وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم الكيمياء

طريقة مطورة لتقدير بعض الأدوية في الحالة النقية وفي التركيبات الصيدلانية بإستخدام كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الكيمياء

من قِبل

علي حاتم يحيى

بكالوريوس علوم كيمياء/ جامعة بغداد 2002 – 2001

بإشراف

أ.م.د. أحمد مهدي سعيد

1441 هـ 2019 م

1. المقدمة Introduction

1.1. الكروماتوغرافيا The chromatography

يبدأ تاريخ الكروماتوغرافيا عندما استخدم عالم النبات الروسي ميخائيل تسويت (1919-1872) عمود (column) معبأة بطور ثابت (stationary phase) من كاربونات الكالسيوم ($CaCO_3$) لفصل الأصباغ الملونة من المستخلصات النباتية. تم وضع العينة في الجزء العلوي من العمود وتم نقلها خلال الطور الثابت باستخدام طورمتحرك (mobile phase) من الايثر. أثناء انتقال العينة عبر العمود، تم فصل الأصباغ الموجودة في النبات إلى شرائط ملونة فردية. بمجرد أن تم فصل الأصباغ بشكل مناسب، تمت إزالة كربونات الكالسيوم من العمود، وتم فصل الأصباغ عن طريق الاستخلاص. اطلق العالم تسويت على هذه التقنية بتقنية الكروماتوغرافيا (technique chromatography). أثبت العمل الرائد الذي قام به مارتن وسينج عام 1941 أهمية الفصل الكروماتوغرافي السائل – السائل وأدى إلى تطوير نظرية للفصل الكروماتوغرافي، حيث حصلوا على جائزة نوبل عام 1952 في الكيمياء لهذا العمل. منذ ذلك الحين أصبحت تقنية الفصل الكروماتوغرافي بأشكالها المتعددة تقنية الفصل الأكثر أهمية والأكثراستخدامًا [1]. يتم اجراءعملية الفصل الكروماتوغرافي من خلال مرورالعينات وبشكل مستمرمع طور يسمى بالطورالمتحرك خلال طوراخريسمى بالطورالثابت[2]. يتم حقن العينة في الطورالمتحرك وخلال عملية الفصل تكون حركة مكونات العينة متوزعة بين الطورين المتحرك والثابت. تتطلب المكونات التي تميل الى التوزيع داخل الطور الثابت وقت أطول للمرورعبر النظام. عند توفر الوقت الكافي لمرورمكونات العينة خلال الطورالمتحرك والثابت فأنه يمكن فصل المواد الذائبة ذات نسب التوزيع المماثلة[3]. يمكن تصنيف طرق الكروماتوغرافي وحسب نوع الطور المتحرك إلى كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا السائل[4].

2.1. كروماتوغرافيا السائل Liquid Chromatography

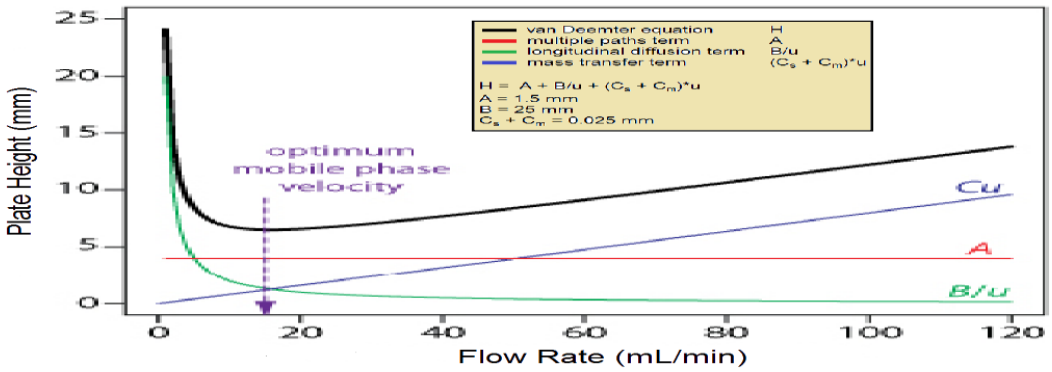
بدأ الفصل الكروماتوغرافي السائل في أوائل القرن العشرين بالشكل المعروف بإسم كروماتوغرافيا العمود الكلاسيكي (classical column chromatography)، إذ كانت الاسطوانة الزجاجية معبأة بمسحوق ناعم مثل الطباشير، توضع العينة في الجزء العلوي من عمود الفصل ويتم جريان المذيب في العمود، إن عملية تدفق المذيب الى أسفل العمود تتم بفعل الجاذبية، فتبدأ مكونات العينة في التحرك عبرالعمود بسرعات مختلفة وتحدث عملية الفصل[5].أما تقنية كروماتوغرافيا السائل

عالي الأداء (High performance liquid chromatography) فتعتبرالشكل المطور لكروماتوغرافيا السائل (liquid chromatography)، إذ تبدأ هذه التقنية بحقن العينات مرورا بعمود الفصل ويضخ المذيب بإستمرار من خلال العمود، أما المواد المنفصلة يتم تحسسها بواسطة الكاشف (detector) أثناء عملية جريانها خلال العمود [6].

3.1. كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء

High performance liquid chromatography (HPLC)

تستخدم كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء في الكيمياء التحليلية والكيمياء الحياتية لفصل أمزجة المركبات الكيميائية لغرض تحليلها أو تنقيتها. يتم فصل المكونات الموجودة في الأمزجة على عمود الفصل المعبأ بدقائق من المادة الصلبة (كطور ثابت) وعن طريق ضخ السائل (كطور متحرك) عبر عمود الفصل، وبالاعتمادعلى الالفة لكل مكون من المكونات (المادة المحللة) وبين الطورالمتحرك والطورالثابت يبدأ كل مكون من مكونات المزيج بالتحرك على طول عمود الفصل وبسرع مختلفة وتخرج هذه المكونات من عمود الفصل في أوقات مختلفة، مما يؤدي إلى حدوث عملية الفصل للأمزجة [7]. ان أحد العوامل الرئيسية لتطور هذه التقنية هو التطور في صناعة مواد التعبئة المستخدمة والتي تكون السبب في حدوث عملية الفصل. وتخضع المبادئ الأساسية لهذا التطور لمعادلة Van Deemter، والتي هي عبارة عن صيغة تجريبية تصف العلاقة بين السرعة الخطية (flow rate) والارتفاع المكافئ للصفائح النظرية High Equivalent Theoretical Plates (HETP) أو كفاءة العمود. ونظرًا لأن حجم الدقائق (particle size) هوأحد المتغيرات، لذلك يمكن استخدام منحنى Van Deemter لفحص الأداء الكروماتوغرافي.



الشكل (1-1) يوضح منحنى معادلة Van Deemter

ان الصيغة الرياضية لمعادلة Van Deemter's هي :-

$$H=A+\frac{B}{\bar{u}}+C_m\bar{u}+C_s\bar{u} \quad \text{---- (1-1)}$$

حيث ان H هو الارتفاع المكافئ للصفائح النظرية.

و A مسارات متعددة السرع في الأعمدة المعبأة.

أما B الانتشار الطولي (يُطلق عليه أيضًا الانتشار المحوري).

و $\bar{u}$ تمثل معدل سرعة الجريان أو التدفق (flow rate).

و C_m الانتقال البطئ لكتل المواد من الطور المتحرك وبسرع مختلفة وبإتجاه الطور الثابت.

و C_s الانتقال البطئ لكتل المواد في الطور الثابت والذي يسمح للمواد المذابة في الطور المتحرك بالتقدم لأسفل العمود وقبل المذيبات المحتجزة[8].

إن إستخدام دقائق صغيرة من الطور الثابت يمكن أن يؤدي إلى زيادة في سرعة الفصل وزيادة في عرض القمم ، وهذه التقنية تسمى "كروماتوغرافيا السائل فائق الاداء (Ultra Performance Liquid Chromatography)" أو UPLC .

من أهم مميزات كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء (HPLC) هي إن العينات يمكن أن تفصل بسرعة أكبر بكثير وبكفاءة عالية جدا، ويمكن وصف كفاءة الفصل الكروماتوغرافي عادةً بعدد الصفائح النظرية (number of theoretical plates) والتي ترتبط بالإرتفاع المكافئ للصفائح النظرية (H) وطول العمود وفقا للمعادلة أدناه :

$$H = L / N \quad \text{----(2-1)}$$

حيث أن L يمثل طول عمود الفصل. أما N فيمثل عدد الصفائح النظرية.

ويمكن حساب عدد الصفائح النظرية وفقا للمعادلة أدناه:

$$N=16(t_R/W)^2 \quad \text{----(3-1)}$$

N= يمثل عدد الصفائح النظرية، t_R= زمن الاحتجاز وW= يمثل عرض القمة.

إن كفاءة كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء أعلى بسبب العدد الكبير من توازن النقل الجماعي الذي يتم الحصول عليه بقيم صغيرة من الارتفاع المكافئ للصفائح النظرية. حيث أن المادة المذابة عند مرورها عبرالأعمدة ، تكون دائمًا في حالة توازن مع الطور المتحرك والطور الثابت. لكن هذا التوازن لا يحدث أبدا، لأخذ شرط عدم التوازن بنظر الاعتبار، يعتبرالعمود مقسمًا إلى عدد من الخلايا أوالصفائح, يكون لكل صفيحة طول محدد. وبالتالي فإن المذاب سوف يقضي وقتًا

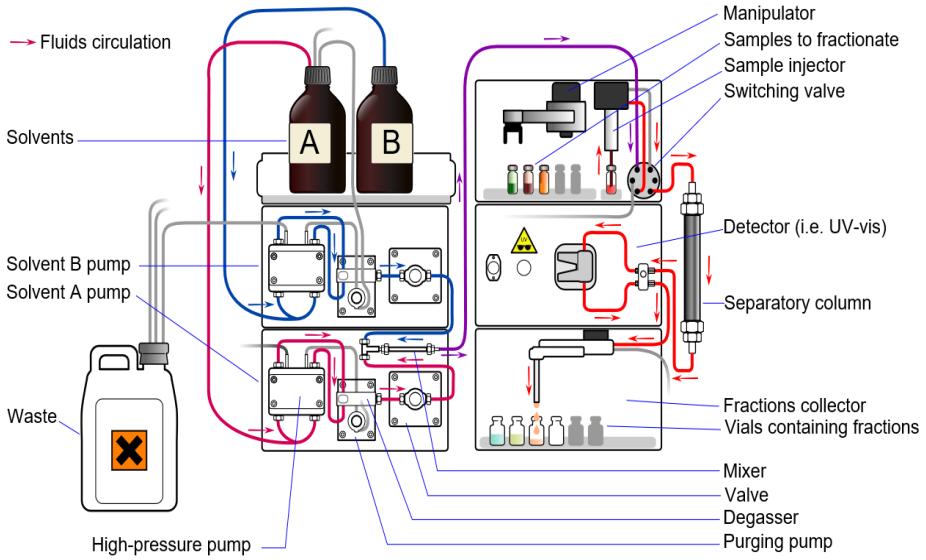
محدودًا في كل صفيحة، ويتم اختيارحجم الصفيحة لتوفيروقت بقاء كافي للمذاب لكي يحدث توازن بين الطورين، وبالتالي فإنه كلما كان طول الصفائح اقصر وعددها اكثر في العمود كلما كان التوازن بين الطورين أسرع[9].

1.3.1. المكونات الرئيسية لجهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء (HPLC)

1.1.3.1. خزان المذيبات (Solvent Reservoir)

يتم إستخدام خزانات المذيبات لتخزين الطور المتحرك.عادة ما يتم إستخدام حاويات زجاجية ملونة كخزانات للمذيبات. يجب أن يكون خزان المذيبات مصنوعًا من مواد خاملة ويكون ناعمًا ومصقولًا لتجنب نموالكائنات الحية الدقيقة على جدرانه. يمكن أن تكون شفافة أويمكن أن تكون ملونة بلون الكهرمان الاصفر. توضع خزانات المذيبات فوق نظام الجهاز (على مستوى أعلى) في الدرج.

ويوضح الشكل (1-1) جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء (HPLC) بمكوناته الرئيسية [10].



الشكل (1-2) جهاز (HPLC) بمكوناته الرئيسية

2.1.3.1. منظومة الضخ (Pump system)

تعد منظومة الضخ (Pump) في جهاز كرماتوغرافيا السائل عالي الاداء مكونًا مهمًا جدًا للنظام وتحتوي هذه المنظومة على مضخة واحدة أوأكثرحيث تعمل على التدفق المستمر للطورالمتحرك بحيث يحدث فصل لمكونات الخليط في وقت مناسب.هناك نوعان من أنظمة الضخ نظام الضخ الثابت (Isocratic system) ونظام الضخ المتدرج (Gradient system) [11].

1.2.1.3.1. نظام الإزاحة الثابت (Isocratic elution system)

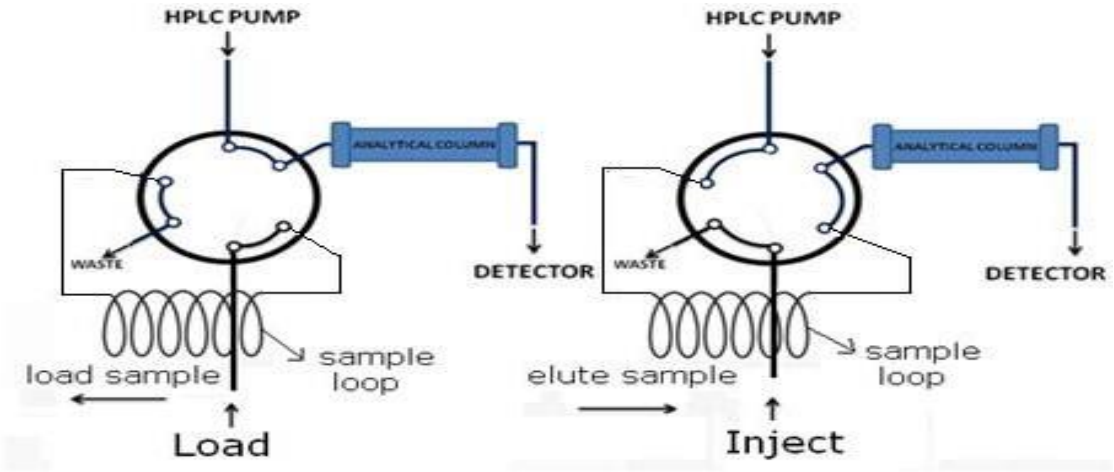
يستخدم في هذا النظام طورًا متحركًا واحدًا يكون ثابت التركيب ويتكون من مادة واحدة أو مزيج من عدد من المواد وبنسب مختلفة أومتساوية وثابتة لاتتغيرطيلة فترة الإزاحة والفصل، لذلك يطلق عليه نظام الإزاحة الثابت (isocratic elution system). يصعب غالبًا العثور على تركيب لطور متحرك واحد مناسب لجميع المحاليل، والسبب هوصعوبة الإزاحة والفصل لجميع المواد، وايضا قد يؤدي اختيارالطورالمتحرك للمواد إلى زمن إحتجاز طويل وهذا يكون غيرمقبول. من ناحية أخرى، قد يوفرتحسين الظروف لمذاب الى التأخير في عملية فصل لمذاب آخر.

2.2.1.3.1. نظام الإزاحة المتدرج (Gradient elution system)

في هذا النظام تم معالجة مشاكل نظام الإزاحة الثابت وذلك بتغييرمكونات الطور المتحرك أثناءعملية الإزاحة والفصل ومع مرورالزمن هذا ما يوفرحلاً لهذه المشكلة. بالنسبة لكروماتوغرافيا الفصل بالطور العكسي (Reverse-phase separation)، يكون الطورالمتحرك في بداية عملية الإزاحة والفصل قطبي نسبيًا، مع تقدم عملية الفصل يصبح تكوين الطورالمتحرك أقل قطبية. وتسمى عملية الفصل هذه بعملية الإزاحة المتدرجة (Gradient elution system) [12].

3.1.3.1. منظومة الحقن (Injection system)

منظومة الحقن هي جزء مهم من أجزاء جهاز (HPLC)، حيث تقوم بحقن العينة بحجم معين إلى عمود الفصل ليتم فصلها. ومن أشهر منظومات الحقن المستخدمة لهذا الغرض، هي تلك المعروفة بإسم (Rheodyne injector) وكما موضحة بالشكل (1-2) أدناه:



شكل (1-3) منظومة الحقن (وضعية تحميل Load وحقن العينة Inject)

4.1.3.1. عمود الفصل (Column)

تتميز أعمدة الفصل المستخدمة في جهاز (HPLC) بأنها مصنوعة من الفولاذ الغير قابل للصدأ (stainless steel)، وتكون جدران عمود الفصل سميكة لتتحمل ضغوط تزيد عن 30 KSPI، أما قطر العمود فيكون 4.6 µm بينما طول العمود فيكون من 5-25 cm، ويتوقف طول العمود على حجم حبيبات التعبئة حيث كلما قل قطر هذه الحبيبات كلما كان طول عمود الفصل أقل وذلك بسبب زيادة الضغط المعاكس المصاحب للنقصان في حجم الحبيبات، تكون هذه الحبيبات مستديرة الشكل ذات مسامات كثيرة حيث تصل المساحة السطحية للغرام الواحد (200-300 mm^2)، وعادة ماتكون من السليكا أو الألومينا وتتمتاز هذه الحبيبات ايضًا بقابلية تحملها للضغوط العالية دون أن تتكسر, ويكون شكل دقائقها وخصائصها السطحية وهيكلها المسامي يساعد في الحصول على فصل جيد[13].

1.4.1.3.1. الطور الثابت (Stationary phase)

يمكن تصنيف الطور الثابت إلى صنفين:

- الطور الثابت القطبي Polar Stationary phase

ويتكون هذا الطور من المواد الصلبة والتي تنتهي بمجموعات قطبية، ومن أمثلتها - CN, OH, NH_2, phenl. ومن الجدير بالذكر إن الطور المتحرك المستخدم مع هذا الطور يكون غير قطبي وتسمى عملية الفصل (Normal phase liquid chromatography).

- الطور الثابت غير القطبي Non Polar Stationary phase

ويتكون هذا الطور من مواد غير قطبية وهي عبارة عن مواد صلبة تنتهي بمجاميع هيدروكاربون مشبع عادي (غيرمتفرع) مثل n-alkane، ومن أمثلتها C_{18}, C_8, C_3 وان في أغلب الأعمدة يستخدم الطور الثابت C_{18}. إن الطور المتحرك المستخدم في هذه الحالة يكون قطبي، وتسمى عملية الفصل هذه (Reverse-phase liquid chromatoghraphy) وعملية الفصل هذه هي الأكثر استخداما بتقنية (HPLC) [14].

5.1.3.1. المكشاف (The detector)

يقوم المكشاف بمراقبة المواد المذابة المراد فصلها عند خروجها من العمود. حيث يعطي الكاشف إستجابة بالملي فولت (mv) والتي يتم معالجتها بعد ذلك بواسطة الكومبيوتر لكي نحصل

على الكروماتوغرام (chromatogram). يتكون الكاشف أساسًا من خلية انسيابية يتم من خلالها تحرك الطور المتحرك والعينة. ومن أهم أنواع المكاشيف المستخدمة هي:

كاشف الأشعة فوق البنفسجية والمرئية	UV-VIS detector
كاشف الصمام الثنائي الضوئي (PDA)	Photo-Diode Array detector
كاشف الفلورة	Fluorescence detector
كاشف الانكسار الضوئي	Referactive index detector
كاشف الكتلة	Mass detector
كاشف مشتت الضوء التبخيري (ELSD)	Evaporative Light Scattering detector

6.1.3.1. نظام الحصول على بيانات (Data Acquisition System)

يمكن جمع إشارات الكاشف على مسجلات الرسم البياني (chart recorders) أو الموحدات الإلكترونية (electronic integrators) التي تختلف في التعقيد وقدرتها على معالجة وتخزين وإعادة معالجة البيانات الكروماتوغرافية. عادة ما تكون سعة تخزين البيانات لهذه الأجهزة محدودة، أما أجهزة الكمبيوترالحديثة لديها سعة تخزين كبيرة لجمع البيانات العملية وتخزينها لإعادة المعالجة المحتملة، وغالبًا ما يمكن تخصيص التقارير التحليلية حسب احتياجات المحلل [15].

2.3.1. انواع كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء Types of HPLC

يمكن إجراء تقسيم لكروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC) حسب طبيعة الإستخدام إسلوب الفصل ونوع الأطوار المستخدمة، من أهم أنواع كروماتوغرافيا السائل مايلي[16].

- **كروماتوغرافيا الطور العادي (NP-HPLC)**

Normal phase chromatography

يتم الفصل في كروماتوغرافيا الطورالعادي بإستخدام الطورالثابت القطبي (polar stationary phase)، مثل الألومينا Al_2O_3أو السيليكاSiO، وطور متحرك عضوي غير قطبي (non-polar organic mobile phase)، [17]. يمكن إستعمال هذه التقنية لفصل المركبات قليلة الذوبان في الماء، والمحاليل المنظمة مثل الدهون، الأحماض الشحمية، وتكون قليلة الإستعمال لفصل الهيدروكربونات الأروماتية متعددة الحلقات، ولهذه التقنية عدة مساوئ من الناحية العملية هي: ذات إنتقائية قليلة لهذا النوع من الطور الثابت وزمن إستقرارها طويل،

بالإضافة إلى ذلك الطور المتحرك يجب أن يكون مذيبا عالي النقاوة ولايمكن إستخدام المحاليل المائية والمنظمة, لكونها مثبطة لنشاط مجموعة الهيدروكسيل في مادة السيليكا [18].

- **كروماتوغرافيا الطور المعكوس (RP-HPLC)**

Reversed phase chromatography

تعتمد آلية الفصل في كروماتوغرافيا الطور العكسي (RPC) على عملية الإرتباط الكاره للماء بين جزيئات المذاب في الطور المتحرك والروابط الكارهة للماء في الطور الثابت (stationary phase) [19]. تعتبرهذه التقنية من التقنيات الحديثة والمهمة والأكثر إستخداما في التحليل والفصل من بقية تقنيات الفصل الكرموتوغرافي الاخرى [20]. في عام 1973 كان ما يقارب 20% من عمليات الفصل تستخدم تقنية الطور المعكوس، أما في السنوات الاخيرة ازدادت النسبة أكثر من 80% من عمليات الفصل، وإن كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء تستخدم تقنية الطور المعكوس (RP-HPLC)[21]، ففي هذه التقنية يتكون الطور الثابت من جسيمات دقيقة غير قطبية (Non polar micro particles) أما الطور المتحرك يكون قطبياً (ماء – محلول عضوي قطبي مثل الميثانول, الآيزوبروبانول او الأسيتونايتريل)[22]. وإن فكرة إستخدام الجسيمات الدقيقة غير القطبية بوصفها طوراً ثابتاً، وطوراً متحركاً قطبياً وضعت للتطبيق أول مرة من قبل العالم Boscott والذي استعمل السليلوز طوراً ثابتاً [23].

- **كروماتوغرافيا التبادل الايوني (Ion exchange chromatography)**

عملية الفصل في كروماتوغرافيا التبادل الأيوني هي العملية التي تسمح بفصل الأيونات والجزيئات القطبية على أساس الشحنة التي تمتلكها. ويمكن استخدامه لأي نوع من الجزيئات المشحونة بما في ذلك البروتينات الكبيرة، والصغيرة النيوكليوتيدات والأحماض الأمينية. عادة ما تسمى العينة المفحوصة المحقونة بالعينة sample، وتسمى العناصر المفصولة على حدة بالتحاليل analytes. وغالبا ما تستخدم في تنقية البروتين، وتحليل المياه، ومراقبة الجودة [24]. يتم الحصول على الفصل لأن المواد المختلفة لها درجات مختلفة من التفاعل مع مبادل الأيونات بسبب الاختلافات في الشحنات، وكثافة الشحن وتوزيع الشحنة على أسطحها. يمكن التحكم في هذه التفاعلات بظروف مختلفة مثل القوة الأيونية ودرجة الحموضة (pH).

- **كروماتوغرافيا الاستبعاد الحجمي Size exclusion chromatography (SEC)**

إنها طريقة كروماتوغرافية يتم فيها فصل الجسيمات بناءًا على حجمها أو بعبارات تقنية أكثرحجمها الهيدروديناميكي. وعادة ما يتم تطبيقه على جزيئات كبيرة أو معقدات الجزيئات الكبيرة مثل البروتينات والبوليمرات الصناعية[25]. عند استخدام محلول مائي لنقل العينة عبرالعمود، تُعرف التقنية بإسم كروماتوغرافيا الترشيح بالجل (Gel filtration chromatography) وتسمى بكروماتوغرافيا تخلل الجل (Gel permeation chromatography)عند إستخدام مذيب عضوي كطورمتحرك. التطبيق الرئيسي لكروماتوغرافيا الترشيح بالجل هو تجزئة البروتينات وغيرها من البوليمرات القابلة للذوبان في الماء ، في حين يستخدم كروماتوغرافيا تخلل الجل (Gel permeation chromatography) لتحليل توزيع الوزن الجزيئي للبوليمرات القابلة للذوبان في المواد العضوية [26].

3.3.1. تطبيقات كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC)

يمكن إستخدام تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء لتحليل العديد من ملوثات الماء، وكذلك فصل الحوامض الأمينية، البروتينات، والفيتامينات، وتحليل انواع من الاغذية والحوامض النووية وكذلك تحليل المبيدات، السكريات المتعددة والمركبات الدوائية و الصيدلانية [27]. وقد تطورت تقنية HPLC وتحولت إلى تقنية مهمة واسعة الإنتشار في تحليل المواد العضوية، حيث أصبحت تستعمل بشكل كبير لعمليات الفصل والتحليل لعينات من المستحضرات الصيدلانية والبيولوجية [28]. كما وتستخدم في المجالات البيئية والصناعية (مثل صناعة الادوية والمشتقات النفطية والصناعات العضوية) كما ويستعمل بشكل عام HPLC لفصل وتقدير كل الجزيئات العضوية، وبشكل خاص الجزيئات العضوية ذات الضغط البخاري الواطئ جداً، وذلك بسبب ظروف HPLC التي تؤدي إلى زيادة في السرعة الخطية (سرعة مرورالعينة خلال عمود الفصل)، وبالتالي الحصول على مزايا التفريغ الأفضل والأسرع والكفاءة الأحسن، والحساسية الأعلى بالمقارنة مع كروموتوغرافيا السائل الاعتيادي (كروماتوغرافيا العمود) [29]. ومن أهم المزايا لهذه التقنية هي:

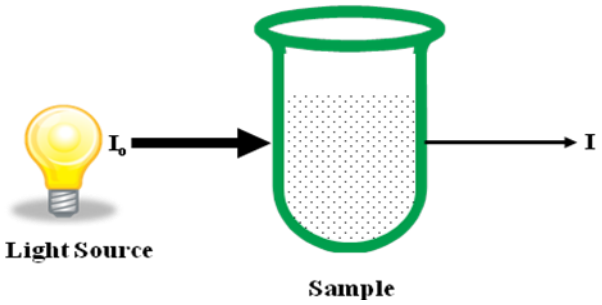
- تمتاز هذه التقنية عن التقنيات الاخرى بإمكانية تحليل عينات عدة آنيًا وبأقل كلفة فضلا عن سرعة الفصل ودقته.
- حساسية أكبر (يمكن إستخدام أجهزة الكشف المختلفة).
- دقة عالية (مجموعة واسعة من الأطوار الثابتة).

- أعمدة قابلة لإعادة الإستخدام (باهظة الثمن ولكن يمكن إستخدامها في العديد من التحليلات).
- مثالية من السهل إسترداد عينة، الحفظ والمعالجة.
- الأجهزة تميل إلى التشغيل الآلي والكمي (وقت أقل وأقل عمل).
- دقيقة وقابلة للتكرارية.
- تتم العمليات الحسابية بواسطة التكامل نفسه [30].

4.1. مطيافية الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية

Ultraviolet absorption spectroscopy

تشيرمطيافية الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية (UV-Vis) إلى منطقة من الطيف الكهرومغناطيسي تتراوح من (190-400 nm). عندما تمرالعينة عبرالنظام (system)، الذي يتكون من مصدر ضوء أحادي اللون محاذٍ للكاشف، تقل شدة (I_o) مصدر الضوء الأولي بما يتناسب مع التركيز والامتصاص المولي للعينة [31]. على المستوى الجزيئي، يمكن تفسير هذا الإنخفاض في الشدة بإثارة الألكترونات الموجودة في أغلفة التكافؤ إلى مدارات أعلى (higher orbital's). عندما تتعرض جزيئات العينة لضوء مطيافية الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية (UV-Vis) الذي لديه طاقة تطابق إنتقال ألكتروني محتمل داخل الجزيء، سيتم إمتصاص بعض الطاقة الضوئية عند إنتقال الألكترون من المستوى π^* n → أو π^* π→. هذه الحقيقة تشير بوضوح إلى الحاجة لمجموعة وظيفية ممتصة والتي في هذه الحالة هي الألكترونات أوالمزدوجات الألكترونية الغيرمتآصرة في أغلفة التكافؤ، وكما موضح بالشكل (1-3) أدناه



يوضح الشكل (1-4) فقدان الشدة بسبب الامتصاص

فقدان الشدة يمكن أن يرتبط ببساطة بالتركيز والإمتصاص المولي للجزيء بواسطة قانون الإمتصاص لامبرت-بير (Absorption Law Lambert-Beer)، والذي يعطى بالصيغة الاتية:

$$A = \epsilon bC = -\log(T) = -\log\frac{I}{I_o} \quad \text{---- (4-1)}$$

إذ أن I_o يمثل شدة الإشعاع الساقط

I شدة الإشعاع النافذ من العينة

A تمثل كمية الضوء الممتص

ϵ تمثل معامل الإمتصاص المولاري ووحداته (لتر.مول$^{-1}$.سم$^{-1}$)

C التركيز ووحداته (مول/لتر)

b طول مسار الإشعاع ويقاس ب(سم)

و T هو النفاذية (نسبة الضوء النافذ إلى الضوء الساقط) [32].

ومن الممكن تحديد حساسية الطريقة الطيفية وذلك عن طريق معامل الإمتصاص المولاري أو معامل ساندل (Sandl's Index)، والذي يعرف بأنه (هو عدد مايكروغرامات المركب المراد تقديره والذي يتحول بدوره الى ناتج ملون ليعطي إمتصاص مقداره (0.001) وحدة إمتصاص وعندما يكون في خلية سمكها (1cm)ويمكن التعبير عنه رياضيا :

Sandl'sIndex=M.w/ ϵ ---- (5-1)

حيث ان M.w هي الكتلة المولية

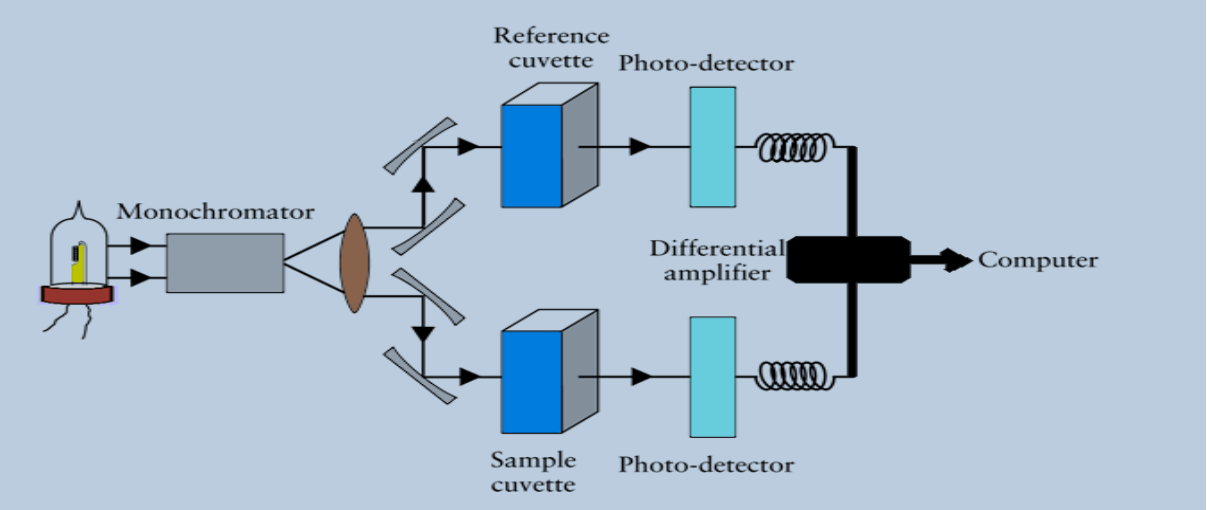
ϵ الامتصاص المولاري، وإن وحدة قياس هذا المعامل هي ($\mu g.cm^{-1}$) [33-34].

1.4.1. مكونات نظام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية

Components of the ultraviolet spectroscopy system

يوضح الشكل (4-1) أدناه مكونات نظام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية، وهي مصدر الضوء (light source)، عادةً يتكون من الديوتيريوم أومصابيح التنغستن، حامل العينة (a sample cuvette)، ونظام للكشف (detector system)الذي في هذه الحالة هو كاشف الشحن المزدوج (Charge Coupled Detector) (CCD) ويتم ربطها مع جهازالكمبيوتر. تتوفر عدة أنواع من مصادر الإضاءة لمطيافية الأشعة فوق البنفسجية وهي: مصابيح القوس الذري البسيطة ولكن غير المتماسكة مثل مصباح قوس الديوتيريوم ومصابيح الهالوجين التنغستن ومصادر ضوء الليزرالمتماسكة. يمكن أن يتم إختيار الطول الموجي إما قبل مرورعلى الانبوب أو بعد المرورعلى الانبوب. إختيار الطول الموجي بعد مرورها على الإنبوب يتطلب مشبك حاجز لإنحراف الضوء ونظام كاشف متعدد الاطوال الموجية(multi-wavelength arraydetector)،

العديد من الخصائص المميزة مثل الحساسية (sensitivity)، حد الكشف ويمكن أن يتأثر بشدة بإختيار مصدر الضوء والإقتران الفعال لمصدر الضوء في الإنبوب.



الشكل (1-5) مكونات نظام مطيافية الأشعة فوق البنفسجية

2.4.1. التقدير الكمي بالمطيافية Quantification of spectroscopy

بعد أن تم تحديد الطول الموجي عند الإمتصاصية العظمى لأي مادة لها القابلية على إمتصاص الإشعاع، أصبح من الممكن تقدير تركيز المادة عن طريق إستعمال طرائق مختلفة بعد قياس الإمتصاصية للمادة عند الطول الموجي المحدد. من أهم طرائق حساب التركيز للمادة هي:

1.2.4.1. إستخدام القيمة القياسية لمعامل الإمتصاص المولاري

Using standard value of molar absorptivity

عند حصول الإنتقالات الأكثرإحتمالا(الأكثر حساسية) فإن قيم معامل الإمتصاص المولاري تكون ($\epsilon \geq 10^4$)، أما عند حصول إنتقالات أقل إحتمالية (أقل حساسية) ستكون قيمة معامل الإمتصاص المولاري ($\epsilon \geq 10^3$) ومن الممكن الحصول على قيم معامل الإمتصاص المولاري من الجداول في دساتيرالأدوية ومنها دستورالأدوية البريطاني، بعدها يتم تطبيق قانون لامبرت – بير(Lambert-Beer Law) لحساب التراكيز[35].

2.2.4.1. إستخدام منحنى المعايرة Using calibration curve

في هذه الطريقة يتم تحضيرسلسلة من التراكيزللمادة القياسية المراد قياسها، بعدها يرسم منحنى المعايرة القياسي والذي يكون بين الامتصاصية (Absorbance) والتركيز (concentration) ومن خلال هذا المنحنى يتم تعيين تركيز المادة ذات التركيز المجهول، أما بإستخدم معادلة الخط المستقيم أو طريقة الإسقاط على المنحنى [36].

3.2.4.1. طريقة المقارنة القياسية Single - point standardization

في هذه الطريقة تم قياس الإمتصاصية لمحلول تركيزه مجهول(absorbance for unknown solution) والإمتصاصية لمحلول قياسي (absorbance for a standard solution) معلوم التركيز، مقارب لتركيز المادة المجهولة، ويتم بعد ذلك تطبيق العلاقة الآتية لإيجاد تركيز المحلول المجهول:

$$C_{un}/C_{Std}=A_{un}/A_{Std} \quad \text{---- (6-1)}$$

إذ أن C_{un} يمثل تركيز المادة المجهولة.

و C_{Std} يمثل تركيز المادة القياسية .

و A_{un} يمثل الإمتصاصية للمحلول المجهول.

و A_{Std} يمثل الإمتصاصية للمحلول القياسي [37].

4.2.4.1. طريقة المقارنة القياسية المزدوجة Double-point standardization

في هذه الطريقة يتم حساب تركيز المادة المجهولة (Concentration of unknown substance) عن طريق رسم العلاقة بين مجموعة من التراكيز الحاوية على حجوم متزايدة من المحلول القياسي (Standard solution) يقابله الإمتصاصية (Absorbance):

$$C_{un}=A_{un}C_{std}/A_{un}-A_{std} \quad \text{---- (7-1)}$$

حيث أن C_{un} يمثل تركيز المادة المجهولة(النموذج).

C_{Std} يمثل تركيز المادة القياسية.

A_{un} يمثل الإمتصاصية للمحلول المجهول.

A_{Std} يمثل الإمتصاصية للمحلول القياسي [38].

3.4.1. تطبيقا ت الأشعة فوق البنفسجية - المرئية Applications of UV-Visible

اشتملت التطبيقات الواسعة للدراسات الطيفية للأشعة الفوق البنفسجية- المرئية (UV-Visible) عددا كبيرا من المركبات العضوية واللاعضوية (Organic and inorganic compounds) وأنواع من المواد الحياتية الكيميائية الماصة للأشعة الفوق البنفسجية أو المرئية، هذا ما يتيح إجراء تصحيح للتقدير الكمي للعديد من المركبات الماصة للضوء، حيث أفادت هذه التقنية تحديد العديد من المركبات ومنها العطرية متعددة النواة أمثلتها السيترويدات(Steroids) ورواسب المبيدات (Pesticide residues) وبما هو أقل من µg(1) وكذلك الأصباغ (Dyes) والأدوية (pharmaceutical) والفيتامينات (vitamins)، وتطورت تطبيقات مختلفة لطرق القياس الطيفي المرئي ومنها طرق قياس المعقدات الفلزية الملونة(Colored metal complexes) بالإضافة إلى مركبات أخرى ملونة [39].

4.4.1. مثبطات الألم (المسكنات) Analgesics

تعد المسكنات من العقاقير والمستحضرات الصيدلانية الشائعة الإستعمال وظيفتها تسكين او معالجة الآلآم، تقسم مثبطات الألم الى قسمين وحسب نوع الألم :

1.4.4.1. مثبطات الآلآم القوية Potent analgesics

تستعمل هذه المثبطات للآلآم الحادة والمزمنة ويرتبط هذا الألم عموما في الآونة الاخيرة على إصابة محددة وإثارة للجهاز العصبي ومعنى الألم المزمن هو الألم الذي تجاوز مدة بقائه مدة الشفاء الطبيعي وهي من (3-6) أشهر، وفي الغالب من الصعوبة السيطرة عليه مما يسبب قلة في النوم وإكتئاب وإعاقة جسدية وضعف في الصحة بصورة عامة، لذلك يستعمل لهذا النوع من الألم مزيج من العقاقيرالأفيونية وغير الأفيونية والتي بدورها تمنع رسائل الألم من الوصول إلى الدماغ وتقوم تدريجيا بتسكين الألم، وهناك أمثلة كثيرة على هذه المثبطات منها المورفين (Morphine)، الأوكسي كودون (Oxycodone)، البثدين (Pethidine) وغيرها، حيث تمتاز بتأثيرها المخدر على الجهاز العصبي المركزي (Central Nervous System) [40].

2.4.4.1. مثبطات الآلآم البسيطة Mild analgesics

يستعمل هذا النوع من المثبطات لعلاج الحالات المرضية اليومية كالصداع والآم الأسنان والحمى، وتصنف هذه المسكنات ضمن العقاقير المضادة للإلتهابات غير السيترويدية Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug (NASID)، ومن أمثلتها الباراسيتامول (Paracetamol)، الكوايفنسين (Guaifenesin) وحامض الميفيناميك (Mefenamic acid) وغيرها، تعمل هذه المسكنات على تثبيط الانزيم الحلقي الذي يقوم بإفراز البروستاجلاندينات (Prostaglandins) [41--43].

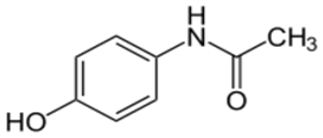
3.4.4.1. الآثار الجانبية للمسكنات The side effect of analgesics

إن إستخدام العقاقير المسكنة بكميات كبيرة وبصورة مستمرة له آثار جانبية خطرة ومنها إحتشاء عضلة القلب (Myocardial infarction) مما يؤدي إلى النوبة القلبية، تهيج موضعي للغشاء المخاطي للمعدة، مما يسبب نزف في المعدة بسبب إنخفاض البروستاجلاندينات، إلتهاب الكلى (Kidney inflammation)، الفشل الكلوي والصداع النصفي بسبب الجرعة الزائدة [44-45].

5.4.1. لمحة عن العقاقير(الأدوية) DRUG PROFILE

1.5.4.1. الباراسيتامول Paracetamol

من الأدوية الشائعة الإستعمال والتي تصرف بدون وصفة طبيب، ويوجد باشكال مختلفة أقراص، كبسولات، شراب معلق، تحاميل، قطرات وحقن وريدي، يستعمل هذا العقار لوحده أوعلى شكل مزيج مع أدوية اخرى[46].الباراسيتامول مركب كيميائي اسمه الشائع أسيتوأمينوفينول (Acetaminophenol)، وهومن مضادات الالتهابات غيرالستيرويدية (NASID)، يستعمل كمسكن للآلآم ومضاد للإلتهابات وخافض للحرارة وهو دواء غير مخدر[47]. ويستعمل كمسكن بدلا من الاسبرين للمرضى الذين يعانون من ألم في المعدة كالقرحة مثلا، وأيضا مضادا للحموضة وكذلك يستعمل من قبل الاشخاص الذين يعانون من إرتفاع ضغط الدم [48]. يوصف الباراسيتامول كيميائيا N-(4-Hydroxyphenyl)acetamide الصيغة الجزيئية $C_8H_9NO_2$ الوزن الجزيئي (151 g/mol) [49].أبيض أو تقريبا مسحوق أبيض بلوري قليل الذوبان في الماء، قابل للذوبان بحرية في الكحول، قابل للذوبان قليلًا جدًا في كلوريد الميثيلين[50]. جرعة الأطفال (10) mg أربع مرات في اليوم. جرعة البالغين (500) mg كل أربع إلى ست ساعات [51].



شكل(1-6) الصيغة التركيبية للباراسيتامول

2.5.4.1. مراجعة الأدبيات Literature review

تشيرالبحوث والأدبيات بأن هناك الكثير من الطرائق التحليلية التي تم تطويرها لتقدير الباراسيتامول (PCM) ومنها مايلي:

قام الباحث M. Radi وآخرون (2016) بتطويرطريقة RP - HPLC لتقدير للباراسيتامول والكافائيين في التراكيب الصيدلانية.بإستخدام عمود (C_{18} (150 mm × 4.6 mm, 3.5µm ، وطور متحرك مكون من ميثانول:ماء بنسبة 30-70%، وسرعة جريان 1مللتر /دقيقة، وطول موجي 275نانومتر. كان معامل الارتباط للباراسيتامول R^2=0.999 والاسترجاعية 98.93% , الخطية (50-0.5 مكغم/مل) [52].

طبق الباحثان Luna AS and Pinho JSA (2014) طريقة طيفية لتقديرالباراسيتامول (PCM) والآيبوبروفين(IBU) في المستحضرات الصيدلانية. أظهرت الطريقة نتائج جيدة في تقدير(PCM) و(IBU). كانت نسبة الاسترداد 99.65% للباراسيتامول, الخطية (16-10 مايكروغرام /مل) و R^2=0.9989 [53].

قدر الباحثان Ahmed. M. Saeed and Noor. Q. (2017) الباراسيتامول (PCM) في المستحضرات الصيدلانية بطريقة طيفية عند (244.8 نانومتر)في الماء: أسيتونيتريل (90:10) كمذيب. الخطية (0.4-40 مكغم / مل) ، R^2 (0.9994), الاسترداد (100.05)[54].

قام الباحثان Madhusudan T. Bachute1, S.V.Shanbhag (2017) بتطويرطريقة RP-HPLC لتقديرالباراسيتامول وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (C_{18} (250×4.6 mm ,5.0 µm، وطور متحرك من محلول منظم و ميثانول بسرعة جريان 1.00 مل / دقيقة، وطول موجي 220 نانومتر. زمن الاحتجاز 10.36دقيقة للباراسيتامول. الخطية (50-10مايكروغرام /مل)، والاسترجاعية 99.30 [55].

استخدم الباحث S. CUERVO ESCOBAR وآخرون (2017)، طريقة HPLC لتقدير الباراسيتامول والكافائيين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18}، وطول موجي 275 نانومتر، وسرعة جريان 1.5 مل / دقيقة، وطور متحرك من الماء والميثانول وحامض الخليك بنسب حجمية (69: 28: 3) على التوالي. الخطية (140-60 ميكروغرام/مل للباراسيتامول، (R^2 = 0.9989 للباراسيتامول) ، الاسترداد 99.53 للباراسيتامول [56].

طبق الباحث Zaid. M. Jaber. Al-Obaidi وآخرون (2019) طريقة (RP-HPLC) لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية، باستخدام عمود C_{18} (5 µm, 4.6 mm X 250 mm) ، وطورمتحرك ميثانول:ماء بنسبة 20:80، عند 243 نانومتر، ومعدل تدفق 1 مل/دقيقة. الخطية من 40-0.8 مكغم /مل، و R^2 0.9996 والاسترجاع 97.74٪ [57].

قام الباحث Murtaza Sayed وآخرون (2015) بتطويرطريقة (HPLC) و (UV-VIS) لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام (5.0 µm, 4.6 mm×150) C_{18}، طورمتحرك أسيتونيتريل:ماء (25:75٪ v / v) بمعدل تدفق 1 مل/دقيقة، وطول موجي 230 نانومتر. الخطية لUV-VIS وHPLC 10-4 ,20-2 مايكروغرام/مل، ومعامل الارتباط 0.977, 0.993 والاسترداد 99.00 - 100.10 ، 99.71 - 100.95%. [58].

طبق الباحثان P. R. Solanki, S. Prachi and S. D. Boob (2012) طريقةRP-HPLC لتقدير الباراسيتامول المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (4.6 x 250 mm, 5 µ) C_{18}، وطورمتحرك من الأسيتونيتريل:الماء (40: 60)، بمعدل تدفق 1 مل/دقيقة وطول موجي 210 نانومتر. زمن الاحتجاز 2.69 دقيقة، والخطية 100-20 مايكروغرام/مل، معامل الارتباط 0.9998، والاسترداد 103.01% [59] .

طور الباحثان AbdulbariI M. M and Ihsan M. SH (2013) طريقة RP-HPLC لتقدير الباراسيتامول وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (5 µ,) C_{18} 250 mm x4.6 mm ، وطور متحرك من الأسيتونيتريل: ماء: ميثانول (15:75:10)، معدل تدفق من 1مل/دقيقة، طول موجي 220 نانومتر. زمن الاحتجاز 6.052 دقيقة، الخطية (1-500مايكروغرام/مل)، والاسترجاعية 100.305-99.484%،حد الكشف وحد التكمم 0.467 و 1.415مكغم/مل على التوالي و R^2 = 0.9999 [60].

طبق الباحثان Ahmad M. El-Zinati and Monzir S. Abdel-Latif(2015) إجراء دراسة باستخدام المشتقة الاولى للمرتبة الصفرية من أجل تحليل طيف الباراسيتامول وهيدروكلوريد الترامادول في المستحضرات الصيدلانية. ان طيف الامتصاص تم فحصه في حدود 200-500نانومتر. الخطية 112-25مكغم/مل للباراسيتامول، R^2 = 0.9987 للباراسيتامول والاسترجاعية 100.4% [61].

قام الباحثان Allabasha Mumtaz and Mrs. Iffath Rizwana (2015) بتطوير طريقة (RP-HPLC) لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود الفصل C_{18} (250x4.6 ID5µm)، وطورمتحرك من محلول منظم واسيتونتريل(60:40)، ومعدل التدفق 1.0 مل/دقيقة، وطول موجي 230 نانومتر. زمن الاحتجازللباراسيتامول2.703 دقيقة. الخطية 10-2 ميكروغرام / مل, R^2=0.9976 والاسترجاعية 100.49% [62].

طبق الباحثان Sravya Neeli and Shanta Kumari Katakam (2014) طريقة RP-HPLC لتقديركل من الباراسيتامول وأدوية أخرى في المستحضرات الصيدلانية. بإستعمال عمود C_{18} (50mm x 4.6mm, 5µm) ، وطور متحرك محلول منظم وأسيتونيتريل بنسبة (v/v50:50) ومعدل تدفق 1.5 مل / دقيقة، عند 220 نانوميتر، زمن الاحتجاز 3.993 دقيقة. الخطية (1500-200مكغم/مل)، و (R^2 = 0.999) والاسترجاعية 99.2-100.9 % [63].

طورالباحث Palled PJ وآخرون (2017) طريقة RP-HPLC لتقديرالباراسيتامول. باستخدام عمود (C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 µm، وطورمتحرك أسيتونيتريل: ماء (90:10) عند pH=2.8 ، وبمعدل جريان 0.3 مل/دقيقة ، عند 203 نانومتر. زمن الاحتجاز 9.7 دقيقة. الخطية (20-1.25 مكغم/مل) والاسترداد -99.89%، و R^2=0.999 [64].

طبق الباحثان Adams .U. Itodo and Nnodim. V. Onyinye (2017) طريقتين وهما (UV-Vis) و (HPLC) لتقدير الباراسيتامول. باستخدام عمود C_{18} (50 mm × 4.6 mm, 5 µm) وطور متحرك من الميثانول والماء (80:20)، معدل تدفق 2.0 مل/دقيقة، وطول موجي 254 نانومتر. الخطية (16-2)،(0.20-0.025)مكغم/مل ، و R^2=0.995، R^2= 0.999 ، الاسترداد (102.52-91.88)،(108.1-101.1) لل UV-VIS,HPLC على التوالي[65].

استخدم الباحثان V. Lakshmi Narayanan and Anoop Austin(2016) طريقة (HPLC) لتقديرالباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام العمود C_{18}(4.5mm x

(250 mm, 5µm، وطور متحرك من محلول منظم واسيتونتريل (85:15)، بمعدل تدفق 1.0 مل / دقيقة عند 265 نانومتر. زمن الاحتجاز 3.13 دقيقة، الخطية (150-25 مايكروغرام /مل)،و R^2=0.999، و الاسترداد 99.0، وحد الكشف 1.5، وحد التكمم 0.075 [66].

طبق الباحثان Mahaboob Basha and K. A. Rrddy (2014) طريقة (UPLC) لتقديرالباراسيتامول في مزيج. باستخدام عمود (C_{18} (50mm,2.1mm,1.7µm، وطورمتحرك من الأسيتونيتريل:حامض الفورميك في الماء(95:05)، ومعدل تدفق 0.6 مل/دقيقة. زمن الاحتجاز 1.03دقيقة، والخطية 60-10مكغم/مل. قيم الاسترداد 100.05-100.80%، وقيم R^2=0.999 [67].

استخدم الباحثان Patel Twinkle K and Meshram Dhananjay B (2015) طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة عالية الأداء HPTLC لتقديرالباراسيتامول ومواد اخرى. تم استخدام ألواح الألمنيوم HPTLC المغطاة بطبقة من السيليكا جل F_{25460} كطور ثابت وخليط من التولوين: الأسيتون: حامض الفورميك (10: 9.8: 0.2) كطور متحرك. الخطية 700-100 نانو غرام، وقيم R^2=0.997. الاسترداد 101.24-99.03 % [68].

قام الباحث Kuldeep Delvadiya وآخرون (2014) بتطوير طريقة (RP-HPLC) للتحليل الكمي للباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (C_{18} (250mm×4.6mm ,µm5، وطور متحرك من الماء: 2- بروبانول بنسبة (80:20). عند pH= 3.0 ومعدل التدفق في 1.5 مل / دقيقة، عند 210 نانوميتر. زمن الاحتجاز 2.36 دقيقة. الخطية 90–3 ميكروغرام/مل ، و 0.9996 =R^2 وحد الكشف 0.2749 مايكروغرام /مل ، و الاسترداد 99.72% [69].

طبق الباحثان S. S. Narwade and Babasaheb. A .Marathwada (2014) طريقة(HPLC)، لفصل الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (10µm (C_{18} (200mm×4.6mm، وطور متحرك من ماء:ميثانول(15:85)، ومعدل تدفق 0.5 مل/دقيقة, عند 272 نانومتر. زمن الاحتجاز 4.388 دقيقة، والاسترداد 102.86 % [70].

قام الباحثان R. Chandra and K. Dutt Sharma (2013) بتطوير طريقة RP- HPLC لتقديرالباراسيتامول والكافئيين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18}، وطور متحرك ميثانول وماء بنسبة (40:60)، بمعدل تدفق 1.0 مل/دقيقة، عند 243 نانومتر, زمن

الاحتجاز 3.03 دقيقة، الخطية 100-5 مكغم/مل و R^2 =0.999. حد الكشف وحد التكمم 0.04 و 0.12 مكغم / مل ، على التوالي. الاسترداد 99.45% [71].

استخدم الباحثان V.MASLARSKA and J. TENCHEV (2013) طريقة (HPLC) لتقديرالباراسيتامول. باستخدام عمود C_{18}، وطورمتحرك من الأسيتونيتريل ومحلول منظم (15:85)، بمعدل تدفق قدره 1.0 مل / دقيقة عند 210 نانومتر. الخطية 1000-100 مكغم/مل، وحد الكشف 1.0 مكغم/مل ، و R^2=0.999 والاسترداد 100.2-99.88 %. [72].

طور الباحث Gundala Usharani وآخرون (2014) طريقة RP-HPLC لتقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18}، وطور متحرك من محلول منظم وأسيتو نيتريل بنسبة 50:50. معدل التدفق إلى 0.9 مل/دقيقة عند 218.6 نانومتر. زمن الاحتجاز 4.8 دقيقة، حد الكشف وحد التكمم 2.52,0.83 على التوالي، الخطية 1950-650 مكغم/مل، و R^2=0.999، و الاسترجاع 100% [73].

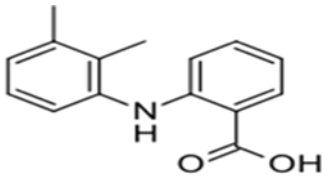
قام الباحث Sunilkumar Adupa وآخرون (2014) بتطويرطريقة RP-HPLC لتقديرالباراسيتامول ومواد اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود فصل (10µm 250mm×4.6mm) C_{18}، وطور متحرك من الميثانول: ماء (80:20)، سرعة تدفق 1.0 مل/ دقيقة عند 243 نانومتر. زمن الاحتجاز 3.8 دقيقة. وكان نطاق التراكيز الخطية 150-50 مكغم/مل. و R^2=0.997 ، الاسترداد 99.77 % [74].

استخدم الباحث Mohamed Sultan (2014) طريقة (HPLC) لتقدير الباراسيتامول وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود فصل (250×4.6mm, 5µm) C_{18} ، وطور متحرك الأسيتونيتريل والميثانول في نسبة (85: 10: 5). بمعدل جريان هو 1.5 مل/دقيقة ، عند 210 نانوميتر. زمن الاحتجاز 3.67 دقيقة. الخطية 100-0.39 مكغم/مل ، الاسترداد 98.40- 103.00 %، و R^2=0.999 [75].

قام الباحث Boyka G. Tsvetkova وآخرون (2012) بتطوير طريقة HPLC لتقدير الباراسيتامول والكافائين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود فصل C_8، وطور متحرك من محلول منظم:ميثانول (35:65)، ومعدل تدفق 1.5 مل/دقيقة، عند 230 نانومتر. الخطية 250-31.25 مكغم/مل، و R^2=0.9999، و الاسترداد 99.87-99.57 %، وحد الكشف وحد التكمم 4.0,0.5 مكغم /مل[76].

3.5.4.1. حامض الميفيناميك Mefenamic acid

يعتبر هذا العقار من المضادات الحيوية فهو مضاد الالتهابات الغيرالستيرويدية (NASID)، ويستخدم لعلاج الألم الخفيف إلى المتوسط ، بما في ذلك ألم الحيض ، ويستخدم في بعض الأحيان لمنع الصداع النصفي المرتبط بالحيض[77]. لايستخدم على نطاق واسع في الولايات المتحدة بسبب آثاره الجانبية، والتكلفة العالية مقارنة مع أدوية مضادات الالتهاب الأخرى [78]. يوصف حامض الميفيناميك كيميائيا 2-[(2,3- dimethylphenyl) amino)]benzoic acid الصيغة الجزيئية ($C_{15}H_{15}NO_2$)[79]. الوزن الجزيئي (241.30 g/mol) ، أبيض إلى أبيض رمادي، مسحوق بلوري دقيق.غير قابل للذوبان عمليا في الماء، قابل للذوبان بحرية في الميثانول.الجرعات: -250) 500 mg) ثلاث مرات يوميا ، بعد الطعام [80].



شكل (1-7)الصيغة التركيبية لحامض الميفيناميك [81]

4.5.4.1. مراجعة الادبيات Literature review

تشيرالبحوث والادبيات بأن هناك الكثير من الطرائق التحليلية التي تم تطويرها لتقدير حامض الميفينامك (MEF) ومنها مايلي:

طورت الباحثة .Esha K وآخرون (2016) طريقة RP-HPLC لتقدير حامض الميفيناميك وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (C_{18}(250×4.6 mm ,5.0 µm ، وطور متحرك مكون من الأسيتونيتريل:الميثانول:محلول منظم 50:30:20، عند pH= 4.5، وبسرعة جريان 1 مل/ دقيقة، عند 260 نانوميتر. زمن الاحتجاز 3.4 دقيقة، الخطية 150-25 مكغم/مل ، و R^2=0.997 و الاسترداد 99.49 [82].

قام الباحثان A. Badgujar and V. Kiran (2011) بتطويرطريقة RP-HPLC لتقدير كل من الباراسيتامول وحامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (mm 4.6×250 5.0 µm) C_{18} وطور متحرك من الميثانول: محلول منظم (75:25) ، pH=7.1 ، وسرعة جريان 1.0 مل / دقيقة. عند 275 نانومتر. زمن الاحتجاز 4.49 دقيقة. الخطية-40 200 مكغم/مل، و R^2=0.9998 و الاسترداد 98.15 %[83].

استخدم الباحثان .L. Dharmendra and .H Freddy (2010) طريقة (RP-HPLC) لتقديرحامض الميفيناميك وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (mm 250×4.6 5.0 µm) C_{18} ومحلول منظم:اسيتونيتريل (60:40)، بمعدل تدفق 1.0 مل /دقيقة، عند 220 نانومتر. زمن الاحتجاز 4.91 دقيقة، و الخطية 300 – 100مكغم/مل، و R^2=0.999. الاسترداد 99.7 ، وحد الكشف وحدالتكم 1.2,0.39[84].

قام الباحثان .M. Ruaa and .B. Sarmad (2018) بتطوير طريقة RP-HPLC لتقدير حامض الميفيناميك وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود(mm 250×4.6 5.0 µm) C_{18} ، وطور متحرك من الأسيتونيتريل: ماء(50:50). ومعدل التدفق 1.5 مل/دقيقة، عند 264 نانومتر. زمن الاحتجاز 7.683 دقيقة، الخطية 200-1مكغم/مل، و R^2=0.9995، الاسترداد 99.7-95.2 %، وحد الكشف 0.251 مكغم/مل [85].

طبق الباحث .F Ibrahim وآخرون(2017) طريقة (HPLC) لتقديرحامض الميفيناميك. باستخدام عمود (C_8(150mm × 4.6 mm, 5 µm، وطورمتحرك من محلول كبريتات الصوديوم:البربانول:تراي اثيل امين، ومعدل تدفق 1مل/دقيقة عند 300نانومتر. زمن الاحتجاز 4.55 دقيقة. الخطية 20-0.5 مكغم /مل، وحد الكشف وحد التكم 0.482، 0.159 مكغم/مل ، و R^2=0.9999 والاسترداد 99.63-100.93% [86].

قام الباحث .F Safaa وآخرون (2014) بتطوير (HPTLC) لتقديرحامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية. استخدمت ألواح الألمنيوم (HPTLC) المغطاة بجل السيليكا كطور ثابت ومزيج من الإيثر البترولي والكلوروفورم وحامض الخليك الثلجي (5.0: 3.0: 0.5) كطور متحرك.الخطية 3.0 - 0.2 مكغم/مل لكل بقعة معR^2 =0.9987. حد الكشف وحد التكم 0.30 و0.09 مكغم/مل لكل بقعةعلى التوالي، الاسترداد 100.3-98.5% [87].

طور الباحثان .R Hasumati and .P Dipal (2012) طريقة طيفية لتقدير حامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية. كان الطول الموجي308.60 نانوميتر. R^2=0.9990، الاسترداد 102.3-100.12 وحد الكشف و التكم 0.0015 و 0.0046على التوالي[88].

طبق الباحث .H .Mohammed وآخرون(2017) طريقة طيفية، لتقدير حامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية . تعتمد على تكوين معقد بين حامض الميفيناميك والنيكل (II).

يسجل الامتصاص عند 360 نانوميتر. R^2=0.0997، الاسترداد 103.4- 96.4%، الخطية للتركيز 0.56- 0.08 مكغم/مل [89].

قام الباحث .Mohammad A وآخرون(2017) بتطويرطريقة HPLC لتقديرحامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (C_{18} (250 x 4.6 mm, 5.0 µm وطور متحرك من (1%) تراي إيثيلين عند pH=2: الميثانول: الأسيتونيتريل)، بنسب (35: 20: 45) ، سرعة جريان 2 مل / دقيقة. عند 220 نانومتر. زمن الاحتجاز 7.85 دقيقة. الخطية 50-0.05 مكغم/مل، R^2=0.9995، الاسترداد 99.78%، وحد الكشف و التكمم 0.010 ,0.030 على التوالي [90].

استخدم الباحث .Fouad. F وآخرون (2013) طريقة HPLC لتحليل الميفيناميك في المواد الصيدلانية. على عمود (C_{18} (250 mm x 2.1 mm, 5µm، وطور متحرك من اسيتونتريل:ميثانول(60:40). كانت الخطية من 500-5 نانوغرام/مل، R^2=0.994 ،وحد الكشف 65 نانوغرام/لتر, الاسترداد 101.2%[91].

قام الباحث Nerdy (2017) بتطوير طريقة طيفية UV-VIS لتقديرحامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية، عند 286 نانومتر. الاسترداد 100,08%، R^2=0.999، والخطية 8- 12 مكغم/مل، حدالكشف و التكمم 0.018، 0.0356 ميكروغرام/مل على التوالي [92].

استخدم الباحثان.Seetharaman .R. and Lakshm .K (2013) طريقة UTLC لتقدير حامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية، باستخدام سليكاجل F_{254} 60 (سمك 0.2 مم) المطلي على صفائح الألمنيوم كطور ثابت، وطورمتحرك للكلوروفورم:الميثانول:الأمونيا بنسب(6:4:0.1)، عند 270 نانومتر. كانت الخطية 2400-1600نانوغرام/مل، الاسترداد 100.02% ، R^2= 0.9989 [93].

قام الباحث .Sarmad B وآخرون(2014) بتطويرطريقة طيفية لتقديرحامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية.تضمنت الطريقة تفاغل العقارمع الكاشف 1,2 نفثاكوينون4-سلفونيك الصوديوم (NQS). الخطية10.0-0.5 مكغم/مل، عند 450 نانوميتر، R^2= 0.9991، الاسترداد 100.8 -99.80% ، وحد الكشف 0.189 مايكروغرام/مل[94].

طبق الباحث Bhagyashree R. وآخرون(2015) طريقة طيفية لتقديرحامض الميفيناميك في مستحضراته الصيدلانية. تم إجراء التحليل الطيفي عند 285.0 نانوميتر. الخطية 25-5 مكغم/مل، الاسترداد 99.64%، و R^2=0.999[95].

قام الباحث Martha M. Morcoss وآخرون(2017) بتطوير طريقة (RP-HPLC) لتقدير حامض الميفيناميك، على عمود C_{18} باستخدام محلول منظم:أسيتونيتريل، كطور متحرك (40:60)، وسرعة جريان 1 مل/دقيقة عند 225نانوميتر. وكانت الخطية 50-7 مايكروغرام/مل، ومعامل الارتباط 0.9997، وحد الكشف 0.27[96].

طورالباحث Kumar A. وآخرون (2018) طريقتين UV-VIS وRP-HPLC لتقديرلحامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية. عند الطول الموجي 285 نانومتر، زمن الاحتجاز5.789 دقيقة، الخطية 120-80 مكغم/مل، R^2=0.9981 ، الاسترداد 100.51%، وحد الكشف و التكمم 0.68, 2.29مايكروغرام/مل [97].

طبق الباحث Jinal N. وآخرون (2018) طريقة RP-HPLC لتقدير حامض الميفيناميك على عمود الفصل C_{18}(250 mm × 4.6 mm, 5 µm) باستخدام طورمتحرك مكون من محلول منظم:ميثانول (60:40%) (pH=5.0)، بمعدل تدفق قدره 1 مل / دقيقة، وعند 237 نانومتر. زمن الاحتجاز 5.07 دقيقة، الخطية 37.5-12.5 مكغم/مل، معامل الارتباط 0.9992، الاسترداد 101.06%، وحد الكشف والتكمم 1.068, 3.237 مكغم/مل [98].

قام الباحثان Rani P. and Talari K. (2017) بتطوير طريقة RP–HPLC لتقدير حامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية. عمود الفصلC_{18}(150 mm × 4.6 mm, 5 µm، وطورمتحرك محلول منظم: الميثانول بنسبة (70-30). كان معدل التدفق 1 مل / دقيقة وعند 290 نانوميتر. زمن الاحتجاز 5.372 دقيقة، الاسترداد 100.1 %، معامل الارتباط 0.999، حد الكشف و التكمم 0.11, 1.16 مكغم/مل [99].

استخدم الباحثان Sakhare .R. and Jamkhande .P. (2012) طريقة طيفية (UV-VIS) لتقدير الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية. وكان الطول الموجي 280 نانومترفي الميثانول، الخطية30-3 مكغم/مل ،معامل الارتباط 0.999، و الاسترداد 99.55% [100].

طور الباحث .Mukesh .C(2013) طريقة طيفية لتقدير حامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية، عند 233 نانوميتر،في نطاق التركيز 35-5 مكغم/مل, معامل الارتباط 0.9999، الاسترداد 101-99%[101].

قام الباحث .Kumar A وآخرون (2018) بتقديرحامض الميفيناميك وعقاقير اخرى بصورة نقية وفي المستحضرات الصيدلانية باستخدام طريقتي كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء ومطيافية الأشعة فوق البنفسجية، وكان الطول الموجي لحامض الميفيناميك 285 نانوميتروخطية التراكيز 2- 24، 120-80 مايكروغرام/مل للHPLC,UV وكان زمن الاحتجاز لحامض الميفيناميك 5.789مل/دقيقة. ، ونسبة الاسترداد 96.0544%،99.743 ومعامل الارتباط 0.998، 0.9981 حد الكشف 0.25، 0.68 ملغم/لتر للHPLC,UV على التوالي [102].

طبق الباحث .Devikasubramaniyan G وآخرون (2017) طريقة (RP-HPLC) لتقدير حامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (4.6 × 250 mm)C_{18} mm، وطور متحرك من الميثانول:محلول منظم (65:35)، 3 =pH، معدل التدفق 1.0مل/دقيقة، عند 256نانومتر. زمن الاحتجاز 4.31 دقيقة، معامل الارتباط 0.9994 و الاسترداد 99.98%، الخطية 640-240 مكغم/مل، وحد الكشف والتكمم 3,1 مايكروغرام/مل على التوالي [103].

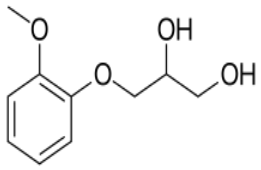
قام الباحث .Gagandeep P وآخرون(2018) بتطويرطريقة طيفية لتقديرحامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية. عند 285 نانومتر، الخطية 10-2 مكغم/مل، ومعامل الارتباط 0.999، وحد الكشف و التكمم 0.30, 1.02مايكروغرام/مل [104].

استخدم الباحث .Pallavi A وآخرون(2015) طريقة RP–HPLC لتقدير حامض الميفيناميك. باستخدام عمود C_{18}، وطور متحرك بنسب حجمية (80: 20%) من الماء:ميثانول (pH=3)، معدل تدفق 1.0 مل/دقيقة, عند 250 نانومتر. زمن الاحتجاز 9.5 دقيقة، والخطية 30-6 مايكروغرام/مل، الاسترداد 98.50% [105].

قدرالباحث .Najma S وآخرون (2013) حامض الميفيناميك في المستحضرات الصيدلانية بطريقة HPLC، على عمود (C_{18} (5µm, 250×4.6 mm ، طور متحرك من الميثانول:ماء بنسب (80:20 ، pH=2.7)، بمعدل تدفق 1.5 مل/ دقيقة. الاسترداد 100.2-98.48%. حد الكشف و التكمم 1.2 و 3.676 نانوغرام/مل على التوالي. [106]

5.5.4.1. الكوايفنسين Guaifenesin

يعتبر هذا العقارمن المضادات الحيوية فهو مضاد الالتهابات، ويستخدم لعلاج الألم الخفيف إلى المتوسط ، بما في ذلك ألم الحيض ، ويستخدم في بعض الأحيان لمنع الصداع النصفي المرتبط بالحيض. لايستخدم على نطاق واسع في الولايات المتحدة بسبب آثاره الجانبية والتكلفة العالية مقارنة مع الأدوية الاخرى المضادة للالتهاب [107]. الكوايفنسين مقشع ويستخدم لعلاج السعال والاحتقان الناتج عن نزلات البرد والتهاب الشعب الهوائية وأمراض التنفس [108]. يوصف الكوايفنسين كيميائيا 3-(2-methoxyphenoxy) propane-1,2-diol والصيغة الجزيئية ($C_{10}H_{14}O_4$)، الوزن الجزيئي (198.2 g/mol)، مسحوق بلوري أبيض. له القابلية على الذوبان في الإيثانول، الكلوروفورم، الكليسيرول والماء. جرعة الأطفال mg (100-200) لثلاث مرات في اليوم وجرعة البالغين: mg (200-400) كل أربع ساعات [109-110].



شكل (1-8)الصيغة التركيبية الكوايفنسين [111]

6.5.4.1. مراجعة الادبيات Literature review

تشيرالبحوث والادبيات بأن هناك الكثير من الطرائق التحليلية التي تم تطويرها لتقدير الكوافينسين (GUA) ومنها مايلي:

قام الباحث B. Koteswara وآخرون (2015) بتطوير طريقة طيفية لتقدير الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية. تم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي 224.6 نانومتر. الخطية 15 -2.5 مكغم/مل،الاسترداد 99.56% [112].

استخدم الباحثان Esin I. and Aysel K. (2014) طريقةRP-HPLC لتقدير الكوايفنسين. باستخدام عمود (C_{18}(250 mm × 4.6 mm، وطور متحرك من الميثانول:محلول منظم بنسبة (60:40)، pH=3، معدل التدفق 1.0مل/دقيقة، عند 212نانومتر. الخطية 100-30 مكغم/مل، ومعامل الارتباط 0.9998 ، وحد الكشف و التكمم 4.06،1.12[113].

طبق الباحث Rahul S. وآخرون (2012) طريقة (RP-HPLC) لتقدير الكوايفنسين وبسودوإيفيدرين هيدروكلوريد في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود الفصل 4.6) C_{18} x 250mm, 5µ)، طور متحرك من محلول منظم:أسيتونيتريل:ميثانول (20: 8 : 72) (pH-5.0)، بمعدل تدفق 1.2 مل/دقيقة. وعند 218 نانومتر، زمن الاحتجاز 2.99 دقيقة. الخطية 75-15مكغم/مل، الاسترداد 98.72%، R^2=0.9999 [114].

استخدم الباحث Hajare P. وآخرون (2015) طريقة (RP-HPLC) لتقدير الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية وباستخدام عمود (C_{18} (4.6 x 250mm, 5µm ، عند 225 نانومتر، وطور متحرك من الميثانول:الماء (80:20) و سرعة جريان 0.8 مل / دقيقة. الخطية 20- 100مكغم/مل، R^2=0.9996، الاسترداد 91.90-59.49% [115].

قام الباحث Raja A. وآخرون (2017) بتطوير تقنية (RP-HPLC) لتقدير الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام طور متحرك من محلول منظم:أسيتو نيتريل بنسب(60:40)، بمعدل تدفق 1مل/دقيقة، عند 232 نانومتر. على عمود (C_{18} (100 × 2.1 mm, 5 µm. زمن الاحتجاز 2.783 دقيقة، الاسترداد 98.0%، R^2=0.9999، والخطية 60-20 مكغم/مل [116].

طبق الباحث Levon .A. Melikyan وآخرون (2014) طريقة (RP-HPLC) لتقدير الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود(C_{18} (4.6 x 250mm, 5µm ، وطور متحرك من الأسيتونيتريل:الميثانول بنسب حجمية (80:20) ، وعند 275 نانومتر. ، الخطية 100-1.0 مايكروغرام/مل، (R^2 = 0.999)، الاسترداد 103.21-101.24% [117].

طورالباحث Pushpalatha .E وآخرون (2015) طريقة طيفية لتقدير الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية. عند 240 نانوميتر، والخطية 9-1 ميكروغرام/مل، R^2=0.9992، الاسترداد 99.57%، وحد الكشف و التكمم 0.104, 0.318 مكغم/مل [118].

قام الباحثان Nief R. and suhaib N. (2012) بتطويرطريقة (RP-HPLC) لتقدير الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (4.6 mm x 25Cm, 5µm) ، باستخدام مزيج من الميثانول:أسيتونيتريل:الماء (80: 10: 10) كطور متحرك وبمعدل تدفق 1.0 مل/ دقيقة. وعند 254 نانومتر. زمن الاحتجاز 2.4 دقيقة، (R^2 = 0.9998)، الخطية 0.08 - 0.8 مكغم/مل، حد الكشف و التكمم 6 و 18 مكغم/مل على التوالي[119].

استخدم الباحث Satyanarayana .M وآخرون (2014) طريقة (RP- HPLC) لتقدير كل الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (4.6 mm x 25Cm, 5µm)، مزيج الميثانول:الماء:(60:40) كطورمتحرك وبمعدل تدفق 1.0مل/دقيقة. زمن الاحتجاز 9.6 دقيقة، R^2=0.9999، الخطية 150-50 مكغم/مل، الاسترداد 98.9% للكوافينسين [120].

طور الباحث .Shereen A وآخرون (2019) طريقة RP- HPLC لتقدير الكوايفنسين. باستخدام عمود C18، وطور متحرك منظم: أسيتونيترايل(85:15) وسرعة جريان 1 مل/دقيقة، عند 270 نانومتر. الخطية 12–0.3 مكغم/مل، R^2=0.9995, الاسترداد 100.1%[121].

طبق الباحث .Prabha T وآخرون(2018) طريقة (RP- HPLC) لتقدير الكوايفنسين وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام طور متحرك من محلول منظم:أسيتونيترايل:الميثانول(65:10:25 v/v)، وبسرعة جريان 1مل/دقيقة، وعمود فصل C_{8-3} (4.6 x 250mm, 5µm)، عند 276 نانومتر. زمن الاحتجاز 9.949 دقيقة، الخطية 15-5 مكغم/مل، ومعامل الارتباط 0.9999، الاسترداد 98.45% الكوايفنسين [122].

قام الباحثان .Vishal .J and Mukesh .C (2015) بتطوير طريقة RP-HPLC لتقدير الكوايفنسين وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18}(4.6 x 250mm, 5µm)،عند 265 نانومتر،طورمتحرك ميثانول:أسيتونيترايل:محلول منظم(50:25:25, v/v/v). زمن الاحتجاز 9.432 دقيقة . R^2 0.9981، الخطية 10.0-60.0 مكغم/مل، الاسترداد 101.7%، وحد الكشف و التكمم 24.57,8.1 نانوغرام/مل الكوايفنسين [123] .

طورالباحث Hassan A.M. Hendawy وآخرون (2018) طريقة فولتامترية لتقدير كل من حامض الاسكوربيك، الباراسيتامول و الكوايفنسين وضمن التراكيب الصيدلانية . الخطية – 4.6 43.9 مكغم /مل، الاسترداد 100.35-99.12% للكوافينسين [124].

طبق الباحثان .Nada S و .Eglal A (2013) طريقة RP-HPLC لتقدير الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية. استخدام عمود C_{18} وطور متحرك من ميثانول:ماء (50:50 v/v)، سرعة جريان 1مل/دقيقة ، عند 210 نانومتر. الخطية 20 -1 مكغم/مل، R^2=0.9997،الاسترداد 99.81%، وحد الكشف و التكمم 1,0.2مكغم/مل[125].

استخدم الباحث Nehal F. Farid وآخرون (2014) طريقة RP-HPLC لتقدير الكوايفنسين ، في المستحضرات الصيدلانية. عند 270 نانومتر، وعمودC_{18}، وطور متحرك من

2- ميثانول:اسيتونيتريل ومحلول منظم (75:5:20v/v) ، وسرعة جريان 1.5مل/دقيقة.الخطية 100 مكغم/مل، ومعامل الارتباط 0.9998، و الاسترداد 99.88% [126].

5- قدر الباحث .Aysel .K (2014) الكوايفنسين طيفيا في المستحضرات الصيدلانية. الخطية 25 مكغم/مل ، ومعامل الارتباط 0.9794 ، الاسترداد 106.80% [127].

قدر الباحث.Mahmoud R وآخرون (2018) الكوايفنسين وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية بطريقة HPLC، عند 220 نانومتر، عمود فصل (C_{18}(150mm× 4.6mm, 5 µm)، وطور متحرك من الميثانول ومحلول بفر بنسبة (55:45v/v). فكانت نتائج الطريقتين HPLC و UV-VIS الخطية 100-40 50-5 مكغم/مل، ومعامل الارتباط 0.998، وحد الكشف والتكمم 11.664,3.499، [128].

قام الباحث H. W. DARWISH وآخرون (2016) بتطوير طريقة طيفية UV-VIS لتقدير كل من الدفنهيدرين، الكوايفنسين والفينيلفراين في المستحضرات الصيدلانية. عند 300-240 نانوميتر، الخطية للكوايفنسين بين 60-40 مايكروغرام/مل، ومعامل الارتباط R^2=0.9994 [129].

استخدم الباحث Hayun وآخرون(2017) طريقة (HPLC) لتقدير الكوايفنسين وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستعمال عمود (C_{18} (250 x 4.6 mm, 5 µm)، وطور متحرك من ميثانول – ماء (v/v 50-50)، سرعة جريان 1.0 مل / دقيقة،عند 218 نانوميتر. زمن الاحتجاز 5.3 دقيقة. الخطية 8.0 - 0.80 مكغم/مل، (R^2=0.999). حد الكشف 0.16 مكغم / مل، حد التكمم 0.55 مكغم /مل للكوافينسين [130].

طبق الباحث Gadipati .S. Raj وآخرون (2019) طريقة RP-HPLC لتقديركبريتات تيربوتالين و الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (C_{18} (4.6x250 mm 5µm)، وطور متحرك من الميثانول ومحلول منظم بنسبة (55:45 v / v)، بمعدل تدفق 1.5 مل / دقيقة، عند 280 نانومتر. زمن الاحتجاز 15.315 دقيقة، والخطية 39.6-93.1 مكغم/مل ، و R^2 0.9990 ، الاسترداد 99.88% للكوايفنسين [131].

قام الباحث Fatma Turak وآخرون (2015) بتطويرطريقة (UPLC) لتقدير الكوايفنسين وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (.100×2.1 mm, 1.7 µmi.d) و طور متحرك من0.1 مولاري HCl و الاسيتونايتريل و(50:50) ، سرعة جريان 0.38 مل/دقيقة , عند 220 نانوميتر. الخطية 80–5 مكغم/مل ، R^2 = 0.9997 الاسترداد 103.3% [132].

طبق الباحث K Praneet وآخرون (2016) طريقة RP-HPLC لتقدير كبريتات التيربوتالين و الكوايفنسين في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود (C_{18}(250 x 4.6 mm, 5 µm)، وتم استخدام الميثانول ومحلول منظم بنسب حجمية (45:55 % v/v)، وسرعة جريان 1.5 مل / دقيقة ، عند 280 نانومتر، زمن الاحتجاز 15.320 دقيقة، R^2 = 0.999 ، وحد الكشف 0.021 مكغم/مل ، وحد التكمم 0.065 مكغم/مل للكوافينسين. [133]

استخدم الباحث .Fawzi A وآخرون (2018) طريقة RP-HPLC لتقدير الكوايفنسين وادوية اخرى في المستحضرات الصيدلانية. باستخدام عمود C_{18}، وطور متحرك من حامض الخليك (pH=3.2): الأسيتونيتريل بنسبة (21:79v/v)، بمعدل تدفق 1 مل/دقيقة، عند273 نانومتر. الخطية 30-0.40 مكغم /مل، وR^2=0.9999، الاسترداد100.11% [134].

طور الباحث Eglal A. Abdelaleem وآخرون(2018) طريقةRP-HPLC لتقدير الكوايفنسين وادوية اخرى. باستخدام عمود C_{18} و الميثانول:ماء (يحتوي على 0.1٪ من ثلاثي إيثيل أمين): أسيتونيترايل (30:60:10،v/v) كطور متحرك وسرعة جريان 0.7 مل/دقيقة، عند 275 نانوميتر. زمن الاحتجاز لـ GUA 8.79 دقيقة. الخطية 37–2 مكغم/مل، وR^2 =0.9998، الاسترداد 100.29، وحد الكشف، وحد التكمم 0.586, 1.775 مكغم/مل على التوالي [135].

طبق الباحثان .Mazharhusen M. and Dhara R (2015) طريقة RP-HPLC لتقدير الكوايفنسين وادوية اخرى. باستخدام عمود (C_{18} (250 mm × 4.6 mm id, 5 µm، وطور متحرك من الميثانول:محلول منظم بنسبة (20-80v/v) (pH= 3)، معدل تدفق 0.8 مل/دقيقة، عند 230 نانومتر.زمن الاحتجاز 4.077 دقيقة. الخطية 135-60 مكغم/مل،وR^2 =0.9990، الاسترداد 98.08 %، وحد الكشف و التكمم 0.43, 1.33مكغم/مل [136].

5.1. الهدف من هذه الدراسة The Aim of this study

1. استحداث طرائق سريعة واقتصادية ودقيقة التطبيق لتقدير العقاقير الدوائية بحالتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية.
2. اختبار الظروف المثلى التطبيقية لهذه الطرق لغرض تطبيقها في المستقبل.
3. تطبيق هذه الطرق لتقديرالباراسيتامول، الكوايفنسين وحامض الميفيناميك في حالتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية بشكل مفرد او بشكل مزيج.
4. تطبيق طريقة مطيافية الاشعة فوق البنفسجية وهي احدى الطرائق المستخدمة لتقدير الباراسيتامول، الكوايفنسين وحامض الميفيناميك في الحالة النقية وفي المستحضرات الصيدلانية وبشكل مفرد.
5. تطبيق طريقة كرموتوغرافيا السائل عالي الاداء وهي احدى الطرق المستحدثة لتقدير لتقدير الباراسيتامول، الكوايفنسين وحامض الميفيناميك في الحالة النقية وفي المستحضرات الصيدلانية وبشكل مفرد وبشكل أمزجة ثلاثية.
6. تطبيق الطرق المستعملة في الظروف المثلى على العقاقير الدوائية في حالتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية بصورة مفردة وبشكل أمزجة ثلاثية.
7. تقديرالعقاقير الدوائية الثلاث باستخدام طرق تحليل اخرى مختلفة ومقارنة النتائج.