

**Semi-automated home- made Ion Chromatography
System Supplied with UV-Vis detector for determination
of Pharmaceutical preparations and Organic compounds**

نظام كروماتوغرافيا أيوني شبه ذاتي محلي الصنع مجهز بمكشاف فوق
البنفسجية - المرئية لتقدير المستحضرات الصيدلانية والاحماض العضوية

المخترعون : الاستاذ الدكتور كامل حسين علوان السوداني

الدكتور حسين ناصر خلف السلطان

الاستاذ الدكتور شاكر عبد السالم نعمة الجدعان

Semi-automated home- made Ion Chromatography System Supplied with UV-Vis detector for determination of Pharmaceutical preparations and Organic compounds

نظام كروماتوغرافيا أيوني شبه ذاتي محلي الصنع مجهز بمكشاف فوق
البنفسجية - المرئية لتقدير المستحضرات الصيدلانية والاحماض العضوية

ملخص الإختراع :

صمم نظام كروماتوغرافيا أيوني أحادي عمود الفصل مجهز بمكشاف الامتصاصية في منطقة UV-Vis ذي خلية جريان عابر بحجم 18 μ L وحجم ميت يساوي صفر . ثبتت الظروف المثلى لفصل وتقدير المستحضرات الصيدلانية والمركبات العضوية واحتسب زمن الاحتباس (t_R) لكل من المستحضرات الصيدلانية الاموكسيسيلين والامبيسيلين والكلوكساسيلين وبعض المركبات العضوية التي تم فصلها وتقديرها في عينات قياسية ونماذج دوائية مختلفة وعينات ممثلة . قيم النظام المصمم محلياً بمقارنة النتائج التي تم الحصول عليها بطرق اخرى تقليدية وطيفية حيث تراوحت قيم الأستعادة ضمن المدى % 95 – 100 \pm باستخدام طريقة الإضافات القياسية .

Patent Abstract

A single column ion chromatography equipped with UV-Vis detector was designed . it was supplied with 18 μ l quartz flow cell with zero dead volume . The optimum condition for separation and determination of pharmaceutical preparations and organic compounds were established . The retention times (t_R) for these drugs (Amoxicillin , Ampicillin and Cloxacillin) and organic compounds were calculated.

To evaluated the home-made system, accuracy of the method was examined by performing a recovery experiments using standard additions method. The obtained results were in the range (\pm 95.00-100.00%) which compared with other methods and good agreement was obtained.

المقدمة :-

تمتاز الطرق الكروماتوغرافية والتي تعتبر من اهم طرق الفصل الكيميائي الحديثة، بسهولة استخدامها وسرعتها واحتفاظها بالمكونات المراد فصلها من المواد سواء كانت في الحالة الصلبة او السائلة او الغازية [1].

الايون كروماتوغافيا ومنذ اكتشافه في عام ١٩٧٥ من قبل Small والآخرين [2] يشير الى فصل وتقدير الايونات السالبة والموجبة باستخدام اعمدة معبأة بمبادلات ايونية ومرتبطة بمقياس التوصيلية بشكل خاص واستخدمت فيما بعد انواع مختلفة من اعمدة الفصل والاجهزة الطيفية لفصل وتقدير الايونات والمركبات العضوية والمستحضرات الصيدلانية [3,4].

ان مكاشيف UV-Vis المستخدمة في تقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء كثيرا ما تستخدم في تطبيقات كروماتوغرافية متعددة في كشف وتحليل مواد عضوية مختلفة كالمستحضرات الصيدلانية ونماذج الادوية والحوامض العضوية ونماذج بايولوجية وبروتينات واحماض نووية وبعض الايونات اللاعضوية التي تمتص في هذه المنطقة من الطيف ، وعادة ما تمتص النماذج المراد قياسها في منطقة UV-Vis باطوال موجية مختلفة وبالتالي يمكن تشخيصها بحساسية عالية ، وهناك نوعان من المكشافات المستخدمة لهذا الغرض وهي اما ان تكون احادية او متعددة الطول الموجي بحيث تزداد قيم الانتقائية عند استخدام مكشافات متعددة الاطوال الموجية بشرط ان يمتص النموذج الطول الموجي المناسب او الحساس للمكشاف وبالتالي يكون ملائم لقيم امتصاصية النموذج المقاسة [5,6].

عملياً هناك ميكانيكيتان لتفسير عملية الكشف بنظام UV-Vis وهما الكشف المباشر Direct detection [7] والكشف غير المباشر Indirect detection [8]. يتضمن الكشف المباشر للنموذج قياس امتصاصية المادة او النموذج المراد تقديره مقابل اقل خلفية امتصاصية تيار المزيج او التيار الحامل للنموذج ولذلك فان الكشف المباشر سوف يؤدي الى امتصاص الضوء من قبل المادة المراد تقديرها فقط وتحت طول موجي محدد بينما الكشف غير المباشر يظهر امتصاص لكلا المواد المراد قياسها وتقديرها وامتصاصية تيار المزيج او التيار الحامل للنموذج بحيث تتنافس قيم الامتصاصية الواطئة لهذه المواد مع امتصاصية تيار المزيج وبالتالي تزداد قيم الامتصاصية نحو قيم سالبة في منحنى التمثيل الخطي للقيم التي تمثل المواد المفصولة في تقنية كروماتوغرافيا التبادل الايوني IEC [9,10]، ان التفسير المفترض لكلا الميكانيكيتان هو ان قيم الامتصاص التي تظهر للنموذج هي تغير نسبي ما بين امتصاصية تيار الازاحة وامتصاصية النموذج وهنا تصبح حساسية القياس اقل من الكشف المباشر [11].

ان حساسية مكشافات UV-Vis تلعب دوراً هاماً في عمليات الكشف والتقدير المتبعة في اجهزة الكروماتوغرافيا بكل انواعها و عليه فهناك ميزات مثالية مهمة لهذه المكشافات :

١. أن يكون ذا حساسية ملائمة للقياس المطلوب .
٢. أن يكون ذا استقرار جيدة Reproducibility وتكرارية عالية .
٣. ان يكون له مدى خطي واسع للمواد المقدره .
٤. أن يكون له زمن استجابة قصيرة ، ومستقلة عن سرعة الجريان.
٥. الاعتماد على النتائج المتحصل عليه ، وسهولة استخدامه من قبل أشخاص غير مؤهلين بخبرة كافية .
٦. أن يكون ذا استجابة عامة لمعظم العينات المقاسة ، أو أن يكون له استجابة انتقائية لمجموعة معينة من المواد .
٧. أن يكون غير متلف للعينة non-destructive .
٨. أن يكون له أقل حجم داخلي ، وذلك للتقليل من عرض نطاق العينة.

الهدف من براءة الاختراع :-

ان الهدف من الاختراع الحالي هو تطوير الاختراع السابق [12] باستبدال مقياس التوصيلية الخاص بتقدير الايونات السالبة والموجبة فقط بمقياس طيفي يعمل ضمن منطقة UV-Vis ومجهز بخلية جريان عابر (18 μ l) للحصول على نظام سريع وحساس وانتقائي واستخدام حجوم صغيرة جداً من العينة والمزيج كذلك استخدام مواد كيميائية ذات تراكيز واطئة جداً ورخيصة وغير مضره بالصحة وصديقة للبيئة وقادرة على فصل وتقدير المستحضرات الصيدلانية والمركبات العضوية وتقييم نتائج النظام المصمم بمقارنتها بالطرق القياسية المعتمدة [13] وكذلك للتخلص من تأثير درجة الحرارة على القياسات كما في حالة استعمال مكشاف التوصيلية .

الجزء العملي Experimental :-

استخدام الماء الخالي من الأيونات ($0.05-0.07 \mu\text{s cm}^{-1}$) في الدراسة لتحضير المحاليل المختلفة وغسل الزجاجيات والأدوات وتمت كافة القياسات عند 25°C التي تم تثبيتها باستخدام منظومة السيطرة على درجة الحرارة . ان كل الكواشف من الصنف التحليلي عالية النقاوة (purity) .

الجدولان ٢١ و٢٢ يدرجان كافة تفاصيل المواد الكيميائية والمستحضرات الصيدلانية والمركبات العضوية المستخدمة في هذه الدراسة على التوالي علماً بأن جميع المواد والكواشف المستخدمة تمت معايرتها .

جدول: ١ : المركبات الكيميائية والشركات المجهزة لها ونقاوتها والتراكيز المستخدمة في العمل

Compounds	Company	Purity %	Weight, volume taken	Volume(ml) for standard solution	Standard solution Concentration
Acetic acid 99.5%	B.D.H	99	58.82ml	1000	1.00 M
Ammonium chloride	B.D.H	99	32.10 gram	500	1.20 M
Ammonium Acetate	Merck	99	1 mg	100	10.0 µg ml ⁻¹
Ammonium Molybdate acidic	R.D.H	98	12.50 gram	500	2.50 % W/V
Basic Solution 1:1 from Sodium bicarbonate : Sodium carbonate	R.D.H	98	2.78 gram +2.20 gram	1000	0.02625 M (Na ₂ CO ₃) and 0.02625 M (NaHCO ₃) = pH10.5
Benzoic acid	B.D.H	99	360 mg	1000 ml	
Citric Acid	B.D.H	99	10 mg	1000	10 µg ml ⁻¹
Dithizone	B.D.H	99	-	-	As Reagent
EBT	B.D.H	99	-	-	As Indicator
ECR	B.D.H	99	0.15 gram	50	3000 µg ml ⁻¹
Hydrochloric acid 37.9%	B.D.H	99	83.33 ml	1000	1.00 M
Hydroxyl Amine Dihydro Chloric	SIGMA-ALDRICH	99	1.00 mg	100	10.00 µg ml ⁻¹
Hatch Kites for Ions	Hatch	98	0.20 mg	20	10.0 µg ml ⁻¹
Lactic Acid	R.D.H	98	10 mg	1000	10 µg ml ⁻¹
Multication	SIGMA-ALDRICH	99	10 mg	1000	10 µg ml ⁻¹
MultiAnion	SIGMA-ALDRICH	99	10 mg	1000	10 µg ml ⁻¹
Malonic Acid	SIGMA-ALDRICH	99	10 mg	1000	10 µg ml ⁻¹

Methylene Blue	SIGMA-ALDRICH	99	-	50	0.01 M
Murxid	SIGMA-ALDRICH	99	-	-	As Indicator
Nitric acid 69.8%	B.D.H	99	63.57 ml	1000	1.00 M
Oxalic Acid	B.D.H	99	10 mg	1000	10 µg ml ⁻¹
Pyruvic Acid	B.D.H	99	10 mg	1000	10 µg ml ⁻¹
Phosphoric acid 85%	B.D.H	99	22.20 ml	1000	0.33 M
Potassium Chromate	B.D.H	99	1.0 gram	100	0.05M
1,10 phenanthroline	B.D.H	99	1 mg	100	10.00 µg ml ⁻¹
Sulfuric acid 96.0%	B.D.H	99	11.11ml	1000	0.20 M
Salicylic acid	B.D.H	99	100 mg	1000	
Sodium hydroxide	B.D.H	99	40.00 gram	1000	1.00M
Sodium bicarbonate	B.D.H	99	83.9 gram	1000	1.00 M
Sodium carbonate	B.D.H	99	106.00 gram	1000	1.00 M
Sulphanilamide	B.D.H	99	0.15	100	0.15 W/V
Sodium ethylene diamine tetra acetic acid	B.D.H	99	18.60 gram	1000	0.05 M
Silver Nitrate	B.D.H	99	0.24 gram	100	0.014 M
Tartric Acid	B.D.H	99	10 mg	1000	10 µg ml ⁻¹
Zinc sulfate hydrous	B.D.H	99	16.10 gram	100	1.00 M

جدول ٢: المستحضرات الصيدلانية والشركات المجهزة لها ونقاوتها والكتل المستعملة في تحضير تراكيز مختلفة منها .

Pharmaceutical Preparations	Type	Company	Purity %	Notices
Amoxicillin	Analar Powder	SIGMA-ALDRICH A8523	99	Each Vial contain 5 gm
CoAmox Acino as drug	Caplet	Acino-Switzerland	98	Each Caplet contain 875 mg Amoxicillin
Ampicillin	Analar Powder	SIGMA-ALDRICH	99	Each Vial contain 5 gm

		A9393		
Ampicillin drug	Vial powder	AKAI – AL Arbeia	97	Each Vial contain 250 mg
Cloxicillin	Analar Powder	SIGMA-ALDRICH A101	99	Each Vial contain 5 gm
Cloxicillin drug	Vial powder	AKAI – AL Arabia	98	Each Vial contain 250 mg
Potassium Chloride	Analar Solution	B . Braun Melsungen AG D-34209 medical German	٩٩	Each ampoule contain 10 ml (15% w/v) KCl
Atenolol	Vial powder	10 mg, AL-Arabia Farm.	٩٨	1000ml
Acetaminophen	Vial powder	100mg, AL-Arabia Farm. ١٠٠	98	1000 ml
Caffeine	Capsules	100 mg, AL-Arabia Farm.	٩٨	1000 ml
Aspirin	Tablets	100 mg, AL-Arabia Farm.	٩٨	1000 ml
Hydroxy benzotriazol	Vial powder	100 mg, AL-Arabia Farm.	٩٨	1000 ml
Prednisone	Vial powder	60 mg, AL-Arabia Farm.	٩٨	1000 ml

الأجهزة : Instrumentations :

الجدول (3) يدرج الاجهزة المستعملة والشركات المنتجة لها وبعض مواصفاتها . الشكل (١) صورة لنظام IC المصمم محلياً والشكل (٢) يبين كافة اجزاء الجهاز كلاً على حدة والشكل (2-F) يوضح مكشاف UV-Vis المزود بخلية جريان عابر (١٨ µl) الذي استبدل عن مقياس التوصيلية المستعمل في براءة الاختراع السابقة [12] .

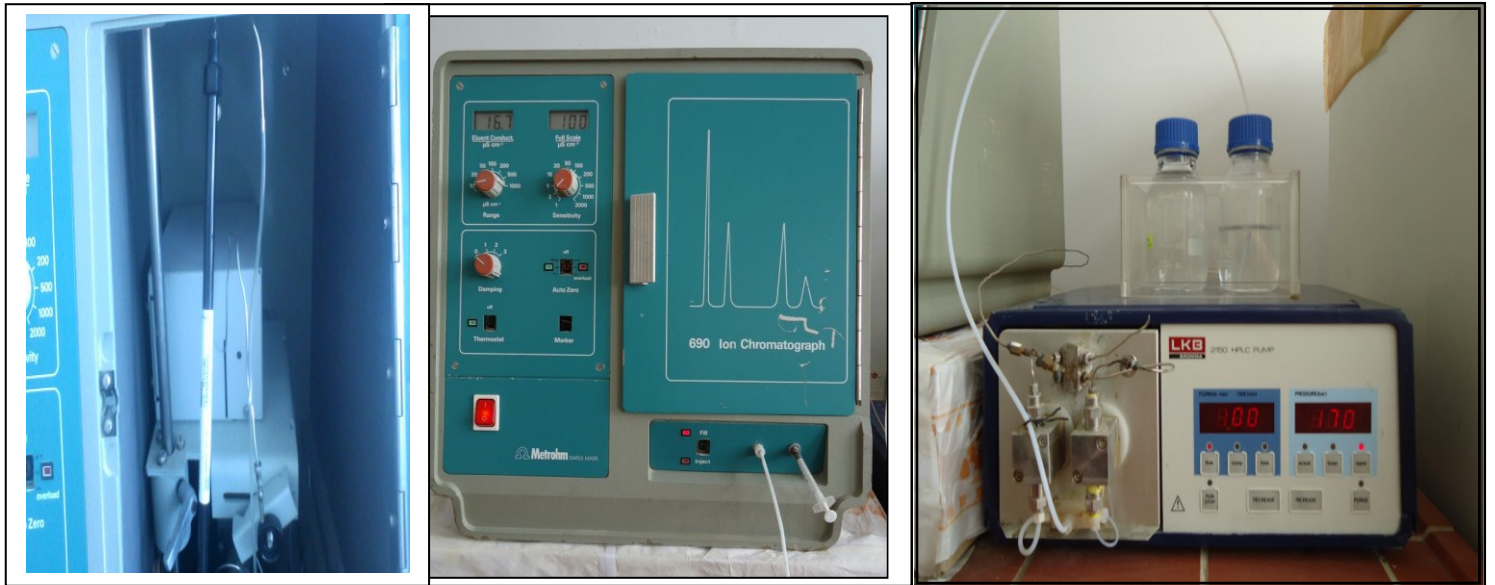
جدول 3: الأجهزة المستعملة والشركات المنتجة لها ومواصفاتها .

NO.	Instruments	Company	Characteristics
1	Auto-pump	LKB C 2150 Sweden	ذو نظام تحكم Micro processor بسرعة الجريان ويحتوي مضغطين ووحدة للضغط خالية من النبض وتحديد للزمن " Time Unite "
2	Metrohm Unite	Swiss Type 690	يعمل ذاتياً
3	Injection Electronic valve	V-8 Build in IC Metrohm Swiss Type 690	يعمل كهربائياً ذو ثمان قنوات وحجم عينة ١٠٠µl

NO.	Instruments	Company	Characteristics
4	Spectrophotometer	Appl –PD 303UV	ذو نظام تحكم بواسطة الحاسوب
5	Flow cell	18 µl (Helma. UK.)	كوارتز تعمل ضمن منطقة UV-Vis
٦	Thermo Meter Regular	جزء من تصميم وحدة ٦٩٠ Metrohm	بمدى حرارة 25-45°C
٧	Data logger lab jack	Australia	لغرض حساب النتائج بطريقة تكاملية
٨	Ion Pac zorbax 300- SCX Column ; 5µm , 4.6×250 mm (P/N 880952-704)	Agilent company	لتقدير المستحضرات الصيدلانية بنظام UV-Vis
٩	Ion Pac C18 ; 5µm , 4.5×250 mm (P/N 11051194 L)	Arcus EP company	لتقدير المركبات العضوية بنظام UV-Vis
١٠	Lab top Computer	Lenovo USA	لغرض حفظ النتائج ويحتوي على البرامج الحاسوبية التي تعمل على نظام IC والاحتفاظ بالنتائج التي يتم الحصول عليها
١١	Color printer	EPSON Japan	لطباعة النتائج
١٢	Change electro resistant	Home-made	للتخلص من الضوضاء
١٣	pH meter	Bp 3001 Trance. Inst. China	لتحديد قيم الدالة الحامضية للمحاليل المستخدمة في العمل
١٤	Balance	Pw 214 china	d = 0.0001 g يعمل باربع مراتب بعد الفارزة
١٥	Visible Spectrophotometer	Hatch/USA	يعمل بوجود الكواشف الكيميائية
١٦	Oven	JRAD 2000 china	يعمل بمدى من درجات الحرارة ٥٠-٢٥٠ °C
١٧	Hamilton Syringe	Ultra-Asept -Germany	5 µl

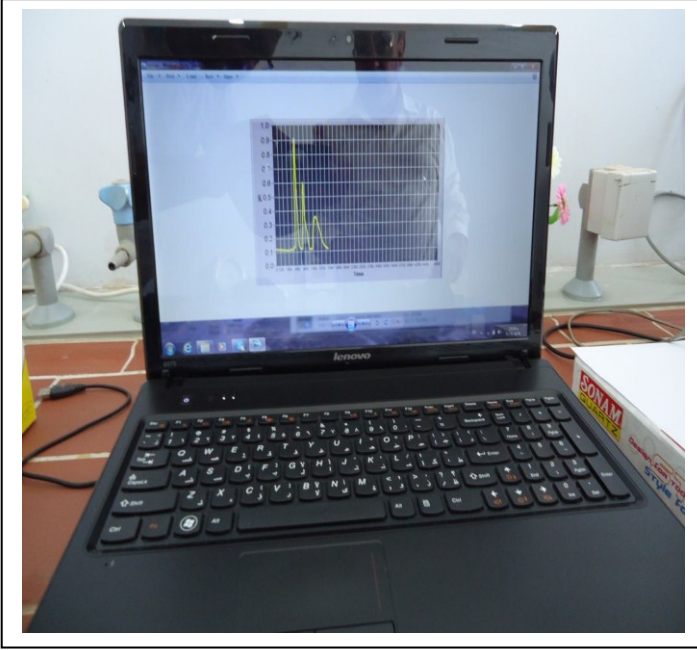


شكل ١ : نظام IC المصمم محلياً والمزود بمقياس UV-Vis

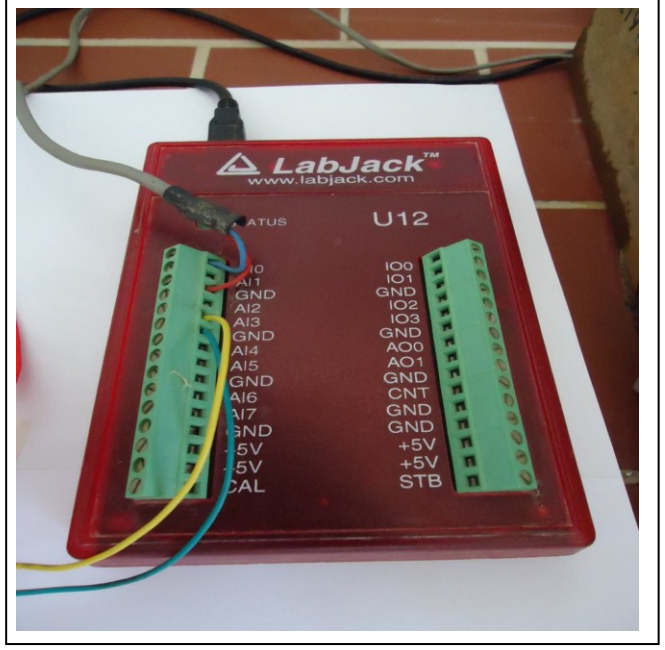


B- وحدة Metrohm ٦٩٠ المزودة بصمام حقن (١٠٠ µl) ومنظم لدرجة الحرارة

A- مضخة LKB



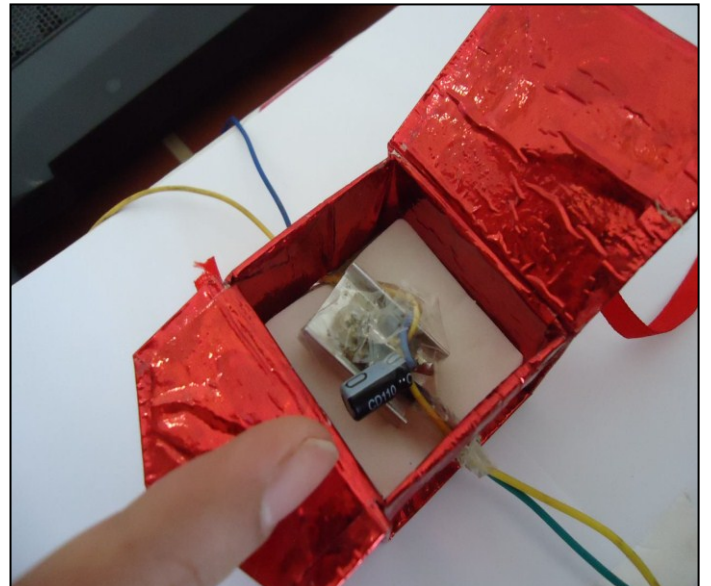
D- جهاز اللابتوب



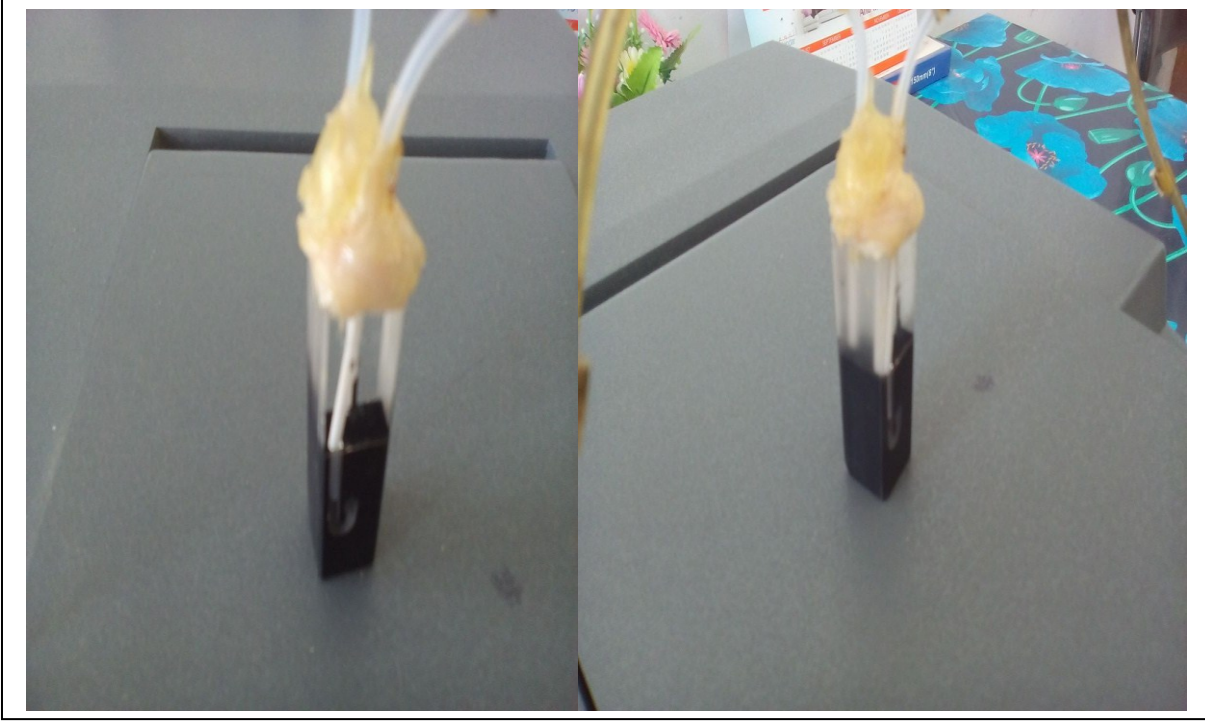
C- مضخم الاشارة الرقمي



F- مكشاف UV-Vis



E- مقاومة كهربائية



G- خلية الجريان العابر



I- الطابعة



H- عمودي فصل المستحضرات الصيدلانية
والمركبات العضوية

شكل: ٢: اجزاء نظام IC

اجزاء نظام الكروماتوغرافيا الايوني المصمم محلياً

parts of Home-made Constructed-IC System:

أن الهدف الرئيسي لهذه الاختراع هو تصميم نظام كروماتوغرافيا ايوني مجهز بمكشاف UV-Vis و خلية جريان عابر ($18 \mu\text{l}$) (الشكل 1) لفصل وتقدير المستحضرات الصيدلانية ونماذج من المركبات العضوية ويتكون من الأجزاء الآتية :-

1- المضخة Pump :

سحب المزيج والكواشف بمضخة من نوع C2150 LKB ذات مضغاطين Dual pistons pump تم تطويرها وإعادة تشغيلها وصيانتها وربط أجزائها المختلفة من أجل الحصول على سرعة ثابتة والضغط المطلوب دون حدوث اي تسرب بالتيار الحامل . وقد وجد بأن المضخة المطورة التي تم شراء بعض اجزائها من السوق المحلية تفي بالغرض من أجل سحب التيار الحامل بصورة خالية من النبض والعمل بنظام ضغط متغير حسب الحاجة وكذلك احتوائها على وحدة لتحديد الزمن اللازم للعمل المضخة وإمكانية إيقافها ذاتيا للحصول على نظام IC جيد لفصل المواد المختلفة . كذلك أخذت كافة الاحتياطات اللازمة لعملها وخاصة ان يكون المضغاطين (Dual piston) للمضخة مملوءة بالتيار الحامل [13,14] . من أجل عملها بصورة جيدة الحصول على سرع منتظمة لفصل القمم المتعاقبة للمواد المراد فصلها بصورة واضحة ودون اي تداخل بين القمم المفصولة .

2- نظام حقن Injection System :

أستخدم صمام حقن الكهروني مثبت ضمن وحدة Metrohm ٦٩٠ (الشكلين ١ و ٢-B) مزود بملف (By-pass) لحقن حجم ثابت من العينة يساوي ($100 \mu\text{l}$) باستعادة عالية جداً ودون حدوث أي اضطراب في مجرى المزيج . على الرغم من توفر ملفات جانبية باحجام مختلفة صممت في السوق المحلية من انابيب حديد مقاوم للصدأ (Stainless Steel) ذات انصاف اقطار ($id = 0.8 \text{ mm}$) . تم العمل بحجم $100 \mu\text{l}$ لكافة الدراسات الاحقة وهو حجم ملائم للعمل بجهاز IC المصمم محلياً [15].

٣- اعمدة الفصل Separation Columns :

استخدم نظام IC نوعين من اعمدة الفصل احدهما يستخدم لفصل وتقدير المستحضرات الصيدلانية , العضوية Ercus , $250 \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$, Agilent Zorbax SCX-300 [16] والآخر لفصل وتقدير المركبات [17] , C18 , $250 \times 4.6 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$.

٤- جهاز مقياس الامتصاصية UV-Vis Spectrophotometer :

استعمل جهاز قياس الامتصاصية متغير الاطوال الموجية المجهز بخلية جريان عابر كمكشاف في هذه الدراسة أن حجم خلية الجريان العابر يلعب دوراً مهماً في الحصول على جهاز IC ذي إمكانية فصل جيدة للمركبات المختلفة [18] لذا جهز نظام IC بخلية جريان عابر ذات حجم $18 \mu\text{l}$

(الشكل G- ٢)، ويعد هذا الحجم مناسباً لعملية الفصل الكروماتوغرافي وهو اصغر حجم متوفر في مختبراتنا لضمان تحسس المركبات المفصولة بحساسية من دون إعادة مزجها داخل خلية الجريان مرة أخرى بعد فصلها بعمود الفصل عندما يكون حجمها كبير جداً [19].

٥- جهاز معالج المعطيات Data Logger Lab Jack :

من اجل تطوير النظام المصمم محلياً وجعله يلبي متطلبات فصل وتقدير المستحضرات الصيدلانية والمركبات العضوية باستعمال مكشاف UV-Vis . زود النظام بمعالج معطيات Data Logger (الشكل C- ٢) نوع Lab Jack مجهز من استراليا [20] لربط مكشاف UV-Vis بحاسوب شخصي مزود ببرامج حاسوبية صممت محلياً لتسجيل ارتفاع القمة المتناسقة كدالة للتراكيز المقابلة للمواد المفصولة ويمكن اعتباره ملائم وفي الغرض لجهاز IC المصمم محلياً [21] .

٦- مقاومة كهربائية متغيرة Electro – Resistant Exchange :

استعملت مقاومة كهربائية متغيرة الشكل (E- ٢) مصنعة محلياً ضمن المدى (٥ - ٠ V) تحتوي على متسعة من اجل التخلص من الضوضاء المتولدة نتيجة تغير القدرة الكهربائية وتربط مباشرة بعد جهاز تحسس الإشارة وتضخيمها [22] .

٧- جهاز تسجيل النتائج (الحاسوب) Computer :

استخدم الحاسوب الشخصي المزود ببرمجيات مصممة محلياً [23] وربطة مع مكشاف UV-Vis من خلال معالج المعطيات Data Logger حيث ان البرامج الحاسوبية تعتبر من اهم اجزاء الاجهزة الكروماتوغرافية الحديثة من اجل معالجة المعطيات وحساب النتائج ورسم الكروماتوغرامات المستلمة من مكشاف UV-Vis بشكل متناسق وشبه ذاتي [24] .

٨- أنابيب ربط وأجزاء أخرى لعمل الوحدة المتشعبة لنظام IC :

استخدمت أنابيب حديد مقاومة للصدأ Stainless Steel وأجزاء ربط مختلفة من أنابيب تفلون قطرها الداخلي (0.8 mm) جهزت و عملت أجزاء منها لغرض الحصول على جهاز IC يعمل تحت ضغط مختار دون حدوث أي تسرب أو دخول فقاعات هواء في النظام .وقد تم العمل على ان تكون الانابيب اقصر ما يمكن لغرض التخلص من الحجم الميت Void volume وكذلك لربطه بمكشاف UV-Vis [25].

٩- نظام السيطرة على درجة الحرارة :-

لكون درجة الحرارة ذات تأثير مهم جداً كما في قياسات التوصيلية لذا تم تثبيت درجة الحرارة عند ٢٥°C والعمل بها بكافة الدراسات اللاحقة [26].

تقدير المستحضرات الصيدلانية والمركبات العضوية بالنظام المصمم

Optimum Condition for Determinations of Pharmaceuticals preparation and Organic compounds by the Constructed System

من أجل فصل وتقدير المستحضرات الصيدلانية ونماذج من المركبات العضوية بنظام IC المصمم بعمود فصل واحد Single Column تم فصل وتقدير عدد من المستحضرات الصيدلانية مثل الاموكسيسيلين والامبيسيلين والكلوكساسيلين كنموذج للمستحضرات الصيدلانية والمركبات والحوامض العضوية المختلفة [27]. واستخدمت نفس الطريقة المتبعة في براءة الاختراع السابقة [12] بتثبيت الظروف المثلى لكل مادة يراد تقديرها على حدة. الجدولان (٤ و ٥) يثبت الظروف المثلى لتقدير الاموكسيسيلين والشكلان (٣ و ٤) يشيران الى قمم منحني المعايرة ومنحني المعايرة القياسي المقابل لها [28,29].

ان نتائج الفصل التي تم الحصول عليها تشير وبشكل واضح الى دقة وحساسية الجهاز المصمم محلياً في تقدير عدد كبير من المستحضرات الصيدلانية ونماذج لمركبات عضوية ممثلة أذ ان عملية الفصل تتطلب اختيار عمود فصل مناسب للمواد المراد فصلها وتقديرها وتعد هذه الخطوة الأساس في عملية الفصل الكروماتوغرافي ونجاح عمل الجهاز المصمم. استخدمت نفس الطريقة المتبعة للاموكسيسيلين وتحت الظروف المثلى المثبتة في الجدول ٤ لفصل وتقدير المستحضرات الصيدلانية (الامبيسيلين والكلوكساسيلين وحسب الاشكال (٥-٨).

النتائج التي تم الحصول عليها تشير بشكل واضح الى حساسية وخطية الطرق المتبعة في تقدير العقارات الطبية المشار لها وكذلك امكانية فصلها وتقديرها بالنظام المصمم محلياً كما تبين الجدول (٥-٨) القيم الاحصائية المرفقة لكل عقار [30].

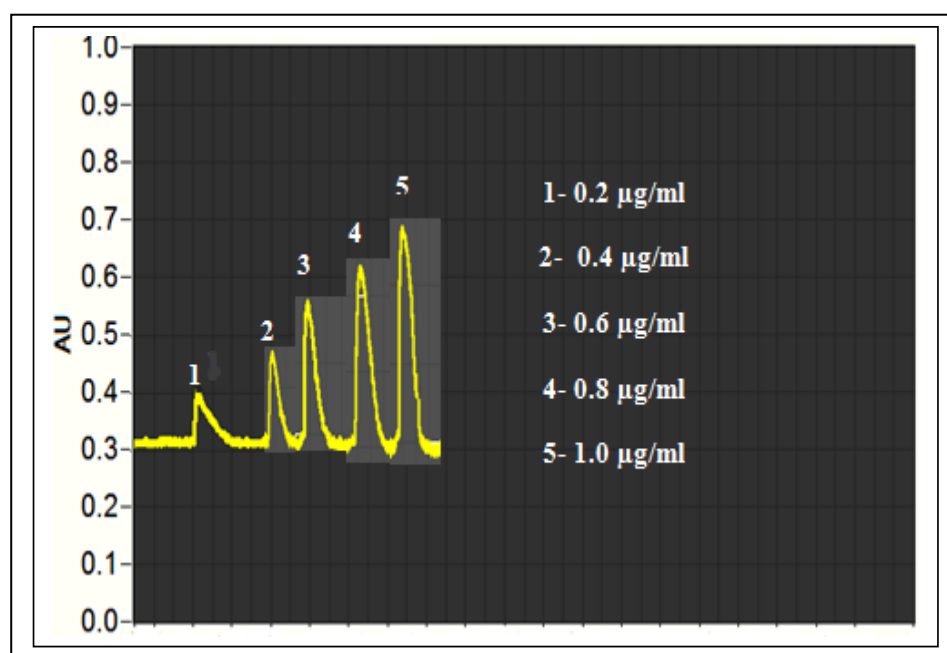
١- الظروف المثلى لفصل وتقدير الاموكسيسيلين والامبيسيلين والكلوكساسيلين:

Optimum Conditions for Amoxicillin trihydrate (AMO), (AMP) and (CLOX)

جدول ٤: الظروف المثلى لفصل وتقدير (AMO) والامبيسيلين (AMP) والكلوكساسيلين (CLOX) كلا على حدة

Parameters	(AMO)	(AMP)	(CLOX)
Description Column	Ion Pac zorbax 300- SCX Agilent Column ; 5µm , 4.6×250 mm (P/N 880952-704)	Ion Pac zorbax 300- SCX Agilent Column ; 5µm , 4.6×250 mm (P/N 880952-704)	Ion Pac zorbax 300- SCX Agilent Column ; 5µm , 4.6×250 mm (P/N 880952-704)
Isocratic Mobil phase	Ammonium acetate (20 mM) + Methanol (95:5) pH 4.8	KH ₂ PO ₄ (50mM) in acetonitril at pH 2.6	Methanol / 0.2M Monobasic Ammonium

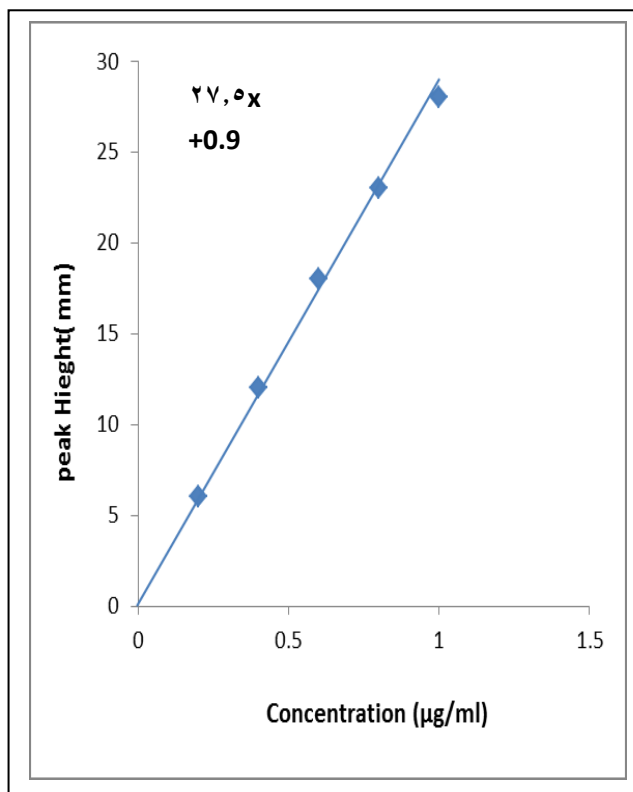
			<i>Phosphate (38 : 62)</i>
Test sample	<i>Amoxicillin diluted in mobile phase</i>	<i>Ampicillin diluted in mobile phase</i>	<i>Cloxacillin diluted in mobile phase</i>
Detection System	<i>UV detection</i>	<i>UV detection</i>	<i>UV detection</i>
Maximum Wavelength	<i>230 nm</i>	<i>240 nm</i>	<i>254 nm</i>
Flow Rate	<i>1.0 mL min⁻¹</i>	<i>0.9 mL min⁻¹</i>	<i>1.2 mL min⁻¹</i>
Temperature	<i>25 °C</i>	<i>25 °C</i>	<i>25 °C</i>
pressure Background	<i>70 Bar</i>	<i>70 Bar</i>	<i>70 Bar</i>
Run Time	<i>22min</i>	<i>18 min</i>	<i>18 min</i>
Retention Time	<i>١٠-١٠,٥ min</i>	<i>١١-12 min</i>	<i>١٠-11 min</i>
Injection Volume	<i>100 μL</i>	<i>100 μL</i>	<i>100 μL</i>



شكل ٣: قمم منحنى المعايرة القياسي لخمس تراكيز من الاموكسيسيلين

جدول ٥: القيم الاحصائية لاثبات صحة الطريقة الكروماتوغرافية المستخدمة في التحليل

R²	٠,٩٩٧
Standard Error	٠,٣٣٢
Standard Error Estimate	٠,٣١٦
Intercept	٠,٩
Slope	٢٧,٥
LLOD μg mL⁻¹	0.0104
LLOQ μg mL⁻¹	٠,٠٢٨٣
MDL(standard) μg mL⁻¹ (SD×t 95%) at n= 5-1	0.01009
MDL(sample) μg mL⁻¹ (SD×t 95%) at n= 5-1	0.016٠

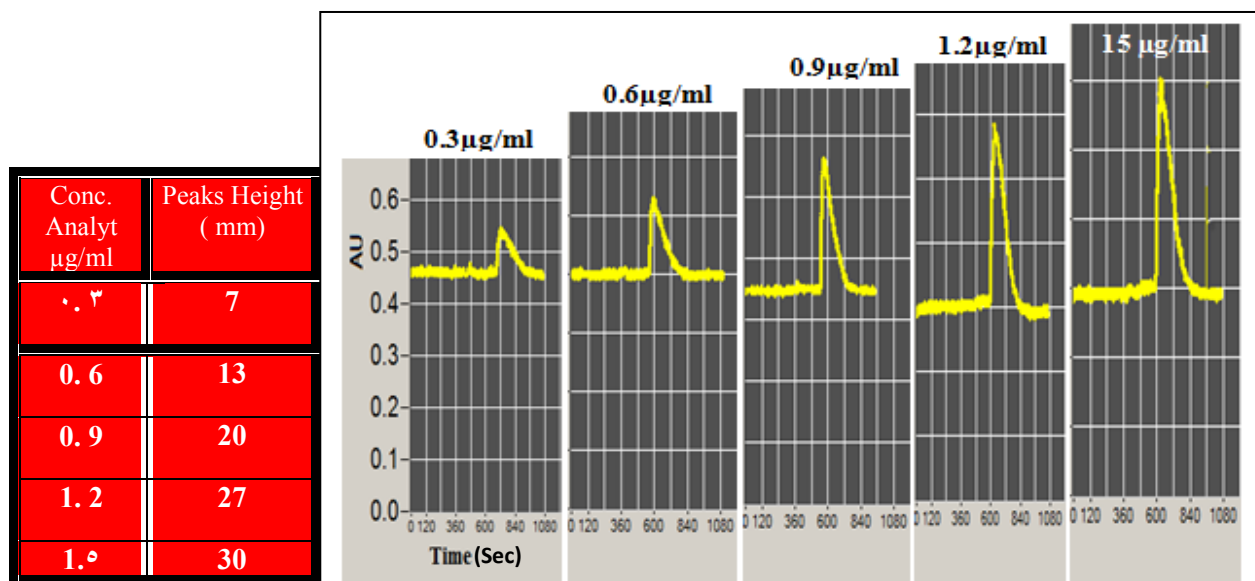


شكل ٤: منحنى المعايرة القياسي للاموكسيسيلين

جدول ٦: الاستعادية وزمن الاحتباس وارتفاع القمة لثلاث نماذج ممثلة وعقارين من الاموكسيسيلين

Representative samples and drugs(μg mL ⁻¹)	Company	Purity %	*Peaks height (mm) ±RSD%	*Retention Time (t _R) minutes ±RSD%	± Recovery% ± RSD %
٠,٢٠	SIGMA-ALDRICH A8523	٩٩	٧ ± 1.672	(١٠-10.5) ± 0.827	٩٥ ± 2.672
٠,٤٠	SIGMA-ALDRICH A8523	٩٩	١٢ ± 1.559	(10-١٠,٥) ± ٠,٨٣٢	١٠٠ ± ١,٥٥٩
٠,٨٠	SIGMA-ALDRICH A8523	٩٩	٢٣ ± 0.532	(10-10.5) ± 0.811	١٠٠ ± ٠,٥٣٢
5 μg mL⁻¹ for Drugs (1)	Acino-Switzerland	٩٨	١٠٣ ± 0.500	(١٠-10.5) ± 0.808	98 ± 0.500
5 μg mL⁻¹ for Drugs (2)	Ajanta pharma limited	98	١٠٤ ± 0.521	(10-10.5) ± 0.850	100 ± 0.521

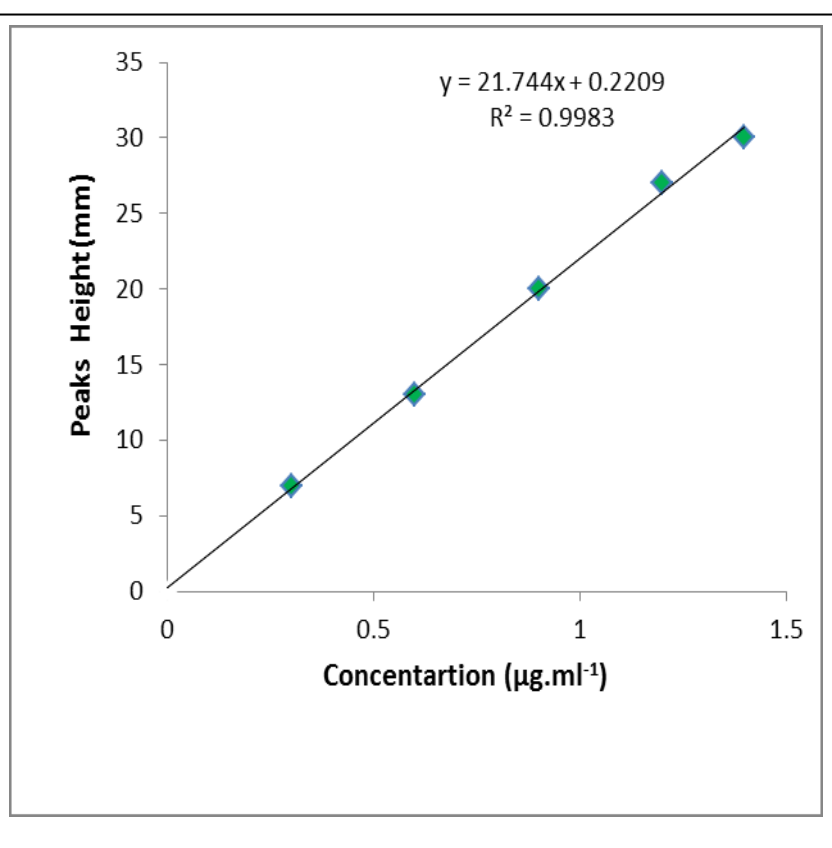
*ثلاث قراءات متتالية



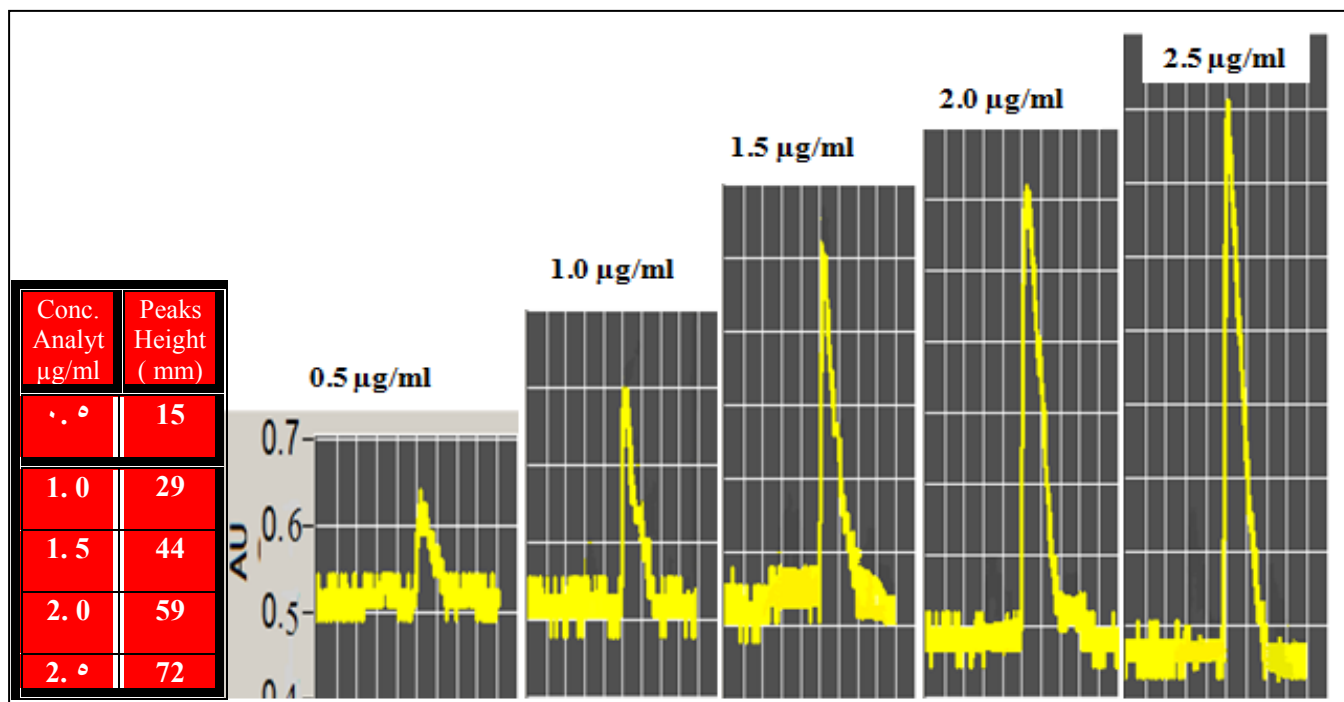
شكل ٥: قمم منحنى المعايرة القياسي للامبيسيلين

جدول ٧: القيم الاحصائية لا ثبات صحة الطريقة الكروماتوغرافية في التحليل

R^2	٠,٩٩٨٣
Std Er ^a	٠,٦٣٨
Std Er Est ^b	٠,٥٨٦
Intercept	٠,٢٢٠
Slope	٢١,٧٤٤
LLOD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	٠.01443
LLOQ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	٠,٠٤٣٧٤
MDL(standard) $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($\text{SD} \times t_{95\%}$) at n= 5-1	٠,٢٦٤١
MDL(sample) $\mu\text{g mL}^{-1}$ ($\text{SD} \times t_{95\%}$) at n= 5-1	٠,٢٧١٠

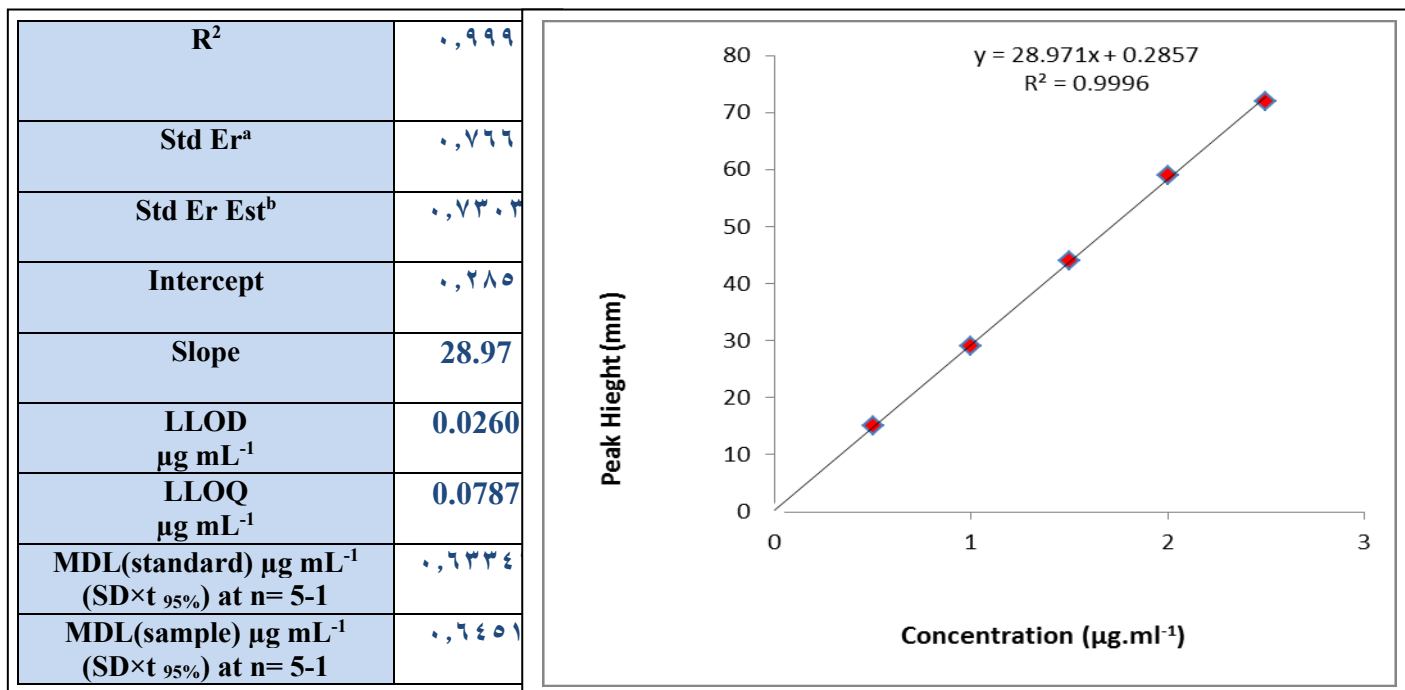


شكل ٦: منحنى المعايرة القياسي للامبيسيلين



شكل:٧: قمم منحنى المعايرة القياسي لخمسة تراكيز من الكلوكساسيلين

جدول:٨: القيم الاحصائية لاثبات صحة الطريقة الكروماتوغرافية في التحليل

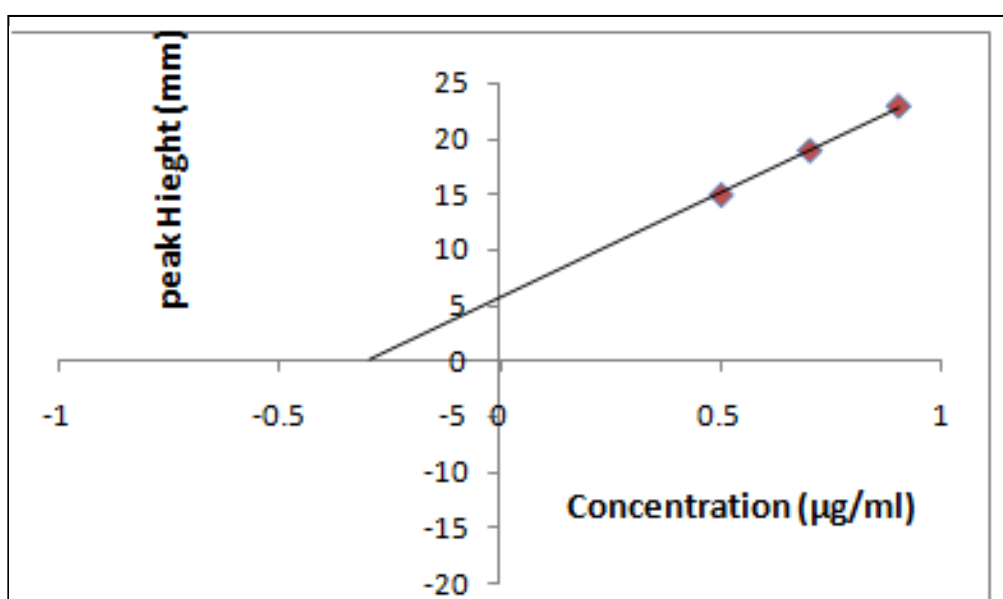


شكل:٨: منحنى المعايرة القياسي للكلوكساسيلين

تقييم الجهاز المصمم :- Evolution of desgined System

لغرض تقييم الجهاز المصمم محليا تم قياس الاستعادية Recovery باخذ عينة من المستحضر الصيدلاني (الاموكسيسيلين). وقدرت عينات اخرى بنفس الطريقة المتبعة لتقدير الاموكسيسيلين للمستحضران الصيدلانيان (الامبيسيلين والكلوكساسايلين) الجدول (٩) والشكل (٩).

ان قيم الاستعادية التي تم الحصول عليها باستعمال طريقة الاضافات القياسية لغرض التخلص من اي تأثير للمتداخلات المحتملة على ارتفاع القمة او زمن الاحتباس [31]. تشير النتائج بشكل واضح الى تقارب النتائج بكلا الطريقتين وبالتالي صلاحية الجهاز المصمم لتقدير المستحضرات الصيدلانية والمركبات العضوية بدقة عالية [32].



شكل ٩: طريقة منحنى الاضافات القياسية لتقدير الاموكسيسيلين

جدول ٩: قيم الاستعادية لبعض المستحضرات الصيدلانية

المستحضر الصيدلاني	Clamied (µg ml ⁻¹)	Found (µg ml ⁻¹)	Recovery % ±RSD%	Other's Method [27]		Recovery % ±RSD%
				Clamied (µg ml ⁻¹)	Found (µg ml ⁻¹)	
Amoxicillin	٠,٢	٠,١٩	٩٥ ± 1.672	٠,٢	٠,٢١	١٠٥ ± 1.056
Ampicillin	٠,٣	٠,٢٩	٩٦ ± 0.552	٠,٣	٠,٢٩	٩٦ ± 0.689
Cloxacillin	٠,٥	٠,٥	١٠٠ ± 0.931	٠,٥	٠,٤٧	٩٤ ± 0.886

أستعمل النظام المصمم بنجاح لفصل وتقدير العديد من العينات . الاشكال (١٦-١٠) تظهر فصل وتقدير المستحضرات الصيدلانية وبعض المركبات والاحماض العضوية ، أن كفاءة الفصل بين القمم مقنعة جدا ومن السهولة تشخيص المركبات المفصولة من خلال :-

1- التأكد من تشخيص القمم التي تم الحصول عليها بالكروماتوغرام لكل مادة بطريقة ايجاد قيم Rt التي تم تثبيتها لفصل ذلك المركب لوحدة من دون مزجه مع المركبات الأخرى ومقارنتها مع قيم Rt بعد فصل المركب في المزيج .

٢ - إضافة تركيز معين لأحد المركبات الموجودة في مزيج يحتوي على ذلك المركب المراد فصله وتقديره وتسجيل الاختلاف في ارتفاع القمة للمركب المضاف قبل وبعد الإضافة دليل على ان المركب المضاف هو المركب المفصول.

تشير الاشكال (١٦-١٠) بوضوح الى كفاءة فصل جيدة وامكانية تشخيص وتقدير بعض المركبات الصيدلانية والعضوية التي يمكن فصلها بعمود الفصل المجهز بالنظام المصمم بشكل واضح الى امكانية استخدامه في تقدير المستحضرات الصيدلانية والمركبات العضوية بدقة واستعادة عالية .

Column: Ion Pac zorbax 300 scx Agilent
Column 250×4.5 mm

Eluent: Methanol / 5 di-basic sodium phosphate with 20 mM di-butyl amine

pH = 3.0

Temperature: 25°C

Flow Rate: 0.8 ml min⁻¹

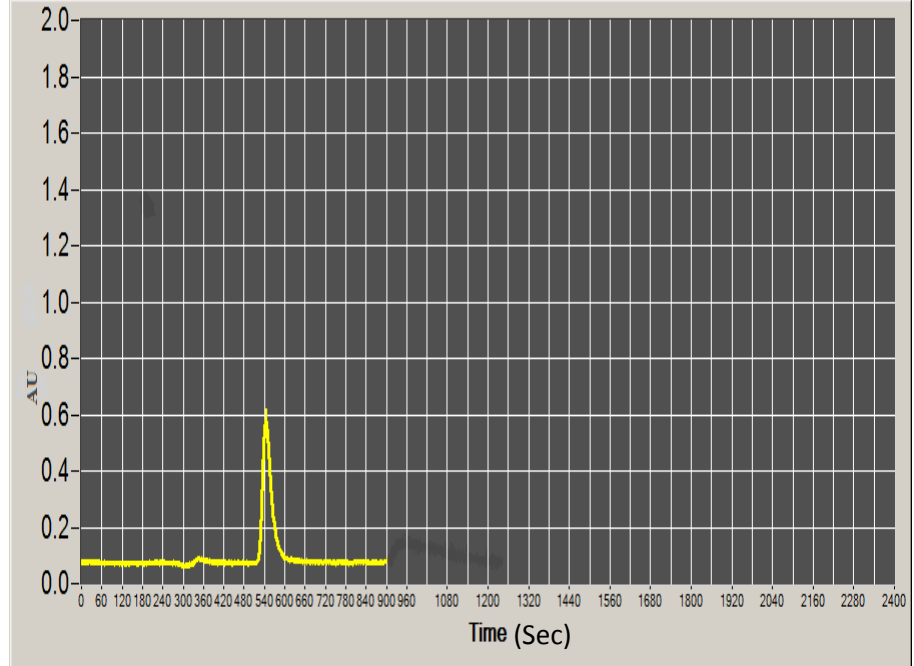
Injection Volume: 100 µl

Detection: UV Detection at 226 nm

Run Time: 20 min

Peaks:

10 µg ml⁻¹ Atenolol drug in mobile phase



شكل:١٠: فصل وتقدير مستحضر صيدلاني واحد (Tenolol)

Column: Ion Pac zorbax 300 scx Agilent
Column 250×4.5 mm

Eluent: Methanol / acetic acid / water (28 :3 :69)

pH = 1- 1.5

Temperature: 25°C

Flow Rate: 2.0 ml min⁻¹

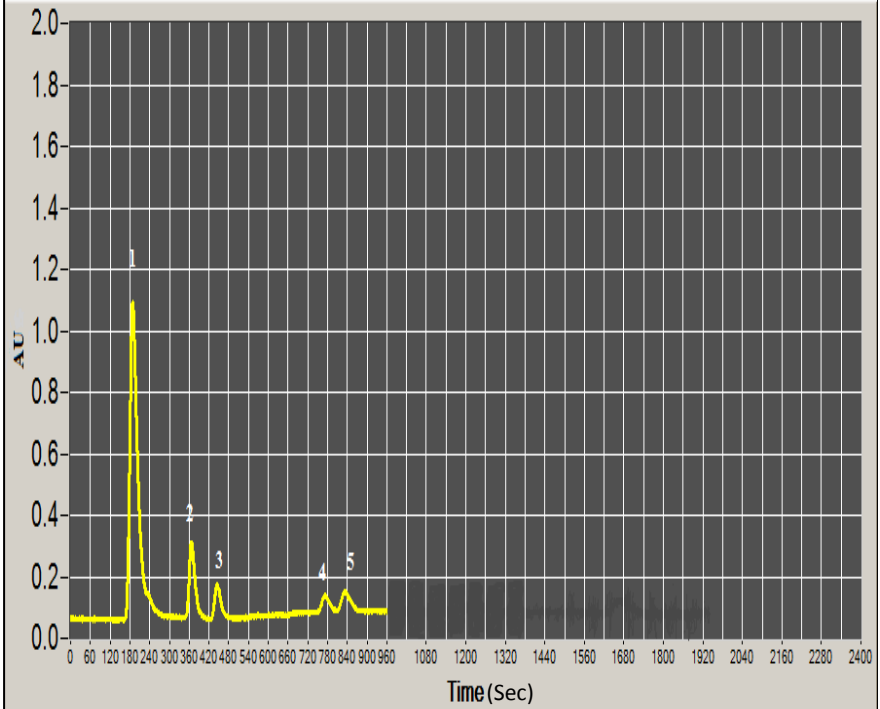
Injection Volume: 100 µl

Detection: UV Detection at 275 nm

Run Time: 20 min

Peaks:

100 µg ml⁻¹ For 1- Acetaminophen , 2-100 µg ml⁻¹Caffeine , 3- 100 µg ml⁻¹Aspirin , 4- 360 µg ml⁻¹Benzoic acid , 5- 100 µg ml⁻¹salicylic acid in mobile phase



شكل ١١: فصل وتقدير المستحضرات الصيدلانية الذي يحتوي على

1- Acetaminophen , 2- Caffeine , 3-Aspirin , 4- Benzoic acid ,5- salicylic acid

Column: Ion Pac zorbax 300 scx Agilent
Column 250×4.5 mm

Eluent: Methanol / Acetonitrile /water /
Triethylamine (50:100:850:15)

pH = 9.0

Temperature: 25°C

Flow Rate: 1.5 ml min⁻¹

Injection Volume: 100 µl

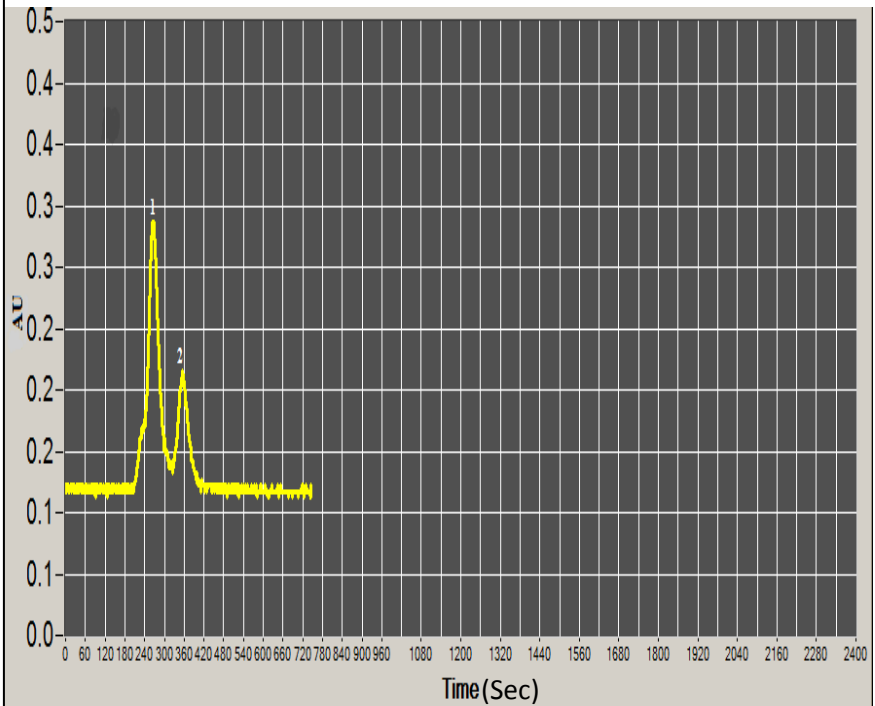
Detection: UV Detection at 254 nm

Run Time: 20 min

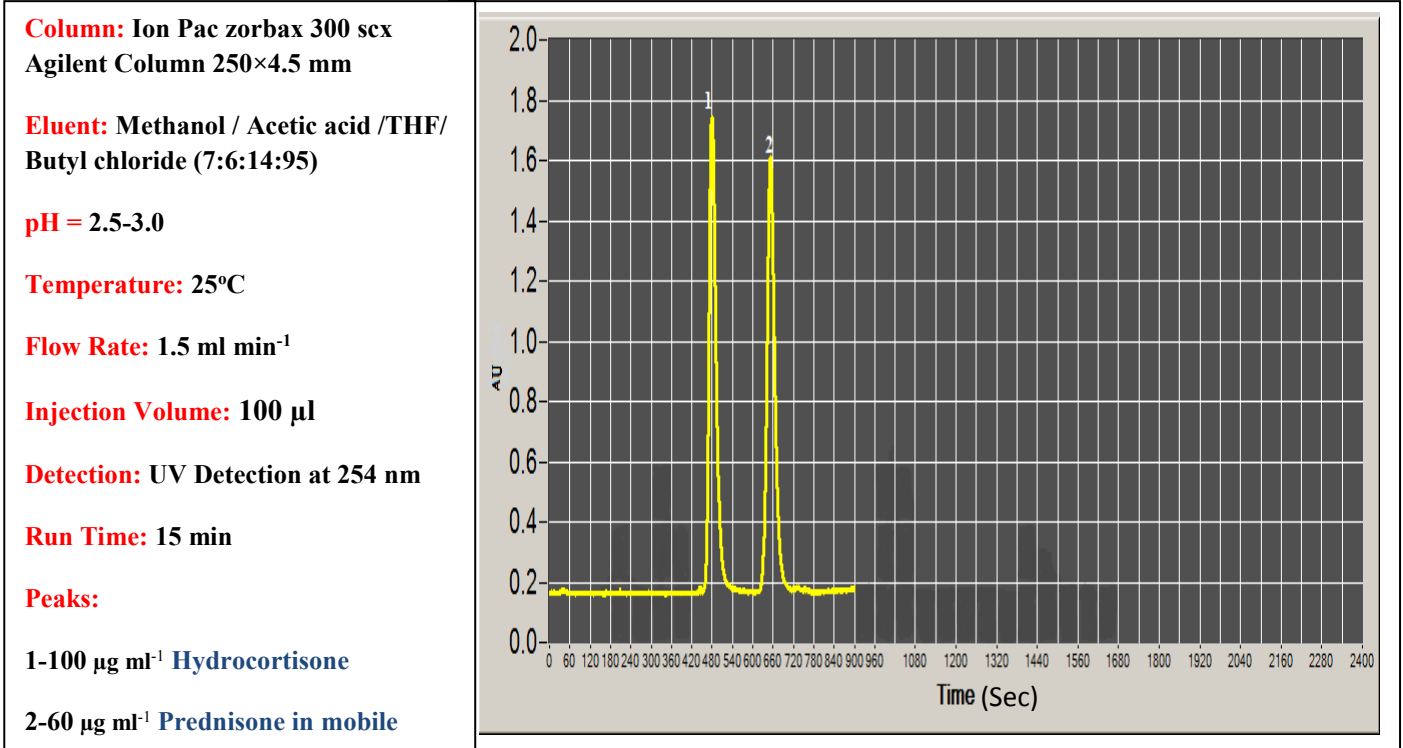
Peaks:

1-200 µg ml⁻¹ Cephalixin

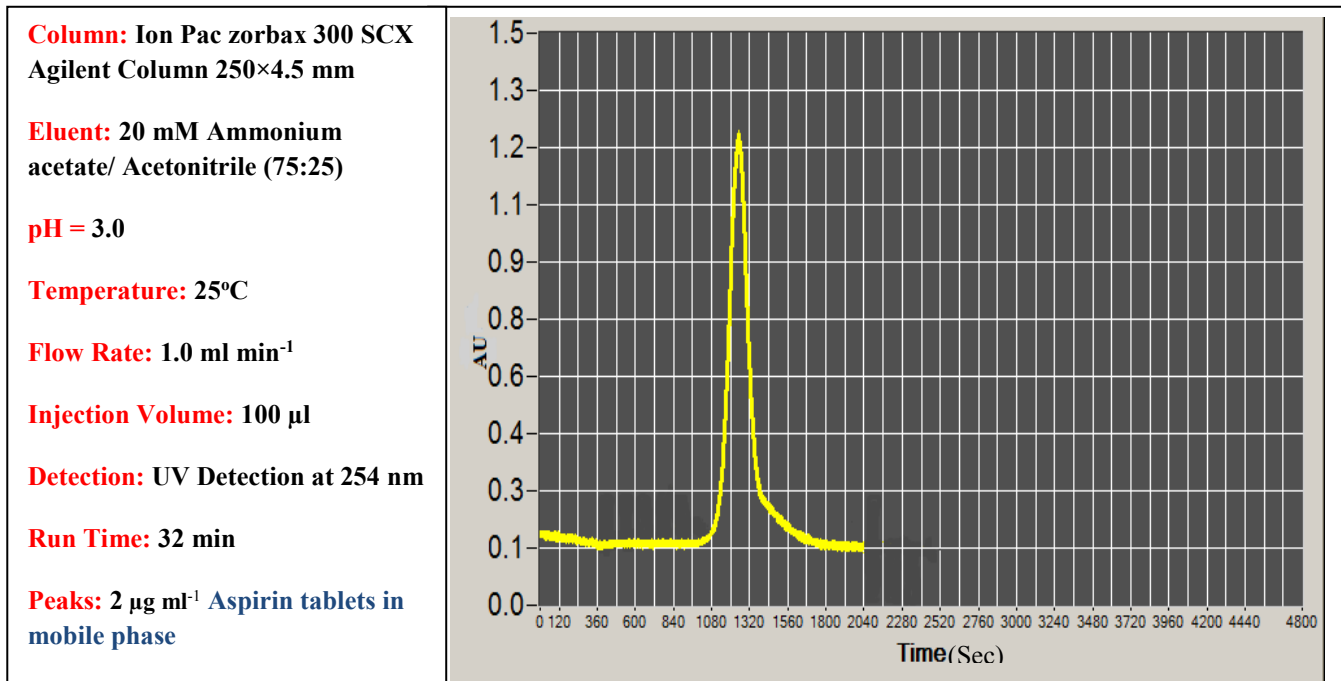
2-100 µg ml⁻¹ 1-Hydroxybenzotriazole in
mobile phase



شكل ١٢: فصل وتقدير المستحضر الصيدلاني Hydroxy benzotriazole الذي يحتوي على Cephalixin



شكل: ١٣: فصل وتقدير المستحضر الدوائي Prednisone الحاوي على (Hydrocortisone)



شكل: ١٤: فصل وتقدير مركب دوائي واحد (Aspirin)

Column: Dionex C 18, 250×4mm , 5µm

Eluent: MSA

pH = 4.5

Temperature: 25°C

Flow Rate: 0.25 ml min⁻¹

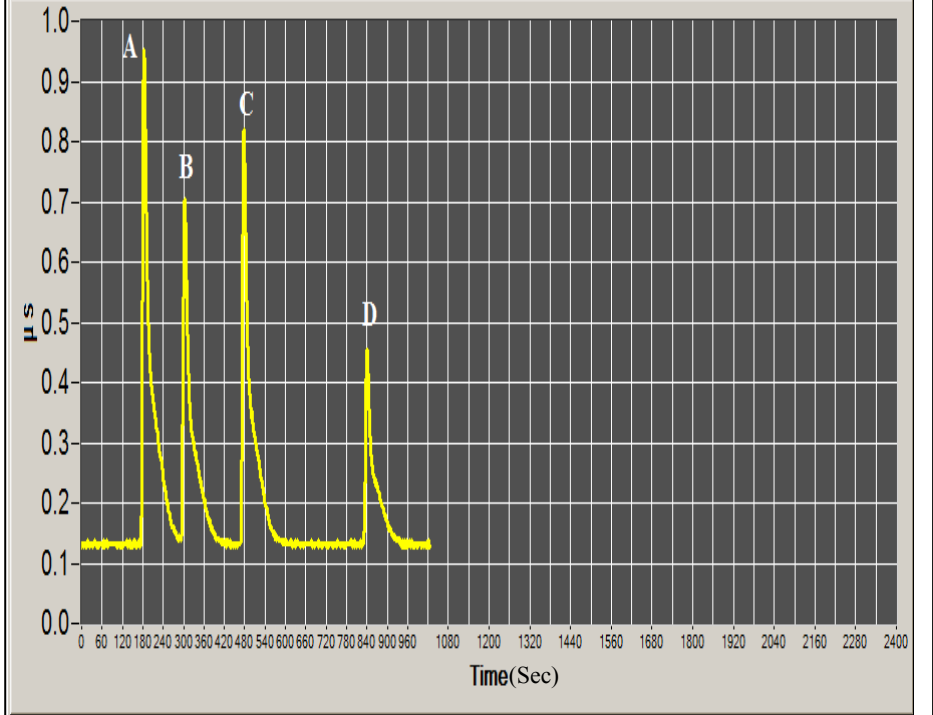
Injection Volume: 100 µl

Detection: UV

Run Time: 18 min

Peaks: 10 µg ml⁻¹ for each ion

[A- Diethyl amine C₄H₁₁N , B- Ethylene di-amine C₂H₈N₂ , C-Trimethyl amine C₃H₉N, D- Bethanechol C₄H₈O₂N₂⁺Cl⁻ .



شكل ١٥: فصل وتقدير اربعة من مشتقات الامين العضوية

Column: Dionex AS11-HC

250×4 mm ,5µm

Eluent: NaOH solution

pH = 9.5

Temperature: 25°C

Flow Rate: 1.5 ml min⁻¹

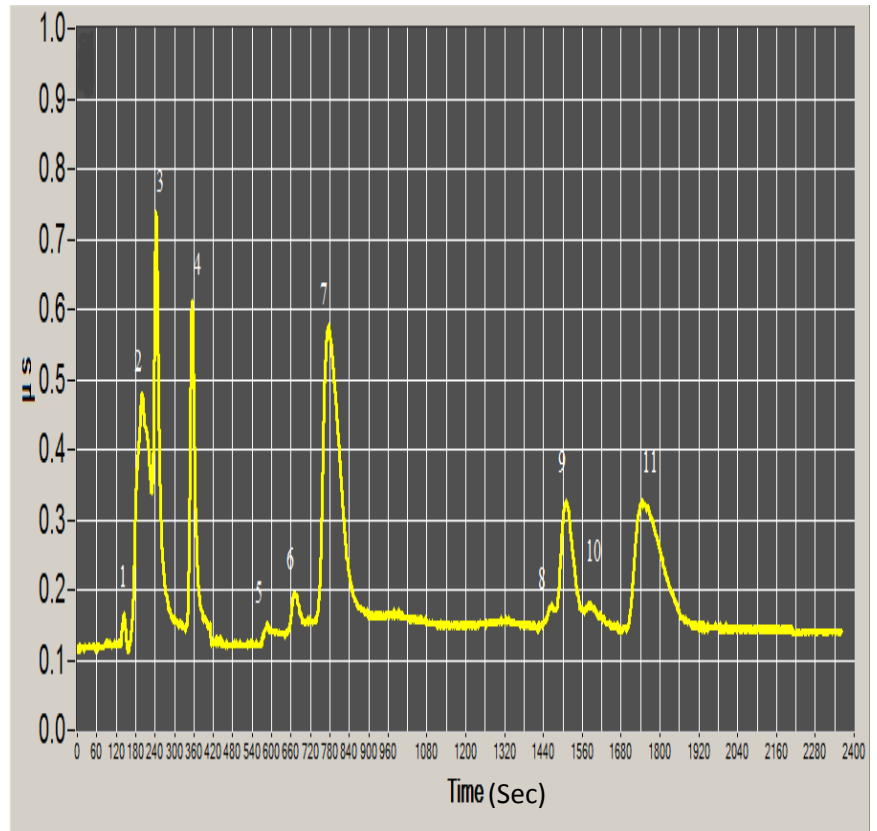
Injection Volume: 100 µl

Detection: UV

Run Time: 38 min

Peaks: µg ml⁻¹

1.Lactate	3.5
2.Acetate	7
3. Pyruvate	8
4. Fluoride	14
5. Chloride	0.6
6.Nitrate	2.5
7.Phosphate	53
8. Malonate	2.5
9. Tartrate	6.5
10 Oxalate	4.5
11.Citrate	9



شكل ١٦: فصل وتقدير عدد من الاحماض العضوية والايونات السالبة في عصائر البرتقال

الادعاءات والحقوق التي نطالب بها :-

- 1- أدعي تطوير نظام الكروماتوغرافيا الايوني المصمم ببراءة الاختراع السابقة بتزويده بجهاز مقياس طيفي UV-Vis وخلية جريان عابر بحجم 18µl .
- 2-أدعي تصميم نظام IC مزود بمعالج معطيات (Data logger Lab Jack) وحاسوب مزود ببرامج حاسوبية من اجل معالجة وحساب المعطيات ورسم الكروماتوغرام .
- 3-أدعي فصل وتقدير عدد من المستحضرات الصيدلانية ونماذج من المركبات العضوية المختلفة بنظام الايون كروماتوغرافي المحلي الصنع بسرعة ودقة واستعادية عالية جداً واستهلاك كميات قليلة جداً ب (µl) من العينات والمزيج بالمقارنة مع التقنيات التحليلية المختلفة .

المصادر:-

- 1- P. Trosa, R. Chudoba, L. Danc, R. Bodor, M. Horciciak, E. Tesarova and M. Masar, J. Chromatography,42,930, 2013,Cited in Studies in History and Philosophy of Science Part A 40, 57, 2010.
- 2- H. Small , T.S. Stevens, and W.C. Bauman , Anal. Chem. 47, 1801 ,1975.
- 3- Lokesh Bhattacharyya and Jeffrey Rohrer , Applications of Ion Chromatography for Pharmaceutical and Biological Products, First Edition. 2012.
- 4- K. Ohta and K.U. Maryama , J. Chromatography , 34, 2 , 2013 .
- 5- R. Bose , R. Saari-Nordhaus and D.S. Sethi ,First Conference of general Chemical , USA . Orlando Florida , 1820, 2010.
- 6- A. Woodruff , Second Conference of drugs Analysis, USA. Orlando Florida , 4,1670 , 2009.
- 7- R. Lin , K. Srinivasion and C. Pohl , J. Europe , 24 , 6 , 322 , 2011.
- 8- T. Bruch , H. Graalfs ,L. Jacob and C. Frech , J. Chromatography A 1216 , 919-926, 2010 .
- 9- N. Sultana, MS. Arayne, MM. Khan and M. Nawaz , J. Chem.Chinese, 29, 1933 , 2011.
- 10-Indian Pharmacopoeia, Controller of Publication, Delhi, 1-3, 816 , 921 , 2010 .
- 11-F. X. Mcgarvey , Review in Industrial ion exchange Resin , Chemicals Inc. Birmingham- New Jersey, 2010 .
- 12- K.H. Al- Sowdani, H.N.Al-salman and A.N. Al-Jadaan, Iraqi Patent from the Iraqi Ministry Planning ,Central system of standardization and quality controlled , 433 in 30-9-2015 .

- 13- P.N.Gros , J. Methods of Water Treatments , University of Taasmania , USA ,5, 659 , 2013 .
- 14- Manual of LKB-Producter AB , Box 305 , s-161 , 26 , Bromma , Sweden, 2010 .
- 15- A. Suzuki , L. W. Lim , T. Hiroi and T. Takeuchi , J. Ion Chromatography , Talanta , 75, 190 , 2011.
- 16- Agelint Corporation / Manual of Zorbax-SCX Column , 2014 .
- 17- Ercus Corporation / Manual of C18 Column , 2013 .
- 18- L. Bhattacharyya and S. Rohrer Jeffrey , Application of the ion exchange Chromatography , 1st ed. ,Chapter 5 ,105 , 2012.
- 19- Y. Liu and V. M. B. Barreto , C. A. Pohl and N. Avdlavic , J. Ion Chromatography Technology , 1, 227 , 2012 .
- 20- Manual of Data logger U12 labjack to Measurement and Automation data,University of Australia , 2015 .
- 21- Metrohm Corporation website / <http://www.youtube.com/> 2016 .
- 22- F. G. Banica , J. electro-physical , 3 , 27 , 2009 .
- 23- [http//](http://) Selecting a development of software programs approach. Revalidated: 2013 .
- 24- V. Pereira , JS. Camara and JS.Cacho , J. HPLC- methodology , 33, 1204 , 2010 .
- 25- K. Tagami , S. Uchida , I. Hirai , H. Tsukada , and H. Takeda. Anal. Chim. Acta 570, 88 , 2006 .
- 26- H . Abadinsky , J. Analysis of drugs [ISBN 9781285070278](https://doi.org/10.1002/9781285070278) , 163, 2014.
- 27- M. Clarks , J. Analysis of drugs and Poisons , 1,142 , London , 2015 .

- 28- Edgar Naegele , Agilent Technologies publication, 59892470 EN, 2015.
- 29- H.N.AL-Salman , Ph.D thesis University of Basrah , 2016 .
- 30- R. Lin , K . Srinivasion and C. Pohl , J. Europe , 24 , 6 , 322 , 2011 .
- 31- K.Vacs , M. Mrtl and A. Kende , methods for the analysis of Drugs and Organic Compounds , Microchemical Journal , 99, 125 , 2011 .
- 32- E .West , and J.L Mauer , Determining of Organic Compounds in Food , J. Food Chemistry , 29, 51 , 2011 .