



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم الكيمياء

## تطوير طرائق تحليلية لتقدير عقاري الايزونزايد والمثل دوبا باشكالها النقية ومستحضراتها الصيدلانية

رسالة مقدمة الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى  
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الكيمياء

من قبل الطالب

علاوي حسين مريهج

بكالوريوس علوم كيمياء/ جامعة بغداد 1997 – 1998

إشراف

أ.م.د.

أ.م.د.

محمد جاسم حمزة

احمد مهدي سعيد

م ٢٠١٩

١٤٤٠ هـ

## 1- المقدمة

## Introduction

## 1-1- مطيافية الاشعة فوق البنفسجية والمرئية UV-Vis spectroscopy

تعرف المطيافية (Spectroscopy) بانه العلم الذي يعنى بدراسة تفاعل الاشعاع الكهرومغناطيسي مع المادة، اما المقياس الطيفي (Spectrometry) فهو القياس الكمي لشدة الاشعاع الكهرومغناطيسي عند طول موجي واحد او اكثر باستعمال مكشاف مصمم للقياس [1]. وينتج عن امتصاص الاشعة فوق البنفسجية او الاشعاع المرئي بشكل عام اثاره الكترونات الاواصر لذلك يمكن ربط الاطوال الموجية للاشعة الممتصة مع انواع الاواصر للجزيئات الماصة للاشعاع لذلك تكون قياسات الطيف الضوئي للاشعة فوق البنفسجية مفيدة في الكشف عن مجاميع حاملة اللون (chromophoric group) في حالة وجودها في الجزيئة، يشير قياس الطيف الضوئي المرئي ومعناه استخدام الضوء المرئي من (400-800) nm، اما الاشعة فوق البنفسجية فيتراوح (10-400) nm. ان طاقة الاشعاع الممتص من قبل الاصناف المحلله تؤدي الى حدوث اثاره للكترونات من الحالة المستقرة الى الحالة المثارة وطيف الامتصاص نحصل عليه من خلال قياس الضوء الممتص كدالة للتردد او الطول الموجي ( $\lambda$ ) [2,3]، ويشمل الامتصاص اصناف الجزيئات العضوية والايونات بالاضافة الى ذلك عدد من الايونات اللاعضوية. وتحدث الاثاره عند امتصاص الاشعة المرئية او فوق البنفسجية [4]. تمتاز طرائق التحليل الضوئي بالانتقائيه والحساسيه العاليه وكونها غير اتلافية للانموذج واستخدامها لكميات قليله جدا في الانموذج المطلوب تحليله [5].

يطلق على المجاميع التي لها القدرة على امتصاص الاشعة فوق البنفسجية والمرئية بحاملات اللون (Chromophoric groups) وتتضمن المجاميع غير المشبعة والذرات غير المتجانسة (Hetroatoms) التي تحمل مزدوجات الكترونية غير مشتركة مثل ( $\ddot{N}$ ,  $\ddot{S}$ ,  $\ddot{O}$ ) كما أن هناك مجاميع اوكسوكروم او معمقه للون تدعى (Auxochromic groups) وهذا يمكن ملاحظته عند الامتصاص في المنطقة المرئية [6]. أن المجاميع الحاملة للون اوالمجاميع اللونيه والتي تسمى كروموفور (chromophore) هي التي تستطيع ان تمتص الاشعة فوق البنفسجية القريبة أو الاشعة المرئية عندما تكون اواصر مع أخرى مشبعة غيرقادرة على امتصاص الاشعاع. أما المجاميع المطورة للون تكون مجاميع فعالة مثل ( $NH_2, Cl, OH, CHO-$ ) التي تمتلك مزدوجات الكترونية غير مشتركة كما مر ذكرة سابقا [7].

وكلما ازدادت درجة التباين اللوني تزداد الحساسية والدقة والضبط ويمكن ان تتحسن الانتقائية وفي بعض الحالات يتم اختيار الظروف المثلى اعتمادا على قيمة التباين اللوني . توجد عدة طرائق يمكن من خلالها زيادة درجة التباين اللوني مثل استعمال المذيبات العضوية، استعمال اكثر من كاشف مخليبي (Ligand) في تكوين المعقد، استعمال المواد ذات الفعاليه السطحيه (Tritonx-100) وتغيير الكاشف مولد اللون (Chromogenic reagent) [9,8]. ان القانون العام للامتصاصية هو قانون لامبرت-بيير Beer-Lambert law (والذي ينص على ان الزيادة المتتابة في عدد الجزيئات المتماثلة القادرة على امتصاص الاشعاع والتي تقع في طريق حزمة من اشعاع ضوئي احادي اللون فانها سوف تمتص اجزاء متساوية من الطاقة الاشعاعية الماره بها)، ويفترض القانون العام للامتصاصية الخطية اعتمادا على الامتصاصية والتركيز [11,10]. والصيغة الرياضية لة

$$A = \log I^0 / I = \epsilon C b \text{ -----(1-1)}$$

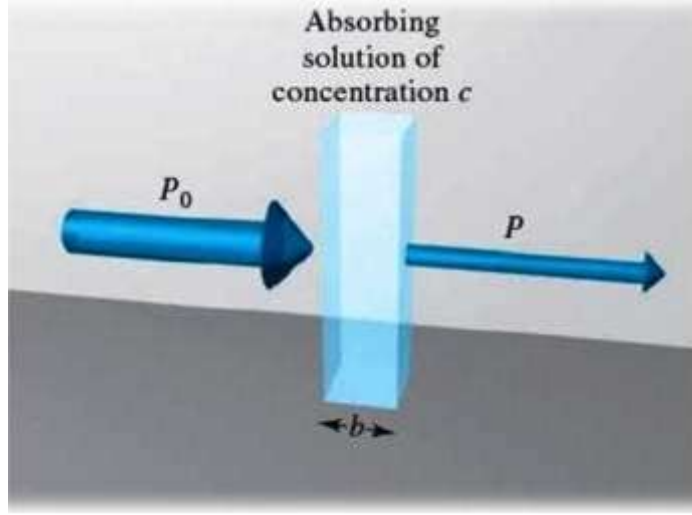
حيث ان:  $I^0$  هي شدة الاشعاع الساقط،  $I$  هي شدة الاشعاع النافذ من العينة،  $A$  هي الامتصاصية ،  $\epsilon$  معامل الامتصاص المولاري وحدته (لتر\مول.سم)، التركيز (مول\لتر)،  $b$  طول مسار الاشعاع (سم) [12]. ان شدة الضوء الذي يمر من خلال العينة يتناقص كلما مر الضوء عبر العينة الماصة فاذا كانت شدة الاشعاع احادي اللون والذي يكون لطول موجي واحد يرمز له ( $I^0$ ) والذي يعبر عن الشعاع الذي يمر عبر العينة والتي تمتص اشعة من هذا الطول الموجي والرمز ( $I$ ) يعبر عن قوة الاشعاع النافذ لذلك عندما تكون  $I^0 > I$  في حالة امتصاص العينة كمية من الشعاع وعندما تكون  $I = I^0$  في هذه الحالة تكون العينة لم تمتص أي كمية من الشعاع المار من خلالها. العلاقة الرياضية التي تربط بين شدة الشعاع المار بالعينة ( $I^0$ ) وشدة الاشعاع النافذ من العينة ( $I$ ) بالنفاذية ( $T$ ) وتمثل جزء الضوء النافذ من العينه.

$$T = I / I^0 \text{ -----(2-1)}$$

ومستوى القيم المسموح بها للنفاذية  $T$  تتراوح بين (0-1). وان العلاقة التي تربط بين النفاذية والامتصاصية هي:

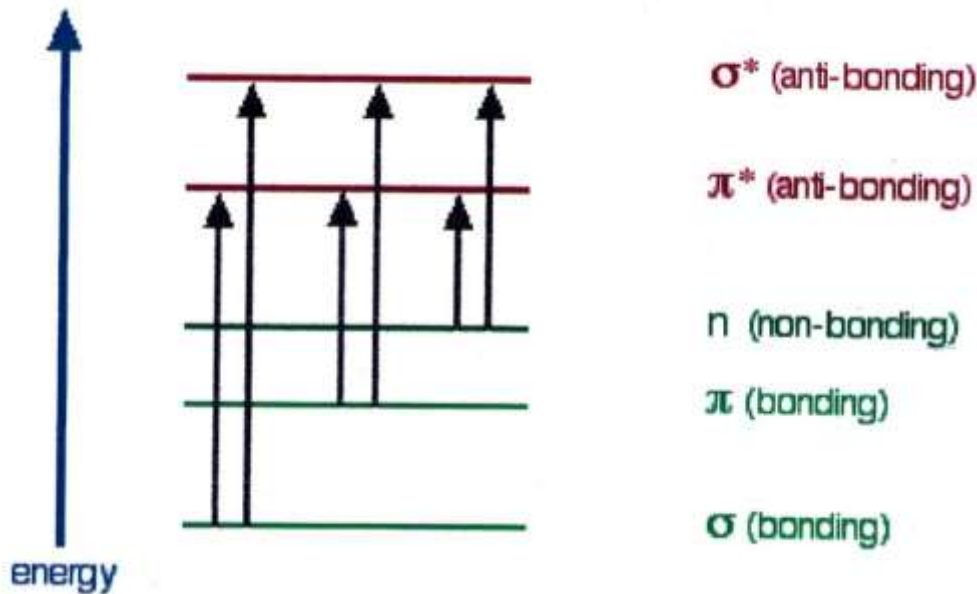
$$A = \log(P^0/p) = \log(1/T) = - \log T \text{ ----- (3-1)}$$

أن الانحراف عن قانون لامبرت بير تمثل استدلالاً واضحاً عندما تنفى صفة الرسم الخطي لقانون بير . ويلاحظ ذلك ، في التراكيز المحاليل العاليه وهذه الانحرافات إما أن تكون كيميائية ، أو ناتجة عن أجهزه القياس ، لان من غير الممكن أن يكون جهاز القياس دقيقاً في قيم معامل النفاذية العاليه جداً او قيم معامل النفاذية الواطئة التي تقترب أما من 0 أو  $T\%=100$  . ويوضح الشكل (1-1) عملية امتصاص الاشعاع الكهرومغناطيسي من قبل العينة (الانموذج) [14,13].



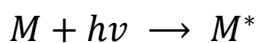
شكل(1-1): يوضح امتصاص الضوء بواسطة العينة [15]

وعندما تتواجد المجاميع الحامله للون والمطورة للون معاً وفي نفس الجزيئية يحصل عندها امتصاص قوي في المنطقة فوق البنفسجية ونوع الانتقالات التي تحصل تكون من نوع  $(n - \delta^*)$  حيث تزيد من قيمة الامتصاصيه المولارية أما عند وجود حاملات اللون فقط بالجزيئية فإن الانتقالات التي تحصل تكون من نوع  $(\pi - \pi^*)$  والشكل (2-1) ادناه يوضح أنواع تلك الانتقالات [16].



شكل (2-1) : انواع الانتقالات التي تحدث في منطقة (UV - Vis).

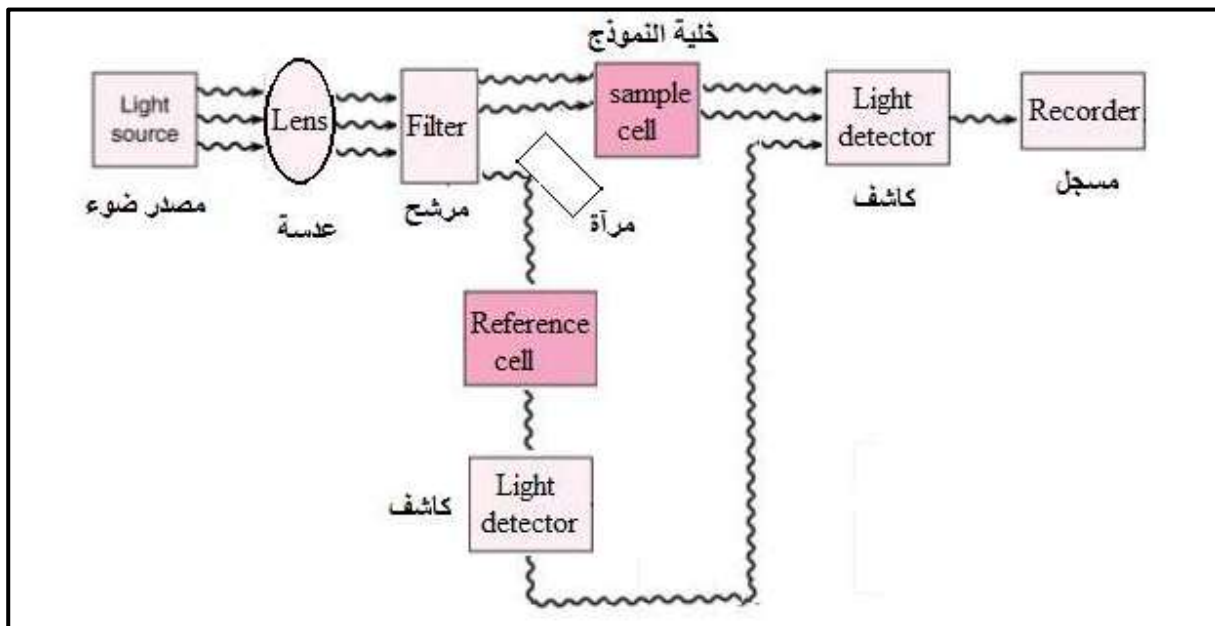
كما أن هناك مجاميع تؤدي الى نقصان شدة اللون يطلق عليها بـ (Hypsochromic groups) التي تزيح نطاق الامتصاص إلى طول موجي أقصر [17]. ونلاحظ هذا الشيء في الجزيئة عند تواجد شحنة موجبة فيها أو عند تغيير المذيب اللاقطبي إلى المذيب القطبي وتحصل عملية استثارة للجزيئات بعد امتصاصها للفوتونات من الأشعة المارة بها كما في المعادلة التالية:



ثم يحصل بعد ذلك عملية استرخاء Relaxation للجزيئات المستثارة نتيجة لفقدائها الطاقة المكتسبة من الاشعاع على شكل حرارة وترجع بعد ذلك إلى وضعها الطبيعي المستقر:



وتوجد العديد من الاجهزة التي تستخدم في قياس امتصاص الاشعة فوق البنفسجية، المرئية، IR ومن هذه الاجهزة جهاز ثنائي الحزمة ومن مميزاته انه لايتاثر بالتذبذبات في شدة الاشعة الصادرة من المصدر ولايتاثر بحساسية المكشاف، والانحراف في شدة الاشعاع وايضا يتميز بالسرعة ، شكل(3-1) يبين الاجزاء الرئيسية لجهاز ثنائي الحزمة.



الشكل (1-3) الاجزاء الرئيسية لجهاز ثنائي الحزمة

ويتكون جهاز ثنائي الحزمة من الاجزاء التالية:

- 1- مصدر ضوئي (source) ويكون عبارة عن مصباح الديتيريوم يحتوي على خيوط من التنكستن وانود مصنوع من النيكل ممتلىء بغاز الديتيريوم تحت ضغط منخفض.
- 2- موحد اللون (monochromator or fliter) وتعتبر من المميزات المهمة لهذه الاجهزة حيث تقوم بتوحيد الاطوال الموجية المتعددة التي تصدر من المصدر الى اطوال موجية منفردة.
- 3- خلايا العينات (Sample containers) تكون نماذج العينات التي تقاس بمطيافية الاشعة فوق البنفسجية، المرئية، IR، عادة سائلة او غازية وصلبة وتصنع الخلايا التي توضع فيها العينات من مادة الزجاج او الكوارتز وكذلك من السليكا النقية (silica fused).
- 4- وحدة التسجيل (Recorder meter) وحدة التسجيل المستخدمة في مطيافية الاشعة فوق البنفسجية بانها وحدة تسجيل بيانية Recorder Spectrograph، حيث يتم قياس الامتصاص الجزيئي للاطوال موجية مختلفة حيث تعرض النتائج في صورة رسم بياني يوضح كثافة الامتصاص [19,18].

## 2-1- تطبيقات الاشعة المرئية- مافوق البنفسجية

## Application of UV-Vis spectroscopy

هناك العدد من التطبيقات لمطيافية الاشعة فوق البنفسجية والمرئية وتتضمن:

1- في مجالات الطب والصناعة حيث تستخدم هذه التقنية في الكشف عن الاورام السرطانية في بعض مناطق الجسم وعلى وجه التحديد الثدي وعنق الرحم ومن خلال الدراسة اتضح ان سبب هذه الأورام هو نقص تركيز الاوكسجين بالدم حيث تم تقدير تركيز الاوكسجين بهذه التقنية[20].

2- استخدام هذه التقنية في التحليل الكمي للمواد الصيدلانية بعد اذابة العقار في مذيب مناسب واخذ الامتصاصية له بطول موجي معين عن طريق منحني المعايرة يمكن ان يعرف تركيز الدواء المراد معرفتها[21].

3- في التحليل النوعي لبعض المركبات العطرية مثل الاوليفينات من خلال تحديد الطول الموجي الاعظم  $\lambda_{max}$ ، وكذلك تحديد المركبات العضوية في الادوية الصيدلانية .

4- تقدير الاوزان الجزيئية لبعض المركبات بعد تحضير مشتقاتها، وخاصة المركبات التي تحتوي على مجموعة الامين[22].

الجدول(1-1) ادناه يوضح التطبيقات مطيافية الاشعة فوق البنفسجية والمرئية UV - Visible في تقدير بعض الادوية في المستحضرات الصيدلانية.

جدول(1-1): تطبيقات الاشعة فوق البنفسجية والمرئية UV/Visible في تقدير بعض الادوية في المستحضرات الصيدلانية.

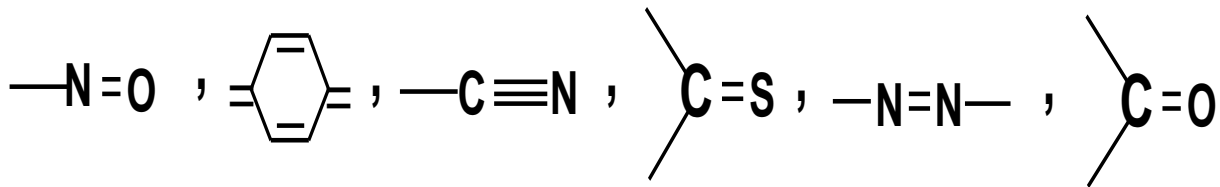
Durg	$\lambda_{max}$ nm	Reagent	Conc. range $\mu\text{g mL}^{-1}$	LOD $\mu\text{g mL}^{-1}$	$R^2$	Ref. No.
Sulfamethoxazole	525	1-naphthol	2-14	0.2345	0.9996	23
Bromhexine Hydrochloride	507	chromotropic acid	2-60	1.642	0.9992	24
Procaine Hydrochloride	454	1,3- Phenylenediamine	0.015-7	0.011	0.9993	25
Phenylephrine hydrochloride, Salbutamol sulphate	470	Metoclopramide hydrochloride	1-32 1-14	0.60, 0.52 2.02, 1.72	0.9987 0.9996	26
Vancomycin Hydrochloride	447 439	Procain, sulphacetamide sodium	1-28 1-45	0.51 0.67	0.9995 0.9998	27
Thymol	502	4-aminoacetophenone	0.2 – 16	0.0216	0.9983	28
Epinephrine	482	Pr(III)	1-50	0.09	0.9989	29
Roxithromycin	485	Sulfuric acid	5-50	0.14	0.9999	30
Ampicillin Trihydrate	A= 500 B= 523	A=ferric chloride and 2, 2 bipyridyl. B=ferric chloride and 1, 10 phenanthroline.	A=1-10 B=1-12	-----	A= 0.9990 B= 0.9997	31
Sildenafil	410	metacresol	3-70	0.13	0.9993	32
Ethionamide	760	iron(III) Ferricyanide	1-40	0.038	0.9986	33
Metformin	385	sodium hypochlorite	0.5-4	0.083	0.9999	34
Sumatriptan Succinate	A= 226 B=228	solvents, 0.1 M HCl (method A) and acetonitrile (method B).	0.2-6.0	A=0.05 B=0.16	0.9999	35
Atropine	A=413 B=457	A=bromphenol B=DDQ	0.5-40 2.5-50	0.363 2.143	0.9989 0.9999	36
Metoclopramide Hydrochloride	463	Sodium nitrate	1-20	0.406	0.9988	37
Paracetamol	600	p-aminophenol	1-14	-----	0.999	38
Ascorbic acid	535	2,4dichloro aniline	2-70	-----	0.9998	39
Gabapentin	576	4-Chloro-7- Nitrobenzo-2-Oxa- 1,3-Diazole	10-60	1.725	0.9996	40
Amoxicillin	620	Metol and potassium persulphate	5-60	1.494	0.9994	41



## 3-1 - التعقيد

## Complexation

هو الارتباط بين جزيئين او اكثر لتكوين معقد، ويكون الترابط بينهما يعتمد على قوى ضعيفة نسبيا مثل قوى لندن (London forces)، الاواصر الهيدروجينية (hydrogen bonding) والتداخلات الكارهة للماء (hydrophobic interactions). ومن انواع كواشف التعقيد complexing agents والتي تتضمن المركبات اللاعضوية، التناسقية، المخيلية (chelates) والعناصر مثل الحديد [43,42]، ان تفسير تكون المعقدات جاء من خلال النظرية التناسقية هي التي فسرت ظاهرة اتحاد جزيئات مشبعة لتكوين مايسمى بالمعقدات الجزيئية (Complexes Molecular) ثم جاءت بعدها نظرية لويس للتاخر في الكيمياء التناسقية وقد اكدت هذه النظرية على اهمية وجود المزدوجات الالكترونية الحرة في تاخر الذرات وتكوين المركبات التناسقية وان استقرارية المعقدات يعتمد على كمية الترابط التي تحدث في المحاليل التي تحتوي على اكثر من صنف في حالة توازن وكلما يزداد الترابط بين هذه الاصناف تزداد الاستقرارية والثبات للمعقد الناتج [44]، وكذلك يعتمد استقرار المعقد على طبيعة الذرة المركزية ووجود الطرف المانح للزوج الالكتروني (الكاشف المخلي)، وتوجد العديد من الكواشف المخيلية احادية المخلب (Monodentate) التي ترتبط بموقع واحد في الفلز وثنائية المخلب (Bidentate) التي ترتبط بموقعين ومتعددة المخالب Polydentate التي ترتبط باكثر من موقعين كما في الاشكال التالية:



اما الطرف المستقبل (الفلز) فيعتمد على توفر اوربيتال فارغ في الايون الفلزي لاستقبال المزدوج الالكتروني وقد تكون هذه المعقدات، المتكونة تحمل ايونا موجبا (Cationic) مثل المعقد  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{+2}$ ، او تكون متعادلة (Neutral) مثل  $[\text{Fe}(\text{CO})_5]$  وكذلك قد تحمل شحنة سالبة (Anionic) كما في المعقد  $[\text{BeF}_4]^{-1}$  [46,45].

اعتبرت، المعقدات ذات اهمية كبيرة وتؤدي دورا حيويا وفعالا في الكثير من المجالات العلمية ولاسيما العلوم الطبية والبايولوجية [47].

ان اهمية المعقدات المعدنية بالنسبة للادوية يمكن انها تمتلك تأثيراً اقوى من تاثير الدواء نفسه، وكذلك من خلال معرفة قيمة ثابت الاستقرار لمعقدات الادوية يمكن التعرف على الجرعة المناسبة لعمل الادوية ومدى تاثيره على مكونات الدم، وتمتاز اكثر الادوية بانها قابلة للتاين في الماء حيث انها تضم في

تركيبها اما مجموعة مستقبله للبروتونات (قواعد) او مجموعة مانحه للبروتونات (حوامض) او كلا الصنفين معا(امفوتيريه).

وقد بذلت جهود كبيرة للتوصل الى ادوية ذات فعالية عالية من خلال تحضير هذه الادوية من كمعقدات (دواء- فلز) بشكل رئيسي من اجل التخلص من الزيادة في المعدن داخل الجسم او لتعجيل طرح العنصر المشع[50,48].

#### 1-4- معقد انتقال الشحنة

#### Charge – Transfer complex ( CT complex)

ان وجود المجاميع المعوضة في بعض الجزيئات العضوية تحدث تأثيرا في كيفية توزيع الشحنة فيها فيجعل بعضها غنيا بالالكترونات يجعلها كجزيئات مانحة للالكترونات (Electron -Donor) بينما يجعل جزيئات اخرى لها القدرة على استقبال الالكترونات تسلك كجزيئات مستقبلة للالكترونات (Electron –Acceptor). وعند التقاء هذين النوعين من الجزيئات المانح والمستقبل اما بشكل مباشر او ضمن مذيب مناسب، يحدث تجاذباً بين الصنفين ينتج عنه انتقال طاقي يؤدي الى انتقال شحنة او تكوين معقد انتقال الكتروني من نوع مانح - مستقبل يدعى معقد انتقال الشحنة ( CT complex ) ويعطي المعقد المتكون لون مميز[51]، يمكن افتراض ان تكون مكونات معقدات انتقال الشحنة مرتبطة بقوى تجاذب ناتجة من رنين غير تاصري ( Nonbonding Resonance ) يحدث فيه انتقال الالكترونات من صنف الى اخر وبالعكس خلال عملية بناء المعقد، وان ذلك يؤدي الى ان الوصول الى الحالة المثيجة (المثارة) لهذا النوع من المعقدات الذي لا يحصل فيه انتقال الالكترونات من مستويات الطاقة المستقرة الى مستويات الكترونية اعلى في كلا الصنفين (الواهب والمانح) المكونين للمعقد، بل تكون هذه الحالة صفة مميزة للمعقد ككل [53,52]. على هذا الاساس يمكن تعريف معقد انتقال الشحنة على انه عملية حصول ارتباط بين صنفين من المركبات احدهما صنف واهب (مانح) للالكترونات والاخر هو صنف مستقبل لها، تكون طبيعة هذا الارتباط ضعيفة مقارنة بالاصرة التساهمية، وتظهر هذه المعقدات امتصاصات شديدة في المنطقة فوق البنفسجية- المرئية يتم فيها انتقال جزئي للشحنة الالكترونية من الجزء المانح الى الجزء المستقبل [55,54]. فقد افترض Mulliken في نظريته ان معقد انتقال الشحنة ينتج بين مركب قطبي واخر غير قطبي وهو مركب هجين رنيني(Hybrid resonating) ينتج من انتقال الالكترون، وصنف الواهبات للالكترون هي واهبات من نوع  $\pi$  ( $\pi$ -donors) مثل الارينات التي تهب زوج من الكترونات  $\pi$  من جزيئاتها وواهبات من نوع n ( $n$ -donor) مثل الامينات الاليفاتية التي تمنح زوجا واحد من الكترونات غير المتاصرة مثل الانلين كما صنف المستقبلات للالكترونات واصناف المستقبلات هي من نوع  $\sigma$  ( $\sigma$ -acceptor) مثل اليود و مستقبلات من نوع  $\pi$  ( $\pi$ -acceptor) مثل انهريد

الحامض وحامض البكريك بحيث تكون المركبات الواهبة-المستقبلة للالكترونات والتي تسمى بمعقدات انتقال الشحنة في حالة اتران عكسي [56].

ومن العوامل المؤثرة في استقرارية المعقدات جهد التاين، انصاف الاقطار، الترتيب الالكتروني للايونات وطبيعة اللكند والكيمياء الفراغية للمعقد المدروس وطبيعة المذيب او الاوساط الاخرى، ونظرا للمتغيرات الناتجة عن المذيبات المختلفة ودرجة الحرارة وظروف الحالة للمعقد فان موضوع استقرارية المعقدات من المواضيع المهمة لذلك فانه من الافضل لدراسة المعقد هو المحافظة قدر المستطاع على ثباتية المتغيرات [57]. ويعد الثبات الحراري اهم الخصائص الحرارية التي يمكن من خلالها استعمال المعقد في المجالات التطبيقية التي تتعرض فيها المادة الى درجات حرارية عالية وتؤثر العديد من العوامل على الثبات الحراري للمعقدات منها عوامل تركيبية ترتبط بالتركيب الكيميائي مثل المجاميع الجانبية والتفرع والمعوضات والوزن الجزيئي والصفة الاروماتية وغيرها، وعوامل الية مثل معدل سرعة التسخين وحساسية اجهزة التسجيل [58].

تتم عملية تقدير معقد انتقال الشحنة بوساطه الاشعة فوق البنفسجية المرئية UV-Vis الاشعة تحت

الحمراء (IR)، التحليل الطيفي الرنيني (NMR)، الحركية والتوصيلية وغيرها.

ان التحليل الطيفي للاشعة فوق البنفسجية ويستخدم على نطاق واسع حيث يتم تقدير المعقد المتكون عن طريق حزمة امتصاص في طيف الاشعة فوق البنفسجية. وتبرز اهمية معقدات انتقال الشحنة في الوقت الحاضر من خلال:-

1- عمليات نقل الطاقة الكيميائية الحيوية.

2- ربط مستقبلات الدواء مثل عمل الدواء وتحفيز الانزيم.

3- في التحليل الصيدلاني لبعض الادوية بشكل نقي او في مستحضراتها الصيدلانية [64,59].

ومن المركبات التي استعملت في تكوين معقدات انتقال الشحنة حامض الترانيساميك (Tranexamic acid)، حامض البكريك Picric acid، الكلورانيل Chlorinil، اليزارين Alizarin، بارا بروملين (P-Bromanil) [65,69]. والجدول (2-1) يوضح تقدير بعض الادوية بواسطة معقدات انتقال الشحنة.

جدول(2-1): تطبيقات معقدات انتقال الشحنة في تقدير بعض الادوية

Pharmaceutic al Compounds	$\lambda_{\max}$ nm	Reagent	Conc. $\mu\text{g.ml}^{-1}$	LOD $\mu\text{g mL}^{-1}$	$R^2$	Ref . No.
Vildagliptin	520 ,535and 842	CHA, p-Chlo and TCNQ	20 – 250 , 25 – 400 , 20 - 500	0.12 , 0.28 and 0.43	0.9995 , 0.9997 and 0.9994	70
Mesalamine	346 , 347	p-chlo and p-fluo	1 -35 , 1 – 30	0.376 , 0.333	0.996 , 0.997	71
Gemigliptin	631	NBS	2-30	0.010	0.9991	72
Ranitidine	503	PDAB	50 - 350	0.00346	0.9972	73
Atenolol	530	CHA	10-280	-----	0.9999	74
Aripiprazole	457	DDQ	10-120	2.44	0.9997	75
	364	I <sub>2</sub>	6-28	0.39	0.9998	
	413	BCG	2-24	0.50	0.9999	
	400	BCP	2-20	0.30	0.9999	
Sparfloxacin, enoxacin, norfloxacin and levofloxacin	417,436, 419and 436 respectively	CHA	0.5-7, 1-10, 1-10 and 1-5 respectively	0.036, 0.0041, 0.0344and 0.0063 respectively	0.9985, 0.9986, 0.9989 and 0.9994 respectively	76
Rabeprazole sodium (RB)	518 and 845	CHA and TCNQ	20–200 and 2–16 respectively	3.18, 0.41	0.99988 and 0.99964	77
Desloratidine	528 505 560	Alizarin(I), Alizarin red (II), Aquinali and alizarin(III)	1-16, 0.5-12and 2-20	0.21, 0.08 and 0.40	0.9998, 0.9993 and 0.9998	78
sumatriptan	416, 814, 567and 529	DDQ, TCNQ,Quiz andARS	5-80, 2-20,1-9, 2-12 respectively	1.13,0.887,0.983and 0.970	0.9994,0 0.9998, 0.9999 and 0.9997	79
Trimetazidine (TMZ)	627	Chlo	30 - 65	5.5	0.9984	80
Azithromycin	564	quinalizarin	14-20	0.35	0.9995	81

## Oxidative Coupling Reaction

## 5-1- تفاعلات الازدواج التاكسدي

تسمى التفاعلات العضوية التي تؤدي الى تكوين ناتج ملون يمكن قياسه طيفيا عند اقتران مادتين عضويتين بوجود عامل مؤكسد مناسب وظروف تفاعل مناسبة بتفاعلات الازدواج التاكسدي، ويمكن الاستفادة من هذه التفاعلات لاغراض التقدير الكمي لعدد كبير من المركبات [82]. ان العالم Berthelot اول من اكتشف تفاعل الازدواج التاكسدي لاول مرة عام 1859، وسمي التفاعل باسمه وكذلك يعرف بتفاعل الاندوفينول، والذي ينتج من تفاعل كاشف الفينول مع ايونات الامونيوم بوجود الهايبوكلوريت بوصفة عاملا مؤكسدا وفي وسط قاعدي. ينتج عن ذلك تكون لون ازرق غامق هو لون صبغة الاندوفينول، وتكون اقصى امتصاصية لها عند طول موجي 630 nm [83].

بالنظر الى ما تتمتع به تفاعلات الازدواج التاكسدي من المزايا واهمها السهولة، الحساسية العالية، الدقة والتكرارية الجيدة لذلك استعملت في تطبيقات كثيرة في مجالات الزراعة، البترول، البيئة، الاغذية و تقدير الادوية في حالتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية وذلك باستعمال عوامل مؤكسدة مناسبة وكواشف عضوية مختلفة

ومن العوامل التي تؤثر في تفاعلات الاكسدة والازدواج هي :

1- وسط التفاعل: وجد ان تفاعلات الازدواج التاكسدي يمكن ان تتم في اوساط قاعدية او حامضية او متعادلة طبقا الى ظروف التفاعل المتمثلة بطبيعة المواد المتفاعلة، واستقرارية النواتج الملونة المتكونة [84].

2- درجة الحرارة: تعمل على تنشيط التفاعلات غير المحفزة ، التي يمكن ان تصل درجة الحرارة المستعملة الى 100 درجة مئوية، بينما يمكن اجراء هذه التفاعلات باستخدام تفاعلات الازدواج التاكسدي في درجة حرارة المختبر 25 درجة مئوية مما يجعل عملية التحليل اكثر سهولة وبساطة دون الحاجة للسيطرة على درجات الحرارة [85].

3- تأثير وجود العامل المساعد: وجد ان بعض الايونات عند وجودها في تفاعلات الازدواج التاكسدي يمكن ان تسلك كعوامل مساعدة في الكثير من هذه التفاعلات ومن هذه الايونات ايون الحديد الثنائي ( $Fe^{+2}$ )، ايون المنغيز الثنائي ( $Mn^{+2}$ )، وايون الكروم السداسي ( $Cr^{+6}$ ) [86].

يوضح الجدول (3-1) بعض التطبيقات لتفاعلات الاكسدة والازدواج في تقدير المركبات الدوائية و المستحضرات الصيدلانية.

جدول (3-1): تطبيقات تفاعلات الاكسدة والازدواج في تقدير بعض المركبات في المستحضرات الصيدلانية.

Drug compounds (Trade name)	Method of Determination	medium	oxidant agent	$\lambda_{max}$ (nm)	Linear range ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Ref.
Amoxicillin	Batch analysis Flow injection analysis	NaOH -----	Potassium persulphate	510	1-60 1-120	87
Etilefrine HCl Hexoprenaline HCl Levodopa	spectrophotometric Method	-----	Potassium dihydrogen phosphate	509 494 530	1-7 5-50 2.5-20	88
Diosmin	spectrophotometric Method	NaOH	Borate buffer	524.5	0.3-35	89
Catechol Adrenaline Dopamine. HCl	Flow injection analysis spectrophotometric method	-----	NaOH	500 509 498	5-200 10-100 5-50	90
Mefenamic Acid	spectrophotometric Methode	acidic medium	N-chlorosuccinimide	588	10- 250	91
Barbituric acid	batch method, FI spectrophotometric	-----	4-aminoantipyrine, potassium Iodate	510	2-60 1.5-100	92
Oxymetazoline hydrochloride	spectrophotometric Method	alkaline medium	potassium periodate	480	20 -400	93
Nitrazepam	spectrophotometric Method	-----	ferric sulfate	510	1 – 24	94
Iamotrignine	spectrophotometric Method	alkaline medium	MBTH and Gibbs	663	2-8	95
Riociguat	Visible Spectrophotometry	acidic medium	MBTH	660	6.25-37.50	96
Clonazepam	Batch and Flow	acidic medium	pyrocatechol	550	0.5-32 50-400	97
Phnylephrine	Colorimetric	basic medium	4-aminoantipyrine	503	5-100	98
Methyl dopa	Colorimetric	alkaline medium	Thimine hydrochloride	480	1-25	99

## 6-1- الكروماتوغرافيا

## The Chromatography

اول من اكتشف الكروماتوغرافيا عالم النبات الروسي (Mikhail Tswett) عام 1903. والكروماتوغرافيا هو مصطلح عام يطبق على مجموعة من تطبيقات الفصل على اساس توزيع العينة بين الطور المتحرك (Mobile phase) والطور الثابت (Stationary Phase) ويكون الطور المتحرك اما سائل (Liquid) او غاز (gas) والطور الصلب يكون اما سائل (Liquid) او صلب (Solid) [100].

طرائق الفصل الكروماتوغرافي الاختلاف بينها من حيث الهدف من اجرائها وتكون اما طرائق تحضيرية او تحليلية حيث الطريقة التحليلية توفر الحد الاقصى من المعلومات حول العينة بينما الطريقة التحضيرية فهي عزل المكونات المطلوبة من الخليط لاستخدامها مرة اخرى [102,101].

## 1-6-1- الكروماتوغرافيا السائل عالي الاداء.

## High performance liquid chromatography(HPLC).

ان كروماتوغرافيا السائل ذات الاداء العالي نوع من انواع كروماتوغرافيا السائل يستخدم لفصل وتحديد المركبات التي تذاب في المحلول ومن ثم تقدير كمية المركب في المحلول يستخدم على نطاق واسع في المجال الطبي الحيوي لفصل وتحليل جزيئات الادوية العلاجية، البروتينات، الاحماض الامينية والاحماض النووية [104,103].

تستخدم هذه التقنية لفصل مكونات الخليط عن طريق اذابة مكونات الخليط في مذيب حيث تمرر مكونات المحلول تحت ضغط عالي خلال العمود الذي يحتوي على الطور الثابت (Stationary Phase) ويحدث التداخل بين المكونات للخليط والطور الثابت داخل العمود وتعتمد درجة الفصل على التداخل بين مكونات المحلول مع الطور الصلب، اي التداخل بين المذاب في الطور المتحرك (Mobile Phase) والطور الصلب. ويتم من خلال استعمال مذيبات مختلفة لكل من الطور المتحرك والطور الصلب الحصول على عملية فصل جيدة [105].

يمكن تقسيم كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء العالي الى قسمين:

1- كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء ذات الطور الاعتيادي (Normal phase) ويكون الطور الثابت قطبي ويتكون غالباً من السليكا ويستخدم لتحليل المواد القطبية والذي يقوم باحتجاز المواد القطبية على الطور الثابت، وتكون نوع الارتباطات بين المادة المحللة والطور الصلب السليكا من نوع (دايبول - دايبول) (dipole-dipole interaction). ويكون الطور المتحرك غير قطبي. مثل الهكسان والبنتان وغيرها.

2- كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء ذات الطور المعكوس (Reversed phase) يكون الطور الثابت غير قطبي مثال octadecylsilane(C18) و octyl octylsilane C(8) يكون اساس الفصل معتمدا على تكون الارتباطات مع دعائم السليكا بين المكونات غير القطبية والمجاميع الفعالة وتشمل المكونات غير المحبة للماء حيث تكون التداخلات غير محددة ويكون الطور المتحرك مثل الماء (Water) او الميثانول (Methanol) والاسيتو نايتريل (acetonitrile) تعتمد اغلبية التطبيقات اليوم على قاعدة الفصل بالطور المعكوس. و اشهر الانواع في HPLC هي [106]:

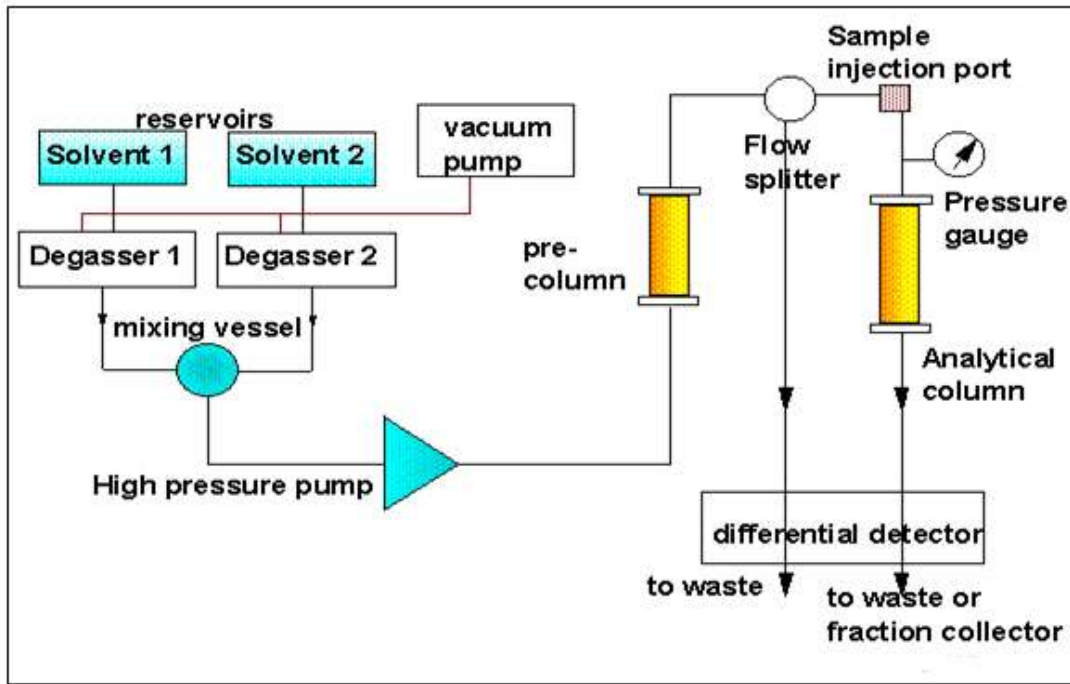
- |                |                                       |
|----------------|---------------------------------------|
| Adsorption     | 1- الامتزاز                           |
| Ionic exchange | 2- التبادل الايوني                    |
| Size exclusion | 3- الاستبعاد الحجمي (الاحتجاز الحجمي) |
| Partition      | 4- التجزئة                            |
| Affinity       | 5- الالفة                             |



2-6-1- الاجزاء الاساسية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء .

**The basic components of the HPLC System.**

يتكون جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء من عدد من الاجزاء الرئيسية كما موضحة في الشكل (4-1) المكونات الرئيسية لهذا النظام والذي يتكون من:



الشكل(4-1) يبين الاجزاء الاساسية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء

**Mobile phase reservoir**

**1-2-6-1- خزان الطور المتحرك**

عادة ما يتم خزن الطور المتحرك في عبوات زجاجية، وغطاء بلاستيك يجب ان يكون مزوداً بخط مدخل للانابيب يعمل على تقليل تبخر المذيبات وابعاد الغبار ويكون الخزان مزوداً بخط متصل للانابيب ويكون هناك مرشح ( $0.45\mu\text{m}$ ) في نهاية الانبوب الملاصق للطور المحرك لازالة اي جسيم، والمهم عدم اغلاق الخزان باحكام لتجنب انشاء فراغ.

**pump**

**2-2-6-1- المضخة**

من اهم مميزات HPLC يكون نظام الضخ فيها موفراً لتدفق المذيب خالياً من النبض يصل الى 20 مل دقيقة<sup>1</sup> عند ضغوط (5000-6000) باسكال. تعمل انظمة الضخ المختلفة على مبدأ الضغط المستمر او الازاحة المستمرة. مبدأ عمل مضخات الضغط المستمر

هو ادخال غاز بضغط عال في المضخة تجبر المذيب الانتقال من المضخة للعمود، اما النوع الثاني من المضخات الازاحة الثابتة التي تحل محل كمية ثابتة من المذيب من المضخة للعمود وبالتالي تحافظ على معدل تدفق ثابت بغض النظر عن الظروف المتغيرة داخل العمود [107].

### Injector

### 3-2-6-1- الحاقن

دور الحاقن هو اضافة حجم صغير محسوب بدقة من محلول يحتوي المادة المراد تحليلها في طور المتحرك ، ويجب ان يكون الحقن بشكل متكرر ودقة عالية نظام الحقن الاوتوماتيكي شائع الاستعمال الان الذي يكون له القدرة الالية على حقن عدد كبير من النماذج، وكذلك تحديد النموذج المطلوب، وتكرار الحقن في وقت محدد او عند تلقى اشارة كهربائية من الكمبيوتر [108].

### 4-2-6-1- العمود ومواد التعبئة Column and column packing materials

يعد العمود قلب نظام HPLC لانه تحدث فيه عملية الفصل، ويحمل الطور الثابت وكذلك الاحتفاظ بمكونات العينة. وعملية تعبئة الاعمدة تعد في غاية الاهمية لاداء ونجاح التطبيقات المقصودة. ومن اهم مواد التعبئة هي السليكا، والمواد الاكثر انتشارا هي Octadecylsilane (ODS) الذي يحتوي على مجاميع  $C_{18}$  و octyl الذي يحتوي مجاميع  $C_8$  بالاضافة الى وجود مجاميع اخرى تحتوي على  $C_6$ ،  $C_2$  [109].

### Degasser

### 5-2-6-1 - طارد الغازات

هي وحدة من وحدات جهاز HPLC تربط مباشرة مع الجهاز تستخدم غشاء رباعي فلوروا اثلين tetrafluoroethylene (تفلون) فائدته سرعة ازالة الغازات من الطور المتحرك التي تسبب نتائج غير دقيقة وتكون سعة الخزن 0.4 مل [110].

### Detector

### 6-2-6-1- المكشاف

بعدها يتم فصل المركبات التي تم تحليلها في العمود الكروماتوغرافي، يتم اكتشافها باستخدام انواع مختلفة من اجهزة الكشف ويجب اختيار الكاشف المناسب مع مراعاة الخواص الفيزيائية، والكيميائية بالاضافة الى الحساسية والاستجابة وغيرها. ويتم وضع الكاشف في نهاية العمود وتمرير الطور المتحرك الذي يحمل المواد المحللة، وتقسيم اجهزة الكشف في نظام HPLC الى قسمين اجهزة عامة واجهزة انتقائية، العامة هي التي تستجيب لمعظم المواد المحللة بينما الانتقائية تستجيب لنماذج معينة من التحليلات. ومن اجهزة الكشف المستخدمة

في نظام HPLC جهاز الاشعة فوق البنفسجية، الصمام الثنائي DAD مكشاف مصفوفة  
الدايودات، مطياف الكتلة MS وغيرها [111-112].

### 7-1- اهم مجالات التطبيقات العامة لتقنية HPLC

#### The important fields of general application technique.

تعد تقنية HPLC متعددة الاستخدامات وتطبق في مجالات مختلفة ومن اهم تطبيقات هذه  
التقنية:

#### 1-7-1- تطبيقات الاغذية Food application

تستخدم على نطاق واسع في تحليل الاغذية ومراقبة الجودة ووضع العلامات التجارية  
وتحليل المكونات الطبيعية (السكريات، الدهون، البروتينات، الاحماض الامينية، الاحماض  
العضوية) وكذلك الالوان الغذائية والنكهات وتحليل المضافات الغذائية [113].

#### 2-7-1- الملوثات Contaminants

في هذا الجانب من التطبيقات تستعمل في تحليل الملوثات الغذائية ولاسيما التي تكون سامة  
او نشطة بايولوجيا وكذلك تستعمل في تحليل مخلفات المبيدات المضافة المحاصيل الزراعية  
وتحليل السموم الفطرية [114].

#### 3-7-1- التطبيقات البيئية Environmental application

تستخدم في تحديد وتقدير نسبة الملوثات في البيئية من خلال الكشف عن المركبات  
الفينولية في الماء وكذلك رصد نسب العناصر والمركبات التي تسبب التلوث في الهواء  
الجوي [115].

#### 4-7-1- تطبيقات علوم الحياة life science

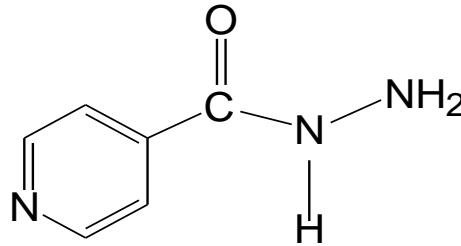
تركزت التطبيقات في هذا المجال على الفصل الكمي وتنقية الجزيئات الحيوية مثل  
البروتينات والبيبتيدات والاحماض الامينية والنواة، واكتشاف المخدرات. وكذلك تستخدم في  
عن طريق تقدير المنشطات في الادرار والدم [116].

**Pharmaceutical analysis****5-7-1- التحليلات الصيدلانية**

يكون عمل HPLC في هذا الجانب على التحليل الدوائي والمراقبة والجودة واكتشاف تراكيب كيميائية جديدة يمكن ان تستعمل في العلاج مستقبلا، والكشف المبكر عن المخدرات وتحليل نقاوة وجودة الادوية الصيدلانية [117].

**Isoniazide****8-1- الايزونزاييد**

الاييزونزاييد يعرف الايزونزاييد كيميائيا ( البردين-٤- كاربوكسيلك حامض الهيدرازاييد)، وهو عقار حيوي يستعمل كمضاد للبكتريا منذ عام 1952 التي تسبب مرض السل ويستعمل مع عقاري (Rifampicin, Streptomycin) حيث يعتبر الخط الاول في علاج مرض السل وتكمن الفعالية العلاجية للايزونزاييد بانه يحدث تأثيرا كبيرا على الجوانب الايضية للبكتريا، حيث يقلل من عملية بناء الاحماض الفطرية (Mycolicacid). وهو عبارة عن مركب عضوي ابيض اللون بشكل بلوري قابل للذوبان جدا في الماء والكحول وعديم الرائحة [118,119]، وقليل الذوبان في ثنائي ايثيل ايثر والبنزين والكلوفورم، درجة انصهاره  $340\text{ F}^0$  والوزن الجزيئي له 137.14 غم/مول التركيب الكيميائي له مبين في الشكل (5-1) [120,121].



الشكل (5-1): التركيب الكيميائي للايزونزاييد

**Uses of Isoniazide****1-8-1- استعمالات الدواء**

- 1- يستعمل في معالجة مرض السحايا الدرني [122].
- 2- يمكن استعماله كمادة مخدرة ومضادة للجراثيم [123,124].
- 3- يستعمل لقتل البكتريا المسببة لمرض السل [125].
- 4- يستعمل لمعالجة حالات الاختلاط مع مرضى السل.
- 5- يستخدم كعلاج وقائي للمرضى المصابين بمرض نقص المناعة المكتسب (الإيدز) [126].

**Side effects****2-8-1- التاثيرات الجانبية**

- 1- ظهور حالات الاعتلال العصبي المحيطي والاختلاجات والتهاب العصب البصري واضطرابات الكبد والدم، واعراض التحسس كالحمى والطفح الجلدي والحكة.
  - 2- تسمم في الكبد في فئات معينة من الناس ويزيد خطر التسمم هذا مع تقدم العمر ووجود امراض الكبد
  - 3- صعوبة في التنفس، العطش والتبول [127-129].
- هناك عدة طرق تحليلية استخدمت لتقدير الايزونزايدي في المحاليل النقية والمستحضرات الصيدلانية ومنها الطرائق الطيفية موضحة بالجدول (1-4) والطرائق الكروماتوغرافية موضحة بالجدول (1-5).

## جدول (4-1): الطرائق الطيفية في تقدير عقار الايزونزاييد.

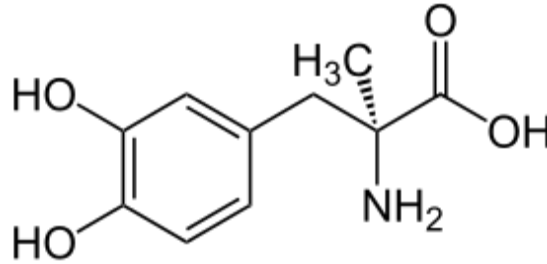
Reagents/used	Methodology	$\lambda_{max}$	Linearity ( $\mu\text{g/ml}^{-1}$ )	Ref.
Epichlorohydrin(ECH) Hydroxyphenacylchloride(HPC)	Measurement of Yellow colored complex	405 402	2-22 20-120	130
Isatin	Measurment of yellow colored Hydrazone complex	340	0-32	131
Chloranilic acid, Tetra cyano ethylene 2,3-dichloro-5,6-dicyano, 1-4-benzoquinone, Bromo phenol blue Bromo and crsol green	Measurement charge transfer-complex  Measurement of ion-associate complex	500 480 580 390 410 320	1-37-8.2 6.85-34.27, 10.96-21.93, 6.85-41.13, 1.37-6.85and 1.37-8.22	132
Ethyl vanillin	Measurement of yellow colored ,Hydrazone complex	410	2-16	133
Vanillin	Measurement of yellow colored	405	1-12	134
2-Hydroxy-1,4-napthoquinone	Measurment of derivatized product	365	5-25	135
Uranyl	Measurement of yellow-coloured Isonicotinoyl dithiocarbazate	410	----	136
Tiron-KIO <sub>4</sub>	Measurment of red-coloured, Oxidative-coupled product	505	1.5-18	137
Tirion-NaIO <sub>4</sub>	Measurement of red-coloured, Oxidative-copupled product	507	1.0-15	138
4,4-Methylene-bis- <i>m</i> nitroaniline	Measurement of purple colored diazo-coupled complex	495	0.1-15	139

الجدول(5-1): طرق RP-HPLC المستعملة في تقدير عقار الايزونزاييد

Condition		Flow rate ml/m in	t <sub>R</sub> min	Statistical Data	Ref.
Stationary phase	Mobil phase				
C <sub>18</sub> (250mmx4.6mm,5 μm)	0.1M Phosphate buffer+methanol	----	3.5	Linearity 25-250 ng/ml LOD,LOQ 150,200 ng/ml max=254nm,R <sup>2</sup> 0.9998	140
Octade-cylisline (150x3mmx3.5μm)	1-hexane sulfonic acid Sodium acetonitrile.pH=3	0.3	----	Linearity 0.5-15 μg/ml R <sup>2</sup> =0.999, λ <sub>max</sub> =290nm	141
C <sub>18</sub> (150X4.6mm5μm)	0.1% formic acid-acetonitrile (91:9 v/v)	1.5	5	Linearity 25-5 ng/ml LOQ lower 25 ng/ml	142
C <sub>18</sub> (250mmx4.6mm,5 μm)	0.01M Sodium Dihydrogen Orthophosphate, pH 6.5 and acetonitrile (40:60, % v/v)	0.9	----	Linearity 30- 330μg/ml LOD,LOQ 3.015,9.135 μg/ml, λ <sub>max</sub> =262nm R <sup>2</sup> =0.9985	143
C <sub>18</sub> (250x4.6mm,5μm)	acetonitrile (A) and 15 mmol L <sup>-1</sup> potassium dihydrogen phosphate buffer of pH 4	1	3.68	Linearity 2-50 μg/ml LOD,LOQ 0.063,0.19 μg/ml, R <sup>2</sup> 0.9992	144
C <sub>18</sub> (250 x4.6 mm,5μm)	methanol, acetonitrile and water in the ratio 60:20:20(v/v)	1	7.43	Linearity 40-100 μg/ml LOD,LOQ 0.5,1.75μg/ml,R <sup>2</sup> 0.998	145
ODSC <sub>18</sub> (250 x4mm,5μm)	acetonitrile, methanol and water in the ratio of 30: 5: 65 (v/v), pH 5.2	1	----	Linearity 13-24 μg/ml LOD,LOQ 0.6.1.8 μg/ml	146
ODS-C <sub>18</sub> (250 x4.6 mm,5μm)	Methanol+water(40:60)	0.8	----	Linearity10-1000ng/ml R <sup>2</sup> =0.9998	147
C <sub>18</sub> (250×4.6mm,5μm)	Acetonitrile+amoniumacetate(95:5)	0.3	----	Linearity0.35-2500ng/ml LOQ 0.35ng/ml,R <sup>2</sup> 0.997	148
C <sub>18</sub> (250 x4.6 mm,5μm)	Sodium hosphate+triethyl amine+acetoitril,pH=7	1.5	5	R <sup>2</sup> =0.9997,RSD% Less 2%, λ <sub>max</sub> =210nm	149
C <sub>8</sub> (250 x4.6 mm, 5μm)	water: methanol (80:20 v/v) containing 0.05% perchloric acid 0.1% tetrabutyl n-ammonium hydroxide	6.1	3.2	Linearity0.25-10 μg/ml λ <sub>max</sub> =267nm,R <sup>2</sup> =0.9995	150
C <sub>18</sub> (50 x4.6 mm, 5μm)	0.1phosphate+methanol pH=5	1	3.5	Linearity 250 -25 ng/ml , LOD,LOQ150,200 ng/mL λ <sub>max</sub> =254nm, R <sup>2</sup> =0.999	151
C <sub>18</sub> (250 x4.6 mm, 5μm)	Buffer(45%OPA), 55%acetonitril	1.5	3.7	Linearity 8-120 μg/ml LOD,LOQ 0.0024,0.0127 μg/ml,R <sup>2</sup> =0.9986, λ <sub>max</sub> =238nm	152

**Methyl dopa (MD)****9-1- المثيل دوبا**

المثيل دوبا هو احد ادوية (الكاتيكول -امين) **catecholamine** وله الاسم العلمي (-3,4-methyl- $\alpha$ -methyl-3,4-dihydroxy phenylalanine) التركيب الكيميائي له موضح في الشكل(1-6) ادناه:



شكل(1-6) التركيب الكيميائي للمثيل دوبا

يظهر المثيل دوبا بشكل مسحوق ابيض عديم الرائحة لة قابلية ذوبان في الماء وحامض الهيدروكلوريك ولا يذوب في الكلوروفوم، الايثر، درجة انصهاره  $572 F^0$  والوزن الجزيئي له 211.215 غم/مول [153,154].

**Uses of methyl dopa****1-9-1- استعمالات المثيل دوبا**

1- علاج ارتفاع ضغط الدم.

2- يستعمل في علاج ضغط الدم في الحالات المعقدة مثل الفشل الكلوي واثناء الحمل.

3- علاج احتشاء عضلة القلب.

4- الربو الناتج عن ارتفاع ضغط الدم والشلل الرعاشي الناتج عن احتشاء عضلة القلب [155-156].

اما طرائق تقدير المثيل دوبا فهناك العديد من الطرائق التحليلية التي استخدمت لتقدير المثيل دوبا منها طرائق الحقن الجرياني وطرائق المعايرة .ان معظم الطرائق التحليلية التي استخدمت هي طرائق طيفية وطرائق كروماتوغرافية مختلفة والجدول (1-6) يبين بعض الطرائق الطيفية التي استخدمت في تقدير المثيل دوبا اما الجدول (1-7) يبين بعض طرائق HPLC التي استعملت في تقدير المثيل دوبا.



الجدول(6-1) : طرائق تقدير المثلل دوبا بواسطة بعض الطرائق الطيفية.

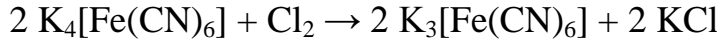
Reagents/used	Methodology	$\lambda_{max}$ nm	Conc. ( $\mu\text{g/ml}^{-1}$ )	LOD $\mu\text{g/ml}$	$R^2$	Ref.
Thiamine	Measurement orange-coloured product	480	1 -25	0.38	0.9997	157
Bromothymol blue	Measurement green Coloured product	616	5-20	0.4318	0.9982	158
4-chloro-7-nitrobenzo-2-oxo-1,3-diazole	Measurement Brown- coloured	470	1.6-17.6	0.00553	0.9988	159
2-furoic acidhydrazide	Measurement reddish orange	487	1-100	0.769	0.9993	160
4-aminoacetophenone	Measurement Violet reddish coloured product	560	0.5-45	----	0.9979	161
P-chloranil	Measurement Violet-red product	535	0.50-20.00	$7.55 \times 10^{-6}$	0.9996	162
Para-phenylenediamine	Measurement colored product	494	0.1-10.0	0.025	0.9996	163
Sodium nitrate	Measurement Nitrosation yellow	430	6.37-82.81	6.37	0.9998	164
2,6-dichloroquinone-4-chlorimide	Measurement colored product	400	4-20	1.1	0.9975	165
Molybdate	Measurement yellowproduct	410	50-200	----	0.999	166

جدول(7-1): طرائق RP-HPLC في تقدير المثيل دوبا

Condition		Flow rate ml/min	t <sub>R</sub> min	Statistical Data	Ref.
Stationary phase	Mobil phase				
BDS- C <sub>8</sub> -(250 ×4.6mm,5μm)	Phosphate buffer 5:5 and acetonitril 50:50 v/v%	1	2.17	Linearity 62.5-375 μg/ml LOD,LOQ 5.74,0.37 μg/ml, λ <sub>max</sub> 287nm	167
Zorbax SB-C18- (250 × 4.6mm,5μm)	2:98 (v/v) acetonitrile and 0.2% (v/v) formic acid in wate	0.8	1.05	Linearity0.32-20.48 μg/ml LOQ 0.32 μg/ml,R <sup>2</sup> 0.9999	168
C <sub>8</sub> - (250×4.6 mm ,5 μm)	water and acetonitrile:methanol (90:10 v/v), both containing 0.1% formic acid	----	----	Linearity (r>0.99), LOD 7 ng/ml,	169
ODS- C18-(250 ×4.6mm,5μm)	phosphate buffer (0.05 M) containing triethylamine(100 μl/l, v/v; pH 2.3) and methanol (92:8v/v)	2.1	1.7	Linearity 20-5000 ng/ml,LOQ 20ng/L λ <sub>max</sub> 270 nm	170
ODS - C <sub>18</sub> - (50 ×4 mm,5μ m)	acetate buffer (0.1 M, pH 2.4)	1	----	Linearity 0.1-30 μg/ml LOD,LOD 0.027,0.082 μg/ml ,λ <sub>max</sub> 270 nm,R <sup>2</sup> 0.9996	171
C <sub>18</sub> - (250×4.6 mm,5μm)	Water-methanol (75:25) and pH 3.60.	1	1.76	linearity were less than 2%,R <sup>2</sup> greater than 0.995	172
XBD- C <sub>18</sub> - (250X4.6 mm,5μm)	methonal- 0.1M phosphoric acid solution pH 3 with the dilute aqua ammonia)	0.8	1.05	Linearity 21.60-194.4 μg/ml, LOD 2.084 μg/ml, λ <sub>max</sub> 280 nm	173
XDB- C <sub>18</sub> - (250×4.6mm×5μ)	Methanol: Water (30:70 v/v)	1	2.42	Linearity 10–60 μg/mL LOD, μg/ml,R <sup>2</sup> 0.9999	174
ODS- C <sub>18</sub> -(150X 4.6 mm.5μm)	Methanol- acetonitril-water (58:3:39)v/v	----	----	Linearity 2-10μ g/ml LOD 0.062-0.075μg/ml λ <sub>max</sub> 280nm	175
ODS- C <sub>18</sub> - (150×4.6 mm,5μm)	Water- methanol (85:15)v/v- formic Acid0.05%	1.96	1.96	Linearity50-4000ng/ml LOD,LOQ 6.12,50ng/ml R <sup>2</sup> 0.998484	176

**Chemicals reagents used****10-1- الكواشف الكيميائية المستخدمة****Potassium ferricyanide****1-10-1- فريسيانيد البوتاسيوم (البروسايت الاحمر)**

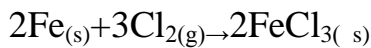
فريسيانيد الحديد البوتاسيوم مركب كيميائي الصيغة الكيميائية له،  $[K_3[Fe(CN)_6]]$  ويكون لونه احمر فاتح ويكون في بعض الاحيان اخضر مصفر، ذائب في الماء وقليل السمية وكان يستخدم في البداية في انتاج الاصباغ، يتم تصنيع فريسيانيد البوتاسيوم من امرار الكلور من خلال محلول فيروسيانيد البوتاسيوم، ثم بعد ذلك ينفصل فيروسيانيد البوتاسيوم عن المحلول [179,177]،



يحتوي فريسيانيد البوتاسيوم الصلب على بنية بوليمرية معقدة يتكون البوليمر من ثمانية  $[Fe(CN)_6]^{-3}$  جزيئات مرتبطة من المركز مع ايونات  $K^+$  وباواصر مع الكاشف المخليبي  $CN^{-1}$  ومن استخداماته في التصوير الفوتغرافي ، عمليات الاكسدة لازالة الفضة والتي تسمى عمليات التبييض وكاشف في المختبر وكعامل مؤكسد في الكيمياء العضوية ويستخدم لتحديد الحديد لخفض الطاقة المحتملة من عينة مثل استخراج مركب كيميائي، وكذلك في عمل الصبغة الروسية (Prussian blue) من خلال تفاعل  $K_3[Fe(CN)_6]$  مع ايون الحديدوز ( $Fe^{+2}$ ) بالاضافة الى  $K_4[Fe(CN)_6]$  مع املاح الحديد [183-180].

**Iron(III) chloride****2-10-1- كلوريد الحديدك**

الصيغة الجزيئية له ( $FeCl_3$ ) يحتوي على الحديد على حالة الاكسدة +3 وهو مادة صلبة بلورية ويعتمد اللون على زاوية المشاهدة حيث يكون لونه اخضر داكن من خلال رؤيته من الضوء المنعكس اما من خلال الضوء النافذ يظهر باللون الاحمر الارجواني، يذوب جزئياً في الماء ويعتبر ضاراً شديداً التآكل وكذلك يعتبر عامل مؤكسد معتدل (حامض لويس). يمكن تحضير ثلاثي كلوريد الحديدك اللامائي من اتحاد العناصر كما في المعادلة التالية:



يمكن انتاج كميات صغيرة منه عن طريق تفاعل الحديد مع بيروكسيد الهيدروجين حيث يكون البيروكسيد هو المادة المؤكسدة التي تحول كلوريد الحديدوز الى كلوريد الحديدك [186-184].  
و يستخدم كعامل مجفف، انظمة تخزين الطاقة، مقاومة التآكل والشقوق في الفولاذ، معالجة المياه، الاقتران مع NaI في الاستيونتريل لتقليل الازيدات العضوية الى الامينات العضوية لصنع دوائر اللوحات المطبوعة (PCBs) وفي المجال الطبي مثل فحص نقاء دواء الاسبرين [188-187].

## 3-10-1- باراكلوروانيلين

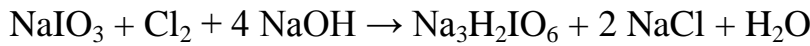
## P-Chloro-aniline

عبارة عن مركب كلوريد عضوي الصيغة الجزيئية له ( $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{NH}_2$ ) ويكون اللون اصفر شاحب وهو واحد من ثلاث ايزومرات لمركب باراكلوروانيلين، وطريقة تحضير المركب لاتتم من تفاعل الكلور مع الانلين بصورة مباشرة وذلك بسبب زيادة الكلور لذلك يتم اختزال (4- نايتروكلوروا بنزين) ( $\text{4-nitrochlorobenzene}$ ) التي تحضر بوساطة نترته كلورو بنزين، ويستخدم باراكلوروانيلين في الانتاج الصناعي للمبيدات، يظهر كذلك عمل مضاد للمكروبات ضد بعض البكتيريا المسببة للعفن والادوية والاصباغ ويستخدم المركب في انتاج ادوية البنزوديازيبين ( $\text{benzodiazepine}$ ) بالاضافة الى دواء الدورستين ( $\text{dorastine}$ ) المضاد للهستامين [192-189].

## 4-10-1- بيرايودات الصوديوم

## Sodium periodate

مركب بيرايودات الصوديوم ملح غير عضوي ابيض اللون يذوب في الماء والحوامض صيغته الجزيئية ( $\text{NaIO}_4$ ) يتكون من ايونات الصوديوم الموجبة ( $\text{Na}^+$ ) وايونات بيرايودات السالبة ( $\text{IO}_4^{-1}$ ) ويمكن اعتبار ملح بيرايودات الصوديوم حامض ويوجد بشكلين مختلفين صوديوم مينايبيرايودات الذي صيغته الجزيئية sodium metaperiodate الذي يحتوي على الصيغة  $\text{NaIO}_4$  والصيغة الاخرى صوديوم اورثو بيرايودات والذي صيغته الجزيئية ( $\text{Na}_2\text{H}_3\text{IO}_6$ ) ويعد كلا الملحين عوامل مؤكسدة وتم انتاج البريودات بشكل شائع تجاريا بشكل هيدروجين الصوديوم بيرايودات ( $\text{Na}_3\text{H}_2\text{IO}_6$ ) ويمكن ان ينتج من اكسدة اليود مع الكلور وهيدروكسيد الصوديوم كما موضح في المعادلة الاتية [194,193].



البيرايودات عوامل مؤكسدة قوية يمكن ان يؤكسد الكاتيكول الى 2,1-البنزوكوينون وكذلك الهيدروكينون الى 4,1- البنزوكوينون ويمكن ان تتأكسد الكبريتات بشكل فعال الى السلفوكسيديات وتعتبر البرايودات عوامل مؤكسدة قوية لها القدرة على توليد مؤكسدات غير عضوية مثل البرمنكنات ( $\text{permanganate}$ ) ورابع اوكسيد الاوزميوم ( $\text{osmium tetraoxide}$ )، وكذلك تستخدم عوامل في الفحص المجهرية وتكون عوامل شديدة الانتقاء لبعض اوكاسيد معينة من الروثينيوم ( $\text{based oxides}$ ) . [199-195] Rruthenium

## 11-1- الهدف من الدراسة

## The Aim of study

1 - تطوير طرائق طيفية لتقدير عقار الايزونزاييد باستعمال تفاعلات انتقال الشحنة (CT). وكذلك دراسة جميع الظروف التجريبية وهي ايجاد حجم الكاشف والعامل المؤكسد، وسط التفاعل، درجة الحرارة واستقرارية المعقد مع الزمن.

2 - تطوير طريقة طيفية لتقدير عقار المثل دوبا باستعمال تفاعلات الاكسدة والازدواج وتكوين ناتج ملون يمكن قياسه طيفيا وكذلك دراسة جميع الظروف المثلى منها ايجاد حجم الكاشف والعامل المؤكسد، وسط التفاعل، درجة الحرارة، تسلسل الاضافة واستقرارية المعقد مع الزمن.

3- تقدير العقارين الايزونزاييد والمثل دوبا باستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء - الطور المعكوس كطريقة مقارنة مع النتائج المستحصلة من الطريقتين.

4- تحليل النتائج احصائيا من خلال اجراء اختبار  $F_{test}$  و  $T_{test}$  وذلك بمقارنة النتائج التي تم الحصول عليها من الطرائق الطيفية المطورة مع نتائج طريقة قياسية معتمدة لتقييم نتائج الطرائق من حيث الدقه والمصدقية.