

A Flow Injection Chemiluminescences(FL-CL)Method for Determination of Diclofenac sodium(Voltaren) and Ethambutol HCl as Active ingredient and as pharmaceutical preparations

استخدام تقنية الحقن الجرياني المقترن بالبريق الكيميائي لتقدير عقاري الفولتارين والايثاموبوتول كمواد فعالة وكمركبات صيدلانية

عبدالباري مهدي ماهود /سهام توفيق امين/علي ابراهيم خليل
كلية الصيدلة-كربلاء/ كلية العلوم-تكريت/كلية الصيدلة-تكريت

الخلاصة:

يتضمن البحث استخدام تقنية الحقن الجرياني المقترن بالبريق الكيميائي لتقدير عقاري وهي الفولتارين والايثاموبوتول لنظام مكون من الكوبلت(II), H_2O_2 -لومينول إذ يحفز أيون الكوبلت (II) أكسدة اللومينول بوساطة بيروكسيد الهيدروجين معطياً بريقاً أزرقاً، أما عند وجود المركبات الدوائية فيتفاعل أيون الكوبلت(II) بسرعة مع هذه المركبات مكوناً معقدات غير فعالة حاجباً تأثير أيون الكوبلت (II) كعامل تحفيزي لذلك يحصل إخماد للبريق الكيميائي بشكل يتناسب مع كمية المركب الدوائي المضاف.

ودرس الظروف الفضلى للتقدير ووجدت كالاتي:- حامضية محلول أيون الكوبلت(II) 5×10^{-3} مولاري، تركيز ايون الكوبلت(II) 0.7 مايكروغرام/مل، تركيز اللومينول 5×10^{-4} مولاري، تركيز بيروكسيد الهيدروجين 1×10^{-2} مول/لتر، حجم ايون الكوبلت 200 مايكروليتر، سرعة الجريان 3.0 مل /دقيقة لتعطي أعلى شدة للبريق .

وأظهرت المركبات الدوائية قيد البحث تثبيطاً للبريق وتبين عدم وجود تداخلات من قبل الفصائل الموجودة في تركيبة المستحضرات الدوائية التي درست وكانت خطية التركيز للعقار فولتارين ($3.1 \times 10^{-6} - 2.8 \times 10^{-5}$) مول/لتر وللعقار ايثاموبوتول ($3.6 \times 10^{-6} - 2.1 \times 10^{-5}$) مول/لتر أي ما يعادل (0.985-8.904) (0.990-5.812) مايكروغرام/مل على التوالي.

أما الانحراف القياسي النسبي RSD% فبلغ (0.463%)، (0.78%) على التوالي أما حدود الكشف فكانت (1.3×10^{-6}) (1.1×10^{-6}) مول/لتر أي ما يعادل (0.420، 0.321) مايكروغرام/مل للعقارين أعلاه على التوالي.

وتم تطبيق الطريقة على المستحضرات الصيدلانية الحاوية على المادة الدوائية بهيئة أقراص فولتارين، وأقراص ايثاموبوتول، وبطريقة منححن المعايرة المباشر وبلغت النسبة المئوية للاسترداد كما يأتي (98.480%) (97.510%) لهذه العقاقير على التوالي.

Abstract:

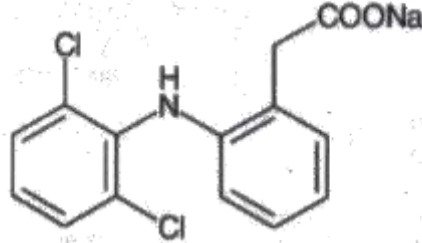
Chemiluminescences method was based on inhibition the chemiluminescence of luminol-hydrogen peroxide system catalyzed by cobalt ion Co^{+2} which produces a blue luminescence .In the presence of drugs, cobalt ion(II) reacts immediately with drugs forming inactive complex preventing the catalytic effect of cobalt(II)ion. In this case an inhibition of the (CL) occurs which is proportional to the amount of the drug added. Optimum conditions obtained as follow: acidity of Co^{+2} (5×10^{-3} M), concentration of Co^{+2} (0.7 μ g/ml), concentration of luminol(5×10^{-4} M), concentration of H_2O_2 (1×10^{-2} M), volume of Co^{+2} (200 μ l), flow-rate (3.0 ml/min).

The investigate material show no interference effect on the determination of studied drugs, thus the method of direct calibration graph was applied.

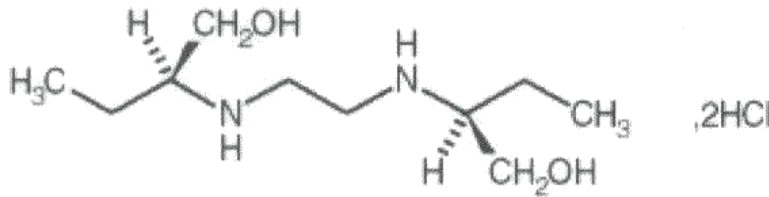
The linearity of this method for the determination of D.S, ET drugs were in the range(0.985-8.904) (0.990-5.812) (μ g/ml, with relative standard deviation RSD% (0.463 , 0.781 %) and detection limits (0.420 , 0.321) μ g/ml respectively .The method was applied successfully for the determination of D.S, ET in pharmaceutical preparations with recovery values of 98.480% , 97.510 % respectively .

المقدمة:

استخدم العقار (فولتارين) Diclofenac Sodium لمعالجة الآلام الحادة و التهاب المفاصل المزمن، والتواء العمود الفقري، والتهابات الرئوية لدى اليافعين ومعالجة داء النقرس، وعسر الطمث. أما محاذيره فلا يعطى للأشخاص الذين لديهم فرط حساسية كذلك يستخدم بحذر للمرضى الذين لديهم عجز في القلب⁽¹⁾.



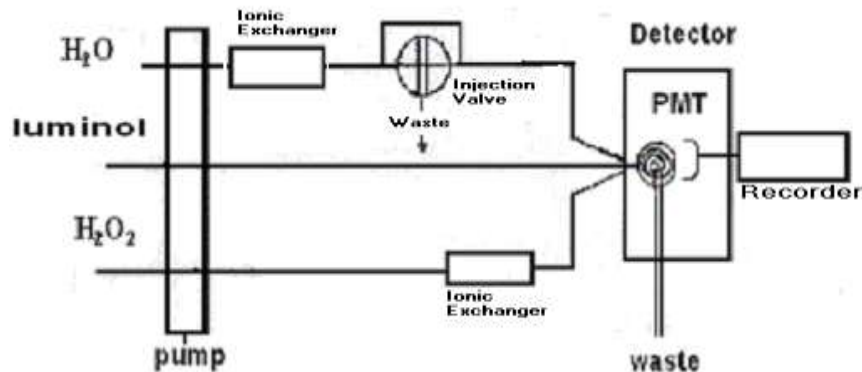
أما العقار إيثامبوتول Ethambutol Hydrochloride فيستخدم لعلاج مرض التدرن، أما التأثيرات الجانبية فيسبب ألم في الرأس وارتباك وارتفاع نسبة حامض اليوريك في الدم أما محاذيره فلا يعطى للمرضى الذين لديهم مرض فرط الحساسية^(1,2) قدر العقار Diclofenac Sodium بعدة تقنيات ومنها استخدام الأقطاب الانتقائية⁽³⁾ باستخدام الترحيل الكهربائي الشعري Capillary electrophoresis^(4,5)، وكذلك استخدام كاشف الأشعة فوق البنفسجية (UV)⁽⁶⁻⁸⁾ وكذلك استخدام تقنية الفلورة والطرق الطيفية Spectrofluorometric⁽⁹⁾ وكذلك استخدام تقنية الحقن الجرياني مع جهاز المطياف الضوئي Flow Injection-Spectrophotometric⁽¹⁰⁾ واستخدمت تقنية HPLC مع الديليزة المايكرونية (Micro dialysis) وباستخدام العمود C₁₈⁽¹¹⁾ وقدرة كذلك باستخدام تقنية HPLC المقترنة مع تقنية طيف الكتلة (MS)⁽¹²⁾. وقدرة العقار Ethambutol Hydrochlorid بعدة طرق منها باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الغاز السائل GLC⁽¹³⁾ وباستخدام تقنية الأقطاب الانتقائية⁽¹⁴⁾ وكذلك باستخدام تقنية الغاز السائل GLC المقترنة مع تقنية الكتلة MS⁽¹⁵⁾ وكذلك استخدمت تقنية Rp-HPLC الطور العكوس وعلى العمود Lichrosorbsi-6⁽¹⁶⁾ وكذلك باستخدام الطرق اللونية باستخدام كلوريد النحاس وكذلك استخدام حامض البكريك^(17,18) واستخدمت تقنية الامتصاص الذري⁽¹⁹⁾.



يتضمن البحث الحالي تقدير العقارين باستخدام تقنية الحقن الجرياني المقترنة بالبريق الكيميائي وهي طريقة بسيطة ودقيقة وغير مكلفة.

المواد والأجهزة المستخدمة في البحث:

جميع المواد التي استخدمت في البحث هي كواشف تحليلية عالية النقاوة ومن إنتاج شركة Fluka أما الأجهزة فقد استخدمت منظومة الحقن الجرياني المقترنة مع البريق الكيميائي المصنعة محليا وتتألف المنظومة كما موضح في الشكل من أجزاء عدّة منها خزانات المذيبات والكاشف نوع (photomultiplier tube-sp8-300 pye unicom) والمضخة التمعجية نوع (peristaltic pump-PLC model 132100) وصمام الحقن نوع (Rheodyne) وأعمدة المبادلات الأيونية ومسجل الإشارة -Detector (PM8251-philips) إضافة الى مجهز القدرة .





الجزء العملي Experimental

حضرت المواد ادناه وبتراكيز مختلفة ومنها حضرت بقية التراكيز بالتخفيف بالماء المقطر الخالي من الايونات.

1-كاربونات الصوديوم Na_2CO_3 بتركيز 0.1 مول/لتر .

تحضر بإذابة (21.2)غم من كاربونات الصوديوم في قليل من الماء المقطر ويكمل الحجم الى العلامة في قنينة حجمية سعة 2 لتر .

2-اللومينول Luminol بتركيز 0.001 مول/لتر.

يحضر بإذابة (0.3543) غرام من اللومينول في حجم قليل من محلول كاربونات الصوديوم (0.1) مولاري ويكمل الحجم الى 2 لتر بنفس المحلول الأخير للحصول على $\text{pH}=11.5$ ومن هذا المحلول تحضر سلسلة من المحاليل بالتخفيف بواسطة محلول 0.1مولاري Na_2CO_3 وتحفظ في قناني داكنة اللون .

3-اوكزالات الصوديوم بتركيز 0.1 مول/لتر Sodium oxalate

حُضِرَ بإذابة (13.39)غم من $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ في قليل من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى العلامة في قنينة حجمية سعة 1 لتر .

4-محلول أيون الكوبلت (Co^{+2}) بتركيز 100ملغم/مل

تم تحضير (100) ملغم/مل من محلول أيون الكوبلت وذلك بإذابة (0.4039) غم $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ في قليل من محلول حامض الكبريتيك المخفف بتركيز 5×10^{-3} مول/لتر وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة داخل قنينة حجمية سعة 1 لتر ومن المحلول السابق تم تحضير سلسلة من المحاليل المخففة.

5-برمنكنات البوتاسيوم KMnO_4 بتركيز 0.1 مول/لتر

أذيب (15.8024) غم من KMnO_4 في قليل من الماء المقطر وفي قنينة حجمية سعة 1 لتر ثم أكمل الحجم الى العلامة بالماء المقطر ، وتم غلي المحلول لفترة 15 دقيقة بعدها تم ترشيحه باستخدام الصوف الزجاجي (glass wool) ووضع الراشح الناتج في قنينة حجمية سعة 1 لتر وأكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر ، سحح المحلول بعدها مع محلول قياسي 0.1 مول/لتر من اوكزالات الصوديوم لإيجاد التركيز المضبوط لبرمنكنات البوتاسيوم وحفظ المحلول في قنينة داكنة اللون .

6-حامض الكبريتيك Sulphuric acid بتركيز 0.1 مول/لتر .

لتحضير 0.1 مول/لتر يتم سحب 5.5مل من حامض H_2SO_4 المركز 96% ووزنه النوعي 1.84 غرام .مل⁻¹ وتضاف الى كمية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى العلامة في قنينة حجمية سعة 1 لتر ومنه يتم تحضير سلسلة من المحاليل .

7-بيروكسيد الهيدروجين : Hydrogen peroxide 1.0مول/لتر .

تم سحب 11.6 مل من بيروكسيد الهيدروجين 35% الوزن النوعي 1.13غم.مل⁻¹ ووضع في قنينة حجمية سعة 1 لتر وأكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر و حفظ المحلول في قنينة داكنة وفي مكان بارد ومنه حضرت بقية المحاليل بالتخفيف للمحلول المحضر .

8--صوديوم ثنائي كلوفيناك 100مايكروغرام/مل Diclofenac sodium

حضر بإذابة 0.010غم من المادة الفعالة (التي جهزت من الشركة العامة لصناعة الأدوية (S.D.I) في قليل من الماء المقطر ثم أكمل الحجم الى العلامة في قنينة حجمية سعة 100مللتر ، ومن هذا المحلول تم تحضير سلسلة من المحاليل القياسية بمدى يتراوح بين (1-10) مايكروغرام/مل

9-ايشاموبيتول 100مايكروغرام/مل Ethambutol

أذيب (0.010) غم من المادة الفعالة في قليل من الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مل و أكمل الحجم الى العلامة بالماء المقطر وتم تحضير سلسلة من المحاليل القياسية (1-10) مايكروغرام /مل

10-محاليل المواد المتداخلة حضرت حسب الجدول الاتي

جدول (1) محاليل الفصائل المتداخلة بتقنية الحقن الجرياني المقترن بالبريق الكيميائي.

المجهز Supplier	التركيز mg/ml	المادة المضافة Added species
S.D.I	1000	Lactose
S.D.I	1000	Maize starch
S.D.I	200	P.H.P
S.D.I	200	M.H.P
S.D.I	220	Gelatin
S.D.I	1000	Sodium saccharin
S.D.I	200	Sucrose
S.D.I	200	Aerosol
S.D.I	230	Mg-stearate

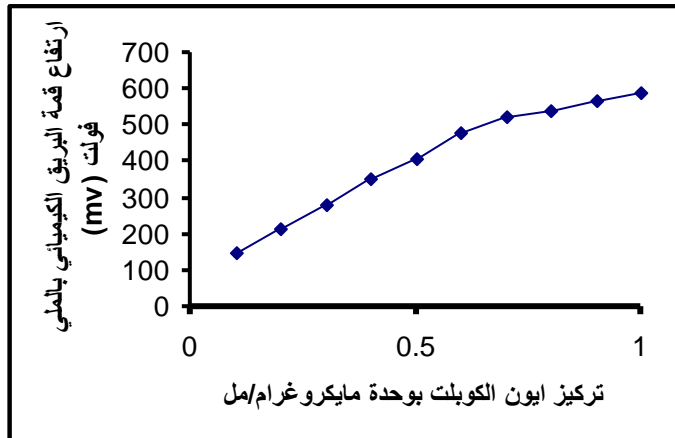
الاستنتاج والمناقشة:

1-اختيار الظروف الفضلى للتقدير .

بدأ بالظروف التجريبية الآتية تم دراسة العوامل التي تؤدي الى أعلى شدة للبريق واقل استهلاكاً للمواد الكيميائية. تركيز اللومينول 5×10^{-4} مول/ لتر. تركيز بيروكسيد الهيدروجين 0.01 مول/لتر. تركيز أيون الكوبلت (Co^{+2}) من (0.7) مايكروغرام/مل. تركيز حامض الكبريتيك المستخدم لإذابة ايون الكوبلت 5×10^{-4} مول/لتر. سرعة الجريان 3مل/دقيقة. حجم محلول أيون الكوبلت المحقن 200 مايكرو لتر.

2.اختيار تأثير تركيز لأيون الكوبلت (II) .

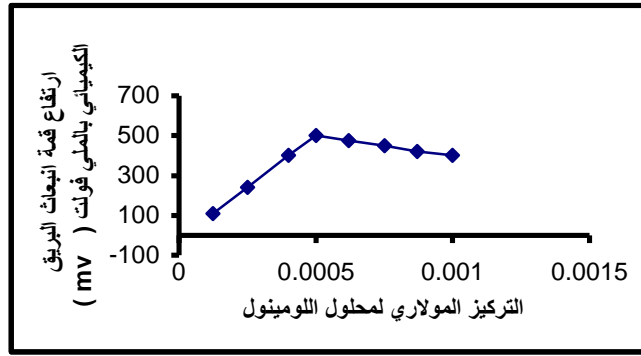
اختير أيون الكوبلت (II) كأفضل أيون فلزي يمكن استخدامه في تقدير المركبات العضوية الدوائية باعتباره أقوى الأيونات المحفزة للبريق مع بيروكسيد الهيدروجين في المحيط القاعدي (20-22) , ولقد تم اختيار تركيز 0.7 مايكروغرام/مل كأفضل تركيز لأيون Co^{+2} لأنه يعطي أعلى شدة للبريق.



شكل (1) العلاقة بين تركيز أيون الكوبلت Co^{+2} وشدة البريق.

3.دراسة تأثير تركيز لمادة اللومينول .

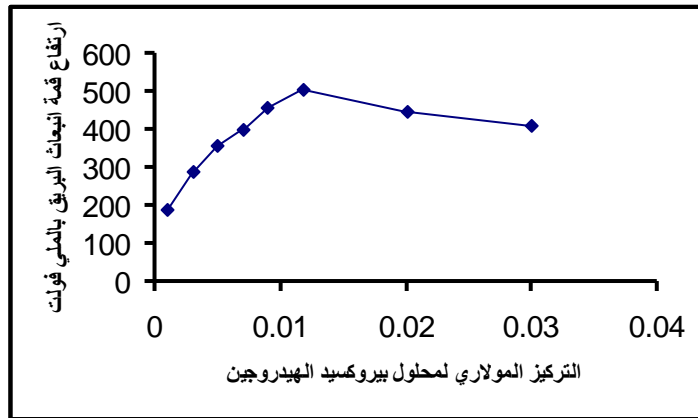
تمت دراسة تأثير تركيز اللومينول على شدة البريق الكيميائي بتغيير تركيز اللومينول في مدى يتراوح بين $(1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-3})$ مول/لتر وعند تثبيت جميع المتغيرات كما هو موضح في شكل (2) الذي يوضح العلاقة بين التغيير في تركيز اللومينول مع شدة البريق . إذ يلاحظ ان شدة البريق تزداد كلما ازداد تركيز اللومينول مع ملاحظة النقصان في الشدة عند التراكيز العالية من محلول اللومينول وهذا قد يعزى الى تكوين معقد بين أيون الكوبلت (II) المحفز وجزيئة اللومينول الزائدة إذ يمكن ان يعمل اللومينول كليكاند ثنائي السن^(24,23) وهذا بدوره يؤدي الى استهلاك أيونات الكوبلت (II) المحفز وبذلك يقلل من تأثيره التحفيزي وبالتالي يقلل من انبعاث البريق , ولقد تم اختيار التركيز (5×10^{-4}) مول/لتر كأفضل تركيز للومينول.



شكل (2) العلاقة بين تركيز اللومينول وشدة البريق.

4-دراسة تأثير تركيز لبيروكسيد الهيدروجين.

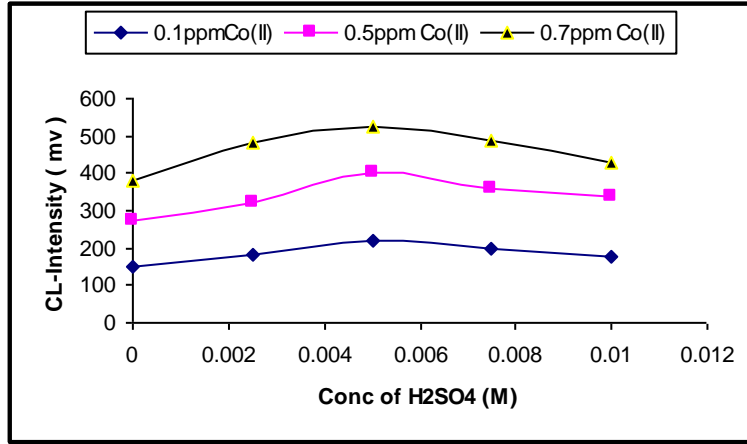
يبين الشكل (3) التغيير في شدة البريق مقابل التغيير في تركيز بيروكسيد الهيدروجين ويلاحظ ان هناك زيادة في شدة البريق بشكل مفاجئ وهذا السلوك متوقع حسب البحوث المنشورة^(25, 22) ولقد تبين ان افضل تركيز من خلال النتائج هو 0.01 مول/لتر من H_2O_2 كأفضل تركيز لإعطاء أعلى شدة للبريق لذا تم اعتماده في التجارب اللاحقة .



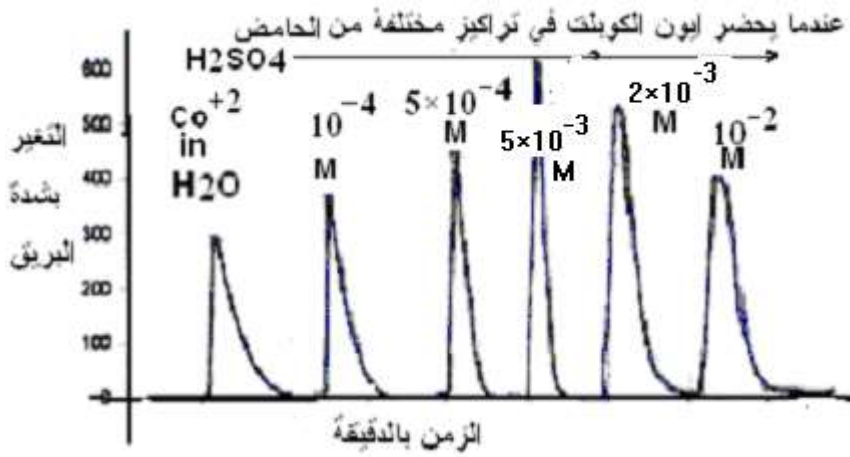
شكل(3) العلاقة بين تركيز بيروكسيد الهيدروجين وشدة البريق.

5.تأثير حامضية أيون الكوبلت (II) المحقن .

يوضح الشكل (4) والشكل (5) تأثير حامضية المحلول المائي الذي أُذيب فيه أيون Co^{+2} إذ تم انتخاب تأثير عدة تراكيز من حامض الكبريتيك (0.0 - 2×10^{-2}) مولاري لإذابة ثلاثة تراكيز مختلفة (0.1، 0.5، 0.7) مايكوغرام /مل من أيون الكوبلت (Co^{+2}) بثبوت تركيز اللومينول وبيروكسيد الهيدروجين والمتغيرات الأخرى كما حدد في الفقرة 1, ويبدو من الأشكال ان هناك ارتفاعاً في شدة البريق عند تركيز 5×10^{-3} مولاري كما ان هناك عرضاً في قواعد القمم في حالة عدم وجود الحامض وبناءً عليه تم اختيار التركيز السابق التركيز الامثل , والسبب في ذلك لأن تفاعلات أكسدة اللومينول تزداد بزيادة حامضية الوسط^(26,22) إضافة الى ان وجود الأوكسجين الجزيئي المذاب في الماء لا يحفز أكسدة اللومينول⁽²¹⁾ .



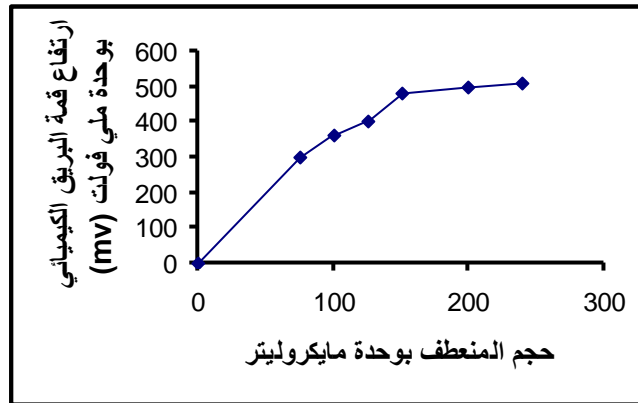
شكل (4) العلاقة بين تركيز حامض الكبريتيك المستخدم في إذابة أيون الكوبلت وبين شدة البريق.



شكل (5) تأثير حامضية أيون الكوبلت (Co^{+2}) 0.7 مايكروغرام/مل على عرض قواعد القمم .

6. دراسة تأثير حجم أيون الكوبلت (II) المحقن .

عند تثبيت جميع المتغيرات التي تؤثر على شدة البريق كما حددتها الظروف التجريبية إذ تم دراسة تأثير حجم أيون الكوبلت (II) المحقن على شدة البريق وذلك بتغيير طول المنعطف للصمام الدوراني للمحلول على حجوم مختلفة (75، 100، 125، 150، 200، 240) مايكروليتر إذ أظهرت الدراسة كما مبين في الشكل (6) أنه كلما يزداد حجم محلول أيون الكوبلت (II) تزداد شدة الانبعاث وهذا السلوك متوقع حسب ما موضح في الأدبيات^(24,22) إذ إن زيادة حجم محلول أيون Co^{+2} يؤدي إلى زيادة سرعة وشدة البريق , كذلك لوحظ انه كلما يزداد حجم النموذج يزداد الزمن اللازم للتحليل الواحد الذي يرافقه زيادة في عرض قواعد القمم كما موضح في الجدول (2) والشكل (6) , وبناء على هذه الملاحظات وبإعطاء الأفضلية للحساسية تم اختيار حجم (200) مايكروليتر كأفضل حجم لمحلول أيون الكوبلت (II) المحقن .



شكل (6) تأثير حجم محلول أيون الكوبلت (Co^{+2}) المحقن على شدة البريق الكيميائي .

جدول (2) تأثير حجم محلول أيون الكوبلت (II) على زمن التحليل وعرض قواعد القمم.

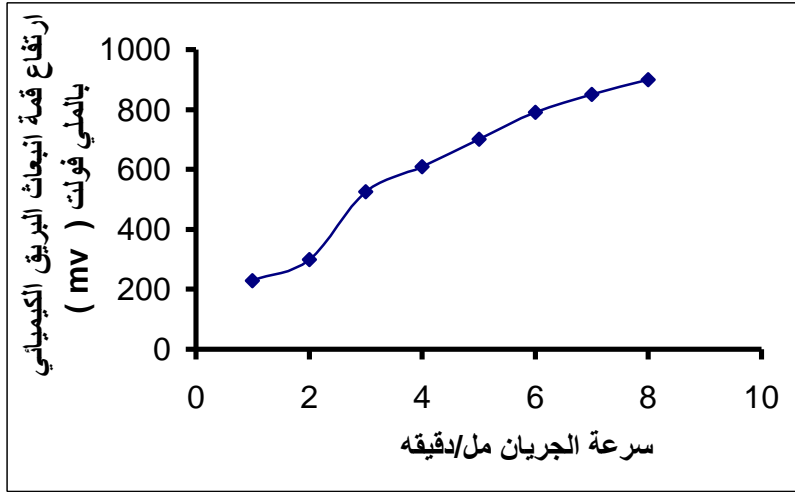
عرض قاعدة القمة mm	زمن التحليل بالثانية	حجم النموذج μL
8.5	35	75
10.5	40	100
13.1	45	125
15.5	50	150
16.2	55	200
19.0	62	240

7. تأثير سرعة الجريان على شدة البريق .

يوضح الشكل (7) تأثير معدل سرعة الجريان على شدة البريق الكيميائي وذلك باستخدام الظروف الفضلى للتقدير التي تم التوصل إليها في الفقرات السابقة , و يتبين من الشكل أنه بزيادة سرعة الجريان تزداد الشدة وهذا راجع الى كون تفاعلات الأكسدة المحفزة سريعة جداً (27,22) بحيث يتم الوصول الى حالة الاتزان قبل مغادرة المحلول خلية البريق الكيميائي فكمية المحفز التي تدخل الخلية في وحدة الزمن تتناسب مع كمية الضوء المنبعث كما يتناقص زمن التحليل وعرض قواعد القمم مع زيادة سرعة الجريان , وكما مبين في الجدول (3) ولغرض الاقتصاد في استهلاك الكاشف تم اختيار 3.0 دقيقة/مل أفضل سرعة جريان .

جدول (3) تأثير سرعة الجريان على شدة الانبعاث وزمن التحليل وعرض قواعد القمم عندما كان تركيز أيون الكوبلت (Co^{+2}) 0.7 مايكروغرام/مل

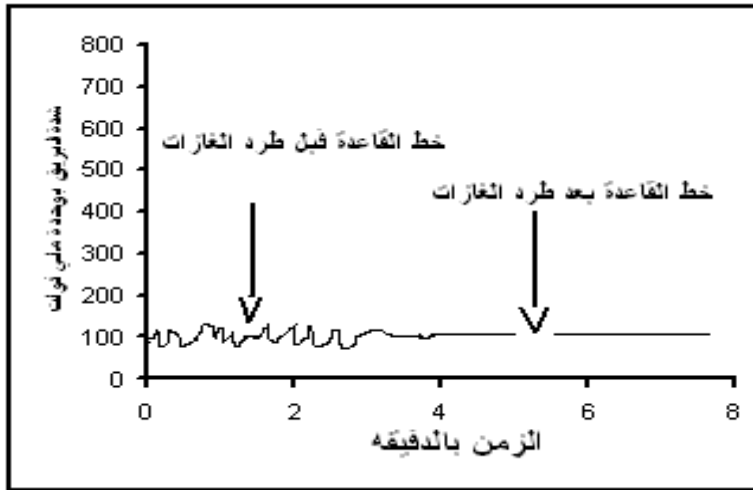
عرض قواعد القمم بوحدة ملي متر	زمن التحليل (ثانية)	ارتفاع القمة (mv)	سرعة الجريان مل/دقيقة
24	85	228	1.0
18	65	300	2.0
16	53	500	3.0
8	40	610	4.0
7	35	700	5.0
6	30	790	6.0
5	26	850	7.0
4	20	900	8.0



شكل (7) تأثير سرعة الجريان على شدة البريق.

8. دراسة تأثير الغازات المذابة في المحاليل المحضرة .

يوضح الشكل (8) تأثير الغازات المذابة في المحاليل على منظومة كشف البريق . إذ تبين من الشكل عدم استقرار خط القاعدة في حالة عدم طرد الغازات وذلك لان هذه الغازات قد تؤثر على المتحسسات الطيفية^(28,22) أما في حالة طرد الغازات من المحاليل المستخدمة في المنظومة بواسطة حمام الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic Bath نلاحظ استقرار خط القاعدة في المسجل ويتم الحصول على نتائج تطابقية وزيادة في الحساسية .



شكل(8) تأثير الغازات المذابة على المحاليل المحضرة.

9. قياس درجة التخفيف⁽²⁸⁾ .

من الواضح أن تقنية الحقن الجرياني تتأثر بالتخفيف الآتي من ربط أعمدة المبادلات الأيونية وأعمدة الاستقرار ولمعرفة مدى تأثير ذلك تم حساب درجة التخفيف في حالة وجود وعدم وجود أعمدة المبادلات الأيونية وذلك حسب العلاقة التالية :

$$D = H_0 / H_{max}$$

إذ تمثل D درجة التخفيف

H_0 شدة البريق للمحلول المائي لأيون الكوبلت (بوحدة ملي فولت) عند إمراره بدلاً من التيار الحامل عند الوصول الى حالة الاتزان.

H_{max} شدة البريق لأيون الكوبلت المحقن في التيار المائي (بوحدة ملي فولت) قبل وبعد وضع الأعمدة.

إذ تم استخدام ثلاثة تراكيز لأيون الكوبلت وبمقارنة النتائج نلاحظ ان هناك تأثيراً قليلاً على درجة التخفيف كما موضحة في جدول (4).

جدول(4)درجة التخفيف قبل وبعد وضع الأعمدة.

الحالة التي تم عندها القياس	تركيز أيون الكوبلت بوحدة $\mu\text{g/ml}$	درجة التخفيف D	معدل درجة التخفيف
قبل وضع الأعمدة	0.1	1.700	1.693
	0.3	1.684	
	0.7	1.697	
بعد وضع الأعمدة	0.1	1.744	1.731
	0.3	1.732	
	0.7	1.719	

10. الظروف الفضلى لتقدير المركبات الدوائية في منظومة البريق الكيميائي.

جدول (5) الظروف الفضلى للتقدير في منظومة البريق الكيميائي.

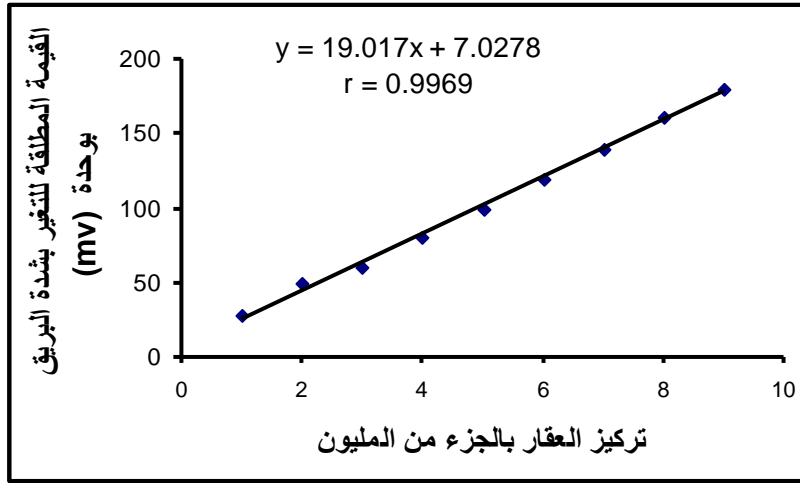
القيم الفضلى	المتغيرات
5×10^{-4} مولاري	تركيز اللومينول
1×10^{-2} مولاري	تركيز بيروكسيد الهيدروجين
0.7 مايكروغرام/مل	تركيز أيون Co^{+2}
5×10^{-3} مولاري	تركيز حامض الكبريتيك
3.0 مل/دقيقة	سرعة الجريان
200 مايكرو لتر	حجم أيون الكوبلت

11. منحنى المعايرة في تقدير المركبات الدوائية .

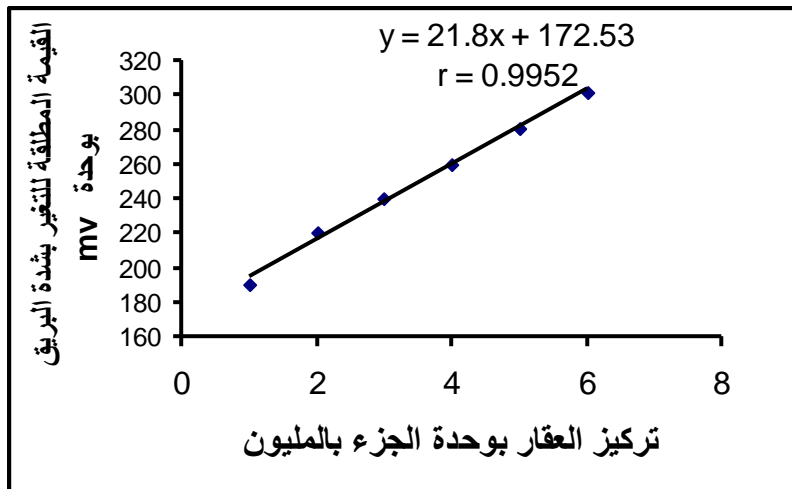
تم رسم العلاقة بين التغير في تراكيز العقاقير ET, D.S والتغير في شدة البريق كما مبين في الأشكال (9, 10) بالمقارنة مع شدة البريق لأيون الكوبلت (II) 0.7 مايكروغرام/مل ولوحظ أن هناك انخفاضا في شدة البريق نتيجة للعمل التثبيطي للمركبات الدوائية التي درست وقد كانت استجابة العقار D.S خطية بين $(3.1 \times 10^{-6} - 2.8 \times 10^{-5})$ مول/لتر أي ما يعادل $(0.985-8.904)$ مايكروغرام/مل وكانت معادلة الخط المستقيم (linear regression equation) $y = 19.017x + 7.0278$. أما حد الكشف فكان (1.3×10^{-6}) مول/لتر أي (0.42) مايكروغرام/مل , وكان الانحراف القياسي النسبي RSD % لتتركيز (1.88×10^{-5}) مولاري أي ما يعادل (6.0) مايكروغرام /مل هو 0.464 % .
ويظهر منحنى العقار ET استجابة خطية بين $(3.6 \times 10^{-6} - 2.1 \times 10^{-5})$ مول/لتر أي $(0.99-5.812)$ مايكروغرام/مل أما معادلة الخط المستقيم فكانت $y=21.8x + 172.53$ وقد بلغ حد الكشف (1.1×10^{-6}) مول/لتر أي ما يعادل (0.321) مايكروغرام/مل أما الانحراف القياسي النسبي RSD % فكان 0.78 % لتتركيز (1.08×10^{-5}) مول/لتر أي (3.0) مايكروغرام /مل . والنتائج موضحة في جدول(6).

جدول (6) المعادلات الخطية والمدى الخطي للتركيز وحد الكشف لتقدير العقاقير D.S, ET , بطريقة الحقن الجرياني المقترن بالبريق الكيميائي.

اسم العقار	المعادلة الخطية	قيمة r	حدود الخطية مايكروغرام /مل	حد الكشف مايكروغرام/مل
Diclofenac sodium	$y=19.01x+7.02$	0.9969	8.904-0.985	0.420
Ethambutol	$y=21.8x+172.53$	0.9952	5.815-0.99	0.321



شكل (9) منحنى معايرة تقدير عقار (D.S) بالتأثير الاخمادي للبريق الكيميائي لنظام $Co(II) + Luminol+H_2O_2$



شكل (10) منحنى معايرة تقدير عقار (ET) بالتأثير الاخمادي للبريق الكيميائي لنظام $Co(II) + Luminol+H_2O_2$

12. دراسة تأثير المتداخلات (29).

هناك عدة مواد كيميائية تضاف الى تركيبة الدواء فضلا عن المادة الفعالة لأجل المساعدة على إذابة المادة الفعالة ، وإزالة الطعم المر والسيطرة على الحامضية ، او كمواد حافظة او كمواد مفتتة للحبة او للمساعدة على كبسها بشكل جيد وعدم زيادة هشاشية القرص او كمواد حاملة مثل النشا أو اللاكتوز إضافة الى بعض المواد اللاعضوية الأخرى. لذا فالنتقدير الكمي يعتمد على إزالة المتداخلات أولا وقد تم اعتماد طريقة استخلاص المواد العضوية واللاعضوية غير الذائبة بمذيب عضوي كالميثانول . أما الأيونات السالبة والموجبة فتمت معالجتها باستخدام مبادلات أيونية موجبة وسالبة تمر عليها المحاليل قبل دخولها خلية الجريان . وكان من الصعوبة إيجاد تركيز المواد المضافة في المستحضر الصيدلاني، لأن ذلك يدخل ضمن أسرار الشركات الدوائية ، لذا فقد تم دراسة تأثير هذه المتداخلات على نتائج التقدير الكمي وذلك بإذابة المواد المتداخلة وتركيز (20-100) مايكروغرام/مل في المحلول المائي لأيون الكوبلت 0.7 مايكروغرام/مل إضافة الى احتواء المحاليل على تركيز ثابت (3) مايكروغرام/مل من كل مادة فعالة ودوائية وبعد إجراء عمليات التحليل للمواد المحضرة ، سجلت الاستجابات (الفروق في شدة البريق الكيميائي) و تم حساب نسبة الخطأ (لمعدل خمس قراءات) نسبة الى الزيادة الحاصلة في شدة البريق و الجدول (6) يبين نوع الفصل المدروس ومقدار الخطأ .

جدول (6) تأثير المواد المتداخلة على شدة البريق الكيميائي لتقدير المركبات الدوائية المحضرة بتركيز (3) مايكروغرام/مل.

الفصل المتداخل Interference	تركيز الفصل المتداخل µg/ml	شدة البريق (m.v) Co ⁺²	نسبة الخطأ %Er في تقدير العقار	
			D.S	E.T
Lactose	100	510	0.1	0.1
starch	100	515	0.2	0.1
M.H.B	20	512	0.2	0.2
P.H.B	20	513	0.6	0.2
Gelatin	100	510	0.5	0.6
Sodium saccharin	20	515	0.5	0.5
Aresoil	20	519	0.2	0.5
Mg-stearate	20	513	0.4	0.2
sucrose	100	514	0.1	0.1

13. الدقة والضبط لطريقة تقدير المركبات الدوائية .

تم حساب الدقة والضبط (Accuracy and precision) لتقدير المركبات الدوائية قيد البحث وذلك من خلال حساب الاسترجاعية (Recovery) والانحراف القياسي النسبي % RSD والخطأ النسبي % Er إذ وجد أن الطريقة ذات معدل استرجاع عالي وذات توافق مرض وإن قيمة (t) المحسوبة أكبر بكثير من الجدولية وهذا يدل على حساسية الطريقة كما مبين في جدول (7) و جدول (11) .

جدول (7) الدقة والضبط في تقدير المركبات الدوائية.

Drug	تركيز المحقون μgml^{-1}	معدل القراءة* μgml^{-1}	RSD%	Recovery%
Diclofenac sodium	2.00	1.97	0.60	98.50
	6.06	5.97	0.46	98.51
	8.07	7.97	0.23	98.76
Ethambutol	1.00	0.99	0.25	99.00
	3.01	2.96	0.78	98.33
	6.03	6.00	0.19	99.50

*معدل خمس قراءات.

جدول (8) معادلة الخط المستقيم ومعامل الارتباط والانحراف القياسي للانحدار والميل واختبار (t) المحسوب والجدولي لتقدير العقاقير ET ، D.S حسب طريقة الحقن الجرياني المقترن بالبيريقي.

العقار	اختبار t ذو الجانبيين الجدولي (%95)	اختبار t ذو الجانبيين المحسوب	الانحراف القياسي للميل (Sb)	الانحراف القياسي للانحدار Sr
Diclofenac sodium	2.517	105.24	0.324	1.26
Ethambutol	2.517	27.06	0.765	2.97

14 . التطبيقات Application .

طبقت الظروف الفضلى التي تم الحصول عليها لتقدير كل عقار وتم تحضير التراكيز التي تخضع لقانون بير لامبرت وطبقت المعادلات التي تم الحصول عليها للحصول على تركيز النموذج وأظهرت النتائج دقة عالية بالمقارنة مع المحتوى الأصلي إذ تراوحت قيم الاسترجاع النسبي (97.40-98.80%) أما قيمة الانحراف القياسي النسبي RSD % فكانت (0.321-0.991) أما قيمة الخطأ النسبي فكان (-2.48) - (1.20) كما مبينة في جدول (9) إذ يظهر الجدول النتائج المستحصلة من تقدير المستحضرات الصيدلانية من الوحدات الإنتاجية والمستوردة .

جدول (9) النتائج المستحصلة من تقدير المستحضرات الصيدلانية ET ,D.S من الوحدات الإنتاجية المحلية والمستوردة بطريقة

الحقن الجرياني المقترن بالبيريقي .

Pharmaceutical preparation	Drug* content found mg	الخطأ النسبي المئوي (Er%)	الاستردادية Rec%	RSD%
Diclofenac sodium(25mg)	24.62	-1.52	98.48	0.321
Ethambutol (250mg)	243.79	-2.48	97.51	0.412

*for six determinations

المصادر:

- 1- **British National Formulary** (BNF) No. 35 , published by the British Medical Association Royal Pharmaceutical Society of Great Britain,1998.
- 2- "**United State Pharmacopeia**"USP 28, **2005**, United States Pharmacopeial Convention, INC. Asian Edition.
- 3-S.S.M. Hassan, R.M. Abdel-Aziz and M.S.Abdel-Samad ; **Analyst**, 1994, **119**(9) 1993-1996.
- 4- Santini. A.O, Pezza. H.R&Pezza. L, **Talanta**. 2006, **68**, 636.
- 5- M. H, **J. Pharm. Biomed. Anal.** 2005, **39**, 315.
6. M.S.A. Prado , M. Steppe and M.F.M. Tavares ; **J. Capillary Electrophoresis** , 1999, **6**(3-4) 125 – 129,.
- 7- Chasemi .J, Niazi. A& Ghobadi. S,**Pharm. Chem. J.** 2005, **39**, 671.
- 8- Mazurek. S& Szostak. R, **J. Pharm. Biomed. Anal.** 2006, **40**, 1235.
- 9-. P.C. Damian ; M. Bearzotti ; M.A. Cabenzon & A.C. Olivieri ; **J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis** , 1999, **20**(3)(587-590), Argentina , .
- 10- S. Garcia , C. Sanchez-Pedreno and J. Albero ; **Micromol. Acta** , 2001,**136** (1-2) , 67 – 71 , Spain , .
- 11- S.C. Liu ; T.H. Tsai ; **J. Chromatogr. B: Anal. Technol. in Biomed. Sciences** , 2002,**769**(2) , 356 . Taiwan , .
- 12- B.X. Mayer , K. Namiranian , P. Dehyihanyar and R.Stroh **J. Pharm and Bio. Anal** , , 2003 ,**33** , 4 , 745 – 754.
- 13-J.N Miceli , D.M. Ryan and A.K. Done ; **Chromatogr. News**, **1979**, 7,2 , 9 -11, .
- 14- K. Ohya, S. Shintani and M. Sano;**J. chromatogr.**, 1980 , **224**, 293 – 299, .
- 15- M.R.Holdiness, Z.H.Israili and J.B. Justice; **J. Chromatogr. Biomed. Appl.**, 1981 ,**13**(224) 414 – 422, .
- 16- C.Lacroix,F.Cerutti and J. Nouveau; **J. chromatogr. Biomed. Appl.**, 1987 , **59**(415) , 85 – 94, .
- 17- U. Saha , A.K. Sen and J. Gauguly ; **Indian Drugs**, 1987 .
- 18- V.S. Svinchuk , A.I. Zhinchishin and O.S. Malitska ; **Farm . Zh. (Kiev).J** , 1988, **2**, 72 – 73, .
- 19- S.S.M. Hassan and A. Shalaby ; **Mikro. Chem . Acta** ,1992, **109**(5-6) , 193 – 199 , Egypt , .
- 20- S.V.Doshi and M.pendse ;**Apple Radia Isot** ,37(1) 41-45 ,1986 .
- 21- J.E. Wampler ;**Instrumentation Seeing the light and measuring it in Chemi. and Bioluminescence** p(1-7) ,New York ,1985.
- 22- S . T. Amine and A. Lanja Salih ; **J. of Science** , Tikrit University, 2000, **6**(3)114-129,.
- 23-. V. Das Gupta; **J. Liq. chromatogr.** ,1986 ,**16**,3607-3615,.
- 24- WenbingShi ; Jidong Yang and Yuming Huang ;**J .Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 2004,**36**(197-203),.
- 25- K.D.Gundermann ;**Chemiluminescence in Bioluminescence basic chem. and Anal. Application**, 1992, p(17-18), New York,.
- 26- J.M.Catayud and Y.F.Mestrc ;**Luminescence**, 2000, **16**, 213, .
- 27- M.A .Martin and D.A. Lerner ;**Analisis**, 2000 ,**28**(8),649, .
- 28- R.D.Gonzalez and M.Perez Bendito ;**Anal. Chem. Acta** 1989,**83** ,20.
- 29- A.H.Beckett and J.B.Stenlake ; **Practical pharmaceutical chemistry**,4th Edition,The Athlone Press London , 1988.