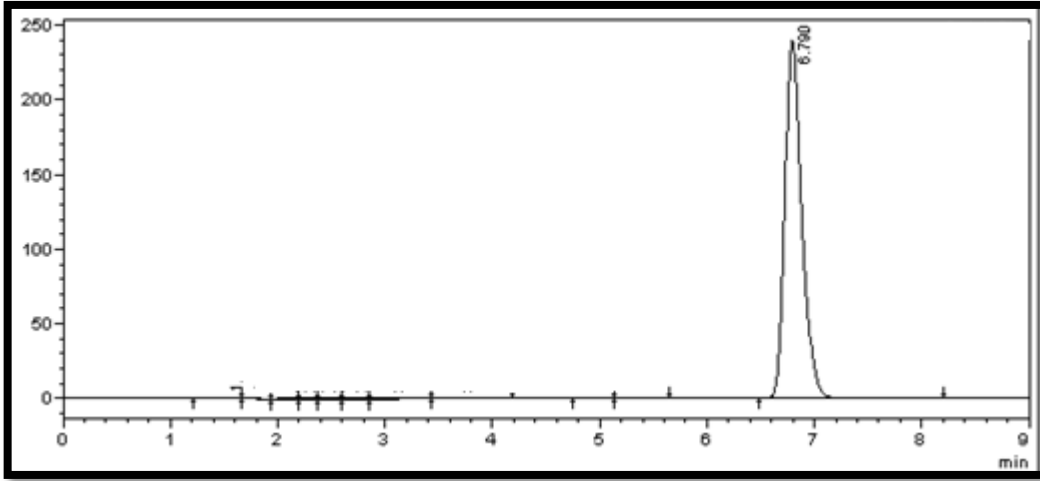
الشكل (3-23) كروماتوغرام التركيز 50µg/mL لعقار كلورديازيبوكسيد.

الجدول (3-16) معدل النتائج التي تم حصول عليها لثلاث تراكيز مختلفة من عقار DIZE

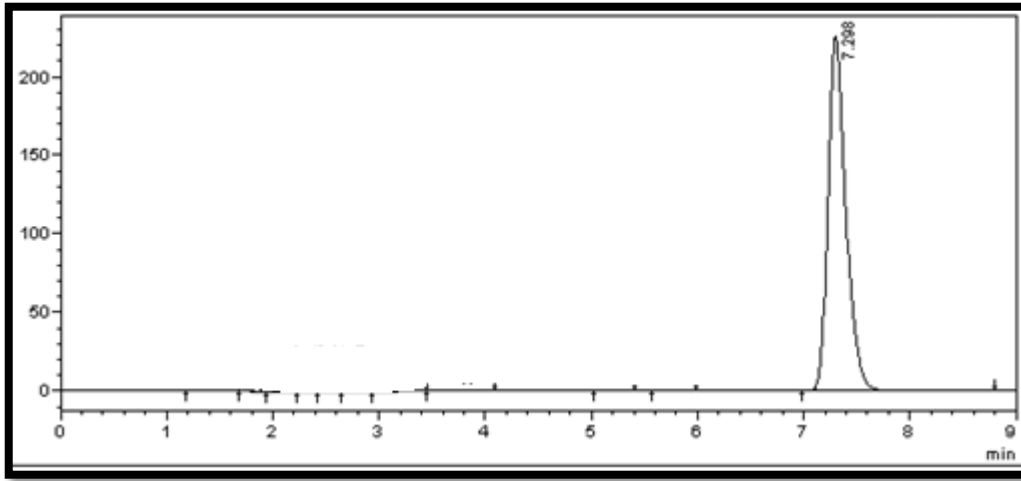
Concentration µg/mL		Error %	Recovery %	RSD %
Taken	Found			
6	6.148	2.480	102.495	0.15
24	24.247	-1.349	98.651	0.26
48	48.141	0.295	100.249	2



الشكل (3-24) كروماتوغرام التركيز 6µg/mL لعقار DIZE



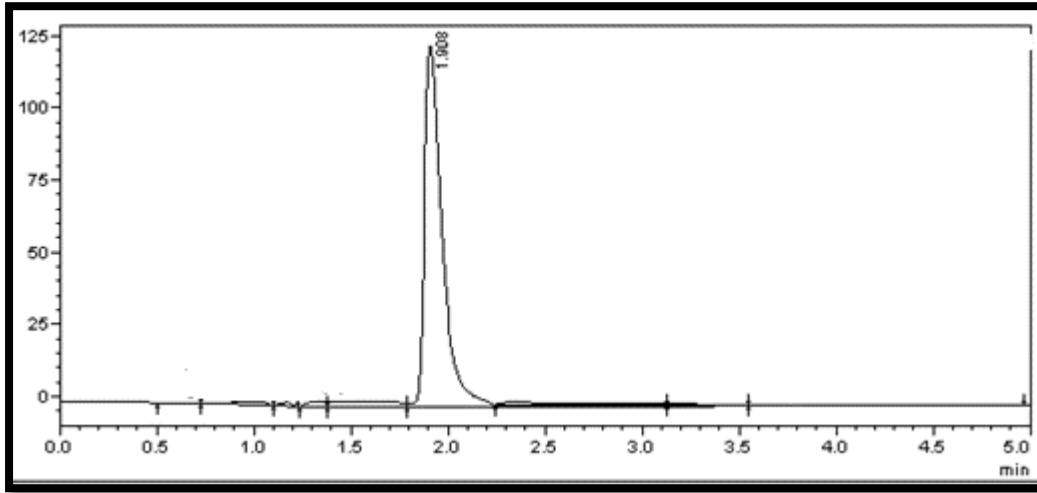
الشكل (25-3) كروماتوغرام التركيز 24 $\mu\text{g/mL}$ لعقار DIZE



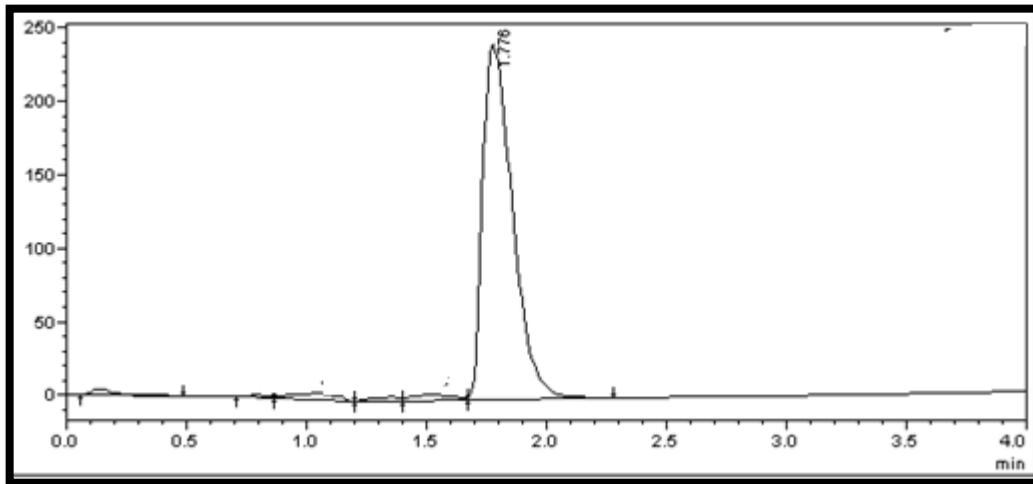
الشكل (26-3) كروماتوغرام التركيز 48 $\mu\text{g/mL}$ لدواء DIZE

الجدول (17-3) معدل النتائج التي تم حصول عليها لثلاث تراكيز مختلفة من عقار AM

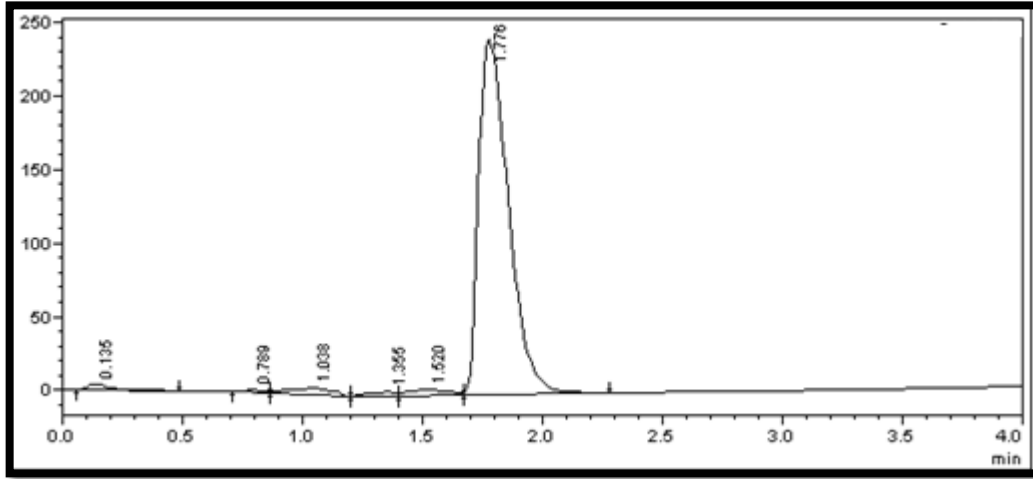
Concentration $\mu\text{g/mL}$		Error %	Recovery%	% RSD
Taken	Found			
10	9.897	-1.030	98.971	1.07
30	29.745	1.411	101.411	0.17
50	49.99	-0.293	99.707	0.14



الشكل (27-3) كروماتوغرام ذو تركيز 10 µg/mL لعقار AM.



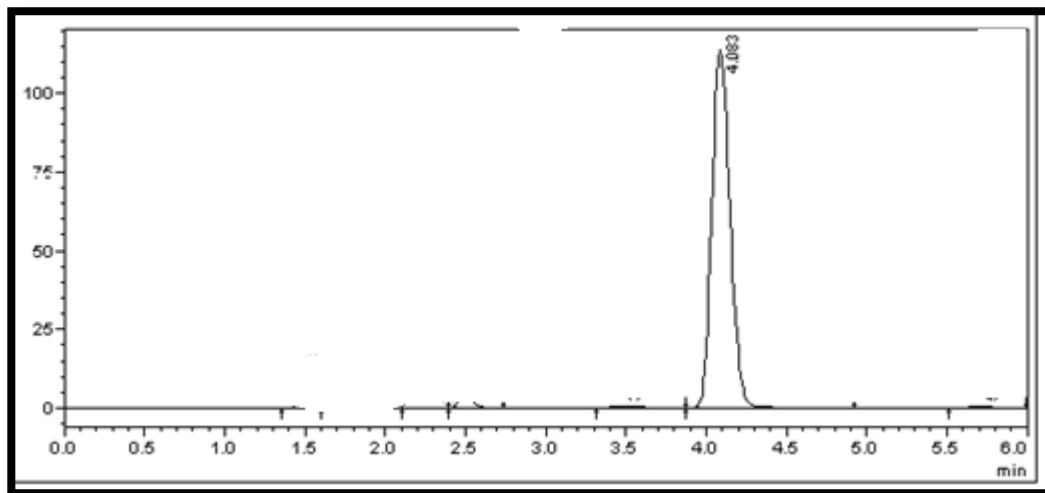
الشكل (28-3) كروماتوغرام التركيز 30 µg/mL لعقار AM.



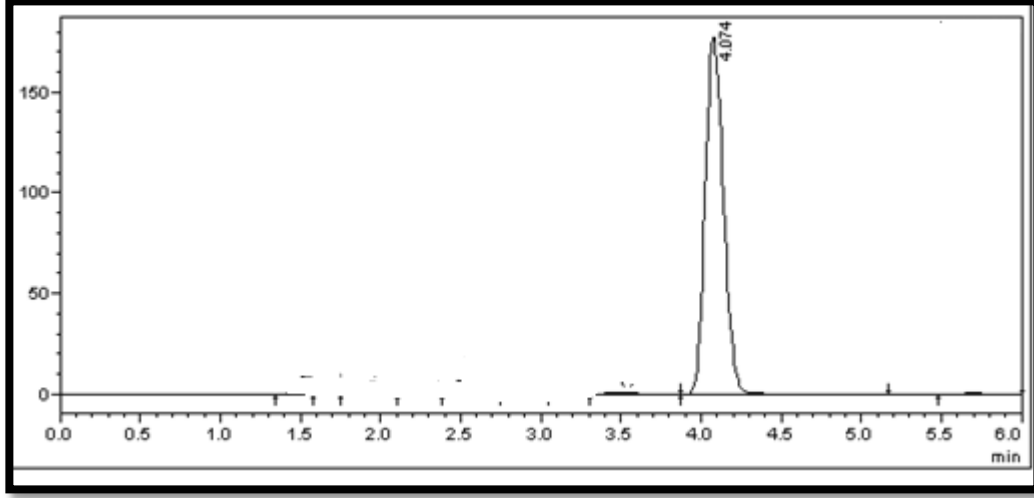
الشكل (29-3) كروماتوغرام التركيز $50 \mu\text{g/mL}$ لعقار AM.

الجدول (18-3) معدل النتائج التي تم حصول عليها لثلاث تراكيز مختلفة من عقار ALP

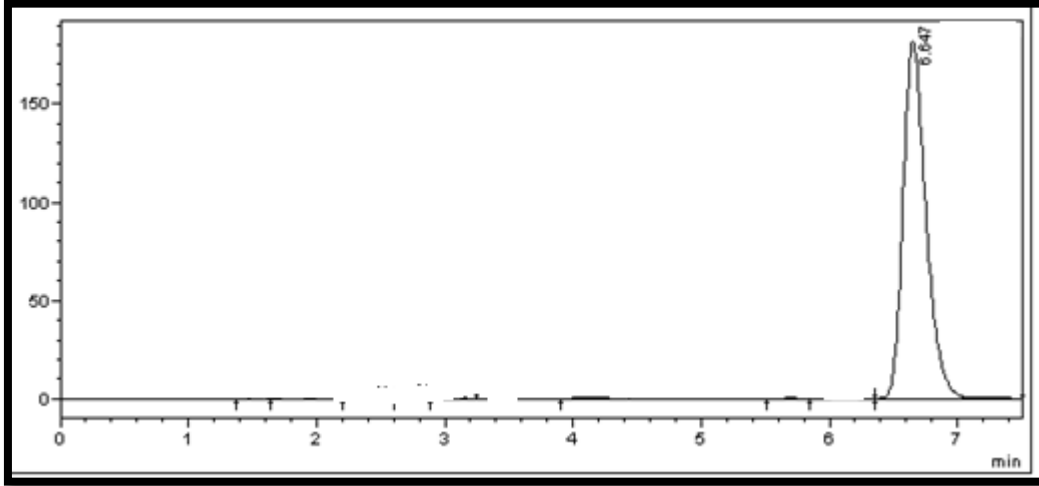
Concentration		error %	recovery%	RSD %
taken	Found			
10	9.821	-1.79	98.211	0.10
30	29.958	-0.141	99.859	0.28



الشكل (30-3) كروماتوغرام ذو تركيز 20µg/mL لعقار ALP.



الشكل (31-3) كروماتوغرام ذو تركيز 30µg/mL لعقار ALP.



الشكل (32-3) كروماتوغرام التركيز 50µg/mL لعقار ALP .

6-1-3 تطبيقات الطرق المقترحة على المستحضرات الصيدلانية

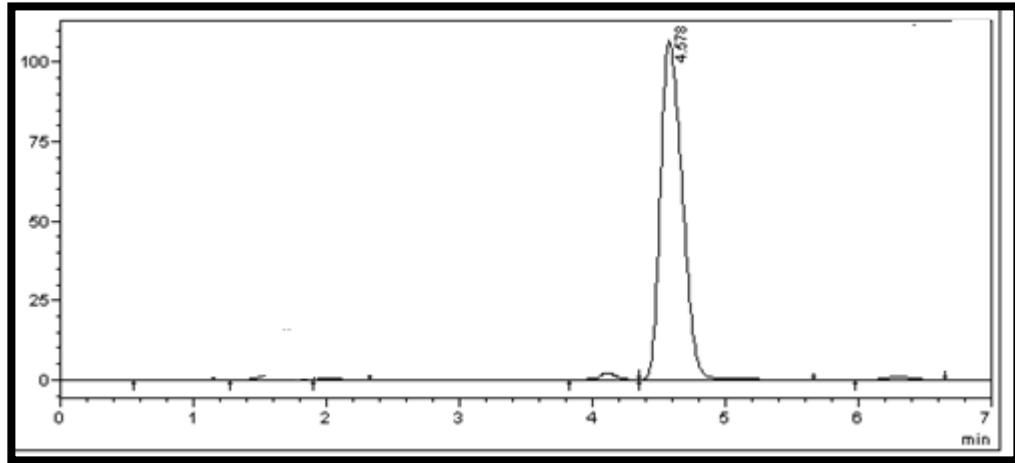
تم تطبيق الطريقة المقترحة في التقدير الكروماتوغرافي لعقاقير الاربعة كلورديازيبوكسيد والاميتريبتيلين والألبرازولام والديازيبام في بعض المستحضرات الصيدلانية ومن مناشيء مختلفة

، وكما مبين في الجدول (3-19) إذ حضرت محاليل المستحضرات الصيدلانية اذ تم تجهيز ثلاثة محاليل للتركيز الواحد ولثلاثة تراكيز مختلفة لكل مستحضر دوائي وتمت الاذابة في الطور المتحرك التي تم تحضيره ، تم إجراء عملية الحقن في جهاز HPLC ولثلاث مرات لكل تركيز ومن ثم تم حساب المعدل و الحصول على النتائج والأشكال التالية المرفقة .ومن خلال النتائج التي تم الحصول عليها في الجداول تبين أن الطريقة المستخدمة في التحليل لتقدير التركيز المستحضرات الصيدلانية ذات دقة وحساسية عالية.

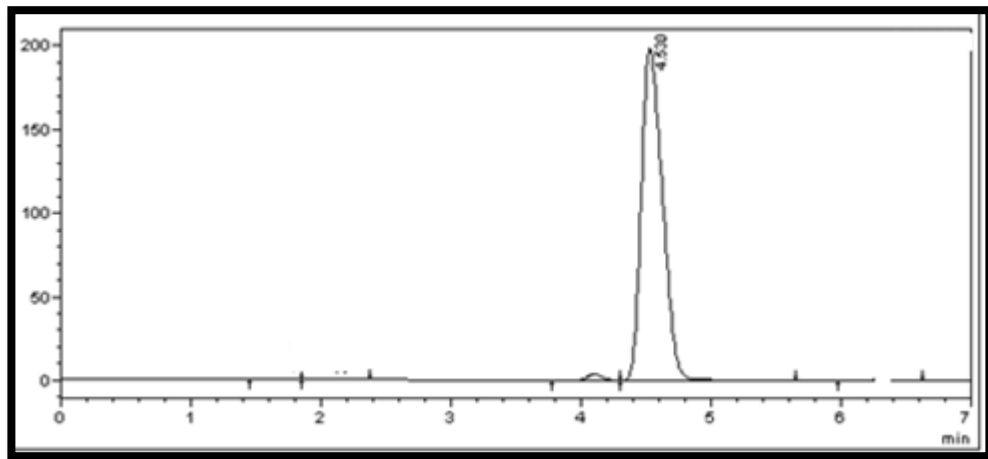
جدول (3-19) نتائج تطبيق للطريقة المقترحة على بعض المستحضرات الصيدلانية كلورديازيبوكسيد وال أميتريبتيلين وال ألبرازولام ديازيبام.

Company	Concentration µg/mL		Error %	Rec %	RSD %
	Taken	Found			
CH LIBROXIDE SDI Iraq10g	5	5.127	0.015	102.54	0.002
	30	29.772	-0.008	99.207	0.001
	50	50.706	0.014	101.41	0.030
DIZE VALIUPAM5 TABLETS	6	5.943	-0.009	99.046	0.014
	24	24.205	0.008		0.004
	48	47.923	-0.002	100.85 8 100.20 5	0.023
Am Actavis Barnstaple EX32 8NS UK	10	9.96	-0.004	99.59	2
	30	30.14	0.005	100.46	0.54
	50	50.56	0.011	101.12	0.18

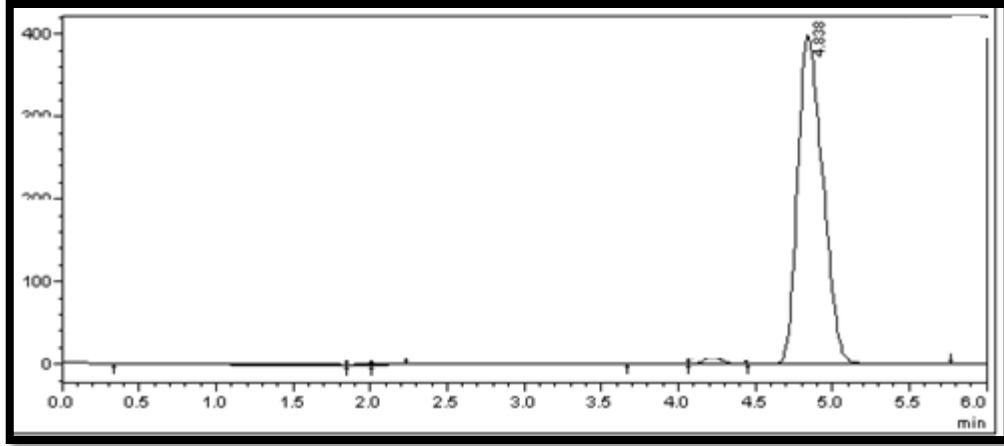
25mg Tryptizol					
ALP	20	20.101	0.005	100.51	0.52
Actavis Barnstaple EX32 8NS UK	30	30.088	0.003	100.29	1.40



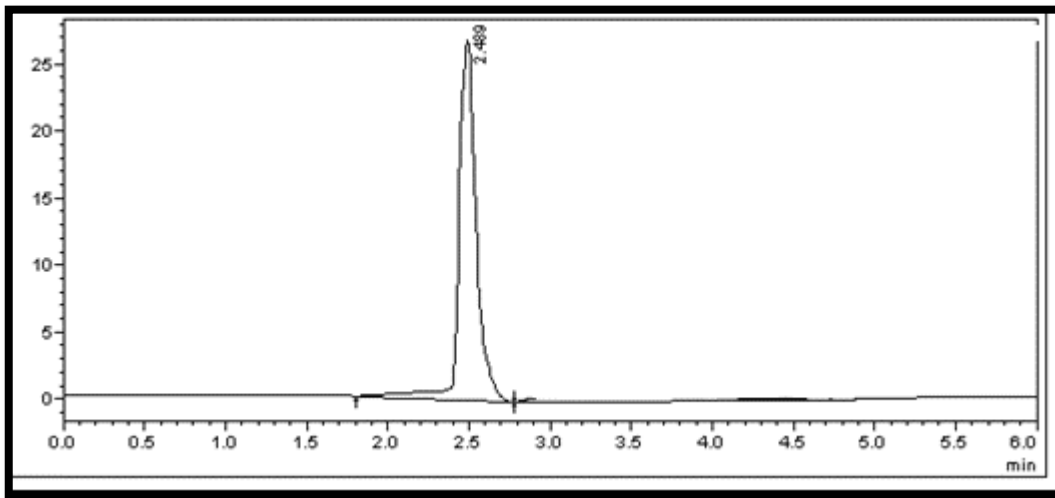
الشكل (33-3) كروماتوغرام ذو تركيز $5\mu\text{g/mL}$ للمستحضر الصيدلاني
كلورديازيبوكسيد



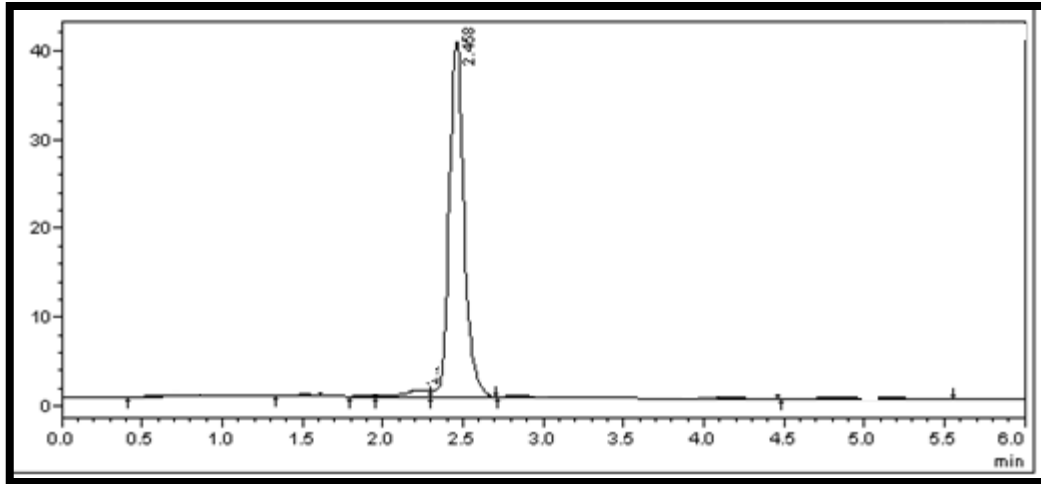
الشكل (34-3) كروماتوغرام ذو تركيز $30\mu\text{g/mL}$ للمستحضر الصيدلاني
(كلورديازيبوكسيد)



الشكل (35-3) كروماتوغرام ذو تركيز $50\mu\text{g/mL}$ للمستحضر الصيدلاني كلورديازيبوكسيد

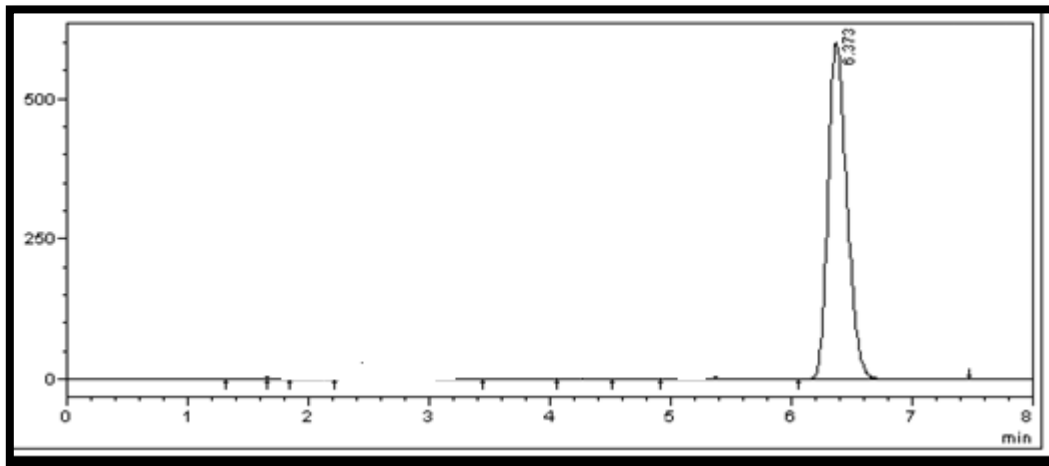


الشكل (36-3) كروماتوغرام ذو تركيز $6\mu\text{g/mL}$ للمستحضر الصيدلاني (الديازيبام)



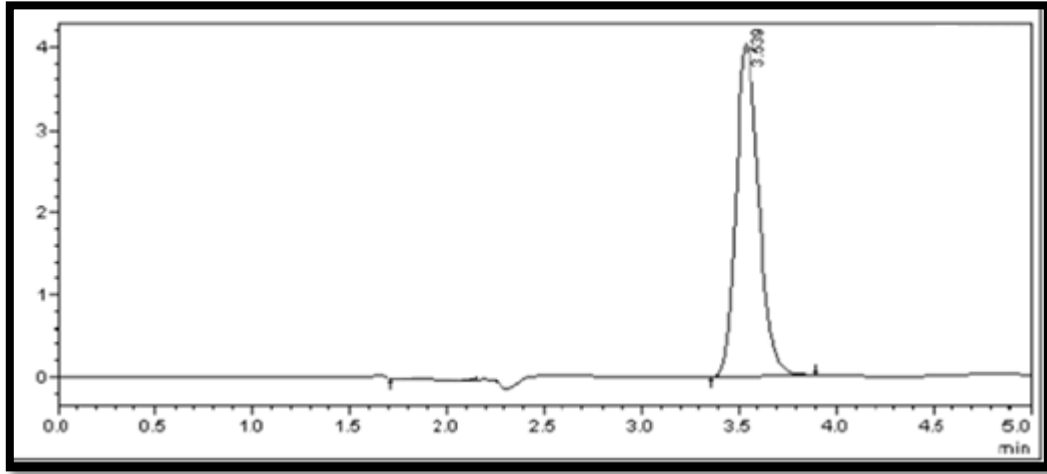
الشكل (37-3) كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني (الديازيبام) ذو تركيز

24 μ g/mL

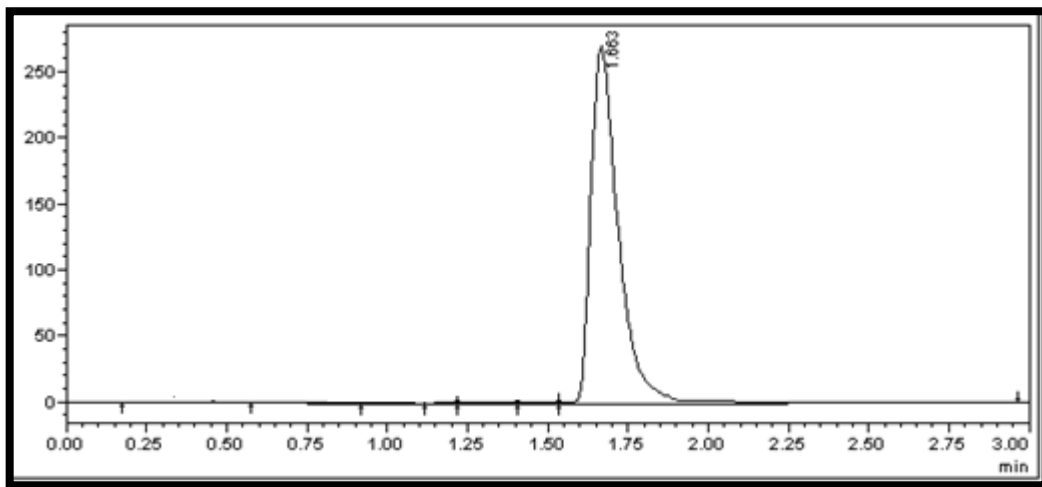


الشكل (38-3) كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني (الديازيبام) ذو تركيز

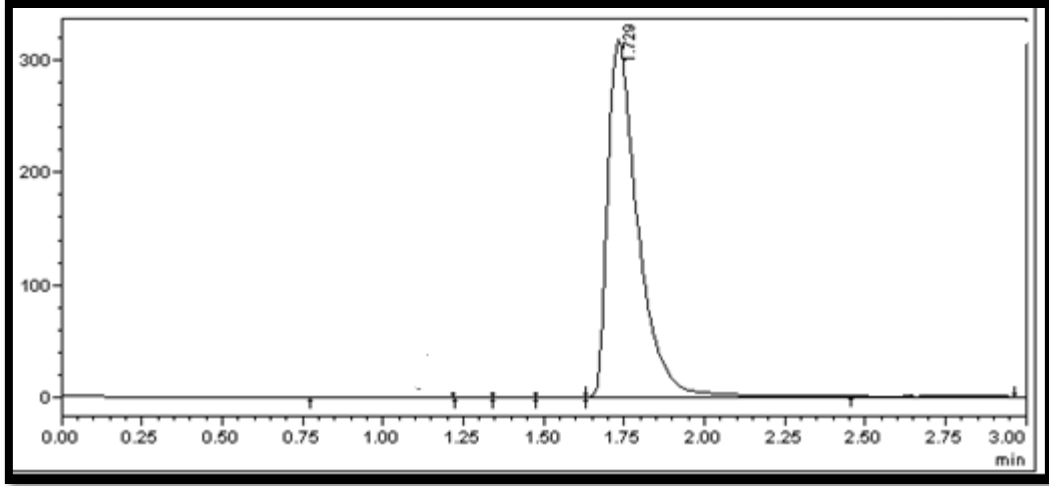
48 μ g/mL



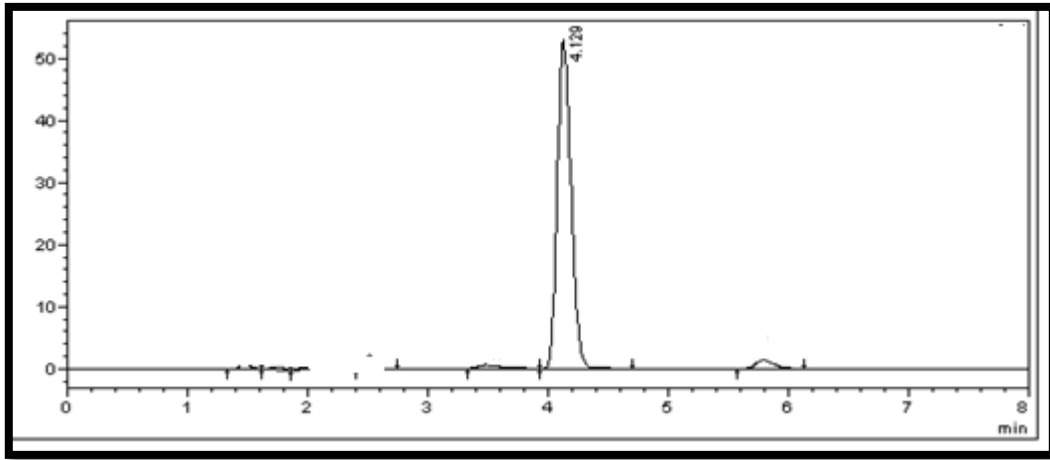
الشكل (39-3) كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني الأميتريببتيلين ذو تركيز $10 \mu\text{g/mL}$



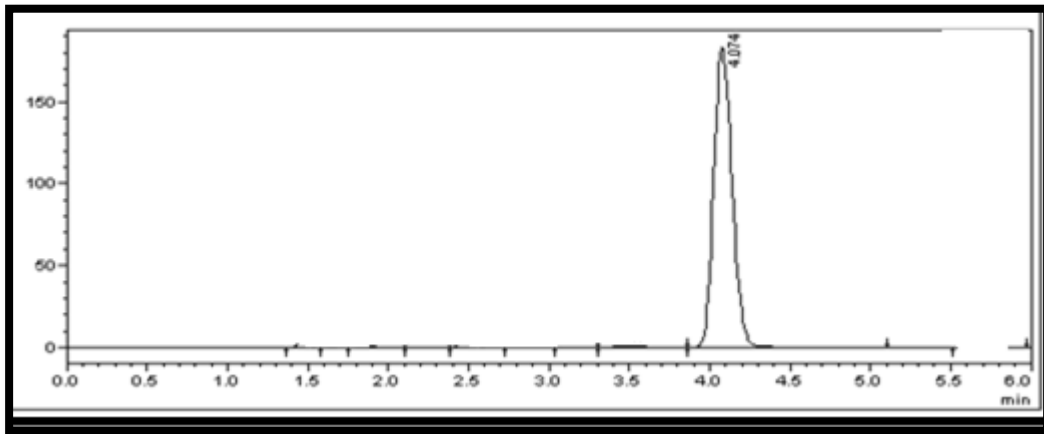
الشكل (40-3) كروماتوغرام ذو تركيز $30 \mu\text{g/mL}$ للمستحضر الصيدلاني (الأميتريببتيلين)



الشكل (3-41) كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني الأميتريبيتيلين ذو تركيز $50\mu\text{g/mL}$



الشكل (3-42) كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني الألبرازولام ذو تركيز $20\mu\text{g/mL}$



الشكل (3-43) كروماتوغرام للمستحضر الصيدلاني الألبرازولام ذو تركيز $30\mu\text{g/mL}$

(2-3) النتائج والمناقشة للطريقة الطيفية:

Result and discussion for Spectrophotometric method

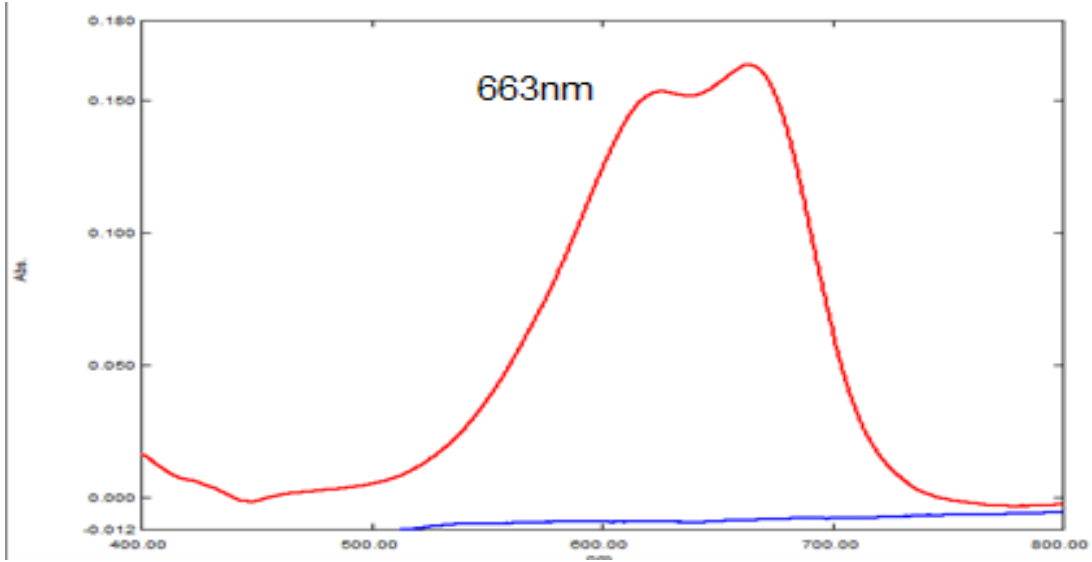
تضمنت هذه الطريقة التقدير الكمي لعقاقير كلورديازيبوكسيد و ديازيبام وأميترينتين و ألبرازولام بحالتها النقية وفي بعض المستحضرات الصيدلانية.

The Spectra of

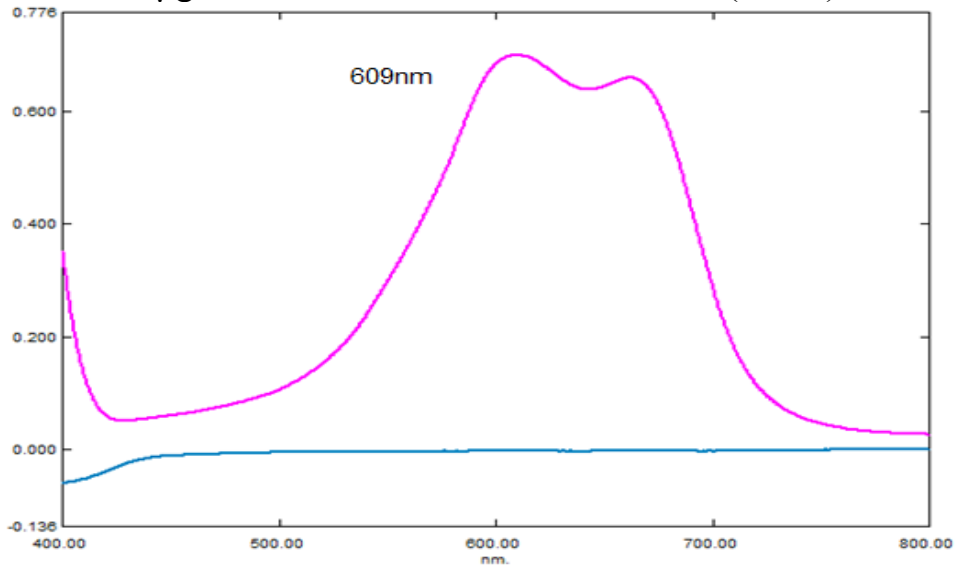
(1-2-3) أطياف للمعقدات :

complexes

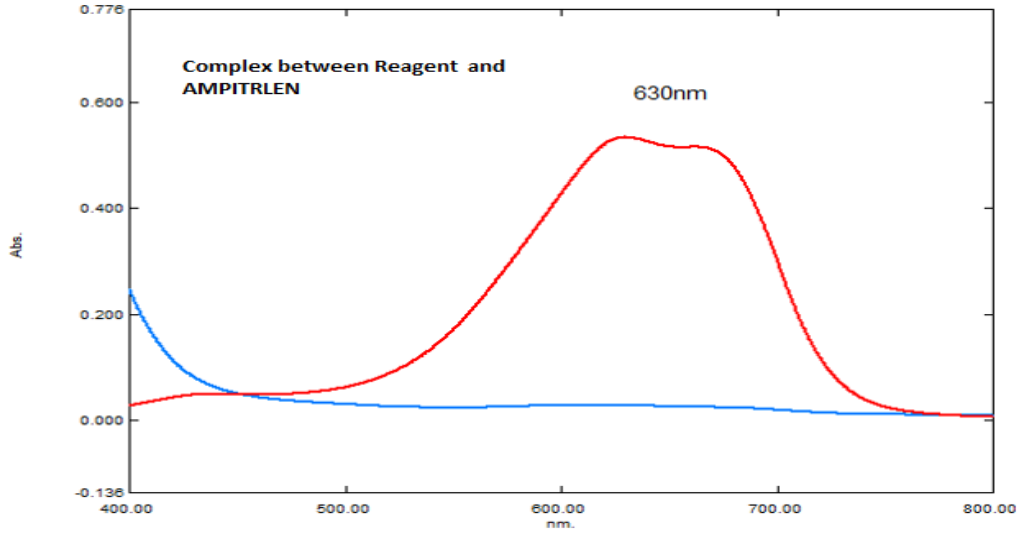
لتحديد أطياف كل من كلورديازيبوكسيد و ديازيبام وأميترينتين و ألبرازولام ، أخذت حجوماً مقدارها 2مل على انفراد من كل محلول قياسي ذا 100ppm وضعت في قناني حجمية سعة 10 مل وتم إضافة 2مل من كاشف (MBTH) 3-مثل-2-بنزوثيرازولينون هيدروازون ذا تركيز محضر سابقاً بتركيز (1.12×10^{-2} M) بعدها تم إضافة حجم مقدارة 1.5 من كلوريد الحديدك ذا تركيز (3.3×10^{-3} M). بعدها تركت الدوارق الحجمية الأربعة لمدة ربع ساعة لإكمال التفاعل ثم اكمل الحجم بالماء المقطر إلى حد العلامة . كذلك حضر المحلول الخلب (البلانك) بنفس الطريقة السابقة بغياب المادة الفعالة للدواء وترك لمدة ربع ساعة و اكمل حجم بالماء المقطر لحد العلامة . بعد ذلك اجري مسح طيفي لكل عقار على انفراد ضمن حدود الموجية من 400-800nm كما مبين في الأشكال التالية . وكانت الأطوال الموجية لأعظم امتصاص مثبتة على كل طيف من الأشكال (45-3), (46-3), (47-3) (44-3)



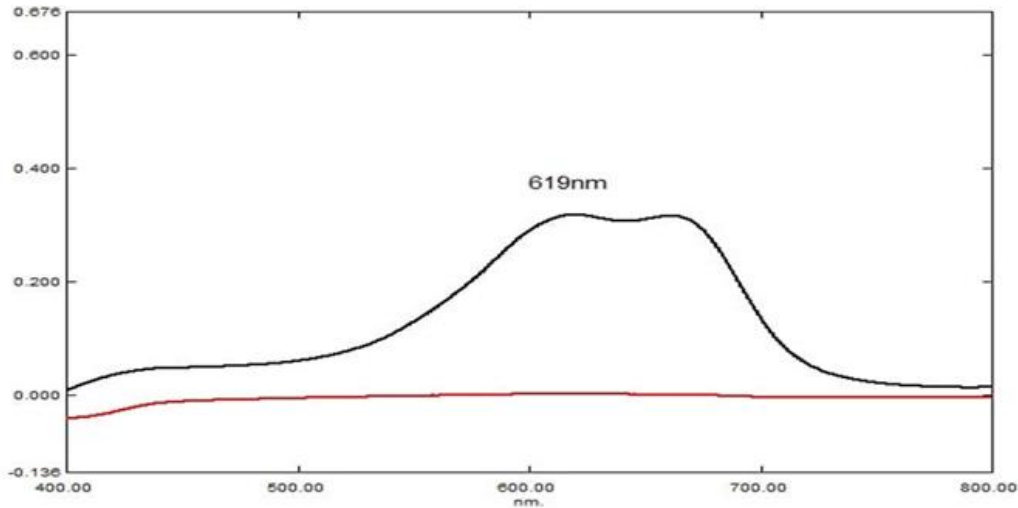
الشكل (3-44) طيف معقد كلورديازيبوكسيد بتركيز 20 µg /ml



الشكل (3-45) طيف معقد ديازيبام بتركيز 20 µg /ml



الشكل (3-46) طيف معقد أميتريبتيلين بتركيز 10 µg/ml



الشكل (3-47) طيف معقد البرازولام بتركيز 10 µg/ml

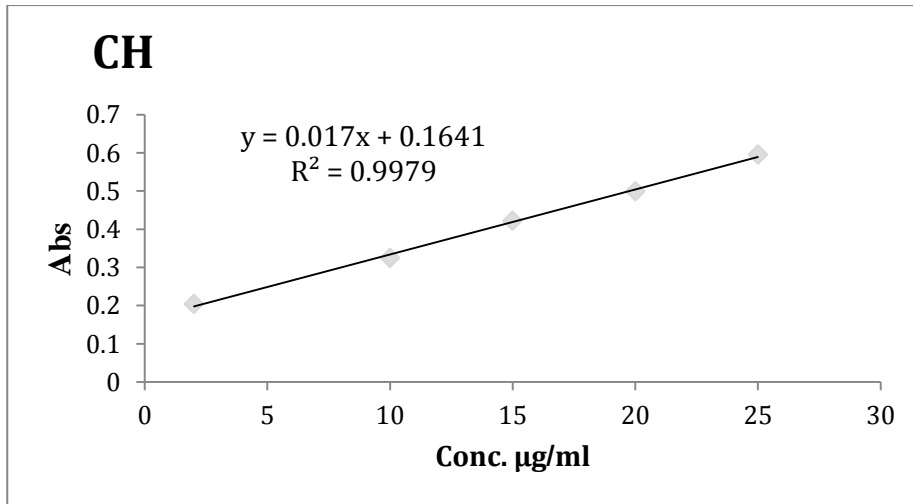
(2-2-3) دراسة منحنى المعايرة للمعدنات :

تم بناء منحنى المعايرة وذلك بتحضير مجموعة من المحاليل القياسية من المحلول الام $\mu\text{g/ml}$ 100 وبقناني حجمية سعة (10 مل) لكل عقار على انفراد وقيست الامتصاصية لجميع المحاليل مقابل المحلول البلانك عند الاطوال الموجية 663 nm , 609 nm و 630 nm 619 nm لكل من كلورديازيبوكسيد و ديازيبام وأميتريبتيلين ألبرازولام . وتم بناء منحنيات المعايره وفقا للأجراء العام في ظل الظروف القياسية لكل من العقارين كلورديازيبوكسيد و ديازيبام MBTH و FeCl_3 وتم الحصول على العلاقة الخطية بين الامتصاص والتركيز لكل من AM , DIZE , CH والALP μg

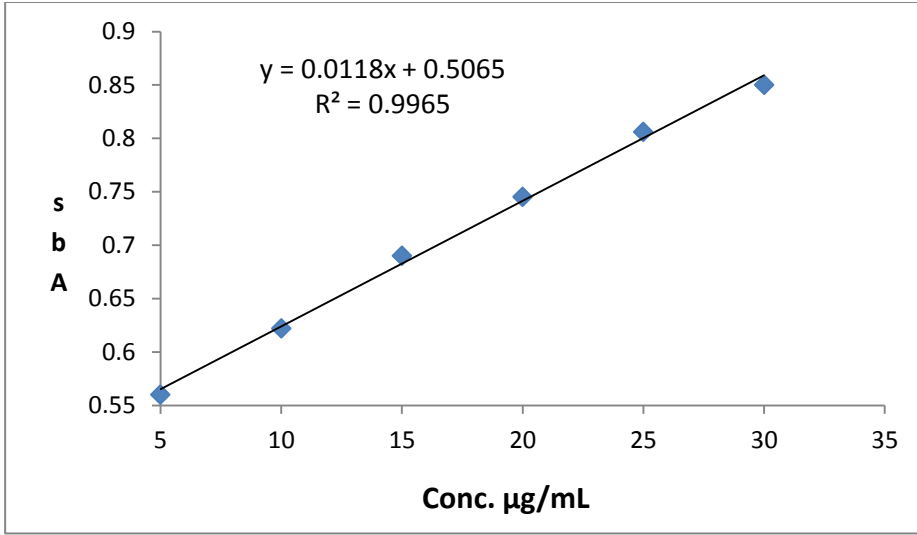
معامل الامتصاص وحساسية سندان كما في الجدول (3-1) ومنحني المعايرة لأربع مركبات الدوائية على التوالي وحسب الأشكال (3-48)،(3-49)،(3-50)،(3-51).

(3-20) القيم التحليلية المتعلقة لقياس الامتصاصية الولاوية وحساسية سندان للطريقة الطيفية في تقدير المركبات الدوائية

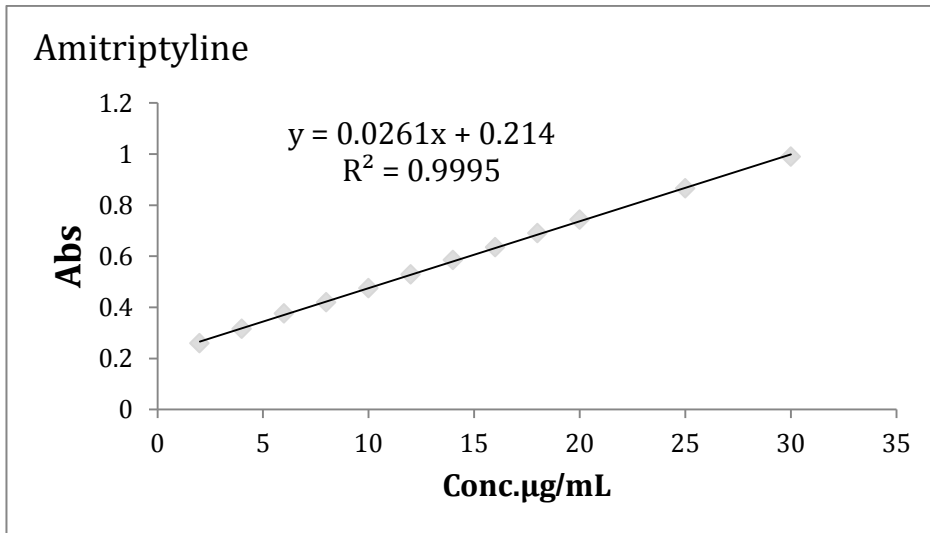
Drug	ϵ Mohar absorptivity $L. mole^{-1}. cm^{-1}$	Sandal sensitivity $\mu g. cm^{-2}$
chlordiazepoxide	5.575×10^3	0.054
Diazepam	3.359×10^3	0.085
Amitriptyline	7.157×10^3	0.039
Alprazolam	7.565×10^3	0.041



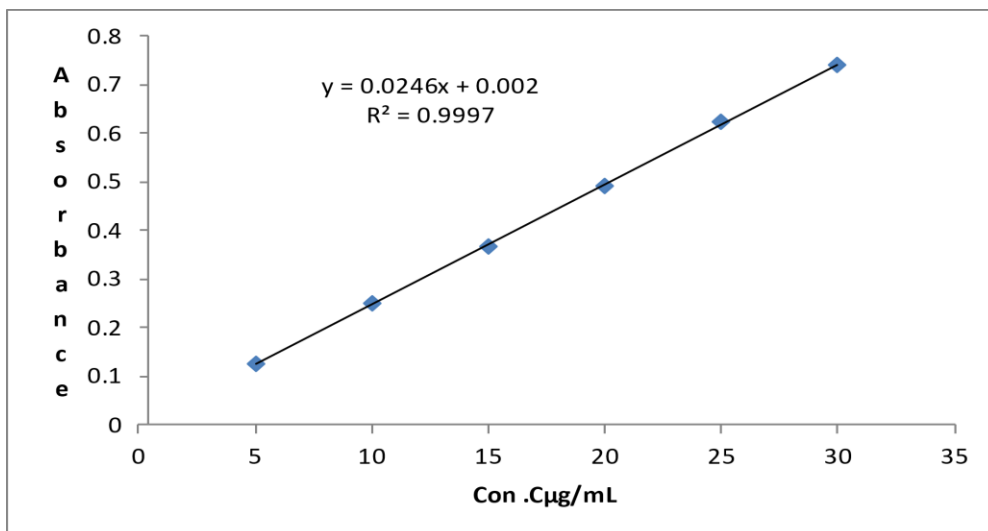
الشكل (3-48) منحنى المعايرة لتقدير دواء كلورديازيبوكسيد.



الشكل (3-49) منحنى المعايرة لتقدير دواء ديازيبام .



الشكل (3-50) منحنى المعايرة لتقدير دواء أميتريبتيلين .

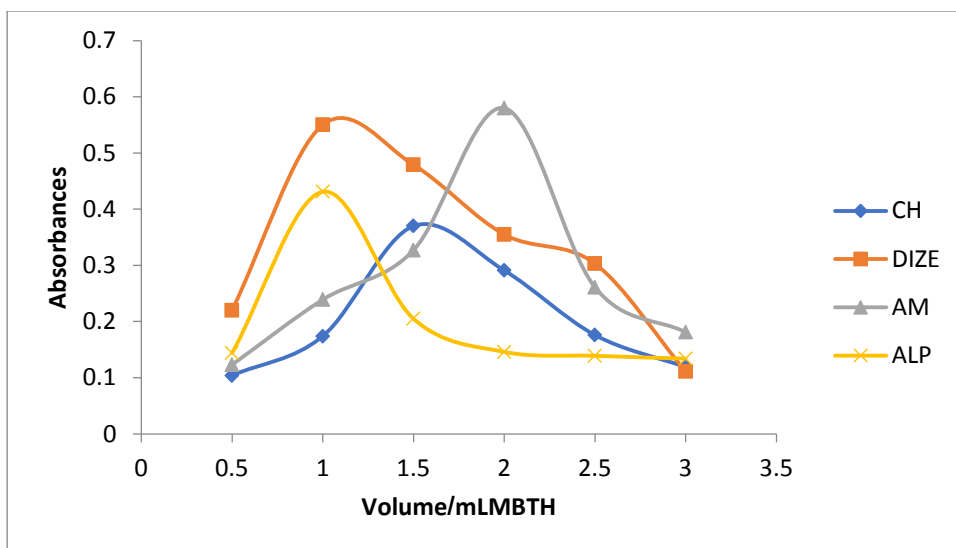


الشكل (3-51) منحنى المعايرة لتقدير دواء ألبرازولام

(3-2-3) دراسة الظروف الفضلى لتكوين المعقد للحصول على أعلى شدة للامتصاصية ومنها :

(1-3-2-3) دراسة تأثير التغير في حجوم تركيز ثابت من الكاشف MBTH على شدة المعقد

أخذت حجوم مختلفة حجوم متغايرة (3-0.5) مل من تركيز ثابت للكاشف MBTH $1.12 \times 10^{-2} M$ مع اضافات ثابتة من العامل المؤكسد $FeCl_3$ ذو تركيز $(3.3 \times 10^{-4}) M$ مع اضافة 2 مل من المركب الدوائي المحضر سابقا ووضع في دورق حجمي 10 mL مع الانتظار 15 دقيقة واكمال الحجم بالماء المقطر الى الحد العلامة تم بعدها قيست الامتصاصية لكل معقد مقابل البلاנק، إن الهدف أو الغرض من هذه الدراسة إيجاد الحجم الأمثل أو الأفضل من المحلول اضافته لحدوث الإقتران أو التزاوج التاكسدي مع العقار. وكانت الحجوم الفضلى كما مبينة في الشكل (3-52)



الشكل يوضح (3-52): دراسة تأثير حجوم مختلفة من MBTH بتركيز

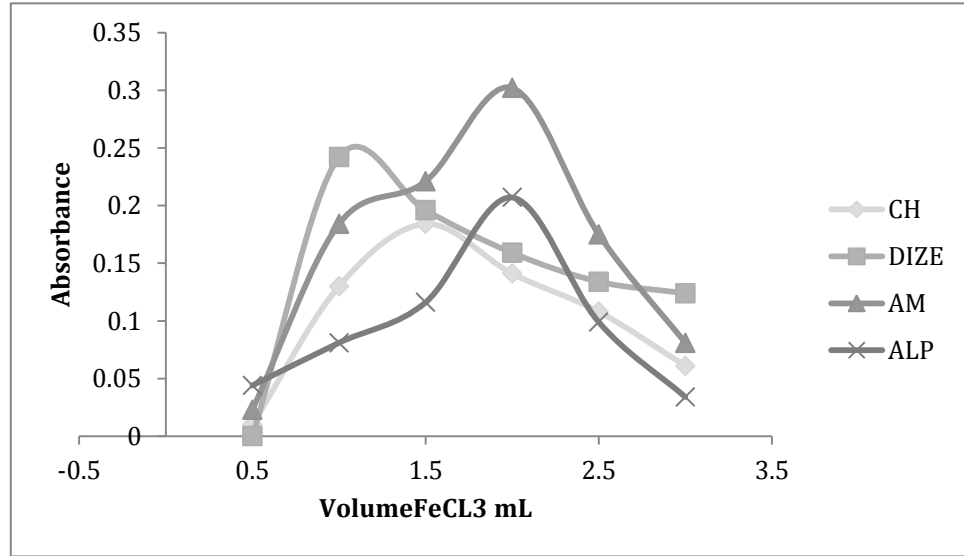
على شدة المعقد الناتج للعقاقير الاربعة CH , DIZE , AM , ALP ($1.12 \times 10^{-2} M$)

- كما ان افضل حجم كان لعقار CH عند 1.5 مل ، وعقار DIZE عند حجم 1 مل ، أما AM عند 2

مل ، كذلك ALP عند حجم 1 مل .

(2-3-2-3) دراسة تأثير حجوم $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ على شدة المعقد الناتج :-

تم دراسة تأثير حجم العامل المؤكسد المضاف في امتصاصية المعقد للمركبات الدوائية الاربعة حيث اخذت سلسلة دوارق حجمية بسعة 10 مل يحوي كل منها على حجم ثابت من MBTH والدواء وحجوم متزايدة من الكاشف $FeCl_3$ بتركيز $5.10 \times 10^{-3} M$ من (0.5-3.0 mL) وقيست بعدها امتصاصية المعقد المتكون عند طول موجي الأعظم λ_{max} ثم تم رسم العلاقة بين التغير في الحجم كلوريد الحديدك والامتصاصية كما في الشكل (3-53)



الشكل يوضح (3-53): دراسة تأثير حجوم مختلفة من $FeCl_3$ بتركيز

$3.3 \times 10^{-3} M$ على شدة المعقد الناتج للعقاقير الأربعة CH, DIZE, AM, ALP

- بعد قياس امتصاصية وجد ان افضل حجم كان لعقار CH عند 1.5 مل ، وعقار DIZE عند حجم 1

مل ، و AM عند 2 مل ، كذلك ALP عند حجم 2 مل

(3-3-2-3) دراسة تأثير pH الدالة الحامضية على تكوين المعقد :

لغرض التعرف على تأثير الدالة الحامضية المثلى تم اختيار مدى معين من الدوال الحامضية

تتراوح ما بين (pH = 2-7) و تم تحضيره بعد ترك التفاعل لمدة 15 دقيقة و اضيف محاليل المنظمة

(pH = 2-7) المعين قيمته , قيس امتصاصية و وجد أن أعلى قيمة امتصاص λ_{max} كانت عند

(pH=2) لجميع الادوية كما في الجدول (3-6) , أما بالنسبة للمحاليل (pH= 3,4,5,6,7) لم يتكون

المعقد وهذا يدل استقراريته في هذه الاوساط (3,4,5,6,7)

جدول (3-21) تأثير الدوال الحامضية لدواء CH بتركيز $2 \mu g / mL$ مع البلانك

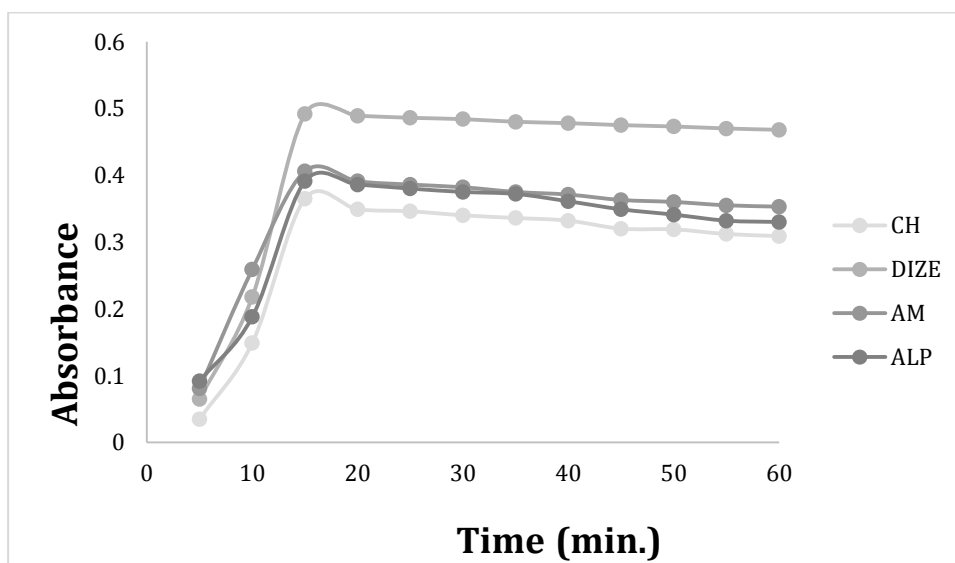
pH	Absorbance	الملاحظات
2	0.358	حدوث التفاعل
3	0.001	

4	0.001	لم يحدث تفاعل
5	0.001	
6	0.001	
7	0.001	

:

(4-3-2-1) دراسة تأثير استقرارية المعقد مع الزمن

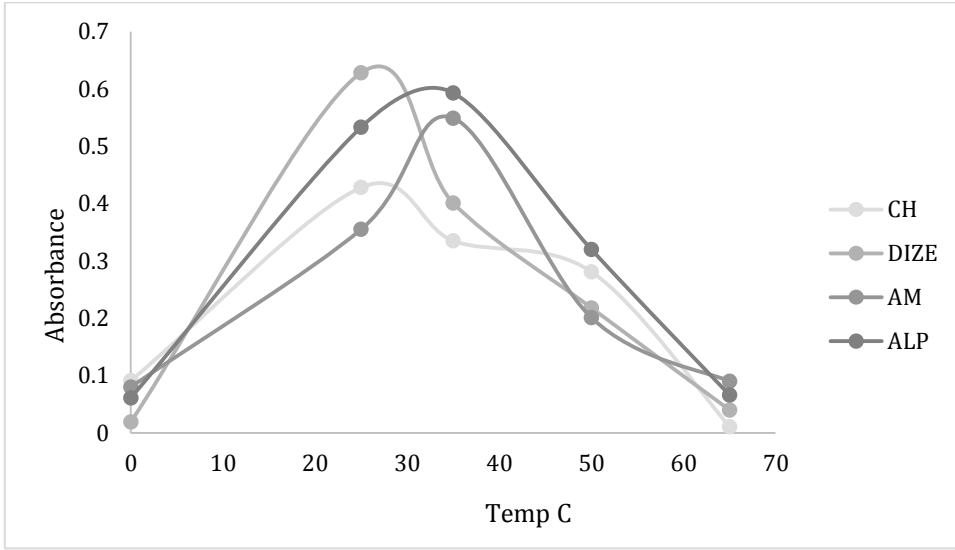
لمعرفة تأثير الزمن في استقرارية معقدات كلا من كلورديازيبوكسيد و أميتريبتيلين وألبرازولام و ديازيبام مع الكواشف أذ أخذت دورق حجمي سعة 10 مل وتم اضيف لكل دورق 2 مل من الدواء على انفراد وحجم المناسب من الكاشف لكل الدواء من MBTH و $FeCl_3$ بالمقابل البلائك تم اكمال كل منها الى حد العلامة بالماء المقطر تم قياس الامتصاصية وقد وجد أن امتصاصية تتزايد بزيادة الزمن لحين الوصول الى الدقيقة 15 تبدأ الامتصاصية بالاستقرار المعقد المتكون والذي يكون ذو لون أزرق حيث قياس الامتصاصية وقد اختير هذا الزمن مثالي في التجارب اللاحقة و الشكل (3-54) يبين النتائج المستحصلة.



الشكل (3-54) : تأثير الزمن في الامتصاصية لمحاليل معقدات قيد الدراسة ذو تركيز $2 \mu g / mL$ مع الكاشف $FeCl_3$ MBTH

(5-3-2-3) دراسة تأثير درجة الحرارة :

تم دراسة تأثير درجة الحرارة على شدة امتصاصية لكل الدواء على انفراد حيث حضرت سلسلة من دوارق حجمية سعة 10 مل اضيفت لكل منها 1 مل من الدواء تركيزه $100 \text{ mL} \mu\text{g}$ وحجم من الكاشف وعامل المؤكسد واكمل ثم الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر, بعدها تم تبريد وتسخين كل من المعقد والبلانك لمدة 15 دقيقة , ثم بعدها قيست امتصاصية عند درجات حرارة (0-25 -35 - 50 -65) وكانت اعلى امتصاصية عند درجة $25-35$ □ حسب الشكل (3-55) للعقاقير الاربعة تحت قيد الدراسة.



الشكل (3-55) تأثير درجة الحرارة في الامتصاصية لمحاليل المعقدات المحضرة قيد الدراسة

(3-2-3-6) تأثير ترتيب الاضافة

تم استعمال التسلسل المتبع في تثبيت الظروف الفضلى لتقدير المركبات الدوائية وحسب التسلسل: المركب الدوائي Drug + MBTH (R) + FeCl_3 (OX) ، وتبين عملياً أن حدوث أي تغيير في ترتيب الإضافة يؤثر سلباً على عملية التقدير أي تقل شدة الامتصاصية (λ_{max}) كما موضح في الجدول (3-3).

الجدول (3-22) : تأثير ترتيب الاضافة للدوية كلورديازيبوكسيد , ألبرازولام , ديازيبام , أميتريبتيلين

DURG	Order of addition	Absorbance
Chlordiazepoxide	Drug+MBTH+ FeCl_3	0.469

كلورديازيبوكسيد 10µg/mL	Drug+ FeCl ₃ + MBTH	0.416
	MBTH+ FeCl ₃ + Drug	0.260
Alprazolam ألبرازولام 10µg/mL	Drug+MBTH+ FeCl ₃	0.429
	Drug+ FeCl ₃ + MBTH	0.289
	MBTH+ FeCl ₃ + Drug	0.110
Diazepam ديازيبام 10µg/mL	Drug+ MBTH+ FeCl ₃	0.577
	Drug+ FeCl ₃ + MBTH	0.517
	MBTH+ FeCl ₃ + Drug	0.274
Amitriptyline أميتريبتيلين 10µg/mL	Drug+MBTH+ FeCl ₃	0.589
	Drug+ FeCl ₃ + MBTH	0.546
	MBTH+ FeCl ₃ + Drug	0.341

3-2-4 (التركيب المحتمل للمعقد:

)

لطرائق الطيفية من الطرائق البالغة الأهمية لايجاد الصيغ التركيبية المحتملة للمعقدات لاسيما إذا كانت محاليل المعقدات ملونة حيث تستخدم أطيف الأشعة فوق البنفسجية- المرئية على مدى واسع لهذا الغرض لما تظهره هذه المعقدات من قمم امتصاص واضحة ومميزة. وهناك العديد من الطرائق المستعملة لتحديد نسبة الفلز:الليكاند ومن هذه الطرائق الطيفية هي طريقة النسبة المولية (molar ratio method) وطريقة المتغيرات المستمرة Variables Method Continuous او طريقة (Job)⁽¹²¹⁻¹²⁵⁾ وتعد طريقة النسب المولية هي الأفضل كونها أكثر الطرق شيوعا في تحديد صيغ المعقدات في محاليلها.

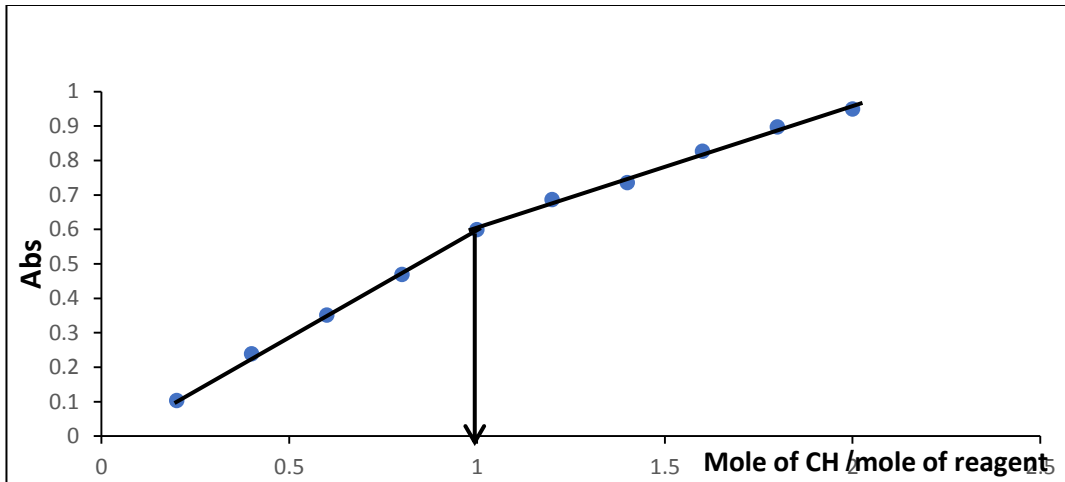
3-2-4-1) دراسة طريقة النسبة المولية :

تم تطبيق كل من طريقتي النسب المولية والتغيرات المستمرة للتعرف على النسب التركيبية للنواتج الملون بين كل دواء قيد دراسة والكاشف MBTH (3.6×10^{-4} M) لكل من كلورديازيبوكسيد و ديازيبام

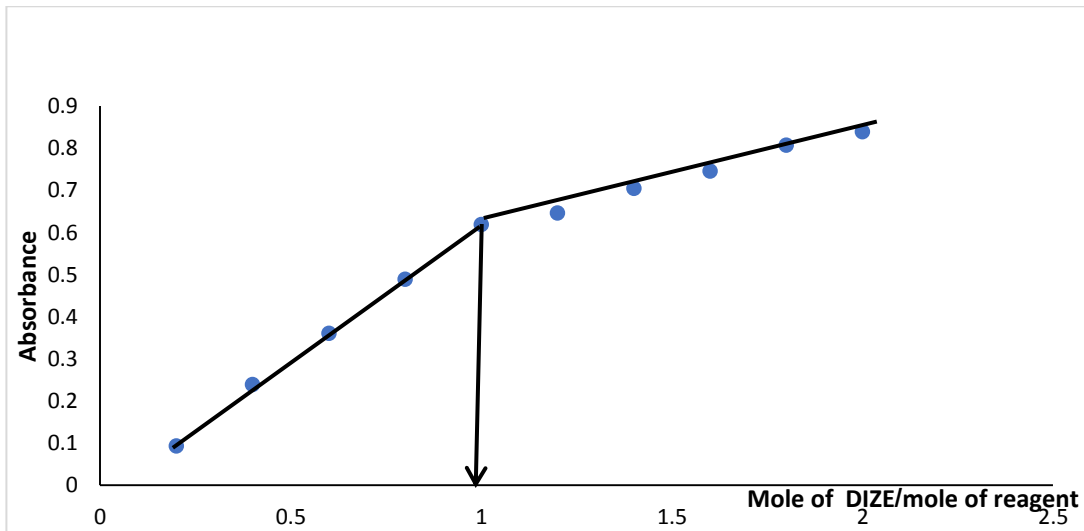
واميتربتالين والبرازولام. والكاشف. اذ تبين من النتائج الموضحة حسب الأشكال التالية (3-56)،(3-57)-
 (3)، (3-58) (3-23) (3-59) ان نسبة الارتباط بين الادوية السابقة الى كاشف MBTH 1:1
 كما في الجدول (3-23)

جدول رقم (3-23) يمثل طريق النسب المولية لحساب النسبة التفاعلية بين الادوية الاربعة المثبة في
 الجدول مع الكاشف MBTH

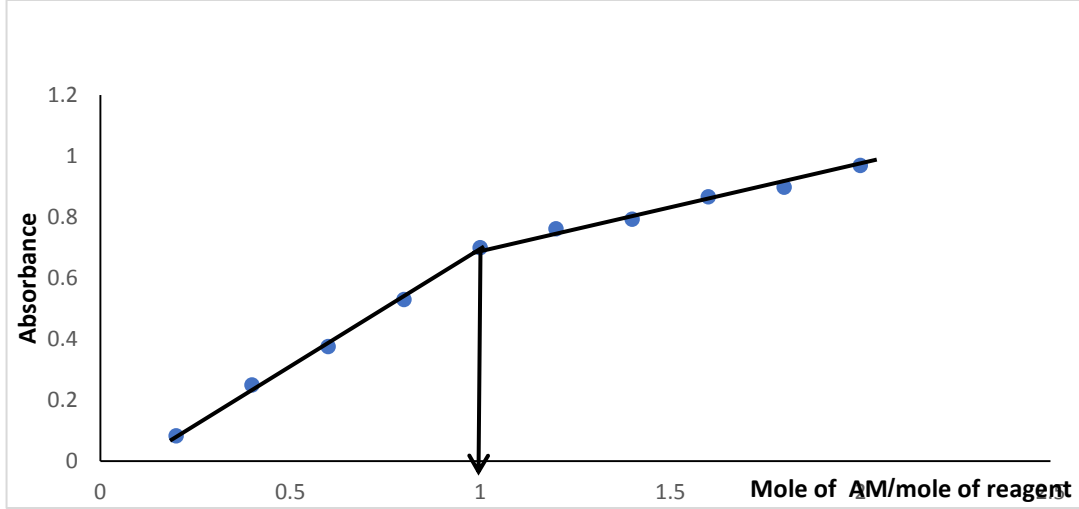
Stock solution of Drug Stock solution of MBTH المحلول القياسي لكلا من الادوية والكاشف MBTH	No of mole of Drug/No of mole of MBTH عدد مولات الدواء على عدد مولات الكاشف	ABS DIZE امتصاصية المعقد المتكون	ABS CH امتصاصية المعقد المتكون	ABS ALP امتصاصية المعقد المتكون	ABS AMT امتصاصية المعقد المتكون
	0.2	0.093	0.103	0.133	0.083
Stock solution of Drug= $3.5 \times 10^{-4}M$	0.4	0.239	0.239	0.269	0.249
	0.6	0.360	0.351	0.405	0.375
Stock solution of MBTH= $3.5 \times 10^{-4}M$	0.8	0.489	0.469	0.529	0.529
	1.0	0.619	0.599	0.659	0.699
	1.2	0.646	0.686	0.736	0.761
	1.4	0.705	0.735	0.775	0.792
	1.6	0.746	0.826	0.846	0.866
	1.8	0.807	0.897	0.907	0.897
	2.0	0.839	0.949	0.979	0.969



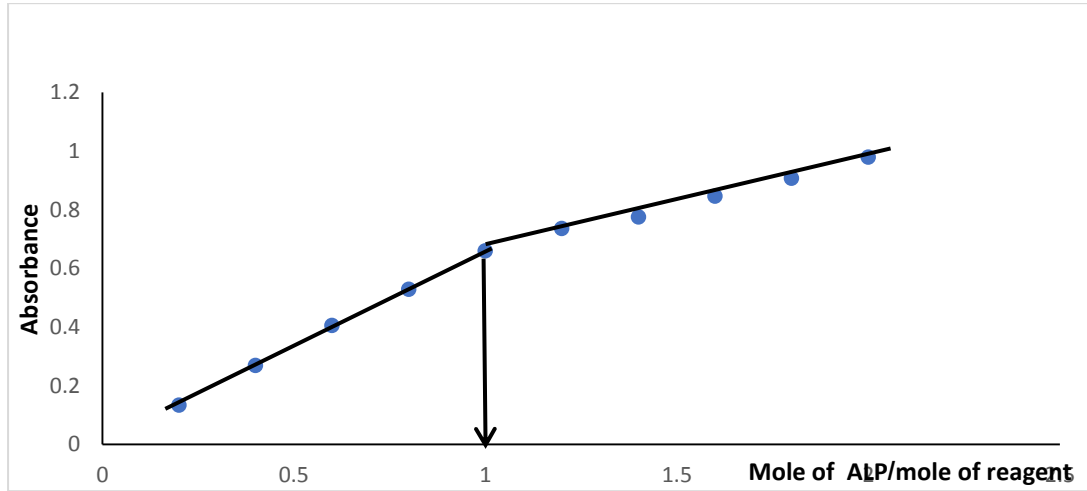
الشكل (56-3) النسب المولية لدواء CH مع الليكاند MBTH



الشكل (57-3) النسب المولية لدواء DIZE مع الليكاند MBTH



الشكل (58-3) النسب المولية لدواء AM مع الليكاند MBTH



الشكل (59-3) النسب المولية لدواء ALP مع الليكاند MBTH

2-4- طريقة التغيرات المستمرة (طريقة جوب)

2-3)

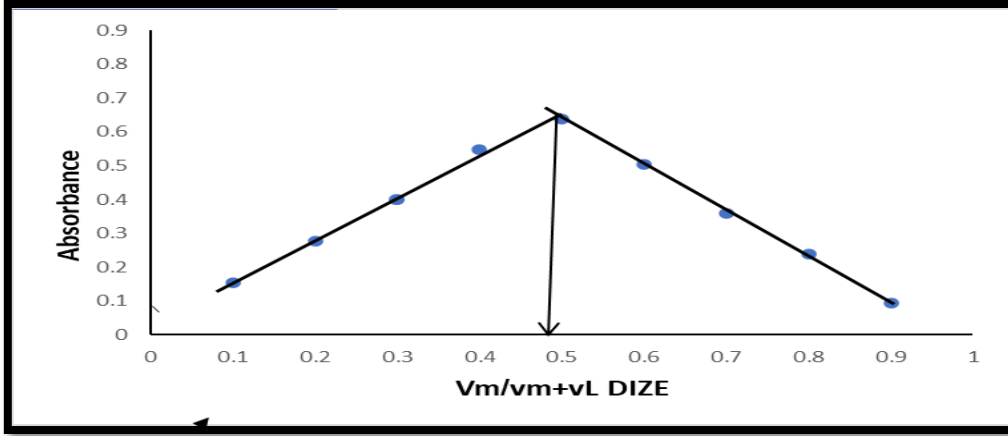
حضرت عدد من المحاليل لها نفس الحجم النهائي وذلك بمزج حجوم مختلفة من محلول دواء (كلورديازبوكسيد و ديازيبام و اميتربتالين والبرازولام) ذو تركيز $100\mu\text{g/ml}$ مع محلول الكاشف مع اضافة حجم ثابت من الكاشف FeCl_3 افضل لكل دواء بالمقابل مع البلائك، وكانت التراكيز المولارية لمحلول للمركب الدوائي متساوية والكاشف $(4.4 \times 10^{-4} \text{ M})$, $(3.5 \times 10^{-4} \text{ M})$, $(4.3 \times 10^{-4} \text{ M})$, $(3.2 \times 10^{-4} \text{ M})$ كلورديازبوكسيد و ديازيبام و اميتربتالين والبرازولام حضرت هذه المحاليل كلاعلى

انفراد ،حيث وضعت هذه اضافات في مجموعة دوارق حجمية 10مل ثم بعد انتظار 15دقيقة تم اكمالها بالماء المقطر إلى حد العلامة ،ثم بعد ذلك تم قياس امتصاصية كل محلول المتكون ،إذ تم الحصول على النسبة المولية⁽¹¹⁸⁾ والتغيرات المستمرة جوب^(119 - 120) في محاليل المعقدات كما في الجدول (3-24) والأشكال التالية

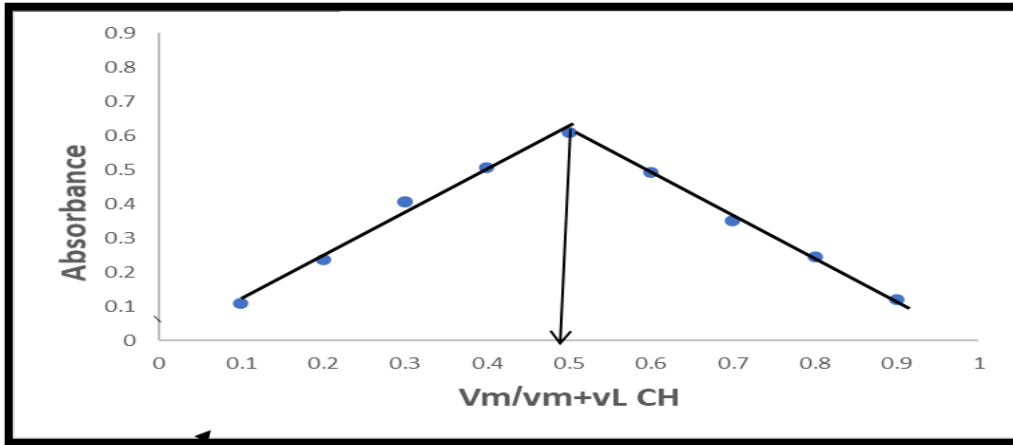
(61-3) (60-3) (62-3) (63-3) للعقاقير الأربعة (كلوردياز بوكسيد و ديازيبام و اميتربتيلين والبرازولام)

الجدول (24-3) يمثل طريق جوب لحساب النسبة التفاعلية بين الادوية الاربعة المثبة في الجدول مع الكاشف MBTH

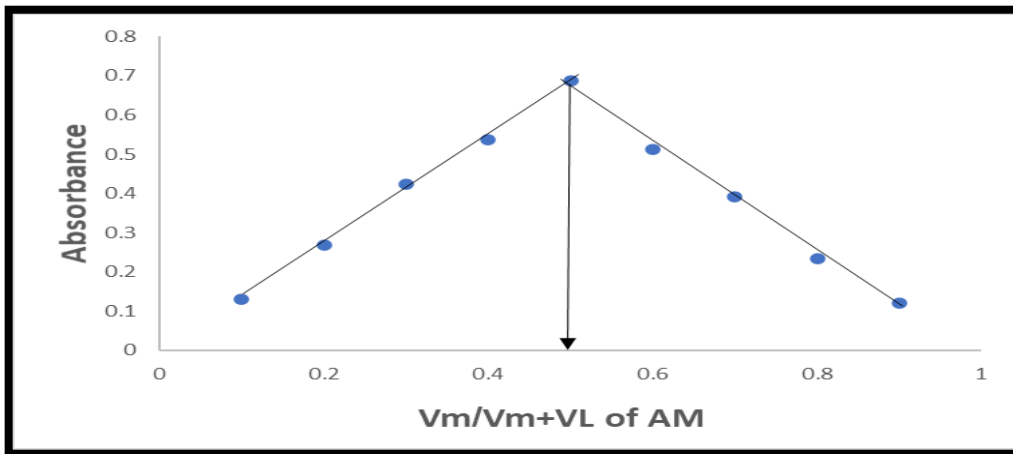
Stock solution of Drug Stock solution of MBTH المحلول القياسي لكلا من الادوية والكاشف MBTH	Volume of drug/total volume of drug +Volume of MBTH حجم الدواء / (حجم الكاشف +حجم العقار)	ABS ALP امتصاصية المعقد المتكون	ABS DIZE امتصاصية المعقد المتكون	ABS AM امتصاصية المعقد المتكون	ABS CH امتصاصية المعقد المتكون
	0.1	0.093	0.155	0.149	0.121
Stock solution of Drug=3.5x10 ⁻⁴ M	0.2	0.214	0.278	0.328	0.275
	0.3	0.329	0.398	0.444	0.347
Stock solution of MBTH=3.5x10 ⁻⁴ M	0.4	0.478	0.549	0.529	0.506
	0.5	0.601	0.639	0.609	0.678
	0.6	0.479	0.503	0.483	0.486
	0.7	0.369	0.359	0.392	0.287
	0.8	0.219	0.24	0.194	0.185
	0.9	0.091	0.093	0.12	0.090



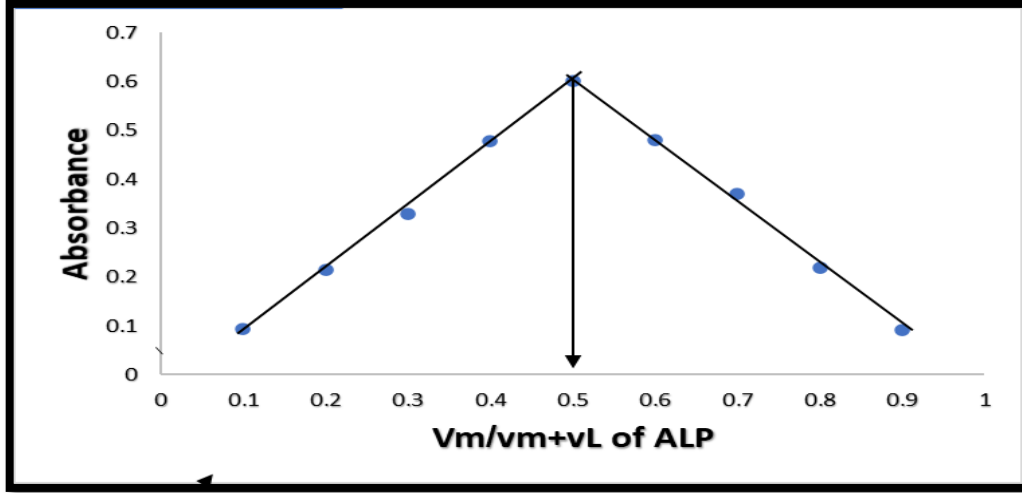
الشكل (3-60) يوضح التغيرات المستمرة (جوب) للمعقد DIZE مع الليكاند MBTH



الشكل (3-61) يوضح التغيرات المستمرة (جوب) للمعقد CH مع الليكاند MBTH



الشكل (62-3) يوضح التغيرات المستمرة (جوب) للمعدد AM مع الليكاند MBTH



الشكل (63-3) يوضح التغيرات المستمرة (جوب) للمعدد ALP مع الليكاند MBTH

(3-4-2-3) دراسة حساب ثابت الاستقرارية محاليل المعقدات :

تم حساب درجة التفكك ⁽¹²¹⁾ (a) وثابت الاستقرارية (K_{st}) لغرض معرفة مدى استقراره الناتج الملون في المحلول، من خلال تحضير ثلاثة محاليل تحتوي على كميات متساوية من الكاشف ومحلول الدواء بتركيز (0.1) مولاري لكل منهما والحجم النهائي (10) مل وبأتباع جميع الظروف المثبتة في منحنى المعايرة القياسي، إذ قيست الامتصاصية لهذه المحاليل عند الطول الموجي (663,609,619,630) نانوميتر مقابل المحلول الصوري كمرجع فكانت الامتصاصية لهذه المحاليل قليلة نسبياً، والتي عندها يكون الناتج في حالة تفكك جزئي ويعبر عنها (A_s)، وحضرت محاليل أخرى تحتوي على الكمية ذاتها من المحلول الدواء وكمية فائضة من الكاشف (3ضعاف)، وهنا سيكون الناتج المتكون في هذه الحالة غير متفكك ويعبر عن قيمة الامتصاصية (A_m) وبتطبيق العلاقة (11) يتم حساب درجة التفكك α للناتج بموجب المعدلات الآتية ⁽¹¹⁹⁻¹²¹⁾

$$M^{+n} + nE^- \rightarrow MLn$$

$$\alpha c \quad n\alpha c \quad (C - \alpha) c$$

$$\alpha = \frac{A_m - A_s}{A_m} \dots\dots\dots (3-3)$$

حسب ثابت الاستقرار K_{st} من العلاقة الآتية تكون (1=n)

$$K_{st} = \frac{1 - \alpha}{\alpha^2 c} \quad \dots\dots\dots(4-3)$$

اما في حالة $n=2$ حسب فان معادلة حساب ثابت الاستقرار تصبح كالآتي :

$$K_{st} = \frac{1 - \alpha}{4\alpha^3 c^2} \quad \dots\dots\dots(5-3)$$

حيث (C) هو تركيز الناتج المتكون والذي يساوي تركيز المركب الدوائي (مول/ لتر). والنتائج موضحة في الجدول (25-3) حساب درجة التفكك وثابت الاستقرار للمعد الملون المتكون

الجدول (25-3): حساب درجة التفكك وثابت الاستقرار للمعد الملون المتكون

Complex	Am	As	α	K_{st}
CH 100 μ g/ml	0.148	0.073	0.506	5.790×10^4
DIZE100 μ g/ml	0.177	0.076	0.570	3.782×10^4
AM 100 μ g/ml	0.102	0.077	0.239	3.688×10^5
ALP 50 μ g/ml	0.211	0.014	0.788	1.038×10^4

α = درجة التفكك للمعد

A_s = قيمة الامتصاص للمعد في محلول فلز : ليكاند عند النسبة المولية .

A_m = قيمة الامتصاص عند اضافة زيادة من الليكاند اذ يكون فيها التداخل بين الفلز و الليكاند على اعلى ما يمكن

ويتضح من ثابت الاستقرار العالي للنتائج الملون بسبب احتواء الكاشف المستخدم على مجموعتين دافعة للإلكترونات هي (-OCH) مما يزيد من استقراره الناتج اضافة الى وجود الرزونانس العالي في الناتج وامتدادها الى خارج حلقة البنزين .

(5-2-3) حسابات معامل الامتصاص وحساسية ساندل

Calculation of Molar absorptivity and Sandells Sensitivity

يعرف معامل الامتصاص المولي^(122,126) على أنه قياس شدة الامتصاص للأنواع الكيميائية للضوء عند طول موجي معين وهي صفة محدودة بالنوع الكيميائي، وهي أيضا تعبير عن التراكيز يرمز له برمز ϵ بوحدات لتر \ مول . سنتيمتر. فالامتصاصية A لنموذج ما يعتمد على طول المسار الضوئي وعلى التركيز C للعينه الكيميائية. ويمكن أن تعرف على أنها عدد الفوتونات الممتصة من قبل الأشعاع الساقط لطول موجي معين عند محلول يحتوي على مذاب عند تركيز جزيئي محدد لفترة معينة. وبحسب قانون لامبرت بير يمكن تحديد الامتصاصية بواسطة طرق قياس الطيف الضوئي التحليلي عن طريق حساب قيمة الامتصاصية المولارية وحساسية ساندل⁽¹²⁷⁾ حسب المعادلة التالية معادله

$$\text{Molar absorptivity} = \text{slope} \times \text{molecular weight of drug} \times 10^3 \dots\dots (6-3)$$

وتعرف حساسية ساندل او دالة ساندل: بأنها عدد الميكرو غرامات من المركب المراد تقديره الذي يتحول الى ناتج ملون موجود في محلول ذي مقطع عرضي (1 cm^2) ليعطي امتصاصية مقدارها 0.001 وهو مقياس لحساسية الطريقة الطيفية ويعبر عنه رياضيا

$$\text{Sandal sensitivity} = \frac{\text{Molecular Weight of Drug}}{\text{Molar absorptivity}} \dots\dots (7-3)$$

Precision and accuracy : حساب الدقة و الضبط (6-2-3)

الدقة تشير إلى مقياس لمدى التقارب بين القيم المقاسة الملاحظة مختبريا والقيمة الحقيقية ويعبر عنها بدلالة الخطأ النسبي %E أو النسبة المئوية للاستيعادية %Recovery. أما الضبط (مدى تكرار القياس) فيشير الى تقارب القياسات مع بعضها البعض ويعبر عنها بدلالة الانحراف القياسي SD او الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD % . تم حساب الدقة والمضبوطية⁽¹²⁸⁻¹²⁹⁾ في هذا البحث بحساب الخطأ النسبي ونسبة الاسترداد والانحراف المعياري النسبي حيث تمت الحسابات باستخدام المعادلة (9-3) وتمت العملية بأخذ ثلاث تراكيز قياسية مختلفة معروفة من أدوية ال كلورديازيبوكسيد و

ديازيبام وأميتربيتيلين و ألبرازولام بشكل فردي في أفضل الظروف وكانت النتائج في الجدولين (1.3),(2.3) .

$$E\% = \frac{O - T}{T} \times 100 \quad \dots\dots (8-3)$$

O : القيمة الناتجة : T : القيمة الحقيقية

$$Recovery = 100 - E\% \quad \dots\dots (9-3)$$

لحساب الانحراف القياسي

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(xi - \bar{x})^2}{N-1}} \quad \dots\dots (10-3)$$

SD: Standard deviation

$$RSD\% = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100 \quad \dots\dots (11-3)$$

\bar{x} الوسط الحسابي

xi هي النتائج المستحصل عليها :

N: عدد النتائج

الجدول (26-3) : الطريقة المقترحة لتعيين الدقة والضبط دواء الكلورديازيبوكسيد.

Concentration		Error %	% Recovery	% RSD
Taken	Found			
5	4.919	-1.02	98.39	0.502
15	15.55	-0.037	101.02	0.812
25	24.901	-0.004	99.61	0.252

الجدول (27-3) الطريقة المقترحة لتعيين الدقة والضبط لعقار الديازيبام

Concentration		Error %	% Recovery	% RSD
Taken	Found			
5	5.077	1.523	101.4	0.195
15	14.759	-1.60	98.4	0.106
30	29.932	-0.227	99.8	0.039

الجدول (28-3): الطريقة المقترحة لتعيين الدقة والضبط لعقار اميتريبتيلين

Concentration		Error %	% Recovery	%
Taken	Found			RSD
2	2.05	2.5	102.4	0.26
4	3.95	-1.046	98.95	0.90
30	29.69	-1.03	101.63	0.01

الجدول (29-3): الطريقة المقترحة لتعيين الدقة والضبط لعقار البرازولام

Concentration		Error %	% Recovery	%
Taken	Found			RSD
5	5.077	0.015	101.54	0.46
15	14.755	-0.016	98.37	0.73
25	24.932	-0.272	99.73	0.35

(7-2-3) قياس حد الكشف والكشف الكمي

Calculation of Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantitation (LOQ)

LOD : هو أقل كمية من المادة التي يمكن تمييزها والكشف عنها بالمقارنة مع المحلول الصوري

باستخدام المعادلة (7-3)

$$LOD = \frac{3SD \text{ Blank}}{Slope} \quad \dots (12-3)$$

LOQ⁽¹²⁹⁾ هو أقل كمية من المادة التي يمكن تمييزها والكشف عنها بالمقارنة مع المحلول

الصوري ويمكن إيجاده بالمعادلة (4-3)

$$LOQ = \frac{10SD \text{ Blank}}{Slope} \quad \dots (13-3)$$

S: الميل لمنحني القياس

الانحراف المعياري للبلانك ويمكن حسابه بالمعادلة (5-3) SD_{Blank}

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (xi-x)^2}{N-1}} \quad \dots \quad (14-3)$$

xi : الوسط الحسابي

x : هي النتائج المستحصل عليها

N : عدد النتائج

الجدول (30-3) القيم التحليلية المتعلقة بمنحني المعايرة للطريقة الطيفية في تقدير دواء

CH

القيم	الحدود
663 nm	1- الطول الموجي الاعظم
(5-30) µg /mL	2- حدود منحني المعايرة
$5.575 \times 10^3 L \cdot mole^{-1} \cdot cm^{-1}$	3- الامتصاصية المولارية ϵ
0.054 µg.cm ⁻²	4- معامل ساندل
(98.3-99.6)%	5- معامل الاستخلاص
0.9979	6- معامل الارتباط
0.0251	7- معامل الانحراف المعياري
1.779 µg /mL	8- حد الكشف
5.930 µg /mL	9- حد الكشف الكمي

الجدول (31-3) القيم التحليلية المتعلقة بمنحني المعايرة للطريقة الطيفية لتقدير دواء (DIZE)

القيم	الحدود
609 nm	1- الطول الموجي الاعظم
(5-30) µg /mL	2- حدود منحني المعايرة
$3.359 \times 10^3 L \cdot mole^{-1} \cdot cm^{-1}$	3- الامتصاصية المولارية ϵ
$0.085 \mu g \cdot cm^{-2}$	4- معامل ساندل
(98.55-99.75)%	5 - معامل الاستخلاص
0.9965	6- معامل الارتباط
0.010	7- معامل الانحراف المعياري
1.757 µg /mL	8- حد الكشف
5.857 µg /mL	9- حد الكشف الكمي

الجدول (32-3) القيم التحليلية المتعلقة بمنحني المعايرة للطريقة الطيفية لتقدير دواء اميتريبتلين

AM

القيم	الحدود
-------	--------

630 nm	1- الطول الموجي الاعظم
(5- 30) µg /mL	2- حدود منحنى المعايرة
$7.157 \times 10^3 L \cdot mole^{-1} \cdot cm^{-1}$	3- الامتصاصية المولارية ϵ
$0.039 \mu g \cdot cm^{-2}$	4- معامل ساندل
(98.95-102.3 76)%	5- معامل الاستخلاص
0.9958	6- معامل الارتباط
0.739 µg /mL	7- معامل الانحراف المعياري
0.739 µg /mL	8- حد الكشف
2.464 µg /mL	9- حد الكشف الكمي

الجدول (33-3) القيم التحليلية المتعلقة بمنحنى المعايرة للطريقة الطيفية لتقدير داوء البرازولام (ALP)

القيم	الحدود
619 nm	1- الطول الموجي الاعظم
(5- 30) µg /mL	2- حدود منحنى المعايرة
$7.565 \times 10^3 L \cdot mole^{-1} \cdot cm^{-1}$	3- الامتصاصية المولارية ϵ
$0.041 \mu g \cdot cm^{-2}$	4- معامل ساندل
(98.46-101.89)%	5- معامل الاستخلاص
0.9965	6- معامل الارتباط
2.924 µg /mL	7- معامل الانحراف المعياري
0.877 µg /mL	8- حد الكشف
2.924 µg /mL	9- حد الكشف الكمي

Preparation of sample

(8-2-3) تحضير محلول العينة

solution

تم تطبيق الطريقة المقترحة في التقدير الطيفي لعقاقير ALP,AM,DIZE,CH في بعض المستحضرات الصيدلانية ومن مناشئ مختلفة، وكما مبين في الجدول (3-15) إذ حضرت محاليل

المستحضرات الصيدلانية كما مبين في الفقرة (1-3-2) إذ تم تجهيز ثلاث محاليل للتركيز الواحد ولثلاثة تراكيز مختلفة لكل مستحضر دوائي .

أكدت النتائج التي تم الحصول عليها في الجدول (33-3) إلى إمكانية تطبيق الطريقة التحليلية المقترحة في تقدير هذه الأدوية في المستحضرات الصيدلانية.

جدول (33-3): نتائج تطبيق الطريقة المقترحة على بعض المستحضرات الصيدلانية ل ALP,AM,DIZE,CH .

Company	Proposed method		Er. %	Rec %	RSD %
	Taken	Found			
LIBROXID E-10 gm	5	4.94	-1.22	98.78	0.62
	15	14.90	-0.653	99.341	0.187
	25	25.01	0.48	00.5	0.413
Valium- 10gm	5	5.017	0.34	100.3	2.06
	15	14.89	-0.673	99.331	0.573
	30	30.01	0.047	00.05	0.727
Tryptizol- 25mg	2	5.002	0.04	100.04	0.375
	4	15.01	0.067	100.07	0.400
	30	29.91	-0.313	99.687	0.833
XANAX-0.5 mg	10	9.851	-1.49	98.510	0.100
	20	20.018	0.09	100.09	1.200
	30	30.003	0.01	100.01	1.867

(9-2-3) دراسة تأثير المتداخلات

تمت دراسة تأثير وجود بعض المضافات الصيدلانية المضافة للمستحضرات الصيدلانية لوسط التقدير الحاوي على كلورديازيبوكسيد و ديازيبام و أميتريبتيلين وألبرازولام للتأكد من انتقائية الطريقة المقترحة بهدف الاستفادة من إمكانية تطبيق الطريقة على المستحضرات الصيدلانية. إذ تمت إضافة 2مل تركيز $100 \mu\text{g/mL}$ من كل سواغ (نشأ لاكتوز و فركتوز) على انفراد مع 2مل من محلول قياسي ذو تركيز $50 \mu\text{g/mL}$ (كلورديازيبوكسيد و ديازيبام و أميتريبتيلين وألبرازولام) وبنسبة زيادة (10) مرات

من تركيز المادة المحللة. وحصلنا على النتائج كما موضح في الجداول عدم وجود تداخل ملحوظ لهذه المواد مما تشير النتائج إلى أن هذه الدراسة ذات انتقائية جيدة ومنلائمة لتطبيقها على المستحضرات الصيدلانية الحاوية على كلورديازيبوكسيد و ديازيبام و أميتريبتيلين وألبرازولام.

الجدول (3-34): تأثير المتداخلات على $20\mu\text{g/mL}$ من كلورديازيبوكسيد، ديازيبام أميتريبتيلين، ألبرازولام

Excipient	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)found	of Error %	Recovery %		
Starch	CH	2.040	0.019	101.989	
Lactose	20 $\mu\text{g/mL}$	1.983	-0.852	99.148	
Fructose		2.028	1.420	101.420	
Glucose		2.034	0.017	101.705	
Starch	DIZE	20	2.034	0.800	101.695
Lactose	$\mu\text{g/mL}$		2.006	0.285	100.282
fructose			2.014	0.700	100.678
Glucose			1.975	-0.012	98.771
Starch	AM		1.961	0.0245	98.062
Lactose	20 $\mu\text{g/mL}$		1.996	-0.019	99.806
fructose			1.981	0.008	99.031
Glucose			2.039	-0.004	101.938
Starch	ALP		2.049	0.0245	102.432
Lactose	20 $\mu\text{g/mL}$		1.963	-0.019	98.172
fructose			2.016	0.008	100.813
Glucose			1.992	-0.004	99.593

الجدول (3-34) ملخصاً للقيم التحليلية للعقاقير في الطريقة الطيفية المقترحة تبين من خلال إيجاد قيم الامتصاصية المولية وحد الكشف نجد أن الطريقة التحليلية لها حساسية عالية وحد منخفض للكشف. وبذلك يمكن استخدامها لتقدير كميات مايكرو غرامية من عقار CH وعقار DIZE, AM, ALP, في حالتها النقية والمستحضرات الصيدلانية، وتم ضبط الطريقة بحساب الانحراف القياسي النسبي $\text{RSD}\%$ Relative Standard Deviation باستخدام المعادلات (3-11), (3-10), (3-9), (3-8) تم قياس ثلاثة تراكيز مختلفة من الدوائيين ضمن منحنى المعايرة بواقع ثلاث محاليل لتركيز واحد تحت الظروف الفضلى والمبينة في طريقة العمل. والجدول (

31-3) يبين المعالجات الاحصائية للنتائج التحليلية لعقار CH وكذلك الجداول (32-3), (33-3), (34-3) يبين المعالجات الاحصائية للنتائج التحليلية لعقار AM, ALP , DIZE

(10-2-3) مقارنة بين الطريقة المقترحة في المستحضرات الصيدلانية والطريقة القياسية

لتقييم الطرق المقترحة ونجاحها في التحليل الطيفي (CH و DIZE و AM و ALP) في بعض مستحضراتها الصيدلانية، تم تطبيق الاختبارين التاليين:
1- اختبار **t-Test** هو أحد الحسابات المعتمدة على قيمة t لمقارنة الدقة والمضبوطية للطريقة المقترحة واتباع المعادلة التالية: (10-3)

$$|\pm t| = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_{pooled} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}} \dots (15-3)$$

Where:

\bar{x}_1 and \bar{x}_2 : نسبة الاسترداد للطريقة المقترحة القياسية

n_1 and n_2 : يشير إلى عدد مرات القراءة لكل من الأساليب المقترحة والقياسية

S_{pooled} : الانحراف المعياري للطريقتين

2- اختبار **F-Test** هو حساب إحصائي يعتمد على قيمة F لمقارنة الطريقة المقترحة مع الطرق التحليلية القياسية المتاحة باتباع المعادلة التالية:

$$\mathbf{F} = \frac{S_1^2}{S_2^2} \dots (16-3)$$

S_1^2 and S_2^2 : الانحراف المعياري لطريقتين

الجدول (35-3) الطريقة القياسية لتقدير (كلورديازيبوكسيد CH و أميتريبتيلين AM و ديازيبام DIZE و ألبرازولام ALP) (130-132)

Pharmaceutical preparations Containing (CH10gm), Pharmaceutical Amitriptyline (AM) 25mg Tryptizol (DIZE10gm) (ALP 0.5gm)	Rec. %	SD ²	Standard method Recovery %	SD ²
CH 5	98.4	0.025	98.96	1.16
CH 15	101.02	0.343	100.59	1.16
CH25	99.61	0.063	99.70	1.16
T=0.067 , F=2.691	$\bar{x} = 99.67$	$\Sigma = 0.431$	$\bar{x} = 99.75$	$\Sigma = 1.16$
AM 5	102.4	0.021	104.34	0.45
AM 15	98.95	0.031	98.55	0.45
AM 30	101.63	0.019	101.087	0.45
T= 1.445 , F=0.007	$\bar{x} = 100.993$	$\Sigma = 0.051$	$\bar{x} = 99.223$	$\Sigma = 0.45$
DIZE 5	102.4	0.021	98.8	0.06
DIZE 15	98.95	0.031	99.73	0.06
DIZE 30	101.63	0.019	100.3	0.08
T= 1.015 , F=0.317	$\bar{x} = 100.99$	$\Sigma = 0.071$	$\bar{x} = 99.75$	$\Sigma = 0.200$
ALP 4	102.4	0.001	104.34	0.060
ALP 6	99.46	0.025	98.55	0.068
ALP8	98.64	0.013	101.09	0.066

T= 0.938 , F= 0.017

x= 100.18

$\Sigma = 0.039$

x -=101.33

$\Sigma = 0.065$

(4-3) الاستنتاج

1- تم التأكد من صحة وانتقائية طريقة Rp-HPLC باستخدام كاشف الأشعة فوق البنفسجية لقياس و تحليل كل من CH و DIZE و AM و ALP و مقارنتها مع الطرق القياسية المعتمدة في دساتير الادوية، حيث امتازت الطريقة المقترحة بانها ذو دقة ممتازة للأدوية مع وقت تحليل قصير يعادل ثمان دقائق. وفقاً لذلك، نستنتج أن الطريقة دقيقة واقتصادية مع حد كشف وحد كمي منخفضان .

2- تم تطوير طريقة طيفية بسيطة وحساسة لتقدير كل من CH و DIZE و AM و ALP في حالتها النقية وفي بعض المستحضرات الصيدلانية، باستخدام طريقة (الاقتران التاكسدي) باستخدام الكاشف 3-ميثيل-2-بنزوثيرازول نون هيدرازين هيدروكلوريد هيدرات مع كلوريد الحديدك كعامل مؤكسد وفي وسط حامضي للحصول على معقدات ملونة . ومن خلال قيم معامل الامتصاص المولاري التي تم الحصول عليها في الطرق المتبعة والتي كانت عالية يمكن ان نستنتج ان هذه الطرق ذات حساسية عالية بالمقارنة مع الطرق الاخرى المتبعة في تقدير هذه الادوية الاربعة . ومن خلال حساب %RSD ونسبة الاسترداد %Rec وللطريقة المتبعة ، يمكن أن نستنتج أن هاتين الطريقتين عاليتي الدقة اي يمكن استخدامها في العمل الروتيني اليومي باعتبارهما طريقتين رخيصة وسريعة وزمن قصير ولا تتطلب تسخين او فصل مسبق وذا حساسية عالية ومدى خطي واسع. طبقت الطرق بنجاح لتقدير المستحضرات الدوائية الاربعة ووجد ان النتائج تتفق مع المحتوى الاصلي للمستحضر الصيدلاني وتتفق مع الطريقة القياسية كما ان هذه الطرق تتمتع بإمكانية تطبيقها وكذلك يمكن تطبيقها في تقدير هذه الأدوية في حالتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية. اذ اظهر اختبار t واختبار F المحسوب كانت اقل من القيم الجدولية.

(5-3) التوصيات

- دراسة إمكانية تطبيق طريقتنا الطيفية المقترحة وتقنية HPLC لقياس لتقدير وقياس المركبات الصيدلانية الأخرى.
- 2- استخدام الطريقة الطيفية لقياس وتحليل كلورديازيبوكسيد و ديازيبام أميتريبتيلين ألبرازولام باستخدام الكواشف العضوية المختلفة.
- 3- تحليل الطيفي للمركبات الدوائية الصيدلانية المستخدمة والغير المستخدمة في هذه الرسالة باستخدام تفاعلات الأكسدة والاختزال .
- 4- خلال النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة إمكانية الجمع بين الطرق المستخدمة مع التقنيات التحليلية الأخرى مثل الحقن الجرياني أو الاستخلاص بالمذيب للوصول إلى حد كشف أعلى وحساسية عالية لهذه الأدوية.
- 5- إمكانية تطبيق الطرائق المعتمدة في هذه الرسالة على النماذج البايولوجية الدم والإدرار والأنسجة المختلفة.
- 6- كذلك خلال النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة يمكن تطبيق الطريقة الطيفية المقترحة لتحليل نماذج صيدلانية مختلفة الحالة .
- 7- إمكانية استخدام الظروف الكروماتوغرافية الموجودة في هذه الرسالة لدراسة استقرارية التركيبات الصيدلانية المختلفة

المصادر

REFERENCES

- 1- Harvey, D. Modern analytical chemistry. Boston: McGraw-Hill Companies, Inc. (2000).
- 2-O'Gara, J. E., Alden, B. A., Walter, T. H., Petersen, J. S., Niederlaender, C. L., and Neue, U. D. (1995). Simple preparation of a C8 HPLC stationary phase with an internal polar functional group. Analytical chemistry, (2018), 67(20), pp:3809-3813.

- 3- Silverman, G., & Silver, H. (1995). *Modern Instrumentation: A computer approach*. CRC Press.
- 4-Nakhjiri, A. T., & Heydarinasab, A. (2017). Modeling and numerical simulation of two species separation using non-linear HPLC chromatography. *Applied Research Journal*, 3(9), 266-270.
- 5-West, C., Bouet, A., Routier, S., & Lesellier, E. (2012). Effects of mobile phase composition and temperature on the supercritical fluid chromatography enantioseparation of chiral fluoro-oxindole-type compounds with chlorinated polysaccharide stationary phases. *Journal of Chromatography a*, 1269, 325-335.
- 6-Rasoul, A. A. *Chromatographic Separation of Some Amino Acids by High Performance Liquid Chromatography Method Using A New Stationary Phase* (Doctoral dissertation, Kufa University).7 .(2011) - Issaq, H. J., & Berezkin, V. G. (2001). *A Century of Separation Science*, 19.
- 8- Hall, K. (2019). "In Praise of Wool": The development of partition chromatography and its under-appreciated impact on molecular biology. *Endeavour*, 43(4), 100708.
- 9- Abdull-Sattar, S. S., Maki, S. A., & Ali, N. M. (2013). Preparation of New HPLC Stationary Phase and Study of Its Chromatographic Performance Toward the Separation of Some Water-Soluble Vitamins. *Al-Nahrain Journal of Science*, 16(2), 51-58.
- 10- Bayram, B., Ozcelik, B., Schultheiss, G., Frank, J., & Rimbach, G. (2013). A validated method for the determination of selected phenolics in olive oil using high-performance liquid chromatography with coulometric electrochemical detection and a fused-core column. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1663-1669.
- 11- Kucera, P. (2000). *Microcolumn high-performance liquid chromatography*. Elsevier.

- 12- Scott, R. P. (2020). Techniques and practice of chromatography. CRC Press. Stock, R., & Rice, C. B. F. (2013). Chromatographic methods. Springer.
- 13- Moldoveanu, S. C., & David, V. (2012). Essentials in modern HPLC separations. Newnes.
- 14- Sanchez- Reyes, G., Graalfs, H., Hafner, M., & Frech, C. (2021). Mechanistic modeling of ligand density variations on anion exchange chromatography. *Journal of Separation Science*, 44(4), 805-821.
- 15- Yacoub, T. J., & Szleifer, I. (2015). Molecular dynamics simulations of anchored viral peptide interactions. *Biointerphases*, 10(2), 029513.
- 16- Paul-Dauphin, S., Karaca, F., Morgan, T. J., Millan-Agorio, M., Herod, A. A., & Kandiyoti, R. (2007). Probing size exclusion mechanisms of complex hydrocarbon mixtures: the effect of altering eluent compositions. *Energy & Fuels*, 21(6), 3484-3489.
- 17- Kromidas, S. (Ed.). (2008). HPLC made to measure: a practical handbook for optimization. John Wiley & Sons.
- 18- Sherma, J., & Fried, B. (Eds.). (2003). Handbook of thin-layer chromatography. CRC press.
- 19- Lindsay, S. (1992). High performance liquid chromatography (Vol. 2). John Wiley & Sons.
- 20- Meyer, V. R. (2013). Practical high-performance liquid chromatography. John Wiley & Sons.
- 21- Soukup, J., & Jandera, P. (2014). Adsorption of water from aqueous acetonitrile on silica-based stationary phases in aqueous normal-phase liquid chromatography. *Journal of Chromatography a*, 1374, 102-111.
- 22- M Mahood, Abdulbari. "RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Diclofenac sodium, Chlorpheniramine malate and Paracetamol in Tablets." *karbala journal of pharmaceutical sciences* 8.12 (2017): 15-28.

- 23- Giddings, J. C. (2002). Dynamics of chromatography: principles and theory. CRC Press.
- 24-Poole, C. F., & Lenca, N. (2015). Green sample-preparation methods using room-temperature ionic liquids for the chromatographic analysis of organic compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 144-156.
- 25-Jáuregui-Haza, U. J., Wilhelm, A. M., Canselier, J. P., & Delmas, H. (2001). Adsorption of Benzenesulfonic Acid; 3, 3', 3''-Phosphinidynetris-, Trisodium Salt; and Di (μ -tertiobutylthiolato) Dicarboxyl, Bis (benzenesulfonic acid, 3, 3', 3''-phosphinidynetris-, Trisodium Salt) Dirhodium from Aqueous Solutions on Silica. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 46(2), 281-285.
- 26-Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2007). Instrumental analysis (Vol. 47). Belmont: Brooks/Cole, Cengage Learning.
- 27-Fekete, S., Beck, A., Veuthey, J. L., & Guillarme, D. (2015). Ion-exchange chromatography for the characterization of biopharmaceuticals. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 113, 43-55.
- 28-Yamamoto, S., Nakanishi, K., & Matsuno, R. (1988). Ion-exchange chromatography of proteins. CRC Press.
- 29-Garrett, R. H., & Grisham, C. M. (2001). Principles of Biochemistry: With a Human Focus; Brooks.
- 30-Abdulbari, M. M., & Ihsan, M. S. (2013). Simultaneous determination and validation of chlorpheniramine maleate, acetaminophen, phenylpropanolamine hydrochloride and caffeine in tablet dosage form by using reverse phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). *Int. J. Pharm. Sci*, 5, 666-670.
- 31- Xiao, W., & Oefner, P. J. (2001). Denaturing high- performance liquid chromatography: A review. *Human mutation*, 17(6), 439-474.

32-Swartz, M. (2010). HPLC detectors: a brief review. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33(9-12), 1130-1150.

33-Cartwright, A. C. (2016). *The British pharmacopoeia, 1864 to 2014: medicines, international standards and the state*. Routledge.

34-Ibezim, E. C., Attama, A. A., Obitte, N. C., Onyishi, V. I., & Brown, S. A. (2008). In vitro prediction of in vivo bioavailability and bioequivalence of brands of metronidazole tablets in Eastern Nigerian drug market. *Sci Res Essays*, 3(11), 552-558.

35-García, M. S., Sánchez-Pedreno, C., Albero, M. I., & Martí, J. (2000).

Spectrophotometric methods for determining meloxicam in pharmaceuticals using batch and flow-injection procedures. *European journal of pharmaceutical sciences*, 9(3), 311-316.

36-Parriott, D. (Ed.). (2012). *A Practical guide to HPLC detection*. Academic Press.

37- Wolk, D. M., Johnson, C. H., Rice, E. W., Marshall, M. M., Grahn, K. F., Plummer, C. B., & Sterling, C. R. (2000). A spore counting method and cell culture model for chlorine disinfection studies of *Encephalitozoon syn. Septata intestinalis*. *Applied and environmental microbiology*, 66(4), 1266-1273.

38-Mândrescu, M., Spac, A. F., & Dorneanu, V. (2009). Ultraviolet spectrophotometric determination of tenoxicam using iodine solution as reagent. *Revista Medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi*, 113(2), 598-603.

39-Sharma, U. K., Sharma, K., Sharma, N., Sharma, A., Singh, H. P., & Sinha, A. K. (2008). Microwave-assisted efficient extraction of different parts of *Hippophae rhamnoides* for the comparative evaluation of antioxidant activity and quantification of its phenolic constituents by reverse-phase high-performance

liquid chromatography (RP-HPLC). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(2), 374-379.

40-Heald, Mark A.; Marion, Jerry B. *Classical electromagnetic radiation*. Courier Corporation, (2012)

41-Kerker, Milton. *The scattering of light and other electromagnetic radiation: physical chemistry: a series of monographs*. Academic press, (2013).

42- Ng, K. H. (2003, October). Non-ionizing radiations—sources, biological effects, emissions and exposures. In *Proceedings of the international conference on non-ionizing radiation at UNITEN* (pp. 1-16).

43-Harris, D. C. (2010). *Quantitative chemical analysis*. Macmillan.

44- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2017). *Principles of instrumental analysis*. Cengage learning.

45-Shenderova, O., Grichko, V., Hens, S., & Walch, J. (2007). Detonation nanodiamonds as UV radiation filter. *Diamond and related materials*, 16(12), 2003-2008.

46- Pollard, A. M., Batt, C. M., Stern, B., Young, S. M., & Young, S. M. M. (2007). *Analytical chemistry in archaeology*. Cambridge University Press.

47-Rogers, R. D., Seddon, K. R., Division of Industrial and Engineering Chemistry Staff American Chemical Society, & Meeting Staff American Chemical Society. (2003). *Ionic liquids as green solvents* (pp. 2-5). Washington, DC: American Chemical Society.

48- Mut Gunzler, I. I., & Williams, A. (2001). *Handbook of analytical techniques, Evolution*, 1, 1-2.

49-Torrens, F., & Castellano, G. (2019). Fluorescence Excitation and Emission: Comparison with Absorption. In *Molecular Chemistry and Biomolecular Engineering* (pp. 51-61). Apple Academic Press.

- 50-Harris, D. C. (2010). Quantitative chemical analysis. Macmillan.
- 51-Schmid, F. X. (2001). Biological macromolecules: UV- visible spectrophotometry. e LS.
- 52- Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2017). Principles of instrumental analysis. Cengage learning.
- 53-Aljamali, N. M., Abdullabass, H. K., Jawad, A. M., Alfatlawi, I. O., & Jawd, S. M. (2020). Review on types of automatic sterilization systems in Hospitals. International Journal of Industrial Biotechnology and Biomaterials, 6(1), 15-21p.
- 54-Skoog D.A & West D.M, (2004)."Fundamentals of Analytical Chemistry", 8thed, Thomson learning INC, p.718.
- 55- Zumdahl, Steven S., Susan A. Zumdahl, and Donald J. DeCoste. Chemistry: An atoms first approach. Cengage Learning, (2020).
- 56-Robinson, J. W., Frame, E. S., & Frame II, G. M. Undergraduate instrumental analysis. CRC press. (2014).
- 57-Rouessac. F & Rouessac. A, (2007). "Chemical Analysis", 6thed, Wiley and Sons, p.186.
- 58-Macdonald, A. M. G. (1990). Photometric Determination of Traces of Metals, Part I: General Aspects: EB Sandell and Hiroshi Onishi, Wiley-Interscience, New York, 1978 (ISBN 0-471-03094-5). ix+ 1085 pp. Hiroshi Onishi, Photometric Determination of Traces of Metals, Part IIA: Individual Metals, Aluminum to Lithium, Wiley-Interscience, New York, 1986 (ISBN-0-471-03094-5). xix+ 885 pp. Hiroshi Onishi, Photometric Determination of Traces of Metals, Part IIB: Individual Metals, Magnesium to Zirconium, Wiley-Interscience, New York, 1989 .
- 59- Lampert, W., & Sommer, U. (2007). Limnoecology: the ecology of lakes and streams. Oxford university press.

- 60- Mayerhöfer, T. G., Pahlow, S., & Popp, J. (2020). The Bouguer- Beer-Lambert law: Shining light on the obscure. *ChemPhysChem*, 21(18), 2029-2046.
- 61- Valeur, B., & Berberan-Santos, M. N. (2012). *Molecular fluorescence: principles and applications*. John Wiley & Sons.
- 62-Swarbrick, J. (2013). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology: Volume 6*. CRC press.
- 62-Angarita, S. A., Duarte, S., Russell, T. A., Ruchala, P., Elliott, I. A., Whitelegge, J. P., & Zarrinpar, A. (2019). Quantitative measure of intestinal permeability using blue food coloring. *Journal of Surgical Research*, 233, 20-25.
- 63-Nestler, E. J., & Hyman, S. E. (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nature neuroscience*, 13(10), 1161-1169.
- 64-REDASANI, V. K., PATEL, C. F., CHHAJED, C. F., & SURANA, S. S. (2014). Quantitative Determination of Meloxicam in bulk and in tablet by UV Spectrophotometry. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*, 246-250.
- 65-Rouessac, F., Rouessac, A. (2022). *Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques*. John Wiley & Sons.
- 66-Durner, J. (2010). Clinical chemistry: challenges for analytical chemistry and the nanosciences from medicine. *Angewandte Chemie International Edition*, 49(6), 1026-1051.
- 67-Chaudhary, K. B., Bhardwaj, K., Verma, G., & Kumar, P. (2018). Validated Analytical Method development for the determination of Meloxicam by UV Spectroscopy in API and Pharmaceutical dosage form. *Asian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 7(2), 60-69.
- 68- Jann, M., Kennedy, W. K., & Lopez, G. (2014). Benzodiazepines: a major component in unintentional prescription drug overdoses with opioid analgesics. *Journal of pharmacy practice*, 27(1), 5-16.

69- Pharmacopeia, U.S. (2007). National Formulary 25 .In Rockville,MD: US Pharmacopeial Convention .

70- Nielsen, S. (2015). Benzodiazepines. In Non-medical and illicit use of psychoactive drugs (pp. 141-159). Springer, Cham.

71-Bertolasi, V., Sacerdoti, M., Gilli, G., & Borea, P. A. (1982). Structure of 7-chloro-2-methylamino-5-phenyl-3H-1, 4-benzodiazepine 4-oxide (chlordiazepoxide). Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry, 38(6), 1768-1772.

72- Chaudhary, A. B., Raval, R. J., Vaghela, K., & Patel, E. K. T. A. (2016). Development and validation of analytical method for simultaneous estimation of chlordiazepoxide, trifluoperazine hydrochloride and trihexyphenidyl hydrochloride in tablet dosage form. Int Bull Drug Res, 6, 1-16.

73- Antunovic, V., Tesanovic, S., Peruskovic, D., Stevanovic, N., Baosic, R., Mandic, S., & Lolic, A. (2018). Development of a flow injection system for differential pulse amperometry and its application for diazepam determination. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2018.

74-Wick, J. (2013). The history of benzodiazepines. The Consultant Pharmacist®, 28(9), 538-548.

75- Wlodarczyk, A., Szarmach, J., Jerzy Cubala, W., & Wiglusz, M. S. (2017). Benzodiazepines in combination with antipsychotic drugs for schizophrenia: GABA-ergic targeted therapy. Psychiatria Danubina, 29(suppl. 3), 345-348.76-British Association for Psychopharmacology. Journal of Psychopharmacology, 19(6), 567-596.

77-Vemula, V. R. B., & Sharma, P. K. (2013). Analytical method development and validation for simultaneous estimation of imipramine and diazepam in tablet dosage form by RP-HPLC. Int J Pharm Pharm Sci, 5, 249-253.

78-Rianrungrot, T. (2009). Analysis of 6 Benzodiazepines in human serum by high performance liquid chromatography (Doctoral dissertation, Prince of Songkla University).

79- Nunez, M. J., Novio, S., Amigo, G., & Freire-Garabal, M. (2011). The antioxidant potential of alprazolam on the redox status of peripheral blood leukocytes in restraint-stressed mice. *Life sciences*, 89(17-18), 650-654.

80-Verster, J. C., & Volkerts, E. R. (2004). Clinical pharmacology, clinical efficacy, and behavioral toxicity of alprazolam: a review of the literature. *CNS drug reviews*, 10(1), 45-76.

81- Sylaja, B., Gunasekaran, S., & Srinivasan, S. (2016). Spectroscopic investigation, molecular interactions and molecular docking studies on 8-chloro-1-methyl-6-phenyl-4H-[1, 2, 4] triazolo [4, 3-a][1, 4] benzodiazepine. *Optik*, 127(16), 6559-6573.

82- Ait-Daoud, N., Hamby, A. S., Sharma, S., & Blevins, D. (2018). A review of alprazolam use, misuse, and withdrawal. *Journal of addiction medicine*, 12(1), 4.

83-Shukla, S., Kumar, P., Srivastava, R. S., & Trivedi, P. (2010). RP-HPLC method development and its validation for simultaneous estimation of Alprazolam and Fluoxetine hydrochloride in pharmaceutical dosage form. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 5(3), 239-245.

84- Shorter, E. (2008). *Before Prozac: The troubled history of mood disorders in psychiatry*. Oxford University Press.

85-Tfelt-Hansen, P., Agesen, F. N., Pavbro, A., & Tfelt-Hansen, J. (2017). Pharmacokinetic variability of drugs used for prophylactic treatment of migraine. *CNS drugs*, 31(5), 389-403.

86- American Geriatrics Society Panel on the Pharmacological Management of Persistent Pain in Older Persons, Reprinted with permission from The American Geriatrics Society. Original article appears in *J Am Geriatr Soc* 2009; 57: 1331–

1346. (2009). Pharmacological management of persistent pain in older persons. *Pain Medicine*, 10(6), 1062-1083.

87-Hugerth, A., & Sundelöf, L. O. (2001). The effect of polyelectrolyte counterion specificity, charge density, and conformation on polyelectrolyte–amphiphile interaction: The carrageenan/furcellaran–amitriptyline system. *Biopolymers: Original Research on Biomolecules*, 58(2), 186-194.

88-Aree, T. (2020). β -Cyclodextrin encapsulation of nortriptyline HCl and amitriptyline HCl: Molecular insights from single-crystal X-ray diffraction and DFT calculation. *International Journal of Pharmaceutics*, 575, 118899.

89- Manzo, R. H., Olivera, M. E., Amidon, G. L., Shah, V. P., Dressman, J. B., & Barends, D. M. (2006). Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Amitriptyline hydrochloride. *Journal of pharmaceutical sciences*, 95(5), 966-973.

90-Sujatha, N., & Pavani, K. H. (2013). Analytical method development and validation of amitriptyline hydrochloride and chlordiazepoxide in tablet by RP-HPLC. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(5), 655.

91-Haggag, R. S., Shaalan, R. A., & Belal, T. S. (2010). Validated HPLC determination of the two fixed dose combinations (chlordiazepoxide hydrochloride and mebeverine hydrochloride; carvedilol and hydrochlorothiazide) in their tablets. *Journal of AOAC International*, 93(4), 1192-1200.

92- Sharma, A., Gaurav, K., & Srivastava, R. (2021). A Comparative Estimation of Alprazolam in Pharmaceutical Formulations by Validated HPLC and HPTLC Techniques. *Analytical Chemistry Letters*, 11(2), 187-197.

93- Sarrafi, A. H., Khodakarami, Z., & Karkeabadi, M. (2009). Simultaneous spectrophotometric determination of amitriptyline hydrochloride and chlordiazepoxide in pharmaceutical tablets by multivariate calibration method. *E-journal of chemistry*, 6(S1), S111-S116.

94-Ashour, S., & Kattan, N. (2013). Sensitive method for the quantitative determination of risperidone in tablet dosage form by high-performance liquid chromatography using chlordiazepoxide as internal standard. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, 9(2), 91.

95- Suckow, R. F., & Cooper, T. B. (1982). Simultaneous determination of amitriptyline, nortriptyline and their respective isomeric 10-hydroxy metabolites in plasma by liquid chromatography. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 230(2), 391-400.

96- Boobalan, M., Asokan, R., Chandra, R. M., Palanisamy, P., & Venkateshwaralu, B. S. (2020). Stability Indicating Forced Degradation Studies to Assess Degradation behaviour of Chlordiazepoxide and Amitriptyline Hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Form by RP-HPLC. *Research J. Pharm. and Tech*, 13(1), 313-318.

97- Vhanmane, A., Tamboli, A., & More, S. (2019). RP-HPLC Method Development and Validation for the Simultaneous Estimation of Gabapentin and Amitriptyline Hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Forms. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(3-s), 62-68.

98-Bais, S., Bhavsar, M., Singhvi, I., & Chandewar, A. (2014). Analytical method development and validation for the estimation of alprazolam and sertraline hydrochloride by HPLC. *Pharma Res*, 11(1).

99-Rao, R. N., Parimala, P., Khalid, S., & Alvi, S. N. (2004). Detection of the adulteration of traditional alcoholic beverages by the separation and determination of alprazolam, chloralhydrate and diazepam using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Analytical sciences*, 20(2), 383-386.

100-Sujatha, N., & Pavani, K. H. (2013). Analytical method development and validation of amitriptyline hydrochloride and chlordiazepoxide in tablet by RP-HPLC. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 1(5), 655

101-Naguib, I. A., Ali, N. A., Elroby, F. A., & Elghobashy, M. R. (2021). Green HPLC–DAD and HPTLC Methods for Quantitative Determination of Binary Mixture of Chlordiazepoxide and Amitriptyline Used for Neuropathic Pain Management. *Journal of Chromatographic Science*, 59(6), 536-547.

102- Nisha, P. J. (2012). Analytical Method Development and Validation of Assay for Carvedilol Tablets by RP-HPLC, HPTLC and UV Spectroscopy (Doctoral dissertation, RVS College of Pharmaceutical Sciences, Coimbatore).

103- Walash, M. I., Rizk, M., & El-Brashy, A. (1988). Spectrophotometric determination of chlordiazepoxide and nitrazepam. *Talanta*, 35(11), 895-898.

104- Saudagar, R. B., Saraf, S., & Saraf, S. (2007). Spectrophotometric determination of chlordiazepoxide and trifluoperazine hydrochloride from combined dosage form. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 69(1), 149.

105- Othman, A. A., Bagary, R. I., Elkady, E. F., & El-Kerdawy, M. M. (2006). Development and Validation of Spectrophotometric Methods for Simultaneous Determination of Alprazolam In Bulk and In Dosage Form. *Pharm Anal Acta*, 7(8).

106- Patel, D. C., Patel, N. R., Sherikar, O. D., & Mehta, P. J. (2014). Development and validation of RP-HPLC, HPTLC and UV-visible spectrophotometric methods for simultaneous estimation of alprazolam and propranolol hydrochloride in their combined dosage form. *Journal of Analytical Chemistry*, 69(7), 674-680.

107- Venkatesan, P., Subrahmanyam, P. V. R. S., & Pratap, D. R. (2010). Spectrophotometric determination of pure amitriptyline hydrochloride through ligand exchange on mercuric ion. *Int J ChemTech Res*, 2, 54-56.

108- Patel, D., & Patel, V. (2010). Simultaneous estimation of Amitriptyline Hydrochloride and Perphenazine by Absorption Ratio (Q-analysis) UV

Spectrophotometric method in combined tablet dosage form. *Int J Pharm Sci Res*, 1, 133-137.

109-akraborty, S., Sharmin, S., Rony, S. R., Ahmad, S. A. I., & Sohrab, M. H. (2018). Stability-indicating UV/Vis spectrophotometric method for diazepam development and validation. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 80(2), 366-373.

110- Sadeghi, S., Takjoo, R., & Haghgoo, S. (2002). Quantitative determination of diazepam in pharmaceutical preparation by using a new extractive-spectrophotometric method. *Analytical letters*, 35(13), 2119-2131.

111- Liawruangrath, S., Makchit, J., & Liawruangrath, B. (2006). A simple spectrophotometric procedure for the determination of diazepam in pharmaceutical formulation. *Analytical sciences*, 22(1), 127-130.

112-Ziegel, E. R. (2001). *Data Analysis and Signal Processing in Chromatography*. *Technometrics*, 43(1), 115.

113- Qasim, F. O., & Mohammed, N. M. S. (2021). A Nanodrop Spectrophotometric Method and Stability Indicating for Determination of Amlodipine Besylate in Pharmaceutical Formulations of Kurdistan of Iraq. *Science Journal of University of Zakho*, 9(1), 25-29.

114 - KHAN, N. A., Naz, N., KHAN, N. A., DOGER, N. A., & KHAN, W. A. (2012). Spectrophotometric Determination of Diazepam. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 34(6), 536.

115 - Christian, G. D., Dasgupta, P. K., & Schug, K. A. (2013). *Analytical chemistry*. John Wiley & Sons.

116- Kumar, K. A., Mohanakrishna, A., Sudheer, M., Rajesh, K. S., & Ramalingam, P. (2011). UV-Spectrophotometric method for the estimation of Alprazolam in tablet dosage Form. *Int. J. Chem. Tech. Res*, 3(1), 161-164.

117-Orfanidis, A., Gika, H., Theodoridis, G., Chatziioannou, A. C., & Raikos, N. (2022). Analysis, Stability and Distribution of Pharmaceuticals and Drugs of Abuse over a Period of 1 Year in Formalin-Fixed Liver and Formalin Solutions. *Journal of Analytical Toxicology*.

Mosaddegh, M. H. (2003). Application of solid phase microextraction (SPME) technology to drug screening and identification. The University of Manchester (United Kingdom).

118-Stoll, D. R., Paek, C., & Carr, P. W. (2006). Fast gradient elution reversed-phase high-performance liquid chromatography with diode-array detection as a high-throughput screening method for drugs of abuse: I. Chromatographic conditions. *Journal of Chromatography A*, 1137(2), 153-162.

119-Litchford, M. (2011). Laboratory assessment of nutritional status: bridging theory and practice. eBookIt. com.

120-Soni, P., Sar, S. K., & Patel, R. (2012). New approach for the determination of tricyclic antidepressant amitriptyline using β -cyclodextrin-peg system via spectrophotometry. *Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation*, 2(02), 103.

121-Khodadoust, S., & Ghaedi, M. (2013). Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction with central composite design for preconcentration of chlordiazepoxide drug and its determination by HPLC- UV. *Journal of separation science*, 36(11), 1734-1742.

122-Dastidar, D. G., & Sa, B. (2009). A comparative study of UV-spectrophotometry and first-order derivative UV-spectrophotometry methods for the estimation of diazepam in presence of tween-20 and propylene glycol. *AAPS PharmSciTech*, 10(4), 1396-1400.

123- Ferreyra, C. F., & Ortiz, C. S. (2002). Simultaneous spectrophotometric determination of phenilpropanolamine HCL, caffeine and diazepam in tablets. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 29(5), 811-818.

124-Kumar, K. A., Mohanakrishna, A., Sudheer, M., Rajesh, K. S., & Ramalingam, P. (2011). UV-Spectrophotometric method for the estimation of Alprazolam in tablet dosage Form. *Int. J. Chem. Tech. Res*, 3(1), 161-164.

125- Abuirjeie, M. A., & Abdel-hamid, M. E. (1989). Simultaneous high-performance liquid chromatographic and first-derivative spectrophotometric determination of amitriptyline hydrochloride and chlordiazepoxide in capsules. *Analytical letters*, 22(4), 951-962.

126-Srinija, G. (2022). Method Development and Validation for the Simultaneous Determination of Perphenazine and Amitriptyline in Pure and Marketed Pharmaceutical Dosage Form by using RP-HPLC. *INTERNATIONAL JOURNAL OF APPLIED PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*, 7(03), 43-51..

127-Mabrouk, M., Hammad, S. F., Abdelaziz, M. A., & Mansour, F. R. (2018). Ligand exchange method for determination of mole ratios of relatively weak metal complexes: a comparative study. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 1-7.

128-Short, J. R. (2017). *An introduction to urban geography*. Routledge.

129-Kellner, R., Mermet, J. M., Otto, M., Valcarcel, M., & Widmer, H. M. (2004). *Analytical chemistry: a modern approach to analytical science*. Germany: Wiley-VCH; ISBN 3-527-30590-4. LOD.

130-Ali, F. A. R. A. A. T., Nandi, U., Verma, R., Rathod, R., Sahu, P. L., Kumar, R., ... & Singh, G. N. (2016). UV-visible first order derivative spectrophotometric method development and validation for simultaneous estimation of amitriptyline hydrochloride and chlordiazepoxide in tablet dosage form. *Asian Journal of Chemistry*, 28(12), 2632-2634

131- Ruiz-Angel, M. J., Carda-Broch, S., & García-Alvarez-Coque, M. C. (2010). Peak half-width plots to study the effect of organic solvents on the peak performance of basic drugs in micellar liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1217(11), 1786-1798.

132-Rajan, R., & Deshpand, A. (2016). UV spectrophotometric estimation of alprazolam by area under curve and first order derivative methods in bulk and pharmaceutical dosage form. *Der Pharmacia Lettre*, 8(5).

Abstract

The work (the thesis) consisted of two main parts :

-The first part : high-performance reverse-phase liquid chromatography (Rp-HPLC).

The first part: Reversible phase Liquid Chromatography Rp-HPLC

This method was developed to be accurate, sensitive and rapid for estimation Chlordiazepoxide , Diazepam , Amitriptyline , and Alprazolam drugs , in their alone state and as a combination, were separated using an analytical column type(the ODS2-C18 (250 mm × 4.6 mm × 5µm particle) at 35°C , and at a flow rate of 1.0 ml/min using the Isocratic system for the mobile phase. The mobile phase used included a solution of disodium phosphate ions with two organic axes are: methanol and acetonitrile with a ratio (40:30:30 v/v)) and an pH = 4, using a UV detector at a wavelength of 241nm . The retention time for chlordiazepoxide was 5.123 min , 2.753 min , for diazepam, 3.426 min , for amitriptyline , and 3.703 minutes for alprazolam. The method was evaluated from calculating the linearity (5-50) µg / ml and correlation coefficient ($R^2 = 0.9988$) and (6-48) µg: / ml (10-50) and ($R^2 = 0.9997$) and $R^2=0.9996$) and $R^2=0.9982$) for chlordiazepoxide, diazepam, alprazolam and amitriptyline, respectively . the relative standard deviation of both drugs was less than 2%, with the lowest detection limits (0.634 , 0.616 , 0.77 0.72) µg/mL for chlordiazepoxide, diazepam, amitriptyline, and alprazolam , respectively . The limits of Quantitative detection (1.922, 2.50 , 2.57 , 1.868) µg/ml for chlordiazepoxide, diazepam, amitriptyline, and alprazolam. The chromatographic method was applied to pharmaceutical preparations in their pure form and in their pharmaceutical preparations, and the recoveries were within (99.207-102.544) % , (99.046-100.858%), (100.29-100.51%) (99.95-101.12%) for chlordiazepoxide, diazepam, alprazolam and amitriptyline, respectively.

The second part:

The spectroscopic method (oxidation-reduction method)

An accurate, sensitive and simple the spectral method was developed, using oxidation reduction reactions, which included the determination of some psychotropic drugs in the first paragraph, including chlordiazepoxide, diazepam, alprazolam and amitriptyline for quantitative determination in its pure form and in pharmaceutical preparations.

The method included the determination of each drug individually by reacting it with the reagent 3-methyl-2-benzothiazole non-hydrazine hydrochloride hydrate in the presence of the oxidizing agent and iron(III) chloride in a strong acidic medium. Preliminary tests were conducted to determine the appropriate conditions to obtain sensitivity. The maximum wavelength of the formed colored complex was measured as (AM=630.0nm,663.0nm=CH•619.0nm=ALP,609.0 nm=DIZE). the optimum conditions were also studied to obtain the highest absorbance intensity. Beer's law limits were within the concentration range (5-30) μg /ml for diazepam, alprazolam or amitriptyline(2-30) μg /ml, either chlordiazepoxide (5-25) μg / ml and with the correlation coefficient for each drug alprazolam, amitriptyline, diazepam and chlordiazepoxide (0.9979,0.9965,0.9995,0.9997) on the straight, and through the values of the molar absorption coefficient and Sandal's sensitivity to the "formed" matrix, which were equal to (5.575×10^3 , 3.359×10^3 , 7.565×10^3 and $(7.157 \times 10^3 \text{ L/mol.cm})$ 0.054, 0.085, 0.041, 0.039 ($\mu\text{g/cm}^2$), respectively, The method showed high sensitivity. The relative standard deviation for each drug was less than 2%, the detection limits for drugs are (0.877, 0.739, 1.779 and (1.757) $\mu\text{g/ml}$, and the quantitative limits are 2.924, 2.464, 5.930, 5.857) $\mu\text{g/ml}$ for chlordiazepoxide, diazepam, alprazolam and amitriptyline. through the mentioned results, this method has high accuracy and precision, and therefore it has been applied in estimating these drugs in their pure state and in their pharmaceutical preparations.



University of Kerbala

Chromatographic and spectrophotometric determination of some antidepressant drugs

A Thesis

Submitted to the College of Education for Pure Sciences – Chemistry department

Karbala University In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master in Chemistry Sciences

By

Esraa Muhammad Mohsen

Education Chemistry, University of Kerbala 2019

Supervised by

Asst. Professor Dr.

Aula Mahdi Abd Ali

2022A.D

Professor Dr.

Abdul Bari Mahdi Mahood

1444 A.H