



جامعة حلب
كلية الصيدلة
قسم الكيمياء

التحليل الفولط أمبيروم تري النبضي لبعض مضادات السكري في مستحضراتها الصيدلانية

رسالة قدمت لنيل درجة الدكتوراه في الكيمياء التحليلية

أعدتها
صفاء أحمد علولو

1434 هـ

2013 م



جامعة حلب

كلية الزراعة والبيئة

قسم الكيمياء

التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي لبعض مضادات السكري في مستحضراتها الصيدلانية

رسالة قدمت لنيل درجة الدكتوراه في الكيمياء التحليلية

أعدتها

صفاء أحمد علولو

بإشراف

الدكتور أمير الحاج صكر

أستاذ الكيمياء التحليلية

قسم الكيمياء التحليلية والغذائية

كلية الصيدلة

الدكتورة حسنة منديل

أستاذة الكيمياء التحليلية

قسم الكيمياء

كلية العلوم

1434 هـ

2013 م



الجمهورية العربية السورية
جامعة حلب

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
أنا لله وأنت الله

أنجز هذا البحث في قسم الكيمياء التحليلية في كلية الصيدلة بجامعة حلب

طالبة الدكتوراه صفاء علولو

بإشراف الأستاذة الدكتورة حسنة المنديل في قسم الكيمياء بكلية العلوم في جامعة حلب ومشاركة الأستاذ المساعد الدكتور أمير الحاج صكر في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية بكلية الصيدلة في جامعة حلب.

قدمت هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الدكتوراه في الكيمياء التحليلية، ونوقشت في تمام الساعة الحادية عشرة من يوم الثلاثاء الواقع في 1 / 10 / 2013 وأجيزت.

أعضاء لجنة الحكم:

- الدكتور ليون نجم
أستاذ في الكيمياء التحليلية
كلية العلوم _ جامعة حلب
- الدكتورة حسنة المنديل
أستاذة في الكيمياء التحليلية
كلية العلوم _ جامعة حلب
- الدكتور عماد نور الدين
أستاذ في الكيمياء التحليلية
كلية العلوم _ جامعة حلب
- الدكتور حسان صديق
أستاذ مساعد في الكيمياء التحليلية
كلية العلوم _ جامعة حلب
- الدكتور نوزت نبغلي
أستاذ مساعد في الكيمياء اللاعضوية
كلية الهندسة المدنية _ جامعة حلب



الجمهورية العربية السورية
جامعة حلب
كلية العلوم

- شهادة -

نشهد بأن العمل المقدم في هذه الرسالة هو نتيجة بحث علمي قامت به المرشحة صفاء علولو، بإشراف الدكتورة حسنة المنديل (المشرف الرئيس) الأستاذة في الكيمياء التحليلية في قسم الكيمياء من كلية العلوم جامعة حلب والدكتور أمير الحاج صكر (المشرف المشارك) الأستاذ في الكيمياء التحليلية في قسم الكيمياء التحليلية والغذائية من كلية الصيدلة جامعة حلب، وأي رجوع إلى بحث آخر في هذا الموضوع موثق في النص.

المشرف	المشرف المشارك	المرشحة
الأستاذة الدكتورة حسنة المنديل	الأستاذ الدكتور أمير الحاج صكر	صفاء علولو

2013 / 10 / 1

TESTIMONY

We witness that the described work in this treatise is the result of scientific search conducted by the candidate **S. Alulu** under the super of doctor **H. Mandil** (main supervisor) professor at the department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Aleppo, and doctor **A. AL-HAJ SAKUR** (assistant supervisor) professor at the department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Aleppo. Any other references mentioned in this work are documented in the text of the treatise.

Candidate
Safaa Alulu

Assistant Supervisor
Prof. Amir AL-haj Sakur

Main Supervisor
Prof. Hasna Mndil

1 / 10 / 2013



الجمهورية العربية السورية
جامعة حلب
كلية العلوم

- تصريح -

أصرح بأن هذا البحث " التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي لبعض مضادات السكري في مستحضراتها الصيدلانية " لم يسبق أن قبل للحصول على أية شهادة، ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشحة

صفاء علولو

DECLARATION

It is hereby declared that this work " **Pulse Voltammetric Analysis of Some Anti-Diabetic Drugs in its Pharmaceuticals Preparation**" not already been accepted for any degree, and it is not being submitted concurrently for any other degree.

Candidate
Safaa Alulu

أهدي نجاحي هذا ..

إلى من أستمد من روحه الطاهرة قوتي.....

والدربي رحمه الله

إلى رمز الصبر والحنان من أفخر بها أما ومعلماً وصديقاً.....

أبي

إلى رفاق الدرب أصدقاء الأيام ولا تحلوا الحياة إلا معهم.....

إخوتي

إلى الروح التي أمدتني بكل دعم معنوي وكانت أحد أسباب نجاحي الذين ما بخلوا علي
بعطائهم المستمر.....

زوجة زوجي الغالية

إلى أغلى وأجمل ما حباني الله.....

مجد الدين

إلى رفيق الدرب وصديق الروح.... من شاركني أحلى وأصعب اللحظات.... صاحب
الفضل الكبير..

باصح

صفا، أحمد علولو

كلمة شكر

ووصلنا إلى النهاية... ومضت هذه السنة حاملة معها أصعب وأجمل اللحظات... أقف في نهايتها هنا حاملة في قلبي أسمى عبارات الشكر والامتنان لكل من وقف إلى جانبي وساندني بكل لحظة حيث يعجز اللسان عن التعبير... أقف بفائق الشكر والاحترام.....

إلى رئاسة جامعة حلب محلة برئيس الجامعة ونائبه للتشجيع العلمية والادارية.....

إلى عمادة كلية العلوم وعمادة كلية الصيدلة ممثلة بالعمير ونائبه للتشجيع العلمية والادارية.....

رئاسة قسم الكيمياء في كلية العلوم ورئاسة قسم الكيمياء التحليلية والغذائية في كلية الصيدلة.....

إلى الأساتذة الدكتوراه سمينة المنديل التي كانت معي في كل خطوة وتكرمت علي بوقتها الثمين ومناعتها العلمية القيمة وأولت هذا البحث جد اهتمامها فلها مني كل الحب والاحترام.....

إلى الأساتذة الدكتوراه امير الحاج صكر لما منحني به من شرف بتفضله بالمشاركة في الأبحاث علمي هذا البحث....

إلى الأساتذة الدكتوراه عبد العزيز رمضان للاهتمامه وتوجيهاته التي كان لها الأثر في إرسائي نحو الأفضل.....

الأساتذة الدكتوراه ليون نجح

الأساتذة الدكتوراه جمال نور الدين

الدكتوراه جمال صديق

والدكتوراه فوزي نبغلي

لتفضلهم بقرائة هذا البحث وقبولهم بالمشاركة في لجنة التحكيم طم مني كل الشكر والتقدير

كما أخص بالشكر الأساتذة الدكتوراه نظيرة سر كس وجميع الأخصاء من هيئة تدريسية وطلاب دراسات عليا وموظفين

ومخبريين في مختبر مخوش الكيمياء التحليلية والغذائية في كلية الصيدلة.....

إلى من مررت به العواطف ولم يخسوا علمي بعلمهم ورفقهم السنين ساركوني فرحسي وتحفيس آمالي وأمضيت معهم أجمل

الذكريات أصدقائي منار أحمد بنانة مهند قيرنزا طم فائق الشكر والامتنان.....

صفاء أحمد علولو

الفهرس

INDEX

الدراسة النظرية

- 1 -I تمهيد
- 3 -II المقدمة
- 3 -1 الداء السكري
- 4 -2 أنواع الأدوية المضادة للداء السكري
- 9 -III الأبحاث السابقة
- 9 -1 تحديد الغليبيريد
- 15 -2 تحديد الريباغليزيد
- 18 -3 تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد
- 22 -4 أساسيات التحليل الفولط أمبيرومترى
- 35 -5 تحديد بعض المركبات العضوية الدوائية باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى
- 40 -IV أهمية البحث وأهدافه

القسم العملي

- 41 -1 الأجهزة والأدوات
- 43 -2 المواد والمحلات المستخدمة
- 43 -3 المحاليل والكواشف
- 49 -4 طريقة العمل
- 49 -5 الحسابات
- 50 -I النتائج والمناقشة
- 50 -1 نتائج تحديد الغليبيريد
- 50 -1-1 تأثير طرائق التحليل الفولط أمبيرومترى
- 52 -2-1 التحليل الفولط أمبيرومترى النبضى التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات
- 60 -3-1 دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات باستخدام مسرى الزئبق القطار DME

- 61 -4-1 دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE
- 62 -5-1 دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE
- 63 -6-1 تفسير العملية المسروية لإرجاع الغليوريد على مسرى الزئبق
- 64 -7-1 النتائج التحليلية والمنحنيات العيارية للغليوريد
- 73 -2 نتائج تحديد الريباغليينيد
- 73 -1-2 تأثير طرائق التحليل الفولط أمبيرومترية
- 76 -2-2 التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات
- 83 -3-2 دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات باستخدام مسرى الزئبق القطار
- 84 -4-2 دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة
- 85 -5-2 دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE
- 86 -6-2 تفسير العملية المسروية لأكسدة الريباغليينيد على مسرى الزئبق
- 87 -7-2 النتائج التحليلية والمنحنيات العيارية للريباغليينيد
- 95 -3 نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد
- 95 أولاً: دراسة العوامل المؤثرة على البيوغليتازون هيدروكلوريد بالتحليل الفولط أمبيرومترية النبضي باستخدام مسرى DME و SMDE
- 95 -1 تأثير طرائق التحليل الفولط أمبيرومترية
- 97 -2 التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات
- 105 -3 دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات باستخدام مسرى الزئبق القطار DME
- 107 -4 دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE
- 109 ثانياً: دراسة العوامل المؤثرة على ارجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بالتحليل الفولط أمبيرومترية النبضي باستخدام مسرى HMDE
- 109 -1 التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي
- 115 -2 التحليل الفولط أمبيرومترية الحلقي
- 116 -3 التحليل الفولط أمبيرومترية بالتراكم الادمصاصي المهبطي ذو الموجة المربعة
- 120 ثالثاً: تفسير العملية المسروية لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد

124	رابعاً: المنحنيات العيارية لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد
136	-II التطبيقات العملية
136	1- تحديد الغليبوريد في مستحضراته الصيدلانية
140	2- تحديد الريباغليينيد في مستحضراته الصيدلانية
142	3- تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في مستحضراته الصيدلانية
147	الاستنتاجات
150	المراجع العلمية
158	الأبحاث المنشورة
	ملخص انكليزي

الدِّراسَة النَّظَرِيَّة
Theoretical Study

I - تمهيد

PRELUSION

اكتسب التحليل الكهركيميائي في الآونة الأخيرة أهمية كبيرة في مجال التحليل الحيوي (البيولوجي) والدوائي وهناك العديد من الأسباب التي جعلته يحتل المركز الأول، فهو يجمع حساسية كبيرة وحدٍ كشفٍ ممتاز ومجال ديناميكي واسع؛ وتعتبر طرائق التحليل الكهركيميائي نموذجية وسهلة وبسيطة التطبيق وذات انتقائية عالية، كما أن إمكانية التحليل الحيوي أصبحت مطروقة بشكل واسع، وتهتم التقنيات الكهركيميائية بالتفاعل الحاصل نتيجة لشروط كهربائية وكيميائية مطبقة، وعلى وجه التحديد، فهي تهتم بقياس مقادير كهربائية مثل التيار أو الكمون وعلاقتها بمقادير كيميائية، واستخدمت هذه القياسات في المجالات التحليلية ولاقت العديد من التطبيقات منها البيئي والصناعي والدوائي.

طورنا طريقة تحليلية فولط أمبيرومترية نبضية لتحديد بعض مضادات السكري التالية: غليبوريد Glyburide، ريباغلينيد Rebaglinide وبيوغليتازون هيدروكلوريد Pioglitazone Hydrochloride، ودرسنا مختلف طرائق التحليل الفولط أمبيرومترية التي تعطينا معلومات عن طبيعة العملية المسروية (مصعدية أو مهبطية)، وطبقنا بعض القوانين المرجعية في اثبات الزمرة التي حصل عليها التفاعل الكهركيميائي، واقترحنا معادلة التفاعل التي تبين الحالة التي تتحول إليها المادة لدى اقترابها من سطح المسرى واستنتجنا أن لكل مركب خواص كهركيميائية مميزة له من خلال الزمر الوظيفية التي يمتلكها.

✓ لدى دراسة مادة الغليبوريد والتي تنتمي لمجموعة السلفونيل يوريا، وجدنا أن للمادة خواص كهركيميائية تُعزى لوجود زمرة الكربونيل فيها، وأثبتنا أن العملية المسروية مهبطية خاضعة لنظام لا عكوس؛ في وسط واقٍ خلّي بتركيز 5mM و pH 6.5، تمكنا من تحديد مادة الغليبوريد Glyburide بشكلها النقي وفي مستحضراتها الصيدلانية مع العلم أن بعض المستحضرات الصيدلانية كانت فيها المضغوطة حاوية على الغليبوريد بكمية (1.25mg, 2.5mg, 5mg) بالإضافة إلى مادة الميتفورمين هيدروكلوريد Metformin Hydrochloride والتي تكون كميتها المرافقة (500 mg, 850 mg) مما يدل على أن الطريقة المطبقة هي طريقة ذات انتقائية عالية جداً.

✓ لدى دراسة مركب الريباغلينيد Rebaglinide وجدنا أن للمركب خواص كهركيميائية تختلف تماماً عن خواص الغليبوريد علماً أن للمركبين زمر وظيفية متشابهة، إلا أن العملية المسروية للريباغلينيد كانت مصعدية خاضعة لنظام عكوس تعود لزمرة الكربونيل أميد، وأجرينا تطبيق الطريقة الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية لتحديد الريباغلينيد في المستحضرات الصيدلانية المتوفرة في الأسواق السورية .

✓ لدى دراسة مركب البيوغليتازون هيدروكلوريد Pioglitazone Hydrochloride وهو مركب ينتمي لمجموعة الثيازول، لاحظنا أن للمركب خواص كهركيميائية تعود لعدد من الزمر الكهركيميائية الموجودة في صيغته والتي تمت دراستها بالتفصيل بتطبيق مختلف الطرائق الفولط أمبيرومتريية التفاضلية والحلقية والادمصاصية على مختلف نماذج مساري الزئبق. وجدنا أن البيوغليتازون هيدروكلوريد يخضع لعملية مسروية مهبطية وفقاً لنظام ثنائية لعاكوسة في وسط واقي بريوني وعند pH 6 أو pH 7.5 وفقاً لنموذج المسرى المستخدم؛ حيث لاحظنا ظهور ثلاثة قمم للمادة: الأولى تظهر عند كمن قمة $E_{p1} = -0.15$ V والثانية عند كمن $E_{p2} = -1.05$ V والثالثة عند كمن $E_{p3} = -0.55$ V. لاحظنا أن القمة الأولى والثانية تظهر لدى استخدام مسرى الزئبق القطار DME ومسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE، واقترحنا الآلية للتفاعلات الحاصلة على سطح المسرى، وبيننا أن القمة الأولى تعود لارجاع زمرة الأوكسي والثانية تعود لارجاع زمرة السيان C=N، كما لاحظنا أن القمة الثانية لاتظهر لدى استخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HNDE وإنما تظهر القمة الأولى فقط وبتيار صغير، ثم تظهر القمة الثالثة على شكل قمة حادة جداً ومتناظرة بالمقارنة مع القمتين السابقتين واثبتنا أنها ناتجة عن ارجاع ذرة الكبريت المرتبطة في حلقة الثيازول. وأجرينا تطبيق الطريقة الفولط أمبيرومتريية النبضية التفاضلية والطريقة الفولط أمبيرومتريية ذات الموجة المربعة لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الصيدلانية المتوفرة في الأسواق السورية.

II - المقدمة

INTRODUCTION

Diabetes mellitus

1- الداء السكري [1, 2]:

الداء السكري Diabetese mellitus كلمة يونانية تشير إلى فرط العسل Pass Honey، كان العالمان Von Mering و Minkowski أول من وصف متلازمة الداء السكري عام 1889م، وتم بعد ذلك مرافقتها بالبنكرياس، والداء السكري هو حالة يكون فيها الجسم غير قادر على استخدام الغذاء الذي يتناوله كمصدر للطاقة. ينتج مرض السكري عن ارتفاع مزمن لمستوى السكر (الغلوكوز) في الدم ويعتبر السكر من المواد الرئيسية التي تحتاجها خلايا الجسم لتغذيتها وإنتاج الطاقة اللازمة لكي يستطيع الجسم القيام بوظائفه الحيوية المختلفة. والسكر هو مادة يحصل عليها جسم الإنسان من الغذاء، فبعد هضم الطعام تتحول النشويات إلى الغلوكوز البسيط الذي تمتصه الأمعاء، ثم ينتقل بواسطة الدم إلى خلايا الجسم. لا يستطيع السكر الدخول إلى خلايا الجسم لتغذيتها إلا بوجود الأنسولين، وهو هرمون تنتجه غدة البنكرياس التي تقع في تجويف البطن خلف المعدة، ويعتبر المنظم الرئيسي لمستوى الغلوكوز في الدم. يصاب الإنسان بالسكري نتيجة عجز البنكرياس عن إفراز هرمون الأنسولين أو إفرازه بكميات غير كافية أو غير فعالة مما يؤدي إلى عدم دخول الغلوكوز إلى خلايا الجسم وبقائه في الدم بكميات أعلى من المستوى الطبيعي وبذلك تحدث حالة ارتفاع السكر في الدم.

تعمل الأدوية عادة على خفض مستويات الغلوكوز في الدم، وتحتوي على عدة أنواع مختلفة، يعتمد استخدام كل نوع على طبيعة ونوع الداء السكري، عمر ووضع المريض، إضافة لعوامل أخرى مثل وجود أمراض أخرى يعاني منها المريض. وللداء السكري أربعة أنماط:

- النمط الأول فهو يعتمد على الأنسولين سببه تخرّب خلايا بيتا البنكرياسية المسؤولة عن إنتاج الأنسولين ويحتاج هذا النمط لمعاوضة الأنسولين ويكون المصابين به معرضين للحمض الكيتوني (حمض البول) إذا لم يأخذوا كفايتهم من الأنسولين، ويحدث النوع الأول من مرض السكري في سن الطفولة أو المراهقة أو الشباب أي تحت سن 30 سنة.
- أما النمط الثاني غير معتمد على الأنسولين، وهو الأكثر شيوعاً وسببه زيادة مقاومة الأنسولين (قلة الاستجابة له) من خلايا الجسم وتعطل إفراز الأنسولين من البنكرياس وبنسب متفاوتة بين مريض وآخر ولا يعتمد علاجه كلياً على استعمال الأنسولين وإنما يعتمد على مضادات السكري وهذا النوع غالباً ما يصيب الكبار بعد سن الثلاثين ولكن قد يصيب من هم أصغر من هذا السن، ولهذا النوع علاقة كبيرة بالسمنة، كما أن العامل الوراثي يلعب دوراً كبيراً في حدوثه.
- أما النمطين الثالث والرابع فهما النمط الوراثي والنمط الحملي على التوالي.

2- أنواع الأدوية المضادة للداء السكري [3, 4]:

The Sort of Anti-diabetes Drugs

الداء السكري مرض قديم قدم البشرية ؛ حيث لاحظ الناس أعراضه وحاولوا ابتكار معالجات له بغية التعايش معه قدر المستطاع، وقد استغرقت محاولات كشف أسبابه وخفاياه واستنباط وسائل علاجه آلاف السنين وجهود آلاف الأطباء والباحثين، ومن هنا أتت فكرة المعالجات الفموية، وكانت أول مجموعة من خافضات السكر الفموية الأدوية المسماة (السلفونيل يوريا)، والتي اكتشف تأثيرها صدفةً في عام 1944م في خفض سكر الدم بعد أن كان يتم تجربتها لمعالجة التيفوئيد، ثم تم ابتكار أدوية أخرى كالبيغوانيدات في الخمسينات، وتم تقديم الميتفورمين في السبعينات وتم تطويره في الثمانينات. أما عصرنا الحالي فيشهد أدوية جديدة من هذه الفئة باستمرار.

تقسم هذه الأدوية إلى المجموعات التالية [5]:

Insulin Secretion Inducers

1-2- محرّضات إفراز الأنسولين:

Sulfonylurea Group

1-1-2- مجموعة السلفونيل يوريا :

وهي المجموعة الأكثر شيوعاً واستعمالاً من قبل مرضى الداء السكري، وتعتبر أفضل الأدوية التي تعطى عن طريق الفم من الناحية الاقتصادية والدوائية، وتعمل هذه الأدوية على تنبيه البنكرياس لإفراز الأنسولين.

الجيل الأول First-generation agents

- ✓ أسيتوهكساميد Acetohexamide
- ✓ كلوربروباميد Chlorpropamide
- ✓ تولازاميد Tolazamide
- ✓ تولبيوتاميد Tolbutamide

الجيل الثاني Second generation agents

- ✓ غليمبيريد Glimperide
- ✓ غليبزيد Glipizide
- ✓ غليبوريد Glyburide

2-1-2- الميغلتيديدات:

Miglitides

آلية عملها مشابهة لآلية عمل مشتقات السلفونيل يوريا ولكنها تمتلك بدء فعل سريع ومدة فعل قصيرة، فهي مفيدة كمنظمة للجلوكوز بعد الطعام لذلك غالباً ما تُرافق المعالجة بها مع الميتفورمين أو الغليتازون ونذكر منها.

✓ ريباغلينيد Rebaglinide

✓ ناتيجلينيد Nateglinide

2-2- رافعات التجاوب للأنسولين (مقويات حساسية الخلايا للأنسولين):

1-2-2- مجموعة البيغوانيد:

Biquanide

تستخدم هذه المجموعة عند بداية الشعور بمرض السكري، وتعمل هذه الأدوية على:

- تنشيط استهلاك السكر في النهايات الطرفية.
- تقليل تحليل السكر وخروجه من الكلية.
- تزيد استهلاك الأمعاء للسكر.

مثال لهذه المجموعة: ميتفورمين Metformin 500 ملغ و 850 ملغ.

2-2-2- مجموعة الثيازوليدينونات:

Thiazolidinediones

تعتبر هذه المجموعة من أحدث أدوية السكر وتعمل على زيادة حساسية الأنسولين للالتصاق بمستقبلات الخلية. تقلل كمية السكر الناتج من الكبد وذلك بتقليل عملية تحلل السكريات إلى سكريات سهلة الامتصاص.

3-2- مثبطات خميرة ألفا جلوكوزيداز:

Co- Glucosidase Inhibitors

تستخدم هذه المجموعة لتقليل ارتفاع السكر الناتج بعد تناول الأكل عن طريق تثبيط هذا الإنزيم، ونذكر مثال عن هذه المجموعة الغليبيزيد Glipizide .

✓ أكاربوز Acarbose

✓ ميغلitol Miglitol

4-2- هرمونات معدية معوية

مثل الجلوكاغون وهو عبارة عن ببتيد صناعي يُعطى عن طريق الحقن.

3- لمحة عن المركبات التي تمت الدراسة عليها:

Metformin HCl

3-1-1- الميثفورمين هيدروكلوريد:

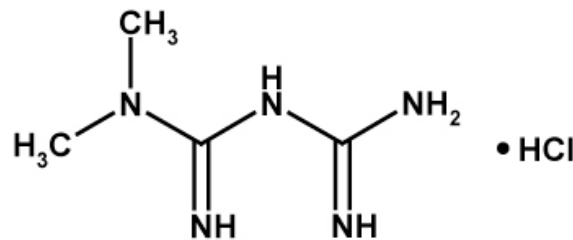
3-1-1-1- تعريفه:

الميثفورمين هو دواء مضاد لمرض السكري في فئة biguanide يعطى عن طريق الفم، ويعتبر الخط الأول في الاختيار لعلاج مرض السكري من النمط الثاني، وعلى وجه الخصوص، للناس الذين يعانون من زيادة الوزن والبدانة والذين يعانون من وظائف الكلا الطبيعية [6-8]. ان استخدامه لمعالجة مرض السكر الحلمي كان محدوداً لأنه يترافق بمخاوف تتعلق بالسلامة. كما أنه يستخدم في علاج متلازمة المبيض المتعدد الكيسات [9].

تم تصنيعه لأول مرة لخفض نسبة السكر في الدم عام 1920م، ومن ثم تم نسيان الميثفورمين على مدى العقدين المقبلين للتاريخ المذكور، مع تحول البحوث إلى الأنسولين والأدوية المضادة للسكري الأخرى. وقد بدأ الاهتمام الأكبر بالميثفورمين في أواخر 1940 م، بعد عدّة تقارير عنه تفيد في إمكانية تقليل مستويات السكر في الدم، وفي عام 1957م، نشر الطبيب الفرنسي جان ستيرن التجارب السريرية الأولى عن الميثفورمين كعلاج لمرض السكري. وقُدّم إلى المملكة المتحدة في عام 1958م، وكندا في عام 1972م، والولايات المتحدة في عام 1995م [10،11].

3-1-2- الخواص الكيميائية [12]:

الميثفورمين عبارة عن مسحوق أبيض، ينحل في الماء بشكل جيد وهو قليل الانحلال في الأغوال وينحل جزئياً في الأسيتون، أما ثابت تشرده pKa فهو 2.8 و 11.5، وصيغته الكيميائية $C_4H_{12}ClN_5$ ووزنه الجزيئي $165.624 \text{ gr.mol}^{-1}$ ، أما صيغته المنشورة فهي مبينة بالشكل رقم (1).



الشكل رقم (1)

الصيغة المنشورة للميثفورمين هيدروكلوريد

Glyburide

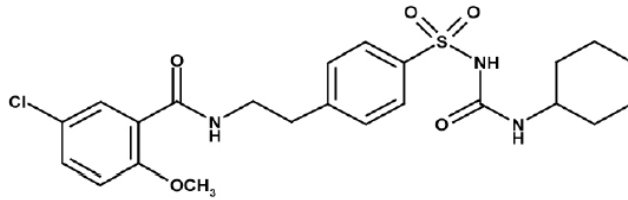
3-2- الغليبوريد:

3-2-1- تعريفه [13]:

الغليبوريد، المعروف أيضاً باسم غليبينكلاميد Glybinclamide، هو دواء مضاد السكري في فئة من الأدوية التابعة لمجموعة السلفونيل يوريا، تم تطويره في عام 1966م .

3-2-2- الخواص الكيميائية [14،15] :

الغليبوريد عبارة عن مسحوق بلوري أبيض، انحلالته في الماء حوالي $4\mu\text{g.mL}^{-1}$ عند pH 4.0 و $600\mu\text{g.mL}^{-1}$ عند pH 9.0 و 3mg.mL^{-1} في الكحول، وثابت تشرده $\text{pKa } 6.8$ ، صيغته الكيميائية $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{ClN}_3\text{O}_5\text{S}$ ووزنه الجزيئي 494.03gr.mol^{-1} وصيغته المنشورة موضحة في الشكل رقم (2):



الشكل رقم (2)

الصيغة المنشورة للغليبوريد Glyburide

Rebaglinide

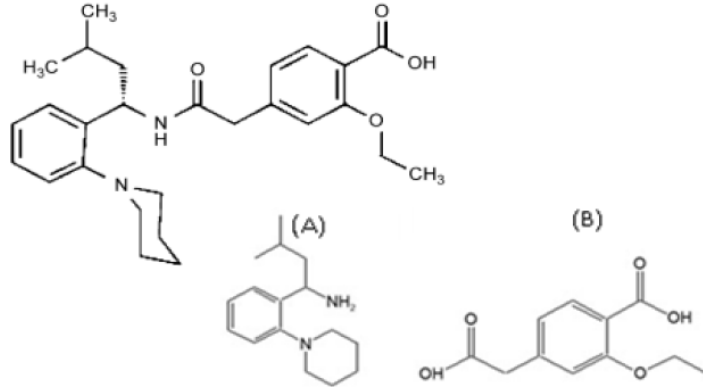
3-3- الريباغليينيد:

3-3-1- تعريفه:

الريباغليينيد دواء فموي يستخدم في معالجة الداء السكري غير المعتمد على الانسولين وهو أحد مشتقات حمض البنزويك، غير مرتبط كيميائياً بالسلفونيل يوريا المحرصة على افراز الأنسولين [16] .

3-3-2- الخواص الكيميائية:

الريباغليينيد عبارة عن مسحوق أبيض، منحل في ثنائي ميثيل سلفوكسيد DMSO بنسبة 34mg.mL^{-1} ، وينحل بسهولة في المحاليل العضوية مثل الأسيتون، الكلوروفورم، الايتانول، الميثانول والأسيتو نتريل، كذلك ينحل في المحاليل القلوية الحاوية على هيدروكسيد الصوديوم أو فوسفات الصوديوم عند قيم pH 9-10، والشكل رقم (3) يبين المركبات التي يمكن أن تنتشر إليها في الأوساط القلوية [17]. وييدي الريباغليينيد خواص حمضية ضعيفة، كذلك يمتلك انحلالية كبيرة في الأوساط المائية عند pH مرتفعة، وله ثوابت تشرد $\text{pKa } 4.19$ و 5.78 [18]. صيغته الكيميائية $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4$ ووزنه الجزيئي 452.59g.mol^{-1} والصيغة المنشورة للريباغليينيد موضحة في الشكل رقم (3).



الشكل رقم (3)

الصيغة المنشورة للربياغلينيد والشوائب المرافقة له A و B الناتجة عن نشردها في الأوساط القلوية.

Pioglitazone HCl

3-4- البيوغليتازون هيدروكلوريد:

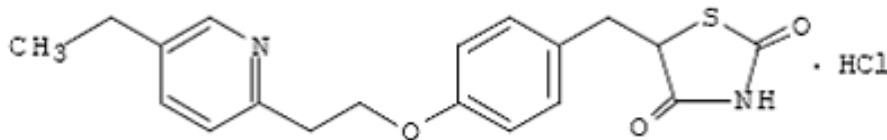
3-4-1- تعريفه:

هو دواء من مجموعة thiazolidinedione (TZD) خافض سكر الدم، يتم استخدامه لتحسين السيطرة على الغلوكوز عند البالغين الذين يعانون من مرض السكري من النمط 2، [19،20].

3-4-2- خواصه الكيميائية:

البيوغليتازون عبارة عن دواء لا قطبي قليل الانحلال في الأوساط المائية، لذلك استخدم بأشكاله المختلفة لتحسين انحلاله منها الشكل الملحي [21]، والشكل البلوري [22]، إضافة محلات مساعدة [23]، عوامل فعالة سطحياً [24]، وسوائل شاردية [25].

البيوغليتازون هيدروكلوريد عبارة عن مسحوق بلوري أبيض، ينحل في حمض الخل 5N وينحل بشكل بسيط (معكر) في الإيثانول وجزئياً في الماء. ثابت التشرذ للبيوغليتازون هيدروكلوريد 5.8 و 6.1 pKa. الشكل المستخدم في المستحضرات الصيدلانية هو الشكل الملحي PGZ-HCl. صيغته الكيميائية $C_{19}H_{20}N_2O_3S \cdot HCl$ ووزنه الجزيئي $392.9 \text{ gr.mol}^{-1}$ وصيغته المنشورة موضحة في الشكل رقم(4).



Pioglitazone hydrochloride

الشكل رقم (4)

الصيغة المنشورة للبيوغليتازون هيدروكلوريد .

III- الأبحاث السابقة

REVIEWS

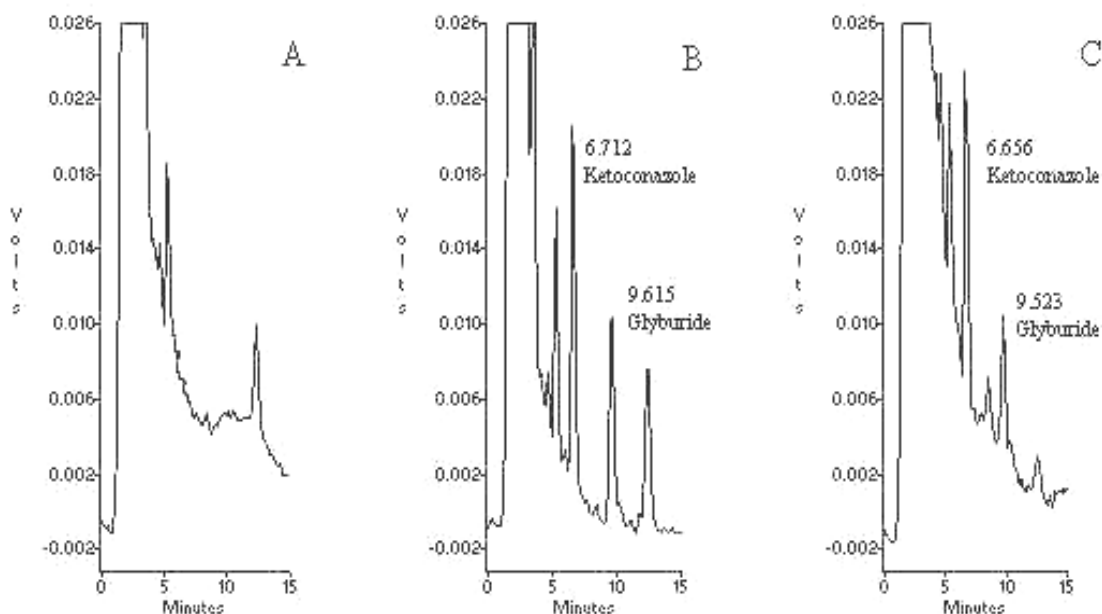
Determination of Glyburide

1- تحديد الغليبوريد:

1-1- طريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة المزودة بكاشف الفلورة:

HPLC with Fluorescence Detector

استخدمت طريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة لتحديد الغليبوريد والكيبتوكونازول (عيار داخلي IS) في البلازما البشرية، والمزودة بكاشف الفلورة عند طول موجة إثارة (excitation) 235nm وطول موجة إصدار (emission) 254nm وذلك بعد استخلاصهما من البلازما بإضافة 0.5mL من البلازما إلى 0.5mL أسيتو نتريل و 50µg كبريتات نحاس (5% w/v في الماء) ؛ حيث تم الفصل والتحديد على عمود C₈ ذو الطور المعكوس عند درجة حرارة مثلى وطور متحرك مكون من 45% محلول وافي من NH₄H₂PO₄ بتركيز 0.05 M و pH 5.7 و 40% أسيتو نتريل و 15% ميتانول. تم امتلاص كل من العياري الداخلي والغليبوريد عند زمن فصل 6.7 و 9.6 دقيقة على التوالي بمعدل جريان 1mL.min⁻¹، رُسمت المنحنيات العيارية وتراوح المجال الخطي لكل منهما بين 5– 400 ng.mL⁻¹ وكان حد التحديد الكمي (LOQ) للغليبوريد 5ng.mL⁻¹ [26].



الشكل رقم (5)

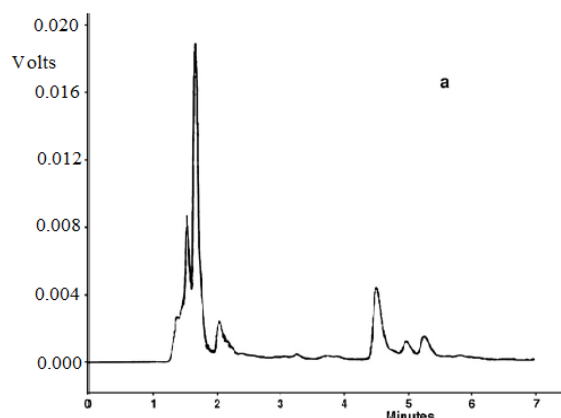
الكروماتوغرامات الناتجة عن تحليل (A) عينة بلازما شاهدة، (B) عينة بلازما تحتوي 150 ng.mL⁻¹ كيتوكونازول (IS) مع 100ng.mL⁻¹ غليبوريد، (C) عينة بلازما أخذت من شخص تمت عليه الدراسة بعد ساعتين من اعطائه مضغوة غليبوريد عيار 5mg ؛ حيث ان تركيز الغليبوريد 51.7ng.mL⁻¹.

كذلك تم تطبيق هذه الطريقة لتحديد الغليبيريد في المصل البشري؛ حيث تم استخلاص عينة المصل في وسط واقى حمضي وتم الكشف عند طول الموجة 380nm ، أما حساسية الطريقة فقد كانت 10ng.mL^{-1} [27].

2-1- طريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة المزودة بكاشف طيفي: HPLC-UV

استخدمت طريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة المزودة بكاشف طيفي لتحديد الغليبيريد في البلازما البشرية بعد استخلاص العينات بالطور سائل - سائل، وتم التحديد عند طول الموجة 254nm، والحقن في عمود XDB-C₈ باستخدام طور متحرك مكون من 45% من محلول واقى $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ بتركيز 50mM، و 55% من أسيتو نتريل بمعدل جريان 1.5mL.min^{-1} ودرجة حموضة 5.35 pH.

تم امتلاص الغليبيريد عند زمن فصل تراوح بين 5.7 – 5.9 min، رُسمت المنحنيات العيارية وتراوح المجال الخطي لكلٍ منهما بين $5 - 400\text{ng.mL}^{-1}$ ، ومردود تراوحت بين 71-75% [28]. والكروماتوغرام الناتج عن تحليل عينة بلازما خالية من الغليبيريد وأخرى تحتوي عليه موضح في الشكل رقم (6).



الشكل رقم (6)

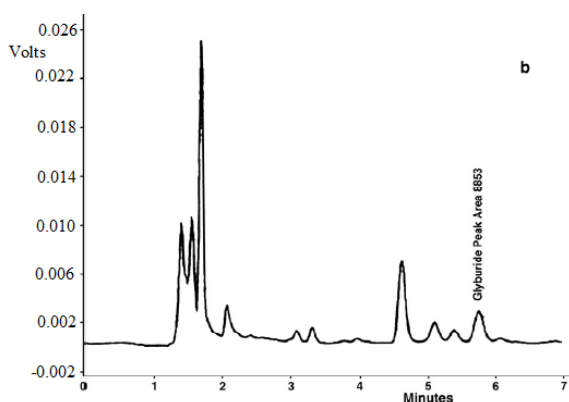
الكروماتوغرام الناتج عن تحليل:

(a) عينة بلازما شاهد

(b) عينة بلازما تحتوي

400ng.mL^{-1} غليبيريد وفقاً

لطريقة HPLC-UV.



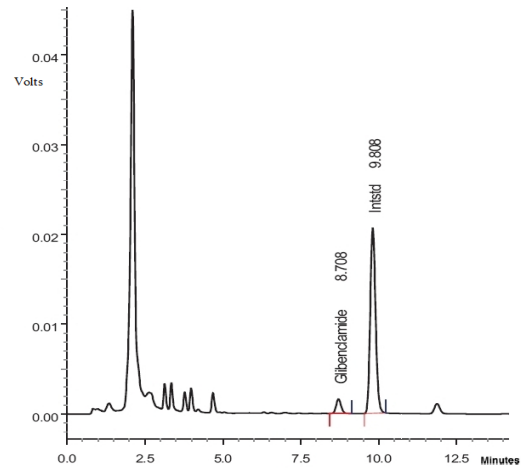
تم تحديد الغليبيريد والمتفورمين Metformin في البلازما البشرية بطريقة HPLC المزودة بكاشف طيفي بتطبيق الفصل على طور صلب [29].

كذلك تم استخدام هذه الطريقة لتحديد الغليبيريد في مصل الكلاب واستخدم البوتيل بارابين butylparaben كعيار داخلي؛ حيث تم استخلاص عينة مصل في وسط واقى حمضي 1mL بالتولوين toluene، ومن ثم تم تبخير التولوين حتى الجفاف وأعيد حل الجزء غير المُنحل وحقنه في عمود كروماتوغرافي ذو طور معكوس، وتم الكشف عند طول موجة 228nm، أما حد الكشف فكان 20ng.mL^{-1} [30].

تم تحديد الغليبينكلاميد Glibenclamide في المصل البشري، بطريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة ذات الطور المعكوس RP-HPLC؛ حيث تم فصل المركبات الحيوية المرافقة للمادة المدروسة من خلال ترسيبها باستخدام الميثانول ثم حقن المركب والعيار الداخلي في عمود كروماتوغرافي C_{18} ذو طور معكوس، باستخدام طور متحرك مكون من الأسيتو نتريل وواقى فوسفاتي بتركيز 25mM عند درجة حموضة 3.5 pH بنسبة مزج 3:2، وتم الكشف طيفياً عند طول الموجة 253nm، ولم يتجاوز زمن الاحتفاظ 12min، أما حد التحديد الكمي فقد كان 25ng.mL^{-1} ، وتراوح المجال الخطي بين $50-500\text{ng.mL}^{-1}$ [31]، الشكل رقم (7).

الشكل رقم (7)

الكروماتوغرام الممثل للمحلول
العيارى للغليبينكلاميد والعيارى
الداخلي غليمبيريد بطريقة التحليل
HPLC لعينة مصل بشري.



طبقت كلاً من طريقتي HPLC و HPTLC لتحديد الغليبينكلاميد في دراسة التوافر الحيوي bioavailability في المصل البشري، وتم الكشف عند طول الموجة 200nm بالنسبة للطريقة الأولى و 300nm بالنسبة للطريقة الثانية، وقد وصل حد الكشف إلى 5ng.mL^{-1} [32].

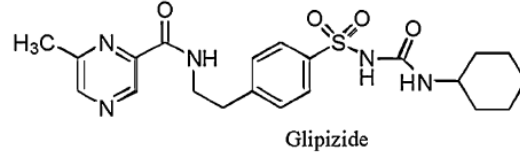
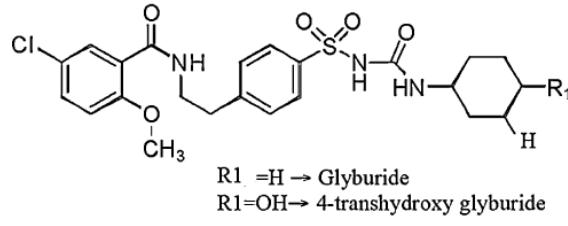
تم تحديد الغليبينكلاميد أيضاً بطريقة HPLC المزودة بكاشف طيفي؛ حيث استخدم الغليبينوريد Glibornuride كعيار داخلي IS وتم الاستخلاص بالبنزن في وسط واقى حمضي؛ ثم بُخرت الطبقة العضوية وحل الراسب المتبقي بكمية كافية من الطور المتحرك المكون من الأسيتو نتريل - واقى فوسفاتي بتركيز 0.01M وعند درجة حموضة 3.5 pH بنسبة مزج 50:50. تم التحديد عند طول الموجة 225nm [33].

وفي دراسة أخرى تم استخدام طريقة HPLC المزودة بكاشف UV لتحديد الغليبينكلاميد في المصل البشري ولدراسة الحركية الدوائية، ولكن استخدم الديازيبام Diazepam كعيار داخلي IS، وتم استخلاص كلٍ منهما بـ ديكلوروميثان Dichloromethane. أما الفصل فقد تم على عمود كروماتوغرافي C₁₈ وطور متحرك مكون من فوسفات أحادية الأمونيوم / حمض الفوسفور 0.05M، pH 4.0، مع الميثانول بنسبة مزج 40:60 ومعدل تدفق 1.2 mL.min⁻¹، وتم الكشف عند طول الموجة 230nm. زمن الاحتفاظ لكل من الغليبينكلاميد والعيار الداخلي لم يتجاوز 11min، وحد الكشف 5 ng.mL⁻¹، وتراوح المجال الخطي ما بين 10-400 ng.mL⁻¹ [34].

كما تم تحديد الغليبينكلاميد بطريقة HPLC أيضاً باستخدام عياري داخلي من حمض الفلوفيناميك flufenamic acid؛ وتم عزل البروتينات من العينة بواسطة الأسيتو نتريل، وبعد التثقيب والفصل بالإبانة، تمت معالجة المتبقي ومن ثم حقنه في عمود كروماتوغرافي ذو طور معكوس C₈ Spherisorb عند درجة حرارة مثلى وطور متحرك أسيتو نتريل - ماء بنسبة مزج (45:55 v/v) عند درجة حموضة 3.7 - 3.8 pH ومعدل تدفق للطور المتحرك 2 mL.min⁻¹. وطول موجة الكاشف 230nm. لم يتجاوز الاحتفاظ 12min، حُد المجال الخطي 20-400 ng.mL⁻¹، وحد الكشف 20 ng.mL⁻¹، بمرود لم يتجاوز 96.77% لعينة مصل مضاف إليها كمية معلومة من الغليبينكلاميد والعيار الداخلي [35].

3-1- طريقة الكروماتوغرافية السائلة المزودة بكاشف مطيافية الكتلة: LC-MS

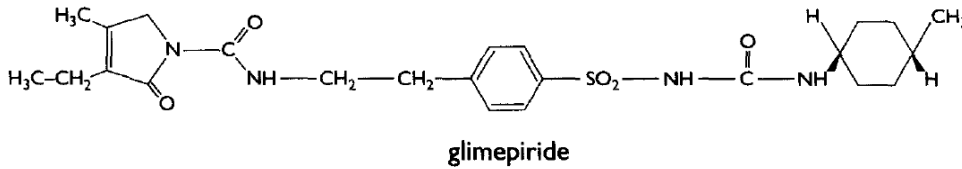
استخدمت الكروماتوغرافية السائلة المزودة بكاشف مطيافية الكتلة LC-MS لتحديد الغليبوريد وناتج استقلابه 4-transhydroxy glyburide في البلازما والبول واستخدم الغليبيزيد Glipizide، كعيار داخلي، انظر الشكل رقم (8)؛ حيث تم الفصل والتحديد باستخدام عمود XDB-C₈ وعمود حماية Phenomenex C₁₈ وطور متحرك مكون من مزيج عضوي مائي من الميثانول والماء، يحتوي على وافي من فومارات الأمونيوم بتركيز 0.5mM عند pH 6، وبمعدل تدفق 0.25 mL.min⁻¹. تم امتلاص المواد الثلاثة معاً بزمن فصل لم يتجاوز 10 min، وتراوح المجال الخطي ما بين 0.40 - 30.0 ng.mL⁻¹ و 26- 51.4 ng.mL⁻¹ بالنسبة للغليبوريد، ولنواتج استقلابه في البلازما ما بين 1.06-52.8 ng.mL⁻¹، وكان حد التحديد الكمي في البلازما 0.25ng.mL⁻¹ و 0.4 ng.mL⁻¹ لكلٍ من الغليبوريد وناتج استقلابه على التوالي، أما في البول فان حد التحديد الكمي 1.06 ng.mL⁻¹ لنواتج استقلاب الغليبوريد في البول [36].



الشكل رقم (8)

الصيغة المنشورة للغليبيزيد Glipizide

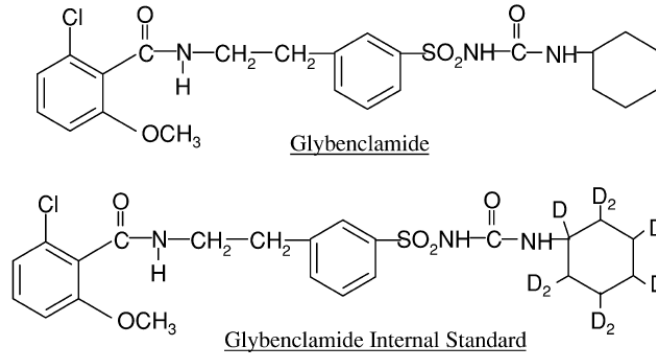
كذلك طبقت هذه الطريقة (LC- MS/MS) لتحديد الغليبيوريد والميتفورمين في البلازما البشرية؛ حيث استخدم الغليمبيريد Glimepiride كعيار داخلي، انظر الشكل رقم (9). وتم التخلص من البروتينات المرافقة لعينة البلازما بواسطة الأسيتو نتريل في الوسط حمضي ، حيث تم الفصل والتحديد باستخدام عمود كروماتوغرافي C₁₈ ذو طور معكوس، وتم التحديد الكمي باستخدام كاشف مطيافية الكتلة triple quadrupole mass spectrometry المزود بتقنية التشرذ الكهربائي electro spray ionization. لم يتجاوز زمن الاحتفاظ 3.5min لجميع المركبات، وتراوح المجال الخطي للميتفورمين بين 20-2500 ng.mL⁻¹ وللغليبيوريد بين 5-500 ng.mL⁻¹. تم تطبيق الطريقة على دراسة التوافر الحيوي لـ 28 شخص قدم لكل منهم مضغوطة تحتوي 500mg ميتفورمين و 5mg غليبيوريد [37].



الشكل رقم (9)

الصيغة المنشورة للغليمبيريد Glimepiride

كذلك تم تحديد الغليبينكلاميد Glibenclamide، الشكل رقم (10)، بتطبيق طريقة الكروماتوغرافية للسائلة المزودة بمطيافية الكتلة، تم تحديده في المصل البشري وذلك بعد استخلاص العينة على طور صلب، أما الطور المتحرك فهو مكون من الأسيتو نتريل وواقي خلات الأمونيوم بتركيز 5mM بنسبة (45:55 v/v) وبمعدل تدفق للطور المتحرك مقداره 0.4mL.min⁻¹ ؛ حيث لم يتجاوز زمن الاحتفاظ للغليبينكلاميد والعيار الداخلي 2.5min. تم تحديد المجال الخطي 10-1000 ng.mL⁻¹ [38].



الشكل رقم (10)

الصيغة المنشورة الغليبينكلاميد Glibenclamide والعياري الداخلي.

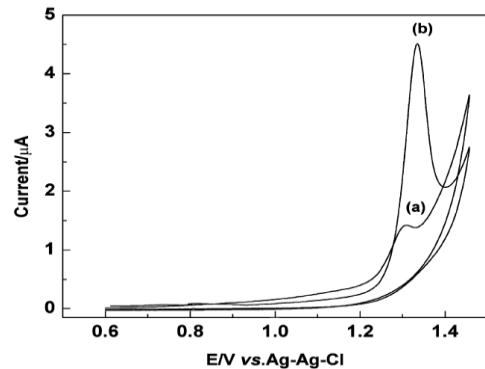
Voltammetric analysis

4-1- التحليل الفولط أمبيرومترى:

حدد الغليبينكلاميد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي لناتج التعقيد (غليبينكلاميد- بيتا سيكلو ديكسترين) على مسرى صلب عاري من عجينة الكربون bar carbon paste electrode ومسرى معدل بالسيفاديكس sephadex-modified carbon paste electrode، ودراسة سلوكه الكهركيميائي، وتبين أن المركب المدروس تحصل عليه عملية مسروية مصعدية ناتجة عن تشكل راديكال كاتيوني عند ذرة الأزوت في زمرة الأميد. تم التراكم في وسط واقى بريتوني بتركيز 0.04M ودرجة حموضة 2.0 pH وتمت ازالة الراسب في محلول نظيف للواقى البريتوني تركيزه 0.04M وعند pH 5.0 وتم مسح الكمون بالاتجاه المصعدي للحصول على القمة الفولط أمبيرومترية. طبقت طريقة التحليل الفولط أمبيرومترى الحلقي CV وطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى التفاضلي DPV وتم التحديد الكمي للغليبينكلاميد، وتراوح المجال الخطي ما بين $5.0 \times 10^{-8} M$ - $1.0 \times 10^{-9} M$ بزمان تراكم 180sec وكان حد الكشف $4.0 \times 10^{-10} M$. طبقت الطريقة المطورة لتحديد الغليبينكلاميد في المستحضرات الدوائية وفي المصل البشري المضاف إليه الغليبينكلاميد، وتم استخدام الطريقة أيضاً لتحديد المركب في عينة مصل لثلاثة أشخاص مصابين بالداء السكري وذلك بعد تناولهم لمضغوظة من الغليبينكلاميد من عيار 5mg، انظر الشكلين (11 و 12) [39].

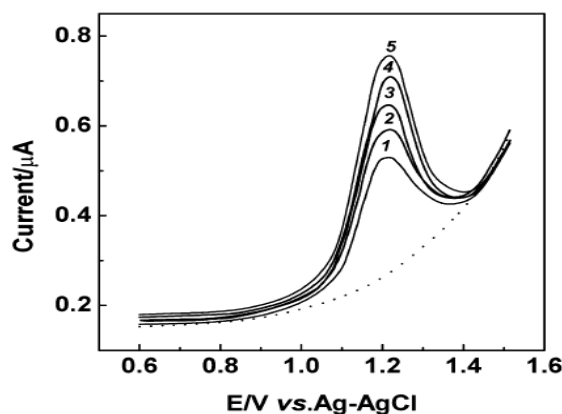
الشكل رقم (11)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية الحلقيّة للغليبينكلاميد بتركيز $1.0 \times 10^{-5} M$ في وسط واقى بريتوني بتركيز 0.04M و زمن دوران للمساري 60sec في حلقة كمون مفتوحة:
 (a) على مسرى عجينة الكربون العاري
 (b) على مسرى عجينة الكربون المعدل بالـ Sephadex.



الشكل رقم (12)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية التراكمية
الحاصلة بعد تغيير الوسط وبتراكيز مختلفة للغليبينكلاميد:
1) $2.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ ؛ 2) $4.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ ؛ 3) $6.0 \times 10^{-7} \text{ M}$
4) $8.0 \times 10^{-7} \text{ M}$ ؛ 5) $1.0 \times 10^{-6} \text{ M}$ ، بزمن تراكم 60sec
وسعة نبضة 50mV وزمن نبضة 30msec وسرعة مسح
الكومون 10 mV.s^{-1} .



تم التحديد الكمي للغليبينكلاميد بطريقة تشكل معقد مع بيتا-سيكلوديكسترين B-cyclodextrin في وسط معتدل من وافي خلي pH 7 . كذلك تمت دراسة الخواص الكهركيميائية للغليبينكلاميد المعقد مع بيتا سيكلوديكسترين بالتحليل الفولط أمبيرومترى على مسرى كربون زجاجي ، في وسط وافي فوسفاتي عند pH 7 ، وتم الحصول على قمة مصعدية بعملية لاعكوسة عند كومون قمة 1.26 V وتدل على أكسدة زمرة الأמיד في جزيئة الغليبينكلاميد، وتبين الصيغة ان عملية الاكسدة تمت لزمرة الأמיד الموجودة في زمرة السلفونيل يوريا، أما زمرة الأמיד الطرفية فلا تدخل في العملية المسروية المصعدية [40].

Gas Chromatographic Method

5-1- طريقة الكروماتوغرافية الغازية:

استخدمت الكروماتوغرافية الغازية مع كاشف النقاط الالكترون لتحديد الغليبينكلاميد في البلازما، حيث تم اشتقاق العينة باستخدام دي نتروفلوروبنزن dinitrofluorobenzene . وكان العياري الداخلي المستخدم هو تولبوتاميد tolbutamide [41].

Determination of Rebaglinide

2- تحديد الريباغليينيد:

Spectrophotometric Method

1-2- طريقة التحليل الطيفي:

تم تطبيق طريقة التحليل الطيفي لتحديد الريباغليينيد والميتفورمين في المستحضرات الصيدلانية عند طول الموجة 291.5nm للريباغليينيد و240nm للميتفورمين؛ حيث وجد أنه عند طول الموجة الأمثل للريباغليينيد لا يوجد أي امتصاصية للميتفورمين. وتمت الدراسة وتحديد المجالات الخطية لكل مركب على حدى عند طول الموجة الأمثل لكل منهما، أما بالنسبة للمركبين معاً فقد تم تطبيق طول الموجة الوسطي لكل منهما معاً isoabsorptive point (نقطة تساوي الامتصاص) وهي 254.8nm. حدد المجال الخطي لكل منهما ما بين $4 - 24 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ، إن حد الكشف LOD كان $0.38 \mu\text{g.mL}^{-1}$ للميتفورمين و $0.69 \mu\text{g.mL}^{-1}$ للريباغليينيد أما حد التحديد الكمي فكان $1.15 \mu\text{g.mL}^{-1}$ للميتفورمين و $2.08 \mu\text{g.mL}^{-1}$ للريباغليينيد [42].

كذلك استخدمت طريقة التحليل الطيفي لتحديد الريبافاغليينيد في المستحضرات الصيدلانية اعتماداً على مبدأ انتقال الشحنة للمعدن المتشكل ضمن الأسيتو نتريل مع choranic acid بطريقة أولى، ومع dichloro-dicyano benzoquinone بطريقة ثانية [43].

استخدم التحليل الطيفي المرئي لتحديد الريبافاغليينيد في المستحضرات الصيدلانية وحدد المجال الخطي ما بين $5-50\mu\text{g.mL}^{-1}$ وتراوح المردود ما بين 99.5-99.9% [44].

2-2- طريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة:

High Performance Liquid Chromatographic Method

استخدمت طريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة لتحديد الريبافاغليينيد في البلازما البشرية وفي دراسة الحركية الدوائية، حيث استخدم مركب اندوميثاسين Indomethacin كعيار داخلي وتم استخلاص العينة بخلات الايثيل عند pH 7.4 ، وتم الفصل على عمود كروماتوغرافي C_{18} ، وطور متحرك مكون من الأسيتو نتريل والامونيا بتركيز 0.01 M عند pH 2.7 بنسبة مزج 60:40v/v ومعدل تدفق للطور المتحرك 1ml.min^{-1} ، وطول موجة الكاشف 244nm ، ولم يتجاوز زمن الاحتفاظ للريبافاغليينيد والعيار الداخلي 6.2min و 5.3min على التوالي، وتراوح المجال الخطي للريبافاغليينيد ما بين $20-200\text{ ng.mL}^{-1}$ [45].

استخدمت طريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة والمزودة بكاشف مطيافية الكتلة HPLC-MS/MS لتحديد الريبافاغليينيد في البلازما البشرية [46].

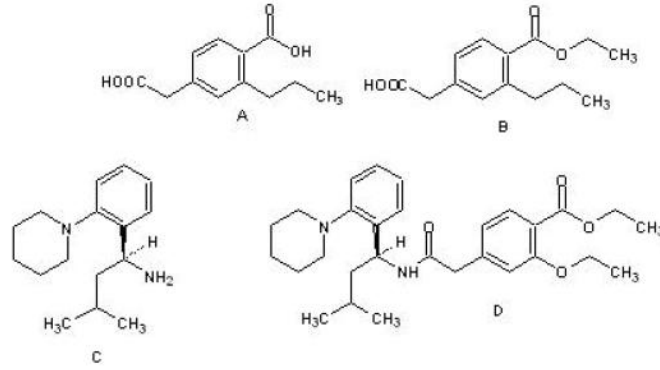
طبقت طريقة HPLC لتحديد الريبافاغليينيد في المادة الفعالة، حيث تم الفصل على عمود C_{18} وطور متحرك مكون من نظامي الهكسان n-hexane و 2- بروبانول و trifluoroacetic acid بمعدل تدفق للطور المتحرك 1ml.min^{-1} [47].

كذلك طبقت طريقة HPLC لتحديد الريبافاغليينيد في المستحضرات الصيدلانية باستخدام عمود C_{18} ذو طور معكوس وتم الكشف باستخدام كاشف طيفي عند طول الموجة 235nm [48] وفي طريقة أخرى تم الكشف عند طول الموجة 225nm [49].

Capillary Electrophoresis

3-2- الرحلان الكهربائي الشعري [50] :

استخدمت أيضاً طريقة الرحلان الكهربائي الشعري Capillary Electrophoresis لفصل وتحديد الريبافاغليينيد في المادة الفعالة وفي المستحضرات الصيدلانية بالإضافة إلى تحديد الشوائب impurities الموجودة في المادة الفعالة ، انظر الشكل رقم (13). واستخدم الغليبيزيد Glipizide كعيار داخلي IS، تفصل المركبات باستخدام كهروليت من خلات الامونيوم 0.01M ومزيج عضوي من الأسيتو نتريل والميتانول ، ويتم التحديد بوساطة كاشف طيفي في المجال مافوق البنفسجي عند طول الموجة 240nm.



الشكل رقم (13)

الصيغ المنشورة للشوائب المرافقة للريباغليينيد

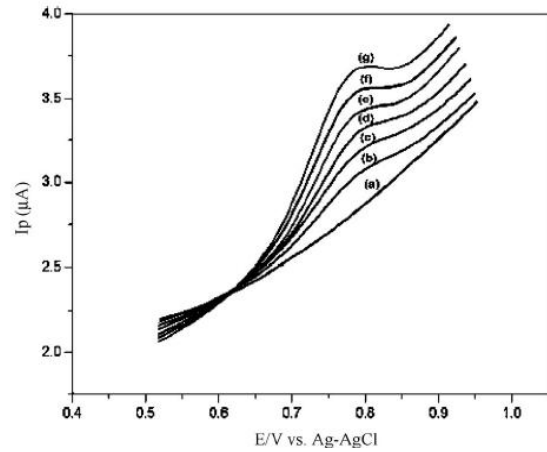
Electrochemical Analysis

4-2- التحليل الكهروكيميائي [51] :

دُرِس السلوك الكهروكيميائي للريباغليينيد في وسط وافي بريتوني وعلى مسرى عجينة الكربون ومسرى الكربون الزجاجي؛ وتبين أنه تظهر للريباغليينيد قمة مصعدية مشككة ثنائية لاعكوسة (لم يتم الاشارة للعملية المسروية الحاصلة أو تفسير للتفاعل الحاصل على المساري المستخدمة). طبقت طريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي لتحديد الريباغليينيد في المستحضرات الصيدلانية وفي المصل المضاف إليه الريباغليينيد spiked serum ، انظر الشكلين (14 و 15).

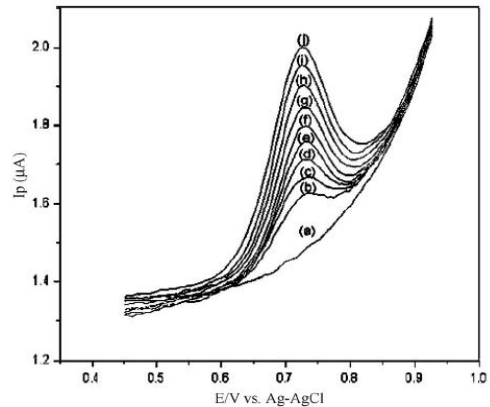
الشكل رقم (14)

المنحنيات الفولط أمبيرو مترية النبضة التفاضلية لتحديد الريباغليينيد في المصل على مسرى عجينة الكربون CPE ، للتركيز:
2.4 (f ، 2 (e ، 1.6 (d ، 1.2 (c ، 0.8 (b ، البلائك (a و 2.8 (g μM .



الشكل رقم (15)

المنحنيات الفولط أمبيرو مترية النبضة التفاضلية لتحديد الريباغليينيد في المصل على مسرى الكربون الزجاجي GCE ، للتركيز:
(a) البلائك ، 0.8 (b ، 1.2 (c ، 1.6 (d ، 2.0 (e ، 2.4 (f و 3.6 (i ، 3.2 (h ، 2.8 (g ، 2.4 (f μM .

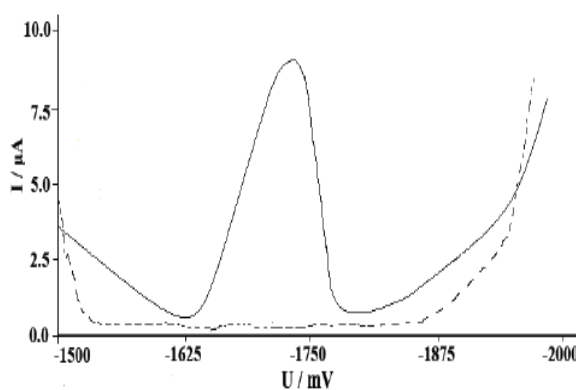


3- تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد: Determination of Pioglitazone HCl

Voltammetric Method

3-2- طريقة التحليل الفولط أمبيرومترية:

استخدمت طريقة التحليل الفولط أمبيرومترية بالادمصاص التراكمي لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الصيدلانية وفي المركبات الحيوية وذلك بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية ذو الموجة المربعة (SqW) على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE عند كمون ادمصاص $-1.5V$ ، مما أدى للحصول على موجة ادمصاص تراكمي مهبطي عند الكمون $-1.5V$ والكهرليت المستخدم هو وافي بريتوني عند $pH 5$ وتردد $120Hz$ وسعة نبضة $25mV$ ، انظر الشكل رقم (16). وحدد المجال الخطي وحد الكشف وحد التحديد الكمي. أما العملية المسروية، فقد تم اثباتها بأنها عملية ارجاع ناتجة عن ارجاع زمرة الكربونيل عند كمون قمة $-1.7V$ ، [52].



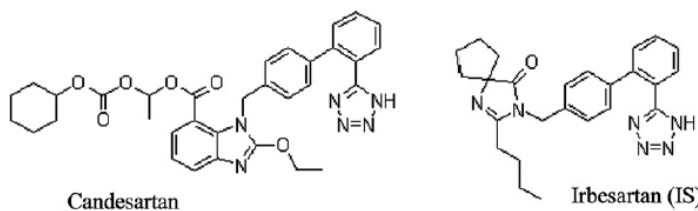
الشكل رقم (16)

المنحني الفولط أمبيرومترية بطريقة
SWCAdSV الممثل لتحديد البيوغليتازون
هيدروكلوريد بتركيز $5 \times 10^{-5} M$.

3-3- طريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة:

High Performance Liquid Chromatographic Method

استخدمت الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة مع مطيافية الكتلة HPLC-MS/MS لتحديد كل من البيوغليتازون وكانديسارتان في البلازما البشرية؛ حيث استخدم المركب Irbesartan كعيار داخلي، ونوضح في الشكل رقم (17) الصيغة المنشورة لـ كانديسارتان و اربيسارتان، تم الفصل الأولي للعينة على طور صلب Strata-X33 mm polymeric sorbent، ثم الحقن في عمود كروماتوغرافي C_{18} باستخدام طور سائل مكون من الأسيتو نتريل وحمض الفورميك بمعدل تدفق $0.8ml.min^{-1}$ وتراوح المجال الخطي للبيوغليتازون ما بين $15-3000 ng.mL^{-1}$ [53].



الشكل رقم (17)

الصيغة المنشورة لاربيسارتان Irbesartan ولكانديسارتان Candesartan

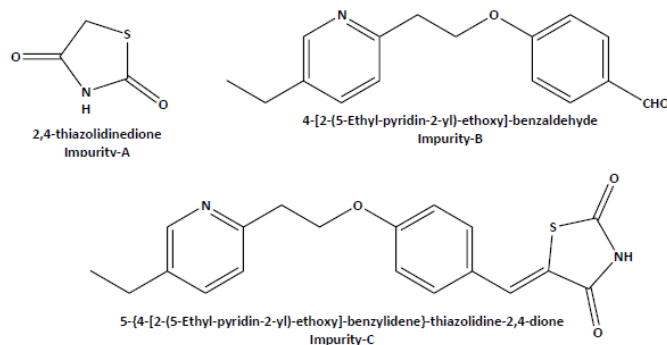
استخدمت طريقة الكروماتوغرافية السائلة عالية الكفاءة HPLC-UV مع كاشف طيفي لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في مصل الفئران؛ حيث استخدم مركب الـ Rosiglitazone (خافض سكر الدم من فئة الثيازوليدينات)، كعيار داخلي IS؛ وتم استخلاص كل من المركبين من المصل بتطبيق الاستخلاص سائل - سائل باستخدام خلاص الايتيل أما الفصل فقد تم على عمود C₁₈ ذو طور معكوس عند pH 5 من حمض الفوسفور وطول موجة 269nm وكان حد الكشف للبيوغليتازون 50ng.mL⁻¹ أما المجال الخطي فتراوح ما بين 0.1-10µg.mL⁻¹ [54].

وبنفس الطريقة HPLC-UV تم تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الصيدلانية ولم يتم استخدام عياري داخلي والطور المتحرك هو وافي من فومات الأمونيوم والأسيتو نتريل عند pH 3 وتم التحديد عند طول الموجة 225nm، حُد المجال الخطي 0.5-20µg.mL⁻¹ [55].
وبنفس الطريقة تم تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في الأشكال الصيدلانية ولكن عند طول الموجة 254nm بزمن احتفاظ 9.738min [56].

طبقت طريقة RP-HPLC لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد والغليمبيريد Glimpiride (كعيار داخلي IS) في المستحضرات الصيدلانية وبلازما الفئران، استخلصت عينات البلازما باستخدام الطور سائل - سائل من ثنائي ايتيل ايتز كمحل مستخلص. وتم الفصل على عمود C₁₈ وبطور متحرك مكون من خلاص الأمونيوم والميتانول عند درجة حموضة 3 - 5 pH . إن زمن الاحتفاظ للبيوغليتازون هو 5.63min و للغليمبيريد هو 7.18min [57].

كذلك تم تحديد البيوغليتازون وبعض الشوائب Impurities المرافقة له في المستحضرات الصيدلانية بطريقة الـ HPLC، انظر الشكل رقم (18)، وهذه الشوائب يتم الحصول عليها من تطبيق عوامل خارجية أو كيميائية مثل الهدرجة ، الأكسدة والتفكك الحراري. ووجد أن البيوغليتازون يكون أكثر حساسية للأوساط القلوية والمؤكسدة. تم الفصل على عمود كروماتوغرافي C₁₈ باستخدام طور متحرك مكون من الأسيتو نتريل مع وافي فوسفاتي عند درجة حموضة 3.0 pH وطول موجة الكاشف الطيفي 225nm [58].

طبقت طريقة HPLC لتحديد البيوغليتازون في المستحضرات الصيدلانية والمصل والبول؛ حيث تم الكشف عند طول الموجة 221nm وذلك بعد استخلاص العينات على طور صلب ثم تم الفصل على عمود كروماتوغرافي C₁₈ ذو طور معكوس وباستخدام طور متحرك مكون من أسيتو نتريل مع وافي فوسفاتي عند pH 2.5 أما زمن الاحتفاظ الكلي 2.0min وتراوح المجال الخطي ما بين 1-10µg.mL⁻¹ [59].



الشكل رقم (18)

الصيغة المنشورة للشوائب المرافقة للبيوغليتازون

Spectrophotometric Method

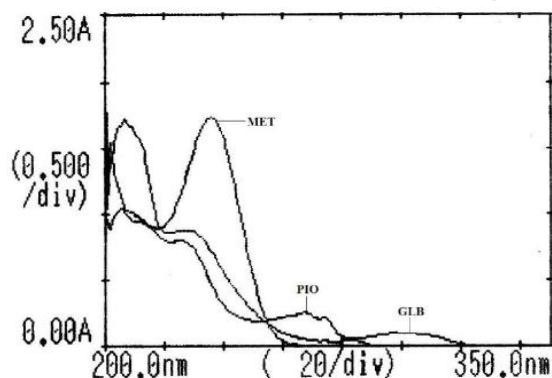
4-3- طريقة التحليل الطيفي:

استخدم التحليل الطيفي لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد والميتفورمين هيدروكلوريد عند طول الموجة الأمثل لكل منهما وهو 233nm و 265.5nm على التوالي، في المستحضرات الصيدلانية وحدد المجال الخطي لكل من المركبين أما حد الكشف وحد التحديد الكمي للبيوغليتازون هيدروكلوريد فكان $LOD=0.0077\mu\text{g.mL}^{-1}$ و $LOQ=0.0235\mu\text{g.mL}^{-1}$ [60].

كذلك طبقت هذه الطريقة أيضاً لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد والميتفورمين هيدروكلوريد والغليبينكلاميد في المستحضرات الصيدلانية، انظر الشكل رقم (19)؛ حيث استخدم الايتانول 95% كمحل وتم التحديد عند اطوال الموجات الآتية: (Met.) 237nm و (Pio) 268nm و (Gly) 300nm، وتراوح المجال الخطي للبيوغليتازون هيدروكلوريد ما بين $3-30\mu\text{g.mL}^{-1}$ ، أما المردود 99.4% [61].

الشكل رقم (19)

المنحني الطيفي لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد والميتفورمين هيدروكلوريد والغليبينكلاميد.



تم تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بالطريقة الطيفية في المادة الفعالة وفي المستحضرات الصيدلانية وذلك عن طريق تشكيل معقد زوج شاردني Ion-pair ذو لون أصفر بين زمرة النتروجين المركزية ومركب البروموكريزول الأخضر Bromocresol green في وسط واقفي فوسفاتي pH 2.4. ومن ثم تم استخلاص المعقد المتشكل بالكلوروفورم ويقاس عند طول الموجة 419nm. وتراوح المجال الخطي المحدد ما بين $2.5-14\mu\text{g.mL}^{-1}$ [62].

3-5- التحديد بالطريقة الكمونية باستخدام المساري المنتقية للشوارد:

Potentiometric Method with Ion Selective Electrode

تم تحديد البيوغليتانوزون بالطريقة الكمونية؛ باستخدام مسرى منتقي للشوارد؛ تم تحضير غشاء المسرى من بودرة PVC مع معقد الزوج الشاردي Ion-Pair (يحضر معقد الزوج الشاردي من البيوغليتانوزون ومركب رباعي فينيل بورات Tetraphenyl Borate وفقاً لطرائق مرجعية) [63-68]، حيث يُمزج، وبشكل جيد، كميات مختلفة من الزوج الشاردي المتشكل مع كمية أخرى مدروسة من PVC في وسط من رباعي هيدروفوران THF، ثم ينقل المزيج النهائي إلى طبق بتري ويغطى بورقة ترشيح، ويترك المحلول ليتبخر ببطء في درجة حرارة الغرفة، يُلصق الغشاء المقطوع على شكل دائرة بأنبوب من البولي إيثيلين نصف قطره 8mm، ويُستخدم محلول يحتوي مزيج من المركب المدروس بتركيز $1 \times 10^{-3} M$ وكلوريد البوتاسيوم كمحلول مقارن داخلي مع مسرى مقارن من الفضة/كلوريد الفضة، وبهذا يكون قد سُكّل غشاء حساس membrane بثخانة 0.3mm. يُترك المسرى المتشكل ليجف في درجة حرارة الغرفة لمدة 10h ثم يُملأ بمحلول بيوغليتانوزون بتركيز $1 \times 10^{-3} M$ [63].

3-6- طريقة التحليل الكهركيميائي لبعض مضادات السكري [69]:

استخدم التحليل الكهركيميائي لتحديد بعض مضادات السكري في المستحضرات الصيدلانية وهي الغليبيريد والبيوغليتانوزون وهيدروكلوريد والروزيغليتانوزون والغليمبيريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومتر الحلقي CV والتحليل الفولط أمبيرومتر النبضي التفاضلي DPV، في وسط واقى بريتنوني B-R، على كل من مسرى عجينة الكربون CPE و مسرى الكربون الزجاجي GCE كمساري معدلة، والتي اعتمد في تصنيعها على تركيب 10% من الزوج الشاردي للمادة العيارية مع الرينيكات reineckate أو التينغستوفوسفات tungstophosphate كمادة فعالة كهركيميائياً. أما الشروط المثلى المطبقة فقد تم العمل عند سرعة مسح 100mV/s بالتحليل الفولط أمبيرومتر الحلقي و 10mV/s في التحليل النبضي التفاضلي، وتم الحصول على قمة مصعدية لكل مادة تم تحديدها. أما عن تصنيع المساري المستخدمة فقد تم طلي كل من المسريين المستخدمين بـ 0.5mm من بودرة الألومينا الرطبة، تم غسل المسرى بالايثانول ثم بالماء وبعد التجفيف استخدم في التحليل الكهركيميائي.

وبنظرة سريعة على الدراسات المقدّمة سابقاً لتحديد مضادات السكري، نجد أن معظم الطرائق التحليلية المقترحة هي طرائق كروماتوغرافية أو طرائق طيفية بالإضافة إلى بعض الطرائق الأخرى التحليلية؛ حيث اعتمد بعضها على تحديد مضادات السكري في السوائل الحيوية وبعضها الآخر اعتمد على تحديدها في المستحضرات الصيدلانية، وذلك بعد اجراء العديد من المعالجات كالاستخلاص والتعقيد مثلاً أو حتى الطرائق الكهركيميائية التي استخدمت مساري معدلة تعمل في شروط محددة، ولم نلاحظ أي دراسة كهركيميائية لتحديد وتفسير السلوك الكهركيميائي للمركبات المختارة من مجموعات مختلفة (السلفونيل يوريا- الثيازول) .

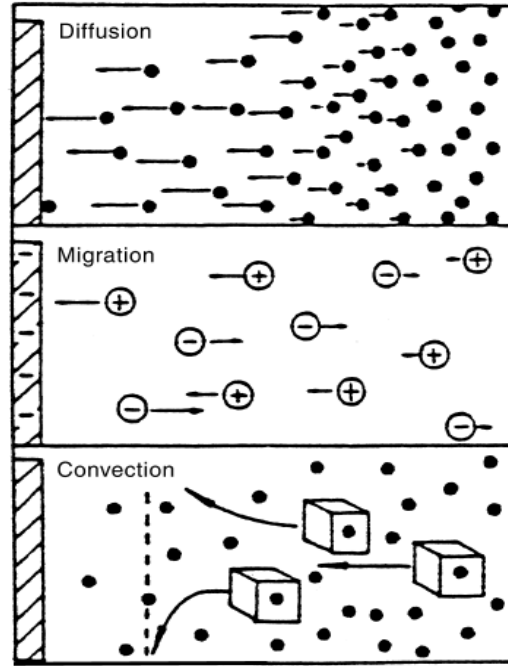
4- أساسيات التحليل الفولط أمبيرومترى:

Basic Principle of Voltammetric Analysis

4-1- تعريفات مهمة [70]:

- **المسرى المساعد Auxiliary Electrode:** وهو مسرى من معدن خامل كالبلاتين مثلاً يغمر في محلول يحتوي على شوارد H^+ ويساعد على نقل التيار الكهربائي.
- **المسرى المقارن Referance Electrode:** وهو مسرى كمونه ثابت تقاس الكمونات بالنسبة إليه، مكون من معدن مغطى بملح قليل الانحلال لهذا المعدن ويغمر في محلول مشبع لشرسبة الملح.
- **المسرى الكاشف Working Electrode:** وهو المسرى الذي نكشف بواسطته عن الكمية وفي بعض الأحيان عن النوعية. ويكون هذا المسرى من معدن خامل كالذهب أو البلاتين في تفاعلات الأكسدة والارجاع.
- **المسرى المقطب:** وهو المسرى الذي نجعله إما قطباً سالباً أو موجباً بحيث نمرر فيه تيار صغير جداً.
- **المسرى المولد:** وهو المسرى الذي نولد منه أو عليه المادة.
- **الادمصاص Adsorption:** هو تغلغل مادة ما في سطح مادة صلبة أخرى، وإن ادمصاص بعض المواد على سطح المسرى سوف يؤدي إلى نقصان السطح الفاعل له وتخميل التفاعلات الكهركيميائية عليه مما يؤدي إلى نقصان تيار النفوذ الاشباعي.
- **الادمصاص الفيزيائي:** ناتج عن قوى فيزيائية ضعيفة جداً capillary، تشكل إلفة نوعية للمحلول على سطح المسرى وهذه القوى يمكن أن تكتسب خواص رابطة كيميائية.
- **الادمصاص الكيميائي:** ينتج لدى حصول تغير في سطح المسرى. كما أن ادمصاص المادة عند درجة حرارة ثابتة يعتمد على تركيزها وهذه العلاقة تدعى الادمصاص الحراري adsorption isotherm، أي أن تركيز المادة المدمصة على سطح المسرى يتأثر بدرجة حرارة الوسط.
- **النفوذ Diffusion:** وهو انتقال جزيئات أو شوارد المادة المحللة تحت تأثير تدرج التركيز من المنطقة مرتفعة التركيز إلى المنطقة منخفضة التركيز.
- **الحمل Convection:** وهو انتقال فيزيائي؛ حيث أن القوة المتحركة الأساسية في آلية الحمل هي الطاقة الحركية الخارجية المرتبطة بتحريك أو جريان المحلول أو دوران أو اهتزاز المسرى.
- **الهجرة Migration:** وهو انتقال الجزيئات المشحونة على شكل حقل كهربائي.

وهذه الآليات الثلاث موضحة في الشكل رقم (20):



الشكل رقم (20)

شكل توضيحي لآليات انتقال الكتلة
حول المسرى

2-4- لمحمة عن بعض طرائق التحليل الفولط أمبيرومترى:

4-2-1- التحليل الفولط أمبيرومترى النبضى [71-73]:

Pulse Voltammetric Analysis

يعتمد التحليل الفولط أمبيرومترى على دراسة منحنيات التيار بدلالة الكمون باستخدام مسرى كاشف من الذهب أو البلاتين أو الغرافيت أو الزئبق، والتحليل الاستقطابي هو جزء من التحليل الفولط أمبيرومترى؛ حيث أن المسرى الكاشف هو مسرى الزئبق القطار DME، والذي يتمتع بخواص مميزة فهو مسرى متجدد باستمرار وله مجال ارجاعي كبير، كما أنه كروي وسطحه الظاهري يساوي سطحه الحقيقي وغيرها من الميزات التي تجعله واسع الاستخدام في التحليل الكهركيميائية. إن أول من أثار فكرة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضى هما العالمان Jenkin و Barker؛ حيث استخدم هذا النوع من التحليل لزيادة حد الكشف في القياسات الفولط أمبيرومترية، مما أدى إلى زيادة الحساسية إلى درجة 10^{-8} M، ونتيجة لذلك فإن التقنيات النبضية الحديثة المحسنة ذات الكفاءة العالية حلت محل تقنيات التحليل الفولط أمبيرومترى الكلاسيكي في المختبرات التحليلية .

وعلى اختلاف أنواع التقنيات الفولط أمبيرومترية النبضية فإنها تعتمد بشكل أساسي على قياس شدة التيار أثناء تطبيق نبضة كمونية خلال زمن معين على المسرى الكاشف وأثناء بدء النبضة الكمونية فإن تيار الشحن (المكثفة) يتناهى بسرعة كبيرة إلى قيم متناهية في الصغر، وإن الاختلاف بين مجمل التقنيات الفولط أمبيرومترية هو شكل الموجة الناتجة عن التحليل، ففي التحليل الاستقطابي النبضى

التفاضلي Differential Pulse Polarography تُطبق نبضة كمونية واحدة على كل قطرة زئبق متساقطة، وبالتحكم في عمرها (بوساطة مطرقة آلية) تتزامن النبضة الكمونية مع النمو الأعظمي لقطرة الزئبق وعند هذه النقطة، بالقرب من انتهاء عمر القطرة، يصل تيار فاراداي إلى قيمة عظمى في حين أن تيار المكثفة ينتهي إلى الصفر .

• يمكن حساب تيار النفوذ الاشباعي في التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي باستخدام مسرى الزئبق القطار من علاقة Ilkovic :

$$(1) \quad i_d = 706 n D^{1/2} M^{2/3} t^{1/6} C$$

حيث M كتلة الزئبق المتساقطة في الثانية وتقاس بوحدة g.s⁻¹ و t عمر القطرة بالثانية و C التركيز بوحدة M و n عدد الالكترونات و D معامل النفوذ وهو يتأثر بدرجة الحرارة ولزوجة المحلول ونوع الشاردة ونوع الكهرليت.

• يمكن حساب كمون القمة من العلاقة:

$$(2) \quad E_{1/2} = E^\circ + \frac{RT}{nF} \log(D_R / D_O)^{1/2}$$

حيث D_O و D_R يمثلان معاملا النفوذ لكل من الشكل المؤكسد والشكل المرجع للمادة المحللة. وعلى اعتبار أن هذان المعاملان متساويان في الثنائيات العكوسة فإن كمون نصف الموجة في التحليل الفولط أمبيرومترى الكلاسيكي هو ذاته كمون القمة في التحليل الفولط أمبيرومترى التفاضلي.

ونعرض في الجدول رقم (1) كمونات نصف الموجة لبعض الزمر العضوية:

الجدول رقم (1)

بعض الزمر الفعالة القابلة للارجاع على مسرى الزئبق القطار

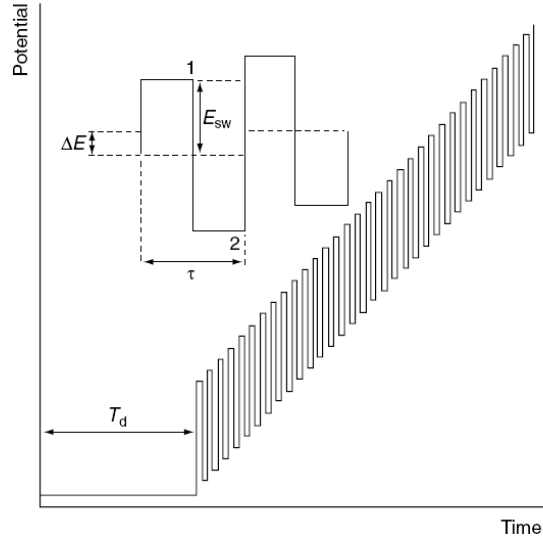
Class of Compound	Functional Group	E _{1/2} (V) ^a
Azo	-N=N-	-0.4
Carbon-carbon double bond ^b	-C=C-	-2.3
Carbon-carbon triple bond ^b	-C≡C-	-2.3
Carbonyl	>C=O	-2.2
Disulfide	S-S	-0.3
Nitro	NO ₂	-0.9
Organic halides	C-X (X = Br, Cl, I)	-1.5
Quinone	C=O	-0.1

a: كمون نصف الموجة مقارنة مع كمون المسرى المقارن عند pH 7
b: متضمنة الروابط الموجودة في المركبات العطرية.

4-2-2-2- التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة [74-77] :

Square-Wave Voltammetric Analysis

يعد التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة طريقة تفاضلية مُطبقة لسعات كمونية كبيرة خلال زمن القياس وشكل الموجة الناتج يتألف من موجة مربعة متناظرة ومتراكبة على قاعدة متدرجة للكمون staircase potential المطبق على المسرى العامل. كما هو موضح في الشكل رقم (21) .



الشكل رقم (21)

الموجة المربعة ممثلة بسعة النبضة E_{sw} ،
ارتفاع الخطوة الكمونية ΔE ، مدة الموجة
المربعة T ، زمن الإعاقة T_d ، وزمن قياس
التيار الأول والثاني 1 و 2 .

يقاس التيار مرتين خلال الدور الواحد للموجة المربعة، المرة الأولى عند نهاية النبضة المباشرة t_1 ، والثانية عند نهاية النبضة المعكوسة t_2 . عندما يكون تعديل السعة كبير في الموجة المربعة، عندها تتسبب النبضات المعكوسة بحدوث التفاعل العكسي للمادة. يرسم الفرق بين التيارين بدلالة تدرج الكمون ليعطي قمة تفاضلية، يوضح الشكل رقم (22) التيار المباشر والتيار العكسي والتيار المحصل لهما لنظام مسروي عكوس reversible redox system.

الشكل رقم (22)

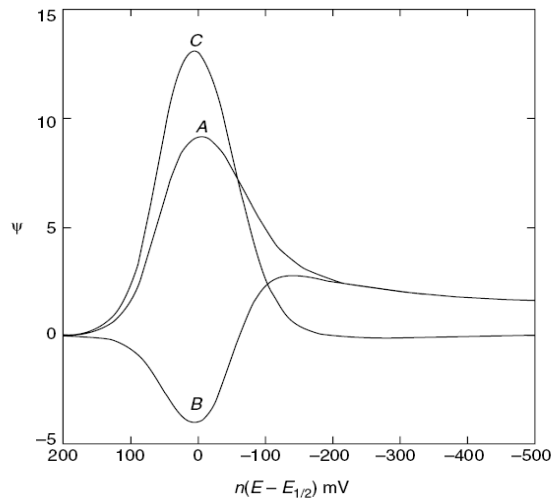
المنحني الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة

حيث:

(A) يمثل التيار المباشر

(B) يمثل التيار العكسي

(C) يمثل التيار المحصل.



نلاحظ من الشكل السابق أن التيار المحصل له قيمة أكبر من التيار المباشر والتيار العكسي على الرغم من أنه يمثل الفرق بين التيارين، كذلك فإن التيار الناتج عن تطبيق طريقة الموجة المربعة هو أكبر من التيار الناتج عن تطبيق الطريقة النبضية التفاضلية (غير المستخدمة للتيار العكسي) وبالمقارنة بين كل من طريقة التحليل بتطبيق الموجة المربعة و طريقة التحليل النبضي التفاضلي نجد أن لكل منهما حساسية تحليل تصل إلى $10^{-8}M$ إلا أن التيار الناتج عن الطريقة الأولى SqW هو أكبر بأربع مرات من أجل الثنائيات العكوسة و 3.3 مرة من أجل الثنائيات اللاعكوسة من التيار الناتج عن الطريقة الثانية .

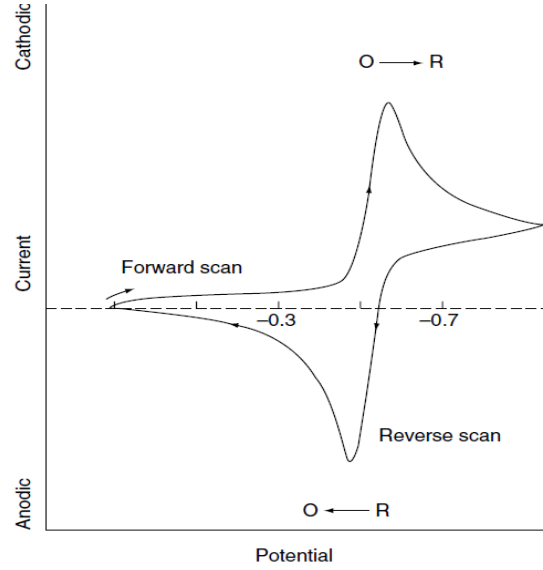
إن الميزة الرئيسية في التحليل الاستقطابي ذو الموجة المربعة هي سرعته والتي تعتمد على كل من التردد f وارتفاع الخطوة الكمونية ΔE_s ؛ حيث تتراوح الترددات بين 1-100 دور في الثانية والتي تسمح باستخدام سرعة مسح كمونية كبيرة جداً. مثال على ذلك، إذا فرضنا أن ارتفاع الخطوة $\Delta E_s = 10mV$ والتردد $f = 50 Hz$ ، عندها تصبح سرعة المسح $0.5V.s^{-1}$ ، وكنتيجة لذلك فإن زمن التحليل يصبح أقصر ويتم الحصول على بولاروغرام مكتمل خلال ثوان معدودة مقارنة مع الزمن الذي يستغرقه التحليل الاستقطابي النبضي التفاضلي وهو بحوالي 2-3 min. ونظراً لسرعة المسح الكبيرة التي يتميز بها هذا التحليل فإن البولاروغرام يُنجز باستخدام قطرة زئبق وحيدة أي يُجرى التحليل على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE، خلافاً لما هو عليه الحال في تقنيات نبضية أخرى والتي تستهلك العديد من قطرات الزئبق للحصول على حساسية أفضل.

4-2-3- طريقة التحليل الفولط أمبيرومترى الحلقي [78-80]:

Cyclic Voltammetric Analysis

يعتبر التحليل الفولط أمبيرومترى الحلقي من أكثر التقنيات المستخدمة في التحليل النوعي والتي تعطي معلومات عن التفاعلات الكهروكيميائية الحاصلة في الخلية. تعود أهمية هذا التحليل إلى قدرته على إعطاء معلومات هامة حول الحركيات الحرارية للعملية المسروية والحركيات المختلفة للانتقالات الالكترونية أثناء التفاعل.

يُنجز التحليل الحلقي عادةً في بداية الدراسة التحليلية الكهروكيميائية وذلك للحصول على فكرة مبدئية لآلية التفاعل الحاصلة في خلية التحليل؛ حيث يتضمن التحليل الحلقي مسح كموني خطي مطبق على المسرى العامل وهو مسرى الزئبق ذو القطرة المعلقة HMDE معطياً موجة كمونية مثلثية، وأثناء المسح الكموني تُقاس التيارات بتابعية الكمون المطبق على المسرى العامل وترسم التيارات الناتجة بدلالة تغيرات الكمون، انظر الشكل رقم (23).



الشكل رقم (23)

منحني فولط أمبيرومترى حلقي نموذجي
لثنائية عكوسة

4-2-4- التحليل الفولط أمبيرومترى الادمصاصي الحلقي [81-85]:

Cyclic Adsorption Voltammetric Analysis

تحتوي العديد من المركبات الكيميائية ذات المنشأ العضوي على سطوح فعالة كهركيميائياً وتظهر خاصيتها هذه من خلال التماس المباشر بين المحلول والمسرى. أما الارتباط الحاصل بين جزيئات المحلول وسطح المسرى فهو ناتج عن قوى ارتباط فيزيائي أو كيميائي أو كهربائي electrical. إن التحليل الفولط أمبيرومترى الحلقي يمكن أن يعطينا معلومات عن السلوك الكهركيميائي للمراكز الفعالة كهركيميائياً في المركب المدروس؛ حيث أن زيادة تيار القمة المصعدية والمهبطية بشكل تدريجي يدل على أن العملية الادمصاصية على المسرى تسير نحو تراكم الادمصاصي.

بتكرار المسح الحلقي الادمصاصي عدة مرات على سطح المسرى نفسه إما أن يزداد التيار أو يتناقص، فازدياد التيار دليل على حصول تراكم ادمصاصي على سطح المسرى وبتناقص التيار دليل على انفلات بعض الأجزاء المدمصة من على سطح المسرى وعودتها إلى داخل المحلول .

إن طبقة الادمصاص المحيطة بالمسرى تتأثر بالنسبة الحقيقية للمركب المدمص من المحلول، والذي يكون على تماس مباشر مع سطح المسرى، وبنسبة انتقال هذا المركب من المحلول الأساسي إلى سطح المسرى وفقاً لعملية التوزع أو الانتشار. ووفقاً لبطء أياً من الآليتين فإن أحدهما هو الذي سيتحكم بنسبة تشكل المركب المدمص.

تتأثر العملية الادمصاصية بخواص المسرى ثنائي الطبقة وتؤثر في طريقة القياس والتي يمكن أن تشكل أساسيات التحليل الكهركيميائي للمواد الفعالة كهركيميائياً والحاوية على مراكز ذات خواص ادمصاصية.

في حال كانت القمة المصعدية متناظرة تماماً مع القمة المهبطية فإن $\Delta E_p=0$ وبالتالي فإن نصف عرض القمة يكون مساوياً:

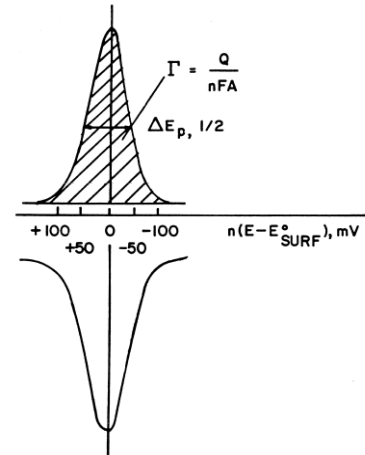
$$(3) \quad E_{p1/2} = \frac{90.6}{n}, \text{ mV}$$

وتيار القمة يتناسب مع كلاً من مساحة السطح المغطى بالمادة Γ وسرعة المسح ν :

$$(4) \quad i_p = \frac{n^2 F^2 \Gamma A \nu}{4RT}$$

حيث: n عدد الإلكترونات، F ثابت فاراداي، Γ مساحة السطح المغطى بالمادة، R ثابت الغازات العام، T درجة الحرارة بالكالفن، ν سرعة المسح و A مساحة سطح المسرى. ومن مساحة القمة (وهي نفسها مساحة السطح المشحون Q) يمكن حساب المساحة المغطاة على سطح المسرى، انظر الشكل رقم (24) :

$$(5) \quad Q = nFA\Gamma$$



الشكل رقم (24)

شكل توضيحي لثنائية عكوسة وكيفية حساب مساحة السطح

4-2-5- التحليل الفولط أمبيرومترى التراكمي [86]: Voltammetric Stripping Analysis

في التحليل الفولط أمبيرومترى التراكمي Voltammetric Stripping Analysis يكون هناك كمون ترسيب ابتدائي initial deposition للمادة على المسرى وفق زمن محدد ومن ثم يطبق كمون لازالة المادة من على المسرى. يمكن تحديد العملية المسروية (مصعدية أو مهبطية) ووفقاً للكمون المطبق في المرحلة الثانية.

وهناك نوعان من التحليل الفولط أمبيرومترى التراكمي، إما تراكمي مصعدي Anodic Stripping أو تراكمي مهبطي Cathodic Stripping، وفي حال كان التراكم يتم على سطح مسرى الزئبق نسميه بالتراكم الملغمي حيث يتشكل ملغمة على سطح المسرى والذي بدوره يعتمد على مدى انحلالية المادة المحللة في المسرى (أي تغلغلها فيه) .

4-2-6- التحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم الادمصاصي [87،88] :

Adsorptive Stripping Voltammetry

تعتمد هذه الطريقة على التراكم الادمصاصي للأجزاء الفعالة كهركيميائياً على سطح المسرى؛ حيث أن الحلقة الأساسية في هذه العملية هي ليست فقط كمية المركب المدمص على المسرى وإنما أيضاً معامل الانتشار بين المحلول والمسرى. معظم أنواع المساري المستخدمة في التحليل الفولط أمبيرومترى يمكن استخدامها في التحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم الادمصاصي AdSV منها مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE ومسرى عجينة الكربون GC أو مسرى البلاتين Pt والمساري المعدلة. إلا أن المشكلة الأساسية في المساري الصلبة هي أنه مع تكرار الادمصاص يمكن أن يتناقص سطح المسرى الظاهري والحقيقي فهي مساري غير متجددة ويمكن أن تتآكل مع تكرار المسح الكموني. وفي العمليات الادمصاصية يجب أن يكون زمن الادمصاص مدروس وغير كبير وذلك منعاً لادمصاص الشوائب في المحلول المدروس أو حتى اقترابها من سطح المسرى وحجب جزء من المسرى العامل.

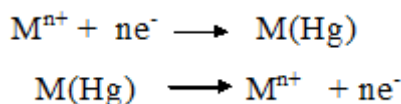
ولدراسة الخواص الادمصاصية لمركب ما، وفقاً للآليات الموافقة - تحليل فولط أمبيرومترى بالتراكم الادمصاصي Adsorptive Stripping Voltammetry (AdSV) أو معايير كمونية بالتراكم (PSA) Potentiometric Stripping Analysis - فإنه من الواجب تحديد بعض الثوابت مثل كمون التراكم E_{acc} . وزمن التراكم E_{time} .

وللتحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم الملغمي الادمصاصي نوعان:

4-2-6-1- التحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم الادمصاصي المصعدي [90،89]:

Anodic Adsorptive Stripping Voltammetry

يستخدم بشكل كبير في تحليل المواد القابلة للانحلال أو التي بإمكانها تشكيل ملغمة مع الزئبق. ويمكن تمثيل التفاعل الحاصل على المسرى كالتالي:



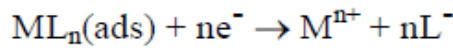
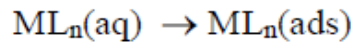
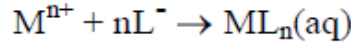
حيث يحصل في المرحلة الأولى ادمصاص للشاردة المدروسة أو المركب المدروس في قطرة الزئبق المعلقة (المسرى) ليشكل ملغمة مع الزئبق ومن ثم في المرحلة الثانية (إزالة الترسيب) يحصل أكسدة للملغمة المتشكلة ومن خلال حساب عدد الالكترونات الناتجة عن التفاعل اعتماداً على تيار النفوذ الاشباعي يمكن حساب تركيز المادة المحللة. في العملية المسروية المصعدية (الأكسدة) فإن كمون القمة ينزاح نحو الاتجاه الأكثر ايجابية بنسبة 59mV مع تناقص درجة الـ pH بمقدار درجة واحدة .

4-2-6-2- التحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم الادمصاصي المهبطي [91-93]:

Cathodic Adsorptive Stripping Voltammetry

يستخدم هذا التحليل للمواد التي لا يمكن تحديدها بالتحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم المصعدي (ASV) anodic stripping voltammetry بسبب ضعف انحلاليتها في الزئبق، أو تلك التي لا يمكن تحديدها بالتحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم المهبطي CSV بسبب عدم قدرتها على تشكيل فيلم غير منحل. لذلك تم اكتشاف التحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم الادمصاصي المهبطي AdCSV من قبل العالم Komarek's عام 1947م عندما اكتشف ادمصاص النيكل على شكل نيكل ثنائي ايتيل غليوكسيم على مسرى الزئبق وفي عام 1980م تم تحديد النيكل والكوبالت بدقة وحساسية وانتقائية عاليتين مقارنة مع التحليل الفولط أمبيرومترى التراكمي، انظر الشكل رقم (25).

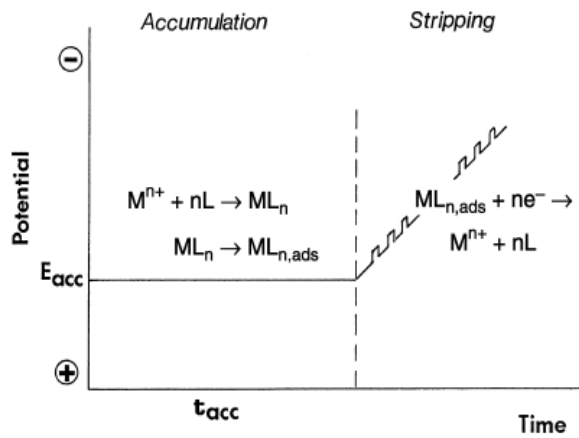
يمكن توضيح التفاعل الحاصل على المسرى وفقاً لهذه الطريقة كالتالي:



الشكل رقم (25)

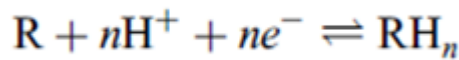
يبين المنحني حالي التراكم الملغمي في القياسات

الادمصاصية الملغمية لشاردة معدنية M^{n+}



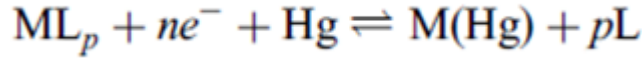
يمكن استخدام التحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم الادمصاصي المهبطي لتحديد المواد العضوية واللاعضوية .

وبشكل عام فإن المركبات العضوية الفعالة كهركيميائياً (تحتوي على زمر فعالة) من الممكن أن يحصل عليها عمليات مسروية مهبطية متمثلة بالتفاعل التالي:



حيث أن: R الشكل المؤكسد للمادة و RH_n الشكل المرجع للمادة.

ففي العملية المسروية المهبطية (ارجاع) فإن كمون نصف الموجة يتأثر بشكل كبير بقيمة pH بانزياح $E_{1/2}$ (والتي توافق كمون القمة) بقيمة ثابتة مقدارها 59mV/n نحو تناقص الكمون (الاتجاه الأكثر سلبية للكمون) لكل درجة pH وهذا الانزياح ناتج عن تناقص البروتونات المتوفرة في المحلول. وعادة ما يكون تفاعلات المركبات العضوية بطيئة وأكثر تعقيداً من تفاعلات الشوارد اللاعضوية. وفي حال المعقدات مع الشوارد المعدنية فإن تفاعل الارجاع الحاصل على المسرى يمكن تمثيله كالتالي :



حيث أن ML المعقد المتشكل من المركب العضوي مع شاردة معدنية و L المرتبطة الحرة. في هذه الحالة، إن كمون نصف الموجة $E_{1/2}$ ينزاح نحو الاتجاه الأكثر سلبية مشيراً إلى الطاقة الإضافية المطلوبة لتفكيك المعقد .

4-3- حساب عدد الالكترونات المتبادلة في العملية المسروية :

هناك العديد من الطرائق التي يمكن الاعتماد عليها في حساب عدد الالكترونات المتبادلة أثناء العملية المسروية اعتماداً على علاقات رياضية مرجعية حول ثوابت الطريقة، نذكر منها:

4-3-1- التحليل الفولط امبيرومترى الحلقي [94]:

4-3-1-1- في حال الثنائية العكوسة :

يمكن حساب تيار النفوذ الاشباعي من علاقة Randles-Sevcik :

$$(6) \quad i_p = (2.69 \times 10^5) n^{3/2} ACD^{1/2} v^{1/2}$$

حيث: n عدد الالكترونات المتبادلة و A مساحة سطح المسرى و C تركيز المادة المحللة بوحدة M ، D معامل النفوذ diffusion coefficient بوحدة $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ و v سرعة المسح الكموني بوحدة $\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$. أما الكمون المحصل E^0 فهو متوسط كمون القمة المصعدية $E_{p,a}$ وكمون القمة المهبطية $E_{p,c}$ وفقاً للعلاقة:

$$(7) \quad E^0 = \frac{E_{p,a} + E_{p,c}}{2}$$

وفي هذه الحالة يمكن حساب عدد الالكترونات المتبادلة في الثنائية العكوسة من العلاقة التالية:

$$(8) \quad \Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,c} = \frac{0.059}{n} \text{ V}$$

حيث n عدد الالكترونات المتبادلة.

ففي حال كان فرق الكمون مساوياً تقريباً 59mV فإن عدد الالكترونات المتبادلة في التفاعل الكهركيميائي يكون $n=1$.

يعتمد كلاً من الكمون المصعدي أو المهبطي للقمة على سرعة المسح أيضاً؛ حيث أن هناك علاقة توضح ارتباط كمون نصف الموجة $E_{1/2}$ بكمون نصف القمة $E_{p/2}$ (تؤخذ قيمته عند نصف ارتفاع القمة) وعدد الالكترونات n .

$$(9) \quad E_{p/2} = E_{1/2} \pm \frac{0.028}{n} \text{ V}$$

حيث توضع الإشارة الموجبة في العملية الارجاعية.

في حال الثنائية العكوسة فإن كمون القمة يمكن تمثيله بعلاقة Herovskiy-Ilkovic كالتالي:

$$(10) \quad E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln\left(\frac{i_d - i}{i}\right)$$

ولدى رسم العلاقة بين الكمون E بدلالة $\ln[(i_d - i)/i]$ ينتج لدينا خط مستقيم يكون فيه الميل مساوياً $0.059/n$ عند درجة حرارة 25°C .

كذلك يمكن حساب عدد الالكترونات من العلاقة:

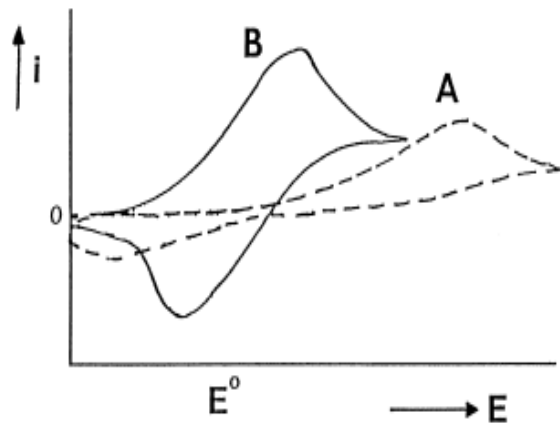
$$(11) \quad E_{3/4} - E_{1/4} = \frac{56.4}{n}, \text{ mV}$$

حيث $E_{3/4}$ هو الكمون عند $i=0.75i_d$ و $E_{1/4}$ هو الكمون عند $i=0.25i_d$.

2-1-3-4- في حال الثنائية اللاعكوسة irreversible أو شبه عكوسة quasi-reversible :

إن القمم الناتجة في حال الثنائية اللاعكوسة أو شبه عكوسة بالاتجاهين المباشر والعكسي تكون

بعيدة عن بعضها وعريضة بشكل واضح ، انظر الشكل رقم (26).



الشكل رقم (26)

(A) منحني فولط أمبيرومترى حلقي لثنائية لا عكوسة و (B) منحني فولط أمبيرومترى حلقي لثنائية شبه عكوسة.

• يمكن حساب تيار القمة (تيار النفوذ الاشعاعي) من العلاقة:

$$(12) \quad i_p = (2.99 \times 10^5) n (\alpha n_a)^{1/2} A C D^{1/2} \nu^{1/2}$$

نلاحظ أن نسبة تيار القمة للثنائية العكوسة على تيار القمة للثنائية اللاعكوسة هي 1.27 عندما $\alpha=0.5$.

• ويمكن حساب كمون القمة من العلاقة :

$$(13) \quad E_p = E^{\circ} - \frac{RT}{\alpha n_a F} \left[0.78 - \ln \frac{k^{\circ}}{D^{1/2}} + \ln \left(\frac{\alpha n_a F \nu}{RT} \right)^{1/2} \right]$$

حيث؛ α معامل الانزياح، n_a عدد الالكترونات المتبادلة في التفاعل الكهروكيميائي، K^0 ثابت المسح القياسي، D معامل النفوذ، ν سرعة المسح، R ثابت الغازات العامة، F ثابت فاراداي و T درجة الحرارة بالكالفن.

ونجد أن هناك علاقة بين تغير كمون القمة وسرعة المسح؛ حيث يحصل انزياح في الكمون مع تغير سرعة المسح .

لذلك يجب أن يكون E_p أكبر من E^0 . أما الفرق بين كمون القمة E_p وكمون نصف القمة $E_{p/2}$ يعطى بالعلاقة:

$$(14) \quad E_p - E_{p/2} = \frac{48}{\alpha n} , mV$$

4-3-2- في التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي [95] :

يمكن حساب عدد الالكترونات من العلاقة التي تربط عرض نصف القمة $W_{1/2}$ مع عدد

الالكترونات n :

$$(15) \quad W_{1/2} = \frac{3.52 RT}{n F}$$

حيث: $R=2.768$ ، $F=96500$ Colon ، $T=273+25$ Kelvin .

3-3-4- في التحليل الفولط أمبيرومترى بتيار مباشر [96]:

يمكن اثبات عدم عكسية الثنائية برسم العلاقة بين E بدلالة $\log(i/i_d - i)$ لثلاث موجات في التحليل الفولط أمبيرومترى بتيار مباشر عند قيم pH مختلفة وهي علاقة طردية بميل S كالتالي:

$$(16) \quad S_1(\text{mv}) = \frac{59}{\alpha n_a}$$

حيث: α هو ثابت الانتقال و n_a عدد الالكترونات المتبادلة.

كما أن العلاقة بين $E_{1/2}$ بدلالة الـ pH علاقة خطية بميل S_2 لثلاث موجات عند قيم pH مختلفة يمكن أن تحدد عدد شوارد الهيدروجين Z_{H^+} والتي يمكن حسابها من العلاقة الرابطة S_1 و S_2 كالتالي:

$$(17) \quad S_2 = S_1 \times Z_{H^+}$$

ومنه يكون عدد الالكترونات مساوياً ضعفاً عدد البروتونات أو يكون عدد الالكترونات يساوي نفس عدد البروتونات ويمكن حساب عدد البروتونات من العلاقة التالية:

$$(18) \quad \Delta E_{1/2} / \Delta \text{pH} = - \frac{0.059 Z_{H^+}}{\alpha n_a}$$

4-3-4- بالاعتماد على دراسة حموضة الوسط [97]:

في حال كان انزياح كمون القمة بالاتجاه السالب مع زيادة درجة الـ pH ضمن علاقة خطية وبقيم ثابتة أي $(E_{1/2} = X + k \text{pH})$ ؛ حيث X هو قيمة كمون القمة و k قيمة الانزياح مع كل درجة حموضة فإن ذلك يدل على أن العملية المسروية هي ارجاع.

4-3-5- بالاعتماد على دراسة علاقة سرعة المسح بالكمون والتيار [98]:

إن تزايد تيار القمة خطياً مع زيادة سرعة المسح يدل على انتقال الكتروني خاضع لتحكم عملية ادمصاصية.

يمكن اثبات العملية ادمصاصية في حال كانت العلاقة بين سرعة المسح الكموني وتيار القمة علاقة طردية خطية أي تتبع العلاقة $I_p(\mu\text{A}) = mv + k$ على مسرى قطرة الزئبق المعلقة.

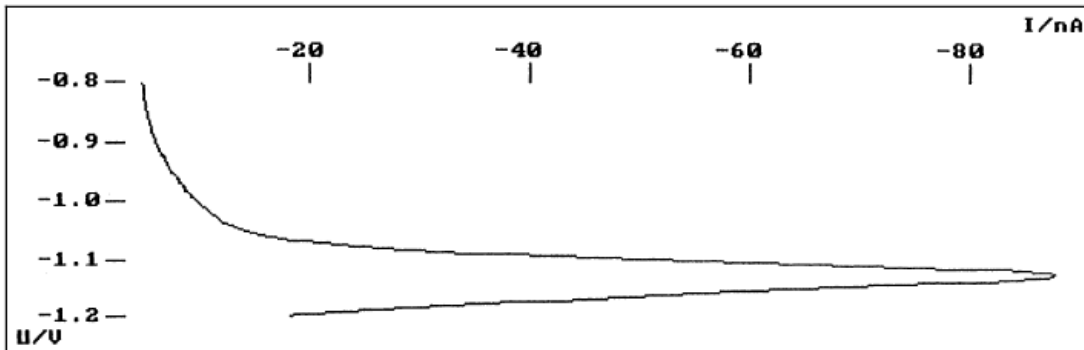
نرسم العلاقة $\log I_p(\mu\text{A})$ بدلالة $\log v$ لثلاث قمم فإذا كانت هذه العلاقة تعطي خط مستقيم بميل قريب من القيمة النظرية 0.5 فإن العملية المسروية هي عملية ارجاع ناتجة عن التوزع لمكونات المادة المحللة diffusive component.

5- تحديد بعض المركبات العضوية الدوائية باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى:

استخدم التحليل الكهركيميائي، وعلى وجه الخصوص التحليل الفولط امبيرومترى والاستقطابي بطرائقه المختلفة، لتحديد بعض المركبات الدوائية ونذكر منها:

تحديد **دروتافيرين هيدروكلوريد Drotaverin hydrochloride** باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى الارجاجي بالادمصاص الملغمي على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE ؛ حيث بينت هذه الدراسة تمتع دروتافيرين هيدروكلوريد بقوة ادمصاص على سطح قطرة الزئبق المعلقة HMDE، وأظهرت المنحنيات الفولط أمبيرومترية الحلقية في وسط واقى بريتوني 0.04M عند pH 2.0 وسرعة مسح $50\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ و كمون تراكم $E_{acc}=-0.4\text{V}$) الحصول على قمة مهبطية عند كمون قمة -0.941V . تعود لارجاع رابطة Olefinic ، ولم تظهر قمة في الاتجاه العكسي للمسح مما دل على أن الثنائية لاعكوسة. ولدى تكرار المسح الكموني على نفس قطرة الزئبق وجد أن ارتفاع القمة يتناقص بشكل حاد في كل مرة يتم فيها تكرار المسح مما يدل على أن العملية ادمصاصية. ولدى رسم العلاقة بين لوغاريتم تيار القمة بدلالة لوغاريتم سرعة المسح تم الحصول على خط مستقيم بميل 1.17 والذي هو قريب من القيمة النظرية 1.0 ، كما أن كمون القمة ينزاح بالاتجاه الأكثر سلبية مع زيادة سرعة المسح مما يؤكد ان العملية الكهركيميائية هي عملية ارجاع لاعكوسة[99].

كذلك تم تحديد **phenytoin** وشواتبه المرافقة البنزوفينون **benzophenone** باستخدام التحليل الاستقطابي في وسط واقى بريتوني عند pH 5.6 يحتوي 20% ميتانول، وقد تم تحديد الـ phenytoin بعد اكسدته بالبرمنغنات القلوية لتعطي البنزوفينون. وتم الحصول على قمة استقطابية عند كمون قمة -1138 mV تعود لارجاع زمرة الكيتون، الشكل رقم (27). وتم التطبيق على المستحضرات الصيدلانية [100].



الشكل رقم (27)

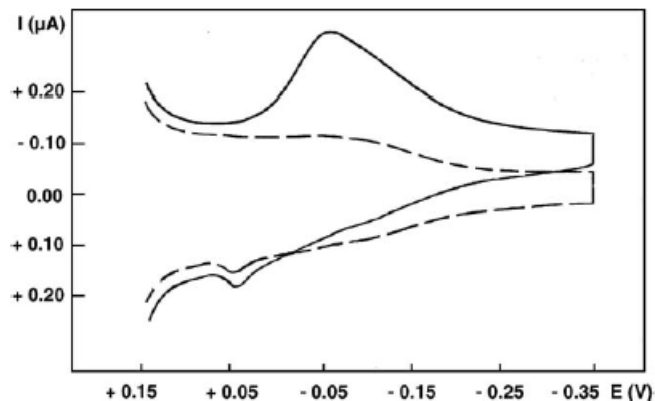
المنحنى الاستقطابي لتحديد البنزوفينون بتركيز $1\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ في وسط واقى بريتوني عند درجة pH 5.6.

كما تم تحديد **Artemether**، وهو دواء يستخدم لعلاج الملاريا Antimalaria ، وفقاً للتحليل الاستقطابي النبضي التفاضلي DPP في المستحضرات الصيدلانية [103]، وتمت دراسة السلوك الكهركيميائي لهذه المادة في أوساط واقية مختلفة وعند قيم pH (3.0–10.0). وأظهر استخدام وافي فوسفاتي pH 5.5 بنسبة مزج مع الميثانول (7:3 V/V) حصول قمة إرجاع تفاضلية عند $E_p = -0.01$ V وذلك باستخدام مسرى الفضة-كلوريد لفضة Ag/AgCl كمسرى مُقارن وقد تم اثباتها بالاعتماد على مركبات أخرى مشابه إلى أنها تعود إلى إرجاع الجسر الأوكسجيني [101-109].

دُرِس تأثير سعة النبضة الكمونية فكانت القيمة المثلى لها -50 mV باستخدام حجم قطرة زئبق متوسط وسرعة مسح 5 mV.s⁻¹. رسم المنحني العياري لارتفاع القمة بدلالة التركيز وحدد المجال الخطي $3.0 \times 10^{-5} - 3.4 \times 10^{-7}$ mol.L⁻¹ أما حد الكشف فكان 32 ng.mL⁻¹. ويظهر الشكلين (29،28) المنحنيات الفولط أمبيرومترية لتحليل Artemether .

الشكل رقم (28)

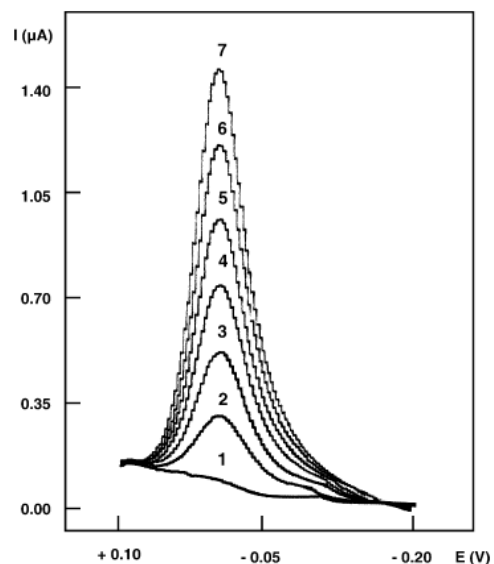
المنحني الفولط أمبيرومترية الحلقي لتحديد Artemether في وسط وافي فوسفاتي عند pH 5.5



الشكل رقم (29)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية الناتجة عن تحليل Artemether في وافي فوسفاتي pH 5.5 بنسبة مزج مع الميثانول (7:3 V/V) عند التراكيز التالية للمادة:

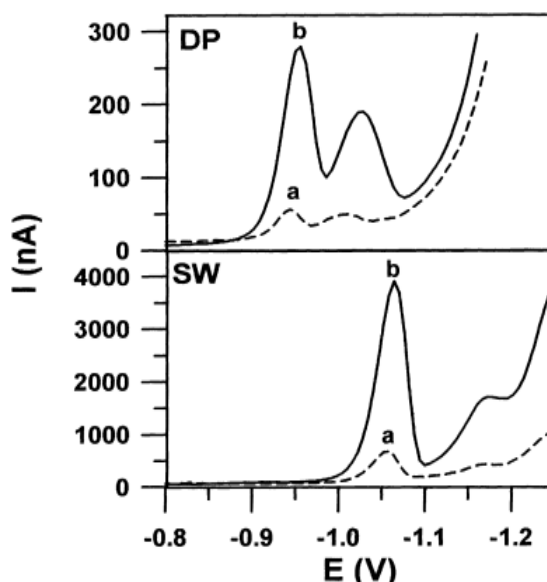
(1) الشاهد ، (2) 1.5 ، (3) 3.0 ، (4) 4.5
(5) 6.0 ، (6) 7.5 ، (7) 9.0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$



تم تحديد **السليدينافيل سترات Sildenafil Citrate** (الفاغرا Viagra) باستخدام التحليل الاستقطابي الامصاصي ذو الموجة المربعة Square Wave ؛ حيث بينت هذه الدراسة تمتع السليدينافيل سترات بقوة ادمصاص على سطح قطرة الزئبق المعلقة HMDE، وأظهرت المنحنيات الفولط أمبيرومترية الحصول على موجة استقطابية ادمصاصية إرجاعية متداخلة لدى تطبيق طريقة التحليل الاستقطابي النبضي التفاضلي Differential Pulse، أما لدى تطبيق طريقة الموجة المربعة SqW ، فقد تم الحصول على قمة إرجاع واحدة $E_p = -1.06V$ غير متداخلة، كما هو موضح في الشكل رقم (30). ووفقاً للنتائج التي تم الحصول عليها طبق نوعين من التحليل الأول باستخدام الموجة المربعة SqW والثانية باستخدام الموجة المربعة بالتراكم الامصاصي SWAdSV؛ حيث تبين أن الطريقة الثانية أكثر حساسية وأعطت قمة أكبر بثلاث أو أربع مرات من الطريقة الأولى. حدد المجال الخطي $5 \times 10^{-9} - 9 \times 10^{-7} M$ وفقاً للطريقة التامة Stripping Mode بزمن تراكم 10 sec [110].

الشكل رقم (30)

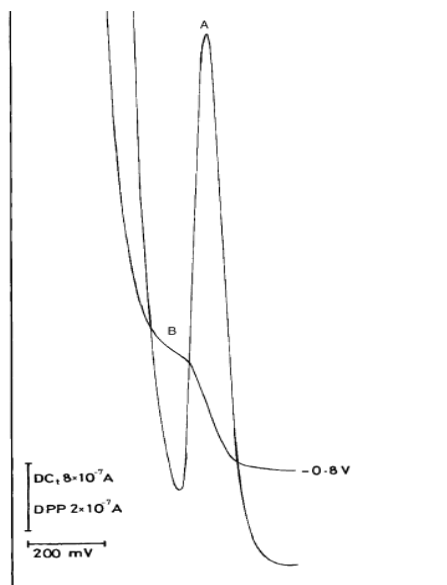
التحليل الاستقطابي النبضي DP والتحليل الاستقطابي ذو الموجة المربعة SqW (التردد 120Hz) للسليدينافيل سترات بتركيز $5 \times 10^{-7} M$ عند pH 2.0 ،
 (a) زمن الترسيب 0 Sec
 (b) زمن الترسيب 30 Sec
 وكمون الترسيب -0.8 V ، سرعة المسح 10mV/Sec ، سعة النبضة -40mV



درس التحليل الاستقطابي النبضي التفاضلي على مشتقات الأوكسيكام Oxicam ومنها البيروكسيكام Piroxicam والتينووكسيكام Tenoxicam؛ وطبق لتحديد المادة الفعالة والدواء في البول للمركب الأول والمستحضرات الصيدلانية والدم للمركب الثاني [111]. كذلك استخدم التحليل الفولط أمبيرومترية ذو الموجة المربعة بالتراكم الملغمي المهبطي لتحديد الميوكسيكام Meloxicam في البلازما؛ حيث رسمت المنحنيات الفولط أمبيرومترية الحلقية و النبضية التفاضلية و التريبعية، على مسرى قطرة الزئبق المعلقة وأعطت قمة ادمصاص مهبطية عند كمون قمة $E_p = -1.42 V$ مقارنة مع كمون مسرى Ag/AgCl، في وسط واقى خلى عند pH 5.0 [112].

درس التحليل الاستقطابي لتحديد مركب دانازول danazol في المستحضرات الصيدلانية ودراسة سلوكه الكهركيميائي بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية الحلقى CV والمباشر DC والنبضي

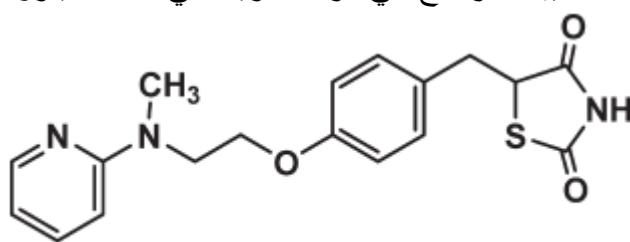
التفاضلي DPP والتحليل بالتيار المتناوب AC [113]. في وسط حمضي من حمض كلور الماء HCl بتركيز 0.1 M عند pH 1.0 ؛ حيث تبين لدى دراسة التحليل الفولط أمبيرومترى أن التناثية المتشكلة هي ثنائية لاعكوسة وأن القمة الناتجة عن التحليل هي قمة مهبطية تمتلك كمون نصف موجة $E_{1/2} = -1.04V$ مقارنة مع مسرى Ag/AgCl، الشكل رقم (31). وتم اثبات أن الزمرة التي يتم عليها العملية الارجاعية هي حلقة الايزوكسازول الحاوية على جسر اوكسيجيني.



الشكل رقم (31)

المنحنيات الاستقطابية لتحديد مركب danazol بتركيز $1 \times 10^{-5} M$ حيث (a) المنحني النبضي التفاضلي DPP و (b) المنحني الاستقطابي بتيار مباشر DC

تمت دراسة السلوك الكهركيميائي لمركب روزيغليتازون Rosiglitazone، الشكل رقم (32)، بتطبيق التحليل الاستقطابي النبضي التفاضلي DPP والتحليل بتيار مباشر DC والتحليل بتيار متناوب AC وتحديده في المستحضرات الصيدلانية وبلازما الدم. وتم الحصول على قمة مهبطية للمادة في وسط وافي بريتوني عند قيمة pH 4 ؛ حيث كمون القمة لها $-0.85V$ بالنسبة لمسرى مقارن مع Ag/AgCl، أثبت أن الزمرة التي يحصل عليها الارجاع هي ذرة الكبريت في حلقة الثيازول [114].



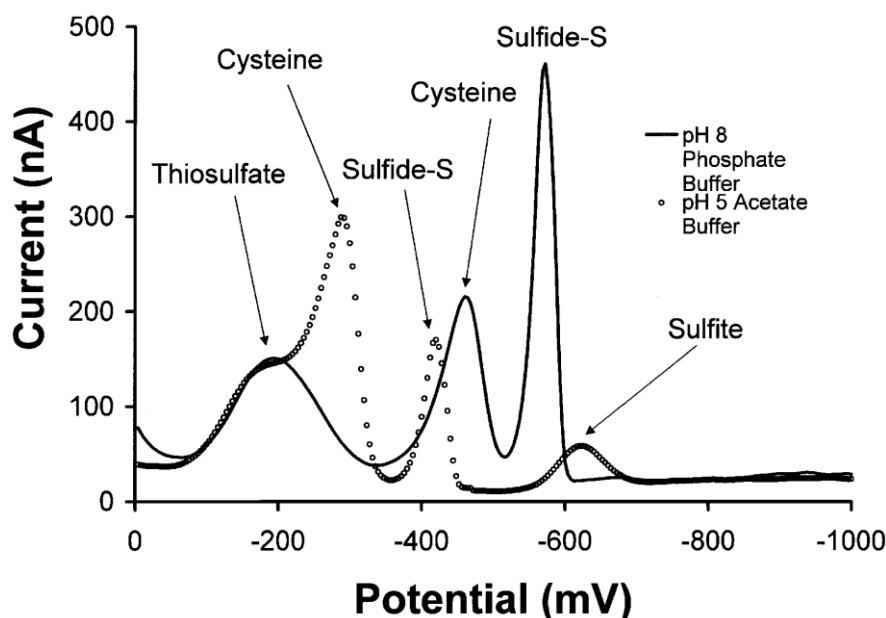
rosiglitazone

الشكل رقم (32)

الصيغة المنشورة لمركب روزيغليتازون

استخدم التحليل الاستقطابي لتحديد الكبريت بأشكاله المختلفة (السلفيد Sulfide وثنائي السلفيد Disulfide وخماسي السلفيد Pentasulfide والثيوسلفات Thiosulfate ورباعي ثيونات Tetrathionate وخماسي ثيونات Pentathionate والسيستئين Systeine.... الخ) في المركبات الحيوية، عند درجات

حموضة مختلفة للوسط؛ حيث تبين أن التفاعل الكهروكيميائي الحاصل لهذه المركبات يختلف باختلاف موقع ذرة الكبريت في المركب المدروس، مما يؤدي إلى اختلاف في قيمة كمون القمة وتيارها وفي حدة القمة وتناظرها، ونوضح في الشكل رقم (33) المنحنيات الاستقطابية لتحديد بعض المركبات الحاوية على ذرة الكبريت [115].



الشكل رقم (33)

المنحنيات الاستقطابية النبضية التفاضلية لمزيج من المركبات الحاوية على الكبريت عند pH 8.0 و pH 5.0 .

ونوضح في الجدول رقم (2) قيمة كمون القمة لبعض المركبات الحاوية على الكبريت:

الجدول رقم (2)

قيمة كمون القمة لبعض المركبات الحاوية على الكبريت

Sulfur species	Thiosulfate-S (-160 mV)	Sulfide-S (-540 mV)	Cysteine-S (-440 mV)
Thiosulfate	$^-S-SO_3^-$	-	-
Tetrathionate	$^-O_3S-S-S-SO_3^-$	-	-
Pentathionate	$^-O_3S-S-S-S-SO_3^-$	$^-O_3S-S-S-S-SO_3^-$	-
Polysulfides	-	$^-S-S^-$	-
Cysteine	-	-	R-SH
Glutathione	-	-	R-SH
Cystine	-	-	R-S-S-R
Polythionates (#S atoms >5)	$^-O_3S-S-S-S-S-SO_3^-$	$^-O_3S-S-S-S-S-SO_3^-$	-
Polythiosulfates (#S atoms ≥3)	$^-S-S-SO_3^-$	$^-S-S-SO_3^-$	-
Organic polysulfides	-	R-S-S^-	R-S-S^-
Other organic thiols and disulfides	-	-	R-S^- / R-S-S-R

IV - أهمية البحث وأهدافه

The Importance of Research and its Aims

تمشياً مع تطور الصناعات الدوائية وأهمية الدواء الاستراتيجية، برزت ضرورة الاهتمام بمراقبة جودة المنتجات الدوائية، من خلال إجراء أبحاث تهتم بتحديد المركبات الفعالة دوائياً في الحالة النقية وفي المستحضرات الصيدلانية التجارية. وقد وجدنا من الأهمية بمكان وفي إطار ربط الجامعة والبحث العلمي بالمجتمع أن نساهم في تطوير طرائق جديدة لتحليل مستحضرات صيدلانية سورية بغية مراقبة فعاليتها وجودتها، شريطة أن تتمتع طرائق التحليل المطورة بالدقة والحساسية والسهولة والسرعة والكلفة المنخفضة مقارنة مع الطرائق الأخرى الواردة في دساتير الأدوية وفي الأبحاث المرجعية، بالإضافة إلى توفر الأجهزة المستخدمة وانخفاض تكلفتها.

اعتمدنا في هذا البحث على تطوير طرائق فولط أمبيرومترية جديدة سهلة وبسيطة وذات تكلفة منخفضة جداً وتتمتع بدقة وحساسية عاليتين لتعيين بعض المركبات الفعالة دوائياً والمضادة للداء السكري ودراسة أهم العوامل الكهركيميائية المؤثرة فيها وذلك بدراسة آلياته المختلفة بالاعتماد على الشروط المثلى لكل آلية ثم دراسة الدقة والصحة لكل منها بدراسة المنحنيات العيارية وتحديد حد الكشف وحد التحديد الكمي ومحاولة تطبيقها لتعيين المركبات الدوائية المدروسة في مستحضراتها الصيدلانية التجارية. اخترنا في هذا البحث دراسة ثلاثة مركبات دوائية، مختلفة في تركيبها الكيميائي من حيث الزمر الفعالة كهركيميائياً، ولها التأثير العلاجي المكمل لبعضه البعض في علاج الداء السكري، وهي الغليبيريد والريباغليينيد والبيوغليتازون هيدروكلوريد.

وكما هو مبين في الأبحاث المرجعية السابقة، فقد تم تحديد هذه المركبات المذكورة أعلاه بالعديد من الطرائق التحليلية المعروفة في المجالات الحيوية والدوائية، إلا أن معظم الطرائق تعتمد على المعالجة المسبقة إما للعينة أو للآلية التحليلية المستخدمة، كما أن الطرائق السابقة وإن كانت ذات حساسية عالية إلا أنها تتطلب استخدام العديد من التجهيزات والمواد والكواشف النوعية المكلفة. ولم يتم التطرق في الأبحاث السابقة التي تعتمد الطرائق الفولط أمبيرومترية إلى تفسير العمليات المسروية الحاصلة على المسرى الفعال. واستكمالاً للأبحاث السابقة التي أجريت في مجال تطوير طرائق تحليلية فولط أمبيرومترية من أجل تحديد بعض المكونات الفعالة دوائياً بشكلها النقي وبمستحضراتها الصيدلانية السورية وانطلاقاً من ربط بعض المفاهيم الرياضية في حساب عدد الالكترونات المتبادلة في العمليات المسروية، اقترحنا التفاعلات الحاصلة على المسرى العامل في خطوة تهدف إلى فهم الآليات الكهركيميائية وربطها بكمياء المركبات العضوية ودراسة الخواص المميزة لكل زمرة عضوية وفعاليتها الكهركيميائية.

القسم العملي

Experimental

1- الأجهزة والأدوات

Instruments and apparatus

استخدم في هذا البحث جهاز تحليل فولط أمبيرومتر من صنع شركة Metrohm طراز 797

797 VA Computrace VA ويعمل بعدة نماذج نذكر منها تلك التي استخدمت في بحثنا هذا:

النموذج الأول : تحليل فولط أمبيرومتر كلاسيكي (تيار مباشر).

النموذج الثاني: تحليل فولط أمبيرومتر حلقي.

النموذج الثالث: تحليل فولط أمبيرومتر نبضي عادي.

النموذج الرابع: تحليل فولط أمبيرومتر نبضي تفاضلي.

النموذج الخامس : تحليل فولط أمبيرومتر ذو الموجة المربعة.

وهذا الجهاز الذي يحتوي على خلية التحليل والمساري، انظر الشكل رقم (34)، ومن أهمها

المسرى متعدد الأغراض (Multi Mercury Electrode, MME) الذي يضم الأنواع التالية :

- مسرى الزئبق القطار Dropping Mercury Electrode DME (قطرة الزئبق تنمو ثم تسقط عندما

تبلغ حجمها الأعظمي خلال زمن يسمى عمر القطرة t_{drop}).

- مسرى قطرة الزئبق الساكنة Static Mercury Drop Electrode SMDE (قطرة الزئبق تنمو حتى

تبلغ حجمها الأعظمي خلال الزمن t_{drop} ثم يبقى حجمها ثابت خلال زمن محدد يحصل في نهايته

زمن القياس t_{meas} ثم تسقط القطرة لتبدأ قطرة جديدة بمراحل مماثلة) .

- مسرى قطرة الزئبق المعلقة Hanging Mercury Drop Electrode HMDE (تنمو قطرة الزئبق

حتى تبلغ حجمها الأعظمي خلال الزمن t_{HMDE} وتبقى معلقة خلال العملية التحليلية كاملة).

- مسرى دوار RDE ومساري صلبة SSE .

- مسرى مقارن Ag/AgCl .

- مسرى مساعد من البلاطين .

هذا الجهاز موصول مع كمبيوتر للتحكم بالعمليات التحليلية ورسم المنحنيات والحسابات وغيرها.

أجريت القياسات عند درجة حرارة الغرفة ($25 \pm 2^\circ C$).

استخدم غاز الأزوت النقي لطرد الأكسجين بوساطة القرقرة.

استخدم أيضاً مقياس pH من شركة Radio meter نموذج Ion Check .

استخدم ميزاناً تحليلياً حساسيته 0.0001 g من نوع Sartorius.

استخدم مرشحات ميكرونية من نوع Schleicher & Schuell 0.45 ميكرون.

استخدم حمام مائي يعمل على الأمواج فوق الصوتية من صنع Hwashin .



الشكل رقم (34)

- جهاز التحليل الفولط أمبيرومترى المستخدم في البحث يتألف من :
- _ جهاز التحليل 797 VA computrace الذي يحتوي على خلية التحليل والمساري.
 - _ جهاز كمبيوتر موصول مع الجهاز لإدخال البيانات ورسم المنحنيات وإجراء الحسابات وغيرها.

2- المواد والمحلات المستخدمة :

Material and Solvents

استخدمنا في هذا البحث محلات عالية النقاوة، منها ميتانول، أسيتو نتريل، حمض الخل، ايتانول، فوسفات أحادية الصوديوم وثنائية الصوديوم، كلوريد الصوديوم، حمض كلور الماء، حمض الفوسفور، حمض البور، وجميعها من شركة (Merck) الألمانية. الزئبق المستخدم في كل التجارب هو زئبق عالي النقاوة وخاص بالتحليل الفولط أمبيرومترى.

- ✓ الغليبيريد من شركة Cadila HealthCare Limited الهندية، نقاوته تراوحت بين 98.0% و 102.0% وقد حددت النقاوة بـ 99.2%، ووزنه الجزيئي 494.03 g/mol .
- ✓ الريباغليينيد من شركة Refarmed Chemical الهندية وتم استخدامه من دون تنقية مسبقة. نقاوته 99.2%. صيغته المجرىة $C_{27}H_{36}N_2O_4$ ، ووزنه الجزيئي 452.59 g/mol .
- ✓ البيوغليتازون هيدروكلوريد Pioglitazone hydrochloride من شركة Dr. Reddy's / الهند. نقاوته 99.9%. ووزنه الجزيئي 392.93 g/mol .

3- المحاليل والكواشف:

Chemicals and reagents

1-3- محلول المادة الفعالة غليبيريد:

تم تحضير محلول عياري أساسي من المادة الفعالة وذلك بإذابة 24.90mg من الغليبيريد في 30mL من الأسيتو نتريل، ثم إتمام الحجم حتى الإشارة في دورق حجمي سعة 50 mL للحصول على التركيز $494mg.L^{-1}$ ($1 \times 10^{-3} M$)، ثم تحضر منه المحاليل العيارية المدروسة.

2-3- محلول المادة الفعالة ريباغليينيد:

تم تحضير محلول عياري أساسي من المادة الفعالة ريباغليينيد وذلك بإذابة 22.81mg منها في 30mL من الأسيتو نتريل، ثم إتمام الحجم حتى الإشارة في دورق حجمي سعة 50 mL للحصول على تركيز $452.59mg.L^{-1}$ ($1 \times 10^{-3} M$)، ثم تحضر منه المحاليل العيارية المدروسة.

3-3- محلول المادة الفعالة بيوغليتازون هيدروكلوريد:

تم تحضير محلول عياري رئيسي من المادة الفعالة بيوغليتازون هيدروكلوريد وذلك بإذابة 19.67mg منها في 30mL من الأسيتو نتريل، ثم إتمام الحجم حتى الإشارة في دورق حجمي سعة 50 mL للحصول على التركيز $392.93 mg.L^{-1}$ ($1 \times 10^{-3} M$)، ثم تحضر منه المحاليل العيارية المدروسة.

Electrolyte (acetate buffer)

4-3- محلول الكهرليت (واقي خلّي) :

تم تحضيره بتركيز 0.2M وذلك بإذابة 16.4 g من خلات الصوديوم CH_3COONa في ماء ثنائي التقطير وإتمام الحجم إلى 1000 mL، وضبطت قيم pH على المجال المطلوب بواسطة حمض الخل 0.1M أو هيدروكسيد الصوديوم 0.1M، ومنه يتم تحضير التراكيز المطلوبة.

3-5- محلول الكهرليت (واقي فوسفاتي) : Electrolyte (phosphate buffer)

تم تحضيره بتركيز 0.2M وذلك بإذابة 71.628g من فوسفات ثنائية الصوديوم $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ أو بإذابة 31.2g من $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ في ماء ثنائي التقطير وإتمام الحجم إلى 1000 mL، وضبطت قيم pH على المجال المطلوب بحمض الفوسفور 1M أو بهيدروكسيد الصوديوم 1M .

3-6- محلول الكهرليت (بريتون روبنسون) : Electrolyte (Britton–Robinson)

تم تحضيره بتركيز 0.4M وذلك بإذابة 24.7g من حمض البور في 23.015mL من حمض الخل النقي و 26.97mL من حمض الفوسفور النقي وإتمام الحجم إلى 1000mL بالماء ثنائي التقطير، ثم حضر منه محلول الكهرليت المستخدم في التحليل والمضاف إليه ميتانول كوسط محل solublizer، أخذ حجم 125mL من الواقي البريتوني بتركيز 0.4M وأضيف إليه حجم 80mL ميتانول نقي وأكمل الحجم إلى 250mL بالماء ثنائي التقطير لنحصل في النهاية على محلول كهرليت بتركيز 0.2M يحتوي 32% ميتانول، وضبطت قيم pH بحمض الفوسفور 1M أو بهيدروكسيد الصوديوم 1M.

3-7- محاليل المستحضرات الصيدلانية (مضغوطات) :

3-7-1- المستحضرات الصيدلانية السورية المدروسة الحاوية على الغليبيريد:

(1) **Glibomet** من إنتاج شركة يونيفارما للصناعات الدوائية - دمشق - سورية، كل مضغوة تحتوي 2.5 mg أو 5.0mg غليبيريد مع 400mg ميتفورمين هيدروكلوريد.

Glibomet, Unipharma, Damascus-Syria, Each tablet contains: 2.5mg or 5mg of glyburide/400mg metformin HCl.

(2) **غلو - ستات Glu-state** من إنتاج شركة تاميكو للصناعات الدوائية - دمشق - سورية كل مضغوة تحتوي 5mg غليبيريد.

Glu-state, Tamecco, Damascus-Syria, Each tablet contains:5mg glyburid

(3) **غلي فورم Glyform** من إنتاج شركة سيتي فارما - حلب - سورية كل مضغوة تحتوي إما 1.25mg غليبيريد مع 250mg ميتفورمين هيدروكلوريد أو 2.5mg غليبيريد مع 500mg ميتفورمين هيدروكلوريد أو 5.0mg غليبيريد مع 500mg ميتفورمين هيدروكلوريد.

Glyform, City Pharma Co. Aleppo-Syria, Each tablet contains: 1.25mg glyburide /250mg metf. HCl, 2.5mg or 5mg gly./500mg metf. HCl.

(4) **غلوفانس Gluvans** من إنتاج شركة السعد للصناعات الدوائية - حلب - سورية ، كل مضغوة تحتوي إما 2.5mg أو 5.0mg غليبيريد مع 500mg ميتفورمين هيدروكلوريد.

Gluvars, El-Saad Pharma., Aleppo-Syria, each tablet contains: 2.5 or 5mg gly./500mg metf. HCl.

(5) **غليكو فورمين Glicuformine** من انتاج شركة أوبري للصناعات الدوائية - حلب - سورية، كل مضغوطة تحتوي 1.25mg غليبوريد مع 250mg ميتفورمين هيدروكلوريد .

Glicuformine, Obari Pharma, Aleppo-Syria, Each tablet contains: 1.25mg gly. /250mg metf. HCl.

(6) **غليميت Glymet** من انتاج شركة ربا فارما للصناعات الدوائية - دمشق - سورية، كل مضغوطة تحتوي 1.25mg غليبوريد مع 250mg ميتفورمين هيدروكلوريد أو 5mg غليبوريد مع 500mg ميتفورمين هيدروكلوريد .

Glymet, Ruba Pharma., Damascus - Syria, each tablet contains: 1.25mg gly./250mg metf. HCl or 5mg gly. /500mg metf. HCl.

(7) **غليبورين Glyburine** من انتاج شركة الوطنية للصناعات الدوائية - حلب - سورية كل مضغوطة تحتوي 2.5mg أو 5mg غليبوريد مع 400mg ميتفورمين هيدروكلوريد.

Glyburine, National Co. for Pharma. Indus., Aleppo-Syria, Each tablet contains: 2.5mg or 5mg gly./400mg metf. HCl.

(8) **غليغورال Glicoral** من انتاج شركة راشا - دمشق - سورية، كل مضغوطة تحتوي إما 1.25mg غليبوريد مع 250mg ميتفورمين هيدروكلوريد أو 2.5mg غليبوريد مع 500mg ميتفورمين هيدروكلوريد أو 5.0mg غليبوريد مع 500mg ميتفورمين هيدروكلوريد.

Glicoral, Rasha Co. Damascus - Syria, Each tablet contains: 1.25mg glyburide /250mg metf. HCl, 2.5mg or 5mg gly. /500mg metf. HCl

3-7-2- المستحضرات الصيدلانية السورية المدروسة الحاوية على الريباغليزيد:

غليزيد Glinide من انتاج شركة البلسم للصناعات الدوائية - حمص - سورية كل مضغوطة تحتوي 0.5mg أو 1.0mg أو 2.0mg من الريباغليزيد.

Glinide, Balsam Pharma Co., Homs -Syria, Each tablet contains: 0.5 or 1.0 or 2.0 mg of Rebaglinide.

3-7-3- المستحضرات الصيدلانية السورية الحاوية على بيوغليتازون هيدروكلوريد:

(1) **بيوغليت Pioglit** من انتاج شركة بركات للصناعات الدوائية - حلب - سورية كل مضغوطة تحتوي 15mg أو 30mg أو 45mg بيوغليتازون هيدروكلوريد .

Pioglit, BPI, Aleppo -Syria, Each tablet contains: 15 or 30 or 45mg pioglitazone HCl.

(2) **بيوغليت ميت Pioglit met** من انتاج شركة بركات للصناعات الدوائية - حلب - سورية، كل مضغوطة تحتوي 15mg بيوغليتازون هيدروكلوريد مع 500mg أو 850mg ميتفورمين هيدروكلوريد.

Pioglit met, BPI, Aleppo - Syria, Each tablet contains: 15mg pioglitazone HCl with 500mg or 850mg metf. HCl .

(3) اكتازون آسيا Actazone Asia من انتاج شركة آسيا للصناعات الدوائية - حلب - سورية كل مضغوطة تحتوي 15mg أو 30mg أو 45mg بيوغليتازون هيدروكلوريد .

Actazone Asia, Asia, Aleppo - Syria, Each tablet contains: 15 or 30 or 45mg pioglitazone HCl.

(4) ديفاست DEFAST من انتاج شركة يونيفارما للصناعات الدوائية - دمشق - سورية كل مضغوطة تحتوي 15mg أو 30mg أو 45mg بيوغليتازون هيدروكلوريد .

DEFAST, Unipharma, Damascus-Syria, Each tablet contains: 15 or 30 or 45mg pioglitazone HCl.

3-8- تحضير العينات الدوائية: Preparation of Pharmaceutical Samples

3-8-1- تحضير المضغوطات الحاوية على الغليبوريد:

- يوزن 20 مضغوطة من كل صنف دوائي من الأصناف السورية الحاوية على الغليبوريد وتسحق بشكل جيد ويؤخذ منها ما يعادل وزن أربع مضغوطات من عيار 1.25 mg أو ما يعادل وزن مضغوتين من عيار 2.5 mg أو ما يعادل وزن مضغوطة واحدة من عيار 5mg وتذاب كل منها بواسطة 6mL من المحل العضوي (الأسيتو نتريل) ويكمل الحجم إلى 10mL في دورق حجمي، ويوضع الدورق لمدة 5 دقائق بواسطة جهاز الأمواج فوق الصوتية Ultra Sonic. ثم ترشح العينة بواسطة فلتر 0.45 ميكرون وتؤخذ الرشاحة الشفافة وتحفظ في انبوب محكم الإغلاق حيث تبقى صالحة للعمل في حال تم الاحتفاظ بها في البراد.

- تُحضر مادة عيارية من الغليبوريد بتركيز $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ في دورق عياري سعة 50mL.

- تجري التحديد الكمي للمستحضرات الدوائية وفقاً لطريقتين:

➤ الأولى هي طريقة المنحني العياري وفيها تؤخذ الحجم التالية من المحاليل الرئيسية للمستحضرات الصيدلانية: 2.0 و 1.0 و 0.5 mL لكل عيار من العيارات (1.25 و 2.50 و 5.0 mg/tab) وتوضع كل منها في دورق حجمي سعة 25 mL ويتم الحجم حتى الإشارة بمحلول الكهرليت، ثم يُفرغ الدورق في خلية التحليل ونقوم بالمسح الكموني عند الشروط المثلى المطبقة لدى تحديد المجال الخطي ورسم المنحني العياري.

➤ والثانية هي التحديد بطريقة المنحني العياري بطريقة الإضافات العيارية وفيها تؤخذ الحجم التالية من المحاليل الرئيسية للمستحضرات الصيدلانية: 1.000 و 0.500 و 0.250 mL لكل عيار من العيارات (1.25 و 2.50 و 5.0 mg/tab) ويوضع كل منها في دورق حجمي سعة 25 mL ويضاف إليها الحجم التالية من المحلول العياري: 0.000 و 0.250 و 0.500 و 1.00 mL ، ويتم الحجم حتى الإشارة بمحلول الواقى.

3-8-2- تحضير المضغوطات الحاوية على ريباغلينيد:

- يوزن 20 مضغوطة من الصنف الدوائي السوري الحاوي على ريباغلينيد وتسحق بشكل جيد ويوزن منها ما يعادل محتوى مضغوطة واحدة من عيار 0.5 mg أو ما يعادل محتوى نصف مضغوطة من عيار 1.0 mg أو ما يعادل محتوى ربع مضغوطة من عيار 2.0 mg ويذاب كل منها بوساطة 6mL من المحل العضوي (الأسيتو نتريل) ويكمل الحجم إلى 10mL في دورق حجمي، ويوضع الدورق لمدة 5 دقيقة بوساطة جهاز الأمواج فوق الصوتية Ultra Sonic. ثم ترشح العينة بوساطة فلانتر 0.45 ميكرون وتؤخذ الرشاحة الشفافة وتحفظ في انبوب محكم الإغلاق؛ حيث تبقى صالحة للعمل في حال تم الاحتفاظ بها في البراد التركيز المحضر للمضغوطة هو 50mg.L^{-1} .
- تُحضر مادة عيارية للريباغلينيد بتركيز 500mg.L^{-1} في دورق عياري حجمه 50mL .
- نجري التحديد الكمي للمستحضرات الدوائية وفقاً لطريقتين:

➤ الأولى هي طريقة المنحني العياري وفيها تؤخذ الحجم التالي من المحاليل الرئيسية للمستحضرات الصيدلانية: 4.000 و 2.000 و 1.000 mL من كل عيار من العيارات لكل عيار من العيارات (0.50 و 1.00 و 2.00 mg/tab) وتوضع كل منها في دورق عياري سعة 25 mL ويتم الحجم حتى الإشارة بمحلول الكهرليت، ثم نفرغ الدورق في خلية التحليل ونقوم بالمسح الكموني عند الشروط المثلى المطبقة لدى تحديد المجال الخطي ورسم المنحني العياري.

➤ والثانية هي التحديد بطريقة المنحني العياري بطريقة الإضافات العيارية وفيها تؤخذ الحجم التالي من المحاليل الرئيسية للمستحضرات الصيدلانية: 4.00 و 2.00 و 1.00 mL لكل عيار من العيارات (0.50 و 1.00 و 2.00 mg/tab) ويوضع كل منها في دورق حجمي سعة 25 mL وتُضاف إلى كل منها الحجم التالي من المحلول العياري: 0.00 و 0.10 و 0.2 و 0.4 mL ويتم الحجم حتى الإشارة بمحلول الوافي .

3-8-3- تحضير المضغوطات الحاوية على بيوغليتازون هيدروكلوريد:

- يوزن 20 مضغوطة من كل صنف دوائي من الأصناف السورية الحاوية على بيوغليتازون هيدروكلوريد وتسحق بشكل جيد ويوزن منها ما يعادل محتوى ثلاث مضغوطات عيار 15 mg أو ما يعادل محتوى مضغوطة ونصف من عيار 30 mg أو ما يعادل محتوى مضغوطة واحدة من عيار 45 mg ويذاب كل منها بوساطة 60mL من المحل العضوي (الميتانول) ويكمل الحجم إلى 100mL في دورق حجمي، ويوضع المحلول لمدة 5 دقائق بوساطة جهاز الأمواج فوق الصوتية Ultra Sonic. ثم ترشح العينة بوساطة فلانتر 0.45 ميكرون وتؤخذ الرشاحة الشفافة وتحفظ في انبوب محكم الإغلاق حيث تبقى صالحة للعمل في حال تم الاحتفاظ بها في البراد.
- تُحضر مادة عيارية للبيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 450mg.L^{-1} في دورق عياري سعة 50mL .

- نجري التحديد الكمي للمستحضرات الدوائية وفقاً لطريقتين:

➤ الأولى هي طريقة المنحني العياري عند استخدام مسرى الزئبق القطار ومسرى قطرة الزئبق الساكنة، وفيها تؤخذ الحجوم التالية من المحاليل الرئيسية للمستحضرات الصيدلانية 2.00 و 1.00 و 0.500 mL لكل عيار من العيارات (15 و 30 و 45 mg/tab) ويوضع كل منها في دورق حجمي سعة 25 mL ويتم الحجم حتى الإشارة بمحلول الكهرليت، ثم نفرغ الدورق في خلية التحليل ونقوم بالمسح الكموني عند الشروط المثلى المطبقة لدى تحديد المجال الخطي ورسم المنحني العياري.

➤ والثانية هي التحديد بطريقة المنحني العياري بطريقة الإضافات العيارية وفيها تؤخذ الحجوم التالية من المحاليل الرئيسية للمستحضرات الصيدلانية 2.00 و 1.00 و 0.500 mL لكل عيار من العيارات (15 و 30 و 45 mg/tab) ويوضع كل منها في دورق حجمي سعة 25 mL ويضاف إلى كل منها الحجوم التالية من المحلول العياري: 0.00 و 0.50 و 1.00 و 2.00 mL، ويتم الحجم حتى الإشارة بالمحلول الواقى .

- ولدى استخدام مسرى HMDE في التحديد بطريقة الإضافات العيارية فإن الحجوم التي تؤخذ من المستحضرات الصيدلانية هي 0.020 و 0.040 و 0.080 mL والحجوم المضافة: 0.020 و 0.04 و 0.080 mL ويتم الحجم حتى الإشارة بالمحلول الواقى .

وللمقارنة: تُحضر مادة عيارية من الغليبيريد بتركيز 0.5g.L^{-1} ومادة عيارية من البيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 450mg.L^{-1} في دورقين عياريين سعة كل منهما 50 mL ، وتحضر مادة عيارية من الميتفورمين هيدروكلوريد بتركيز 50g.L^{-1} .

✓ في ثلاث دوارق سعة كل منها 25 mL يتم تحضير محاليل تحتوي على الغليبيريد بكميات 1.25mg و 2.5mg و 5.0mg وذلك بأخذ الحجوم 2.5mL و 5mL و 10mL من المحلول الأساسي ويضاف ميتفورمين هيدروكلوريد إلى الدورق الأول بحجم 5mL أما الدورق الثاني والثالث يضاف الميتفورمين هيدروكلوريد بحجم 8mL للحصول على كمية 400mg أو 10mL للحصول على كمية 500mg لكل من الدورقين ويكمل الحجم بمحلول الكهرليت، وبذلك نكون قد حضرنا محاليل عيارية مشابهة في محتواها للمستحضرات الصيدلانية .

✓ وفي دورقين سعة كل منهما 25 mL يتم تحضير محاليل تحتوي على البيوغليتازون هيدروكلوريد بكمية 15mg وذلك بأخذ الحجم 0.83mL من المحلول الأساسي ويضاف الميتفورمين هيدروكلوريد إلى الدورق الأول بحجم 0.25mL والثاني 0.425mL للحصول على كمية 500mg وعلى كمية 850mg لكل من الدورقين ويكمل الحجم بمحلول الكهرليت، وبذلك نكون قد حضرنا محاليل عيارية مشابهة في محتواها للمستحضرات الصيدلانية .

4- طريقة العمل

Procedure

توضع المحاليل العيارية أو محاليل العينات الدوائية المحضرة في خلية التحليل، وتُقرَّر بغاز الأزوت النقي لمدة 5 دقائق لطرد الأكسجين المُنحل مع تشغيل الخلاط الآلي لضمان مزج المحلول وتجانسه بشكل جيد، ثم يتم المسح الكموني ضمن المجال المحدد لكل مادة دوائية، تؤخذ قيم التيارات من الجهاز بعد المعالجة وتُجرى الحسابات.

5- الحسابات:

Calculations

✓ حسبنا القيمة الوسطية Average Value لعدد تجارب n=5 من العلاقة:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

✓ والانحراف المعياري (SD) Standard Deviation من العلاقة:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

✓ والانحراف المعياري النسبي (RSD) Relative Standard Deviation من العلاقة:

$$RSD\% = \frac{SD}{x} \times 100$$

✓ وخطأ القياس التحليلي Analytical Standard Error من العلاقة:

$$\text{Analytical Standard Error} = \frac{SD}{\sqrt{n}}$$

✓ وحد الثقة Confidence Limit عند درجة الثقة 95% من العلاقة:

$$\text{Confidence Limit} = \bar{X} \pm \frac{t.SD}{\sqrt{n}}$$

حيث إن t عامل إحصائي يعتمد على عدد درجات الحرية ويساوي 2.776 عند n=5 وحد ثقة 95%. ولإنشاء الخطوط البيانية العيارية اعتمدنا طريقة أصغر المربعات وفقاً للعلاقة التالية:

$$y = mx + b$$

حيث إن m ميل المنحني و b نقطة تقاطع المنحني العياري مع المحور y ، ثم طبقنا طريقة أصغر المربعات لرسم المنحنيات العيارية حاسوبياً باستخدام برنامج Excel وحصلنا على قيم m و b و R² (معامل الارتباط) مباشرة من الحاسوب بعد إظهار معادلة المنحني العياري.

حسبنا حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ من العلاقتين التاليتين [116]:

$$LOD = 3.3 SD$$

$$LOQ = 10 SD$$

I-النتائج والمناقشة

Results and discussion

درسنا العوامل المؤثرة في المنحنيات الفولط أمبيرومترية لتحديد بعض المواد الدوائية المضادة للداء السكري وهي الغليبيريد والريبياغلينيد والبيوغلينيتازون هيدروكلوريد؛ حيث درسنا نوع الطريقة الفولط أمبيرومترية، pH المحلول، نوع وتركيز الكهرليت، سعة النبضة، زمن النبضة، نوع المسرى، اتجاه المسح، سرعة المسح والتردد.... الخ .

1-نتائج تحديد الغليبيريد:

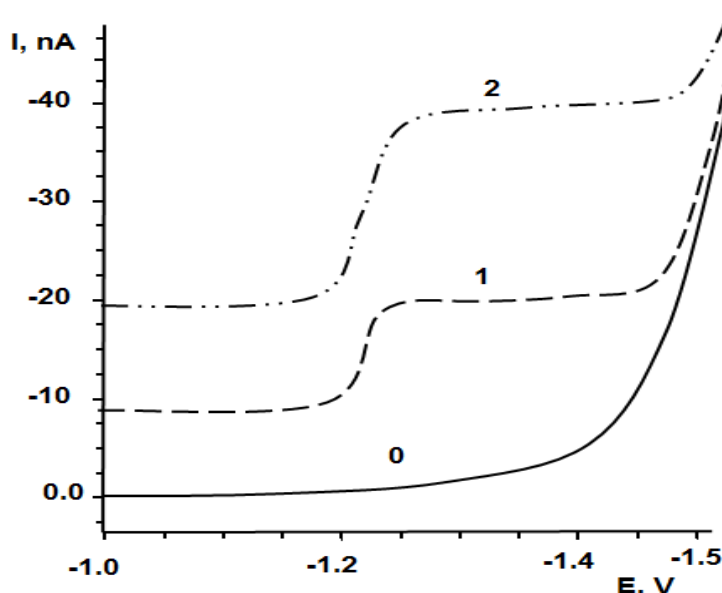
1-1- تأثير طرائق التحليل الفولط أمبيرومترية

The effect of voltammetric methods

درسنا تأثير طرائق التحليل الفولط أمبيرومترية الآتية لتحديد الغليبيريد على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE ومسرى الزئبق القطار DME ومسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE في وسط واقى خلي بتركيز 5mM عند pH 6.5 :

1-1-1- التحليل الفولط أمبيرومترية الكلاسيكي Calassic Voltammetric Analysis

رسمنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية الكلاسيكية الموضحة في الشكل رقم (35)، نلاحظ من الشكل أن الغليبيريد يُرجع عند كمون نصف الموجة $E_{1/2}$ تراوح بين 1200 mV و -1225 mV .



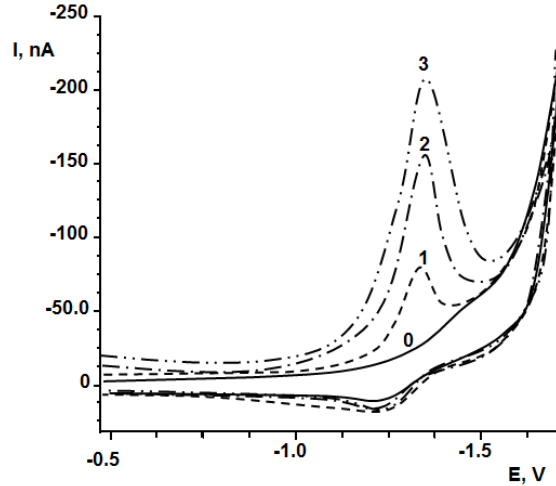
الشكل رقم (35)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية الكلاسيكية للغليبيريد في وسط واقى خلي عند pH 6.5 باستخدام مسرى HMDE للتركيز: 0 - 0.0 ؛ 1 - 5.928 ؛ 2 - 11.856 mg.L⁻¹ .

Cyclic Voltammetry Analysis

2-1-1- التحليل الفولط أمبيرومترى الحلقى:

تظهر المنحنيات الفولط أمبيرومترية الحلقية للغليبيريد قمة إرجاع واحدة لدى المسح الكموني نحو تزايد الكمون بالقيمة المطلقة ولا تظهر قمة في الاتجاه العكسي للمسح الكموني أي نحو تزايد الكمون في الاتجاه الموجب، مما يدل على أن العملية المسروية تخضع لنظام ثنائية لاعكوسة، الشكل رقم (36).

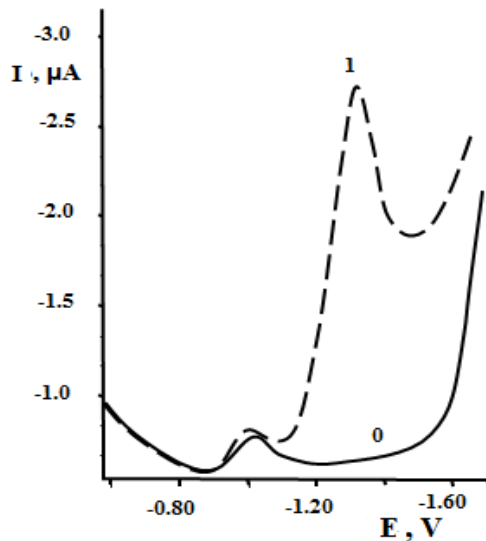


الشكل رقم (36)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية الحلقية للغليبيريد في وسط واقى خلى عند pH 6.5 باستخدام مسرى HMDE للتركيز: 0.0-0 ؛ 1.976 -1 ؛ 7.904 -2 ؛ 11.856 -3 . mg.L⁻¹

3-1-1- التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة: Square Wave Voltammetric (SqW)

درسنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية التربيعية للغليبيريد وذلك بتطبيق التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة، وحصلنا على قمة إرجاع عند كمون يتراوح بين -1260 إلى -1311 mV ، كما هو موضح في الشكل رقم (37).



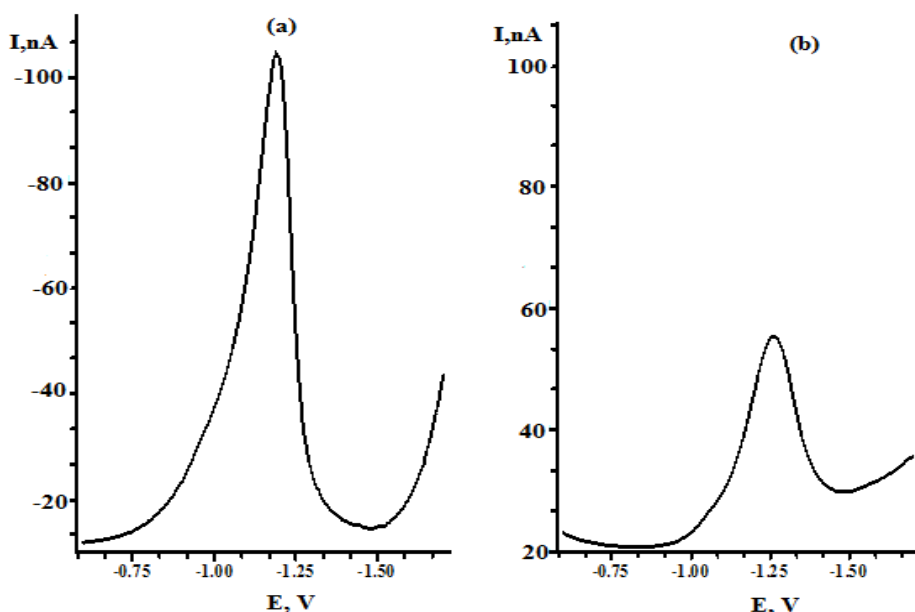
الشكل رقم (37)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية التربيعية للغليبيريد في وسط واقى خلى pH 6.5 باستخدام مسرى HMDE: 0.0-0 ؛ 1 - 11.856 . mg.L⁻¹

1-1-4- التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي:

Differential Pulse Voltammetric Analysis

استخدمنا طريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي DPV مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP ومع سعة سالبة وثابتة للنبضات DPVNP لتحديد الغليبيريد؛ فظهرت قمة عند كمون يتراوح ما بين -1195 إلى -1225 mV- تعبر عن ارجاع الغليبيريد، انظر الشكل رقم (38)، نلاحظ من هذا الشكل أن القمة الناتجة لدى تطبيق نبضة ذات سعة موجبة تكون أكثر حدة وتتأظراً بالمقارنة مع القمة الناتجة لدى تطبيق نبضة ذات سعة سالبة DPVNP، ولهذا تم إجراء الدراسة باختيار التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP.



الشكل رقم (38)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية للغليبيريد بتركيز 11.856 mg.L^{-1} في وسط واقى خلي عند pH 6.5 باستخدام مسرى HDME، (a) DPVPP، (b) DPVNP.

1-2- التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات:

Differential pulse Voltammetric with positive polarity DPPPP

The Effect of Solvent Sort

1-2-1- تأثير نوع المحل المستخدم:

جربنا العديد من المحلات العضوية وذلك لدراسة مدى انحلالية مادة الغليبيريد وتأثيرها بنوع المحل كهركيميائياً. ووجدنا أن المادة الفعالة منحلّة في الأوساط العضوية مثل الايتانول وثنائي ميثيل سلفوكسيد وأسيتو نتريل. ولاحظنا أن انحلالها في كل من الايتانول وثنائي ميثيل سلفوكسيد يعطي عكارة عند التراكيز المرتفعة للمادة الفعالة في الخلية بعد إجراء المسح الكموني باختلاف الكهرليئات المستخدمة لذلك اعتمدنا الأسيتو نتريل محلاً للمادة الفعالة المدروسة (الغليبيريد).

1-2-2- تأثير نوع وتركيز الكهليليت في تيار القمة المهبطية:

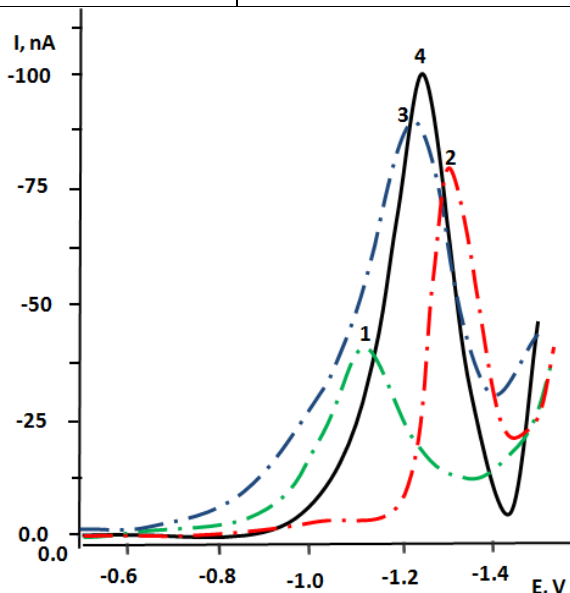
The Effect of Electrolyte Type and its Concentration on Peak Current

درسنا تأثير نوع الكهليليت في المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات للغليبيريد، فقد جربنا العديد من الكهليليات المستخدمة في التحليل الكهركيميائي نذكر منها: حمض كلور الماء، حمض الخل، حمض الفوسفور، حمض الكبريت، كلوريد الصوديوم، كلوريد الأمونيوم، خلات الأمونيوم، خلات الصوديوم، فوسفات أحادية الصوديوم، فوسفات ثنائية الصوديوم، هيدروكسيد الصوديوم؛ حيث أن جميع هذه الكهليليات محضرة بتركيز 0.1 M وأجري المسح الكموني لعدة تراكيز من المادة الفعالة داخل الخلية، فوجدنا أن الغليبيريد يشكل عكارة في الخلية في الوسط الحمضي بعد إجراء المسح الكموني، أما في الأوساط القلوية والقلوية الضعيفة، فنحصل على قمة متناظرة، إلا أن الواقي الخلي كان الأفضل من حيث حدة القمة الفولط أمبيرومترية وتناظرها ومعامل النفوذ وتأثر كمون هذه القمة (E_p) بتغيرات نوع الكهليليت، انظر الشكل رقم (39) والجدول رقم (3)؛ وبناء عليه اخترنا الواقي الخلي في دراستنا.

الجدول رقم (3)

تأثير نوع الكهليليت في الخواص الكهركيميائية للغليبيريد

المشاهدة المرئية في الخلية	نتيجة المسح الكموني	نوع الكهليليت
تتشكل عكارة	لا تظهر قمة	HCl ، CH ₃ COOH ، H ₃ PO ₄ ، HNO ₃ ، H ₂ SO ₄
تتشكل عكارة	تظهر قمة	H ₂ O ، NaCl ، KH ₂ PO ₄ ، NaH ₂ PO ₄
لا تتشكل عكارة	تظهر قمة	CH ₃ COONH ₄ ، CH ₃ COONa، Na ₂ HPO ₄ ، NaOH



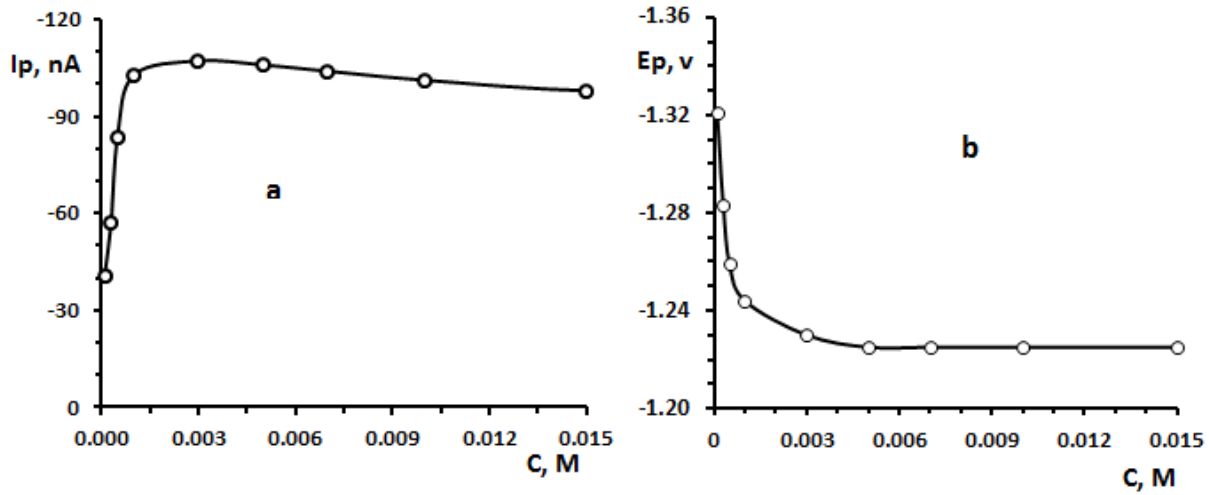
الشكل رقم (39)

المنحني الفولط أمبيرومترية للغليبيريد بتركيز 11.856 mg.L⁻¹ لدى استخدام الكهليليات الآتية:

(1) CH₃COONH₄ ، (2) NaOH ، (3) Na₂HPO₄ ، (4) CH₃COONa.

درسنا تأثير تركيز الكهرليت (الواقي الخلي) في المنحنيات الفولط أمبيرومترية للجليبوريد؛ حيث حضرنا محلولاً منه بتركيز أساسي 0.1M ومنه حضرنا التراكيز المدروسة. تم العمل في حجم ثابت للخلية مقداره 25mL وتمت الدراسة عند تركيز ثابت للمادة الفعالة في الخلية مقداره 11.856 mg.L^{-1} ، كما هو موضح في الشكل رقم (40، a). نلاحظ من هذا الشكل ان تيار القمة I_p يزداد بازدياد تركيز الكهرليت حتى 1mM، ثم يصبح شبه ثابت بعدها، وكانت القيمة 5mM هي المفضلة.

درسنا تأثير تركيز الواقي الخلي في كمن القمة E_p للجليبوريد، ووجدنا أن E_p يتناقص بازدياد تركيز الكهرليت حتى التركيز 4mM، ثم يصبح E_p شبه ثابت بعدها، الشكل رقم (40، b)، وكانت القيمة 5mM هي المفضلة.



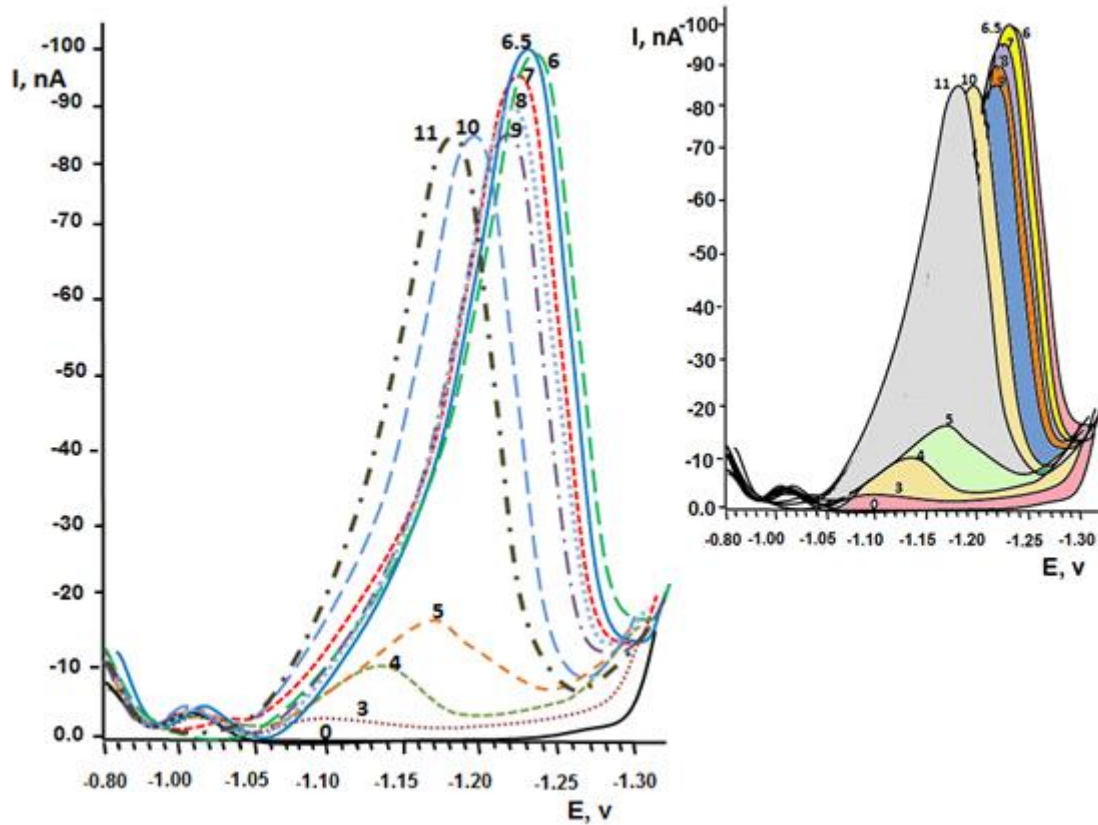
الشكل رقم (40)

تأثير تركيز الكهرليت في I_p - (a) و E_p - (b) لإرجاع الجليبوريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقي خلي عند pH 6.5 باستخدام مسرى DME، تركيز الجليبوريد 11.856 mg.L^{-1} .

1-2-3- تأثير قيمة pH الوسط في تيار القمة المهبطية

The Effect of pH on Cathodic Peak Current

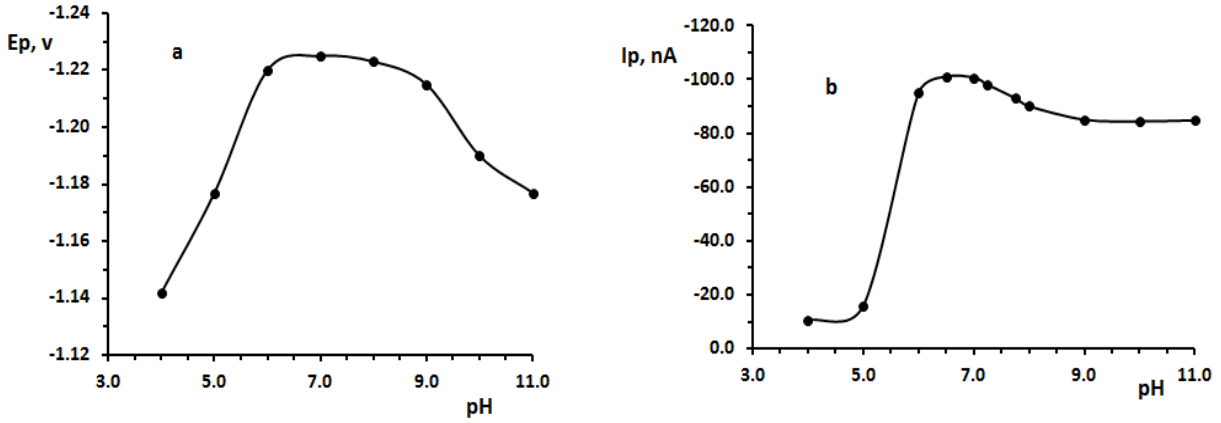
درسنا تأثير قيمة pH الوسط في كل من كمن القمة (E_p) وتيار القمة (I_p) لإرجاع الجليبوريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة DPVPP على مسرى الزئبق القطار DME في محلول واقي خلي ضمن مجال pH من 1.0 إلى 11.0، ثم رسمنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية في المجال الكموني -0.6V إلى -1.7V ، ونعرض هذه المنحنيات في الشكل رقم (41).



الشكل رقم (41)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات لإرجاع الغليبيريد بتركيز 11.856 mg.L^{-1} في وسط واقي خلي تركيزه 5 mM باستخدام مسرى DME لقيم pH المبينة في الشكل.

لاحظنا من المنحنيات أن كمون القمة -1.142 V من أجل $\text{pH } 4.0$ ، وتكون قمة الإرجاع متداخلة بشكل جزئي مع قمة الكهرليت عند قيم $\text{pH } 4-5$ ، ثم يزداد كمون قمة الإرجاع بالقيمة المطلقة بازدياد قيمة pH الوسط، ونلاحظ أن هناك شبه ثبات لكمون القمة بين قيم $6 - 8 \text{ pH}$ ومن بعدها يبدأ كمون القمة بالتناقص ليصل إلى قيمة -1.177 V عند $\text{pH } 11$ ، أما تيار القمة فإنه يزداد بازدياد pH المحلول حتى القيمة 7.0 ، ويصبح شبه ثابت عند pH تتراوح ما بين $6.5 - 7.5$ ليتناقص بعدها بشكل طفيف وأن قيمة pH الوسط الأمثل كانت عند 6.5 (من حيث تيار القمة وتناظر القمة وثبات كمونها وعدم تداخلها مع قمة الكهرليت)، انظر الشكل (42).



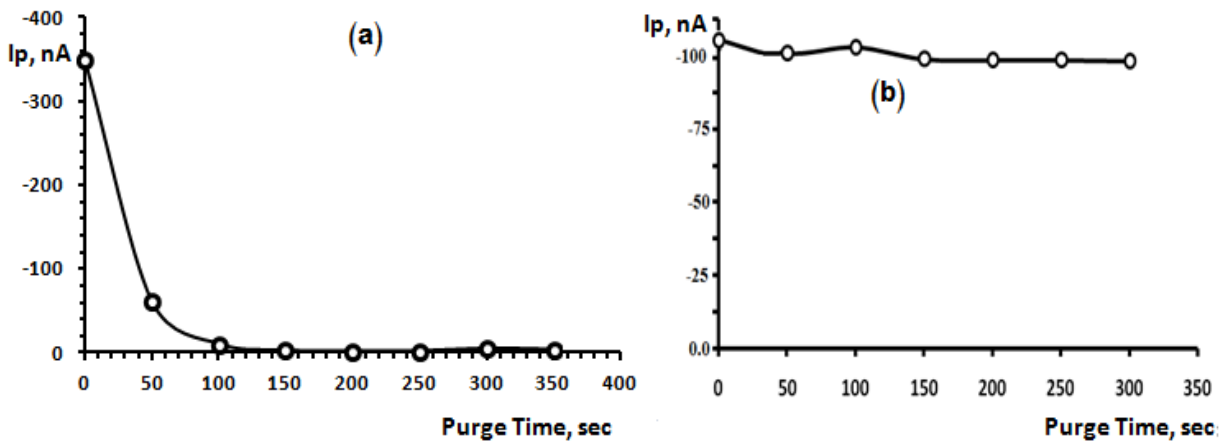
الشكل رقم (42)

تأثير pH المحلول في (a) - E_p و (b) - I_p لإرجاع الغليبيريد بتركيز 11.856 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى خلى تركيزه 5 mM .

The Effect of Purge Time (Purge T.)

1-2-4- تأثير زمن القرقرة:

تمت دراسة تأثير زمن القرقرة على كل من الكهرليت لوحده ثم للكهرليت مع المادة الفعالة داخل الخلية بتركيز 11.856 mg.L^{-1} عند قيمة pH 6.5؛ حيث لاحظنا أن تيار القمة للكهرليت لوحده يتناقص مع زيادة زمن القرقرة ليثبت بعد زمن 100 sec ويصبح أقرب للصفر، أما بالنسبة لتيار القمة للغليبيريد لم يتغير كثيراً وإنما بقي شبه ثابت تقريباً، مما يدل على ضرورة طرد الأوكسجين المنحل في الكهرليت أولاً وقبل المسح الكموني للمادة الفعالة، انظر الشكل رقم (43).



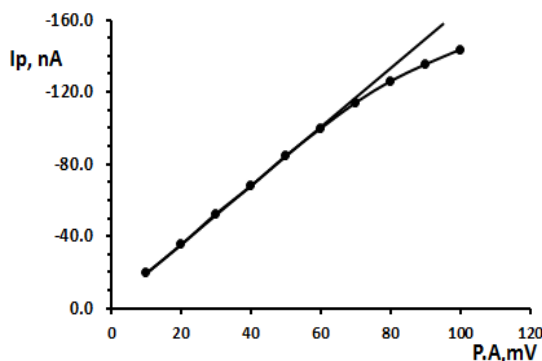
الشكل رقم (43)

تأثير زمن القرقرة في I_p ، (a) - للكهرليت و (b) - للغليبيريد بتركيز 11.856 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي في وسط واقى خلى عند pH 6.5 باستخدام مسرى DME.

1-2-5-دراسة تأثير سعة النبضة:

The Effect of Pulse Amplitude (P.A.)

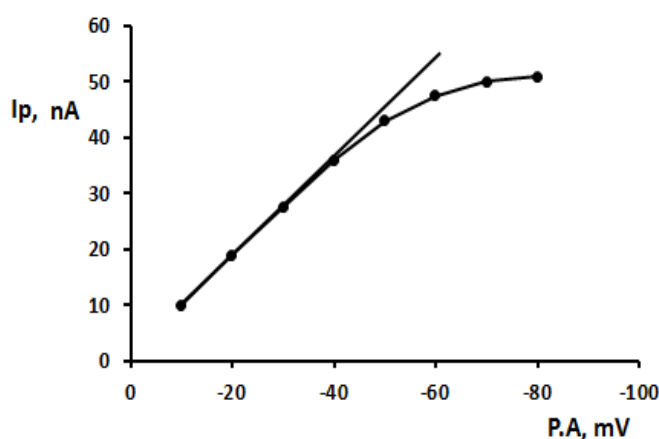
درسنا تأثير سعة النبضة الموجبة والسالبة في قيمة I_p لإرجاع الغليوبريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي باستخدام مسرى DME في وسط واقى خلى تركيزه 5mM عند pH 6.5، زمن النبضة 0.04 sec، سرعة مسح الكمون 6mV/s، ووجدنا أن تيار القمة I_p يزداد طردياً خطياً بازدياد سعة النبضة الموجبة حتى القيمة 70 mV ومن ثم ينحرف عن الخطية، الشكل رقم(44)، واخترنا قيمة مفضلة لسعة النبضة تساوي 60 mV.



الشكل رقم(44)

تأثير سعة النبضة الموجبة في تيار القمة I_p للغليوبريد تركيزه 11.856 mg.L^{-1} في وسط واقى خلى بتركيز 5mM عند pH 6.5 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME.

وأن تيار القمة I_p يزداد طردياً خطياً بازدياد سعة النبضة السالبة حتى القيمة 40 mV، ومن ثم ينحرف عن الخطية، واخترنا قيمة مفضلة لسعة النبضة تساوي 30 mV إلا أن السعة الموجبة أعطت قمة أكثر حدةً وتناظراً وحساسيةً بالنسبة لتيار القمة، انظر الشكل رقم(45).



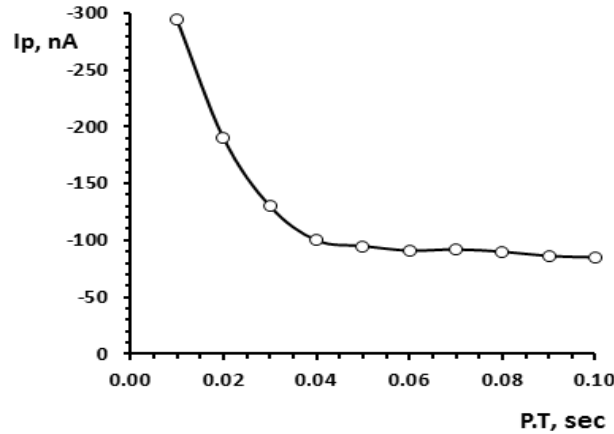
الشكل رقم(45)

تأثير سعة النبضة السالبة في تيار القمة I_p للغليوبريد تركيزه 11.856 mg.L^{-1} في وسط واقى خلى بتركيز 5mM عند pH 6.5 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME.

The Effect of Positive Pulse time

1-2-6- دراسة تأثير زمن النبضة الموجبة:

درسنا تأثير زمن النبضة في قيمة I_p لإرجاع الغليبيريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 60mV على مسرى DME في وسط وافي خلي عند $\text{pH } 6.5$. ووجدنا أن I_p يتناقص بازدياد زمن النبضة حتى الزمن 0.03 sec ، ثم يصبح شبه ثابت عند زمن 0.04 sec ، واخترنا قيمة مفضلة لزمن النبضة تساوي 0.04 sec والتي توافق بداية ثبات تيار القمة، انظر الشكل رقم (46) .



الشكل رقم (46)

تأثير زمن النبضة الموجبة في I_p للغليبيريد بتركيز 11.856 mg.L^{-1} في وسط وافي خلي 5mM عند $\text{pH } 6.5$ باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME .

The Effect of Deposition Potential (D.P.)

1-2-7- دراسة كمون التراكم:

درسنا تأثير كمون الترسيب في تيار وكمون القمة لإرجاع الغليبيريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي DPV مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 60mV على مسرى HMDE في وسط وافي خلي عند $\text{pH}=6.5$. ومن أجل تركيز ثابت للمادة الفعالة في الخلية مقداره 11.856mg.L^{-1} ، ولاحظنا أن كلاً من تيار وكمون القمة بقي شبه ثابت أثناء تغير كمون الترسيب إلا أن القمة تصبح أكثر تناظراً عند كمون ترسيب مقداره -1.2V لذلك اعتمدنا هذا الكمون كقيمة مثلى للدراسة.

The Effect of Deposition Time (D.T.)

1-2-8- دراسة تأثير زمن التراكم:

درسنا تأثير زمن الترسيب في تيار وكمون القمة لإرجاع الغليبيريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي DPV مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 60mV على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE في وسط وافي خلي عند $\text{pH}=6.5$ ، باستخدام تركيز ثابت للغليبيريد في الخلية مقداره 11.856 mg.L^{-1} عند كمون ترسيب مقداره -1.2V ، ولاحظنا أن تيار القمة للغليبيريد يزداد من الزمن 30 sec وحتى الزمن 60 sec ليصبح شبه ثابت بعدها، وكذلك بالنسبة لكمون القمة للمادة الفعالة فإنه يصبح شبه ثابت من القيمة 60 sec وحتى قيمة 100sec ، لذلك تم اختيار زمن ترسيب 60sec كقيمة مفضلة من حيث ارتفاع القمة وثبات كمونها.

1-2-9-دراسة تأثير التردد:

The Effect of frequency (f)

درسنا تأثير التردد في تيار وكمون القمة لإرجاع الغليبيريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة SqW على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE باستخدام تركيز ثابت للغليبيريد في الخلية مقداره 11.856 mg.L^{-1} وكمون ترسيب مقداره -1.2V ، ولاحظنا أن تيار القمة للمادة الفعالة يزداد من التردد 30Hz حتى يبلغ قيمة عظمى عند 240Hz ليتناقص بعدها حتى قيمة تردد 420Hz وتصبح القمة بعد هذه القيمة غير متناظرة ويحصل تشويش نتيجة تزايد سرعة المسح مع زيادة التردد وفقاً للعلاقة: التردد (Hz) = سرعة المسح الكموني (V/sec) / الخطوة الكمونية (sec) أما كمون القمة فقد بقي ثابتاً ضمن مجال للتردد بين 180Hz و 300Hz ، لذلك تم اختيار التردد 60Hz كقيمة مفضلة؛ حيث كانت القمة الناتجة أكثر حدةً وتناظراً وحافظ كمون القمة على قيمة ثابتة لدى تكرارية المسح الكموني.

اعتماداً على ما سبق فقد حددنا الشروط المثلى للتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي للغليبيريد على مسرى الزئبق، كما هو مبين في الجدول رقم (4).

الجدول رقم (4)

الشروط المثلى للتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي للغليبيريد على مسرى الزئبق.

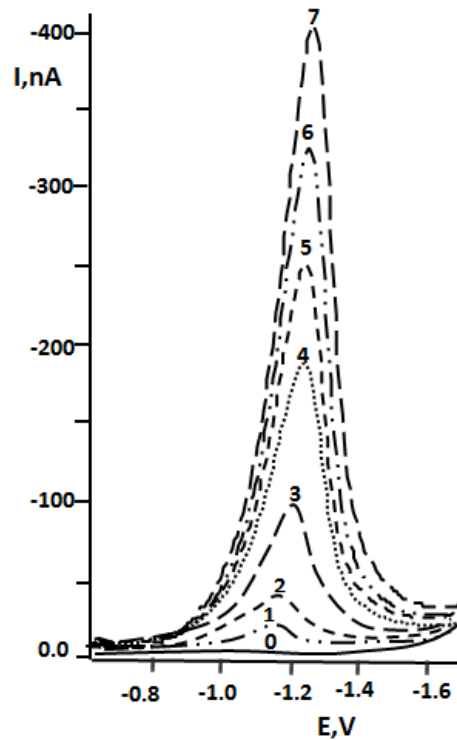
قيم العمل Operating modes			البيانات Parameters
مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE	مسرى قطرة الزئبق السائنة SMDE	مسرى الزئبق القطار DME	المسرى الكاشف Indicator Electrode
SqW، DC، CV،DPV	DPV	DPV	الطرائق التحليلية Analytical Methods
واقى خلي تركيزه 5mM			الكهرليت المناسب Supporting Electrolyte (buffer)
6.5			درجة الحموضة pH
أسيتو نتريل			المحل Solvent
60 mV			سعة النبضة Pulse Amplitude
0.04 sec			زمن النبضة Pulse Time
300 sec			زمن القرقرة Purge Time
-1.2 V			كمون الترسيب Deposition Potential
60 sec			زمن الترسيب Deposition Time
0.006 V			الخطوة الكمونية Voltage Step
0.3sec	1sec	1 sec	زمن الخطوة الكمونية Voltage Step Time
DC: 6 mV/ sec DPV: 20 mV/sec CV: 1000 mV/sec	6 mV/sec	6 mV/sec	سرعة مسح Scan Rate
SqW: 60 Hz	لا يوجد		التردد Frequency

3-1- دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات

باستخدام مسرى الزئبق القطار DME

Differential Pulse Voltamograms with Positive Polarity using DME

درسنا التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات (DPVPP) على مسرى DME لتحديد الغليبيريد بتراكيز مختلفة وفقاً للشروط المذكورة سابقاً للطريقة، ورسماً المنحنيات الفولط أمبيرومترية عند كمون البداية $-0.6V$ وكمون النهاية $-1.7 V$ ، عند درجة حرارة الغرفة، وحصلنا على قمة تدل على إرجاع الغليبيريد كهركيميائياً في مجال لكمون القمة تراوح ما بين $-1195 mV$ إلى $-1225 mV$ ، ونبين ذلك في الشكل رقم (47).



الشكل رقم (47)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات للغليبيريد باستخدام مسرى DME في وسط واقى خلي تركيزه $5mM$ عند $pH 6.5$ للتركيز: $0 - 0.0$ ؛ $1 - 0.988$ ؛ $2 - 3.952$ ؛ $3 - 11.856$ ؛ $4 - 19.76$ ؛ $5 - 27.664$ ؛ $6 - 35.568$ ؛ $7 - 43.472 mg.L^{-1}$.

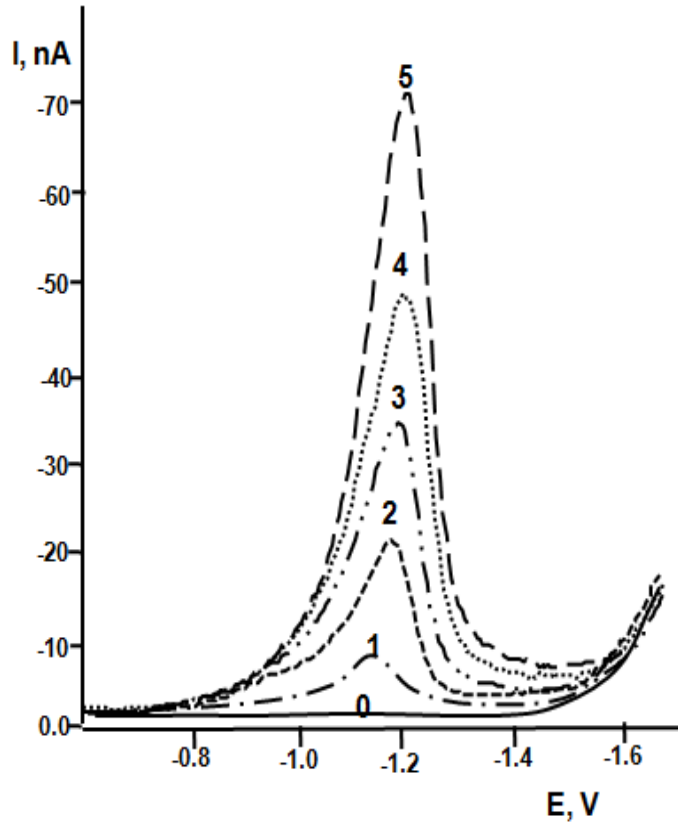
نلاحظ من هذا الشكل أن كمون قمة الإرجاع E_p تغير بشكل طفيف مع ازدياد التركيز للمادة الدوائية؛ فعند التركيز $3.952 mg.L^{-1}$ كان $E_p = -1195 mV$ وعند التركيز $43.472 mg.L^{-1}$ ازداد كمون القمة E_p بالقيمة السالبة وأصبح يساوي $E_p = -1225 mV$.

1-4-دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات

باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE

Differential Pulse Voltamograms with Positive Polarity using SMDE

درسنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة نبضة موجبة 60mV للغليوريد في المجال من 0.6 V - وحتى 1.7 V -، باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE في وسط واقى خلي 5mM عند pH=6.5 . وجدنا أن المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية باستخدام تراكيز ما بين $1.976 - 39.52 \text{ mg.L}^{-1}$ ؛ كانت أقل جودة وحساسية مما هي عليه الحال عند استخدام مسرى DME؛ حيث لاحظنا ظهور قمة تدل على إرجاع الغليوريد كهركيميائياً عند كمن قمة تراوح ما بين 1195mV - إلى 1225mV - ، لكن تيار القمة كان أقل، وبالتالي فان معامل النفوذ k أقل مما هو عليه عند استخدام المسرى DME، انظر الشكل رقم (48).



الشكل رقم (48)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات للغليوريد باستخدام مسرى

SMDE في وسط واقى خلي تركيزه 5mM عند pH=6.5 للتركيز:

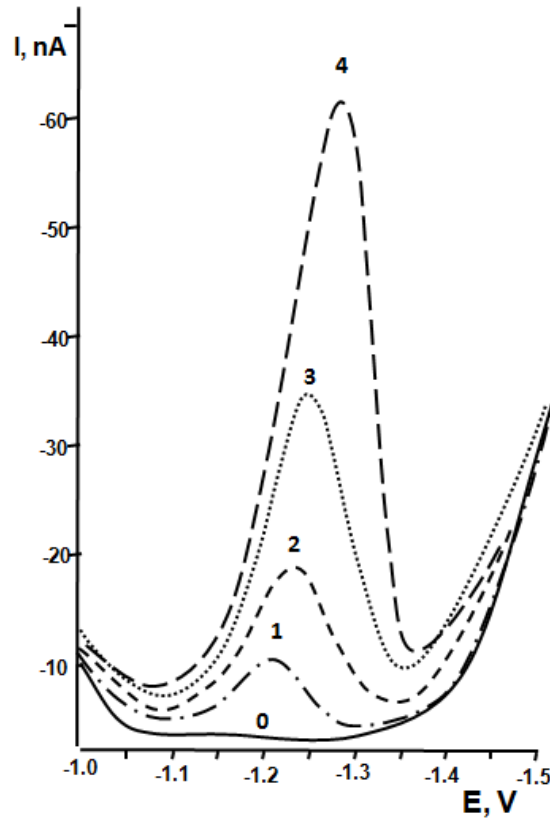
0.0 - 1.976 ؛ 2 - 5.928 ؛ 3 - 9.88 ؛ 4 - 13.832 ؛ 5 - 23.712 mg.L^{-1} .

1-5-دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة للنبضات

باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE

Differential Pulse Voltamograms with Positive Polarity using HMDE

درسنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية عند سعة نبضة 60mV للغليبيريد في المجال من -1.0 V إلى -1.5 V ، باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE في وسط واقى خلي 5mM عند pH=6.5 وكمون ادمصاص -1.2V وزمن ادمصاص 60 sec ، ووجدنا أن المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية باستخدام تراكيز ما بين $0.988 - 19.76 \mu\text{g.mL}^{-1}$ كانت أقل جودة وحساسية مما هي عليه الحال عند استخدام مسرى DME ، ونلاحظ أن كمون القمة E_p تراوح ما بين -1.200 V و -1.275 V ، انظر الشكل رقم (49) .



الشكل رقم (49)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات للغليبيريد باستخدام مسرى

HMDE في وسط واقى خلي تركيزه 5mM عند pH=6.5 للتراكيز:

0-0.988 ؛ 1-1.976 ؛ 2-5.928 ؛ 3-11.856 ؛ 4-19.76 mg.L^{-1} .

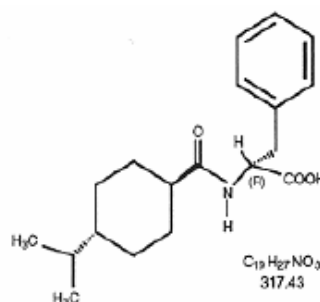
1-6- تفسير العملية المسروية لإرجاع للغليبيريد على مسرى الزئبق:

The redox mechnism of glyburide on mercury electrode

إن العملية المسروية للغليبيريد الحاصلة على مسرى الزئبق هي عملية إرجاع لزمري الكربونيل، ولقد تم تفسير هذه العملية المسروية اعتماداً على مقارنة الغليبيريد مع الغليمبيريد Gliempiride ذو الوزن الجزيئي $490.62\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ والذي يحتوي على ثلاثة زمر كربونيل في صيغته المنشورة، الشكل رقم (9)، والنايغليينيد ذو الوزن الجزيئي $317.43\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ والذي يحتوي على زمرة كربونيل واحدة في صيغته المنشورة، الشكل رقم (50)؛ حيث تم دراسة كل منهما في نفس الشروط المثلى المطبقة لدى تحديد الغليبيريد وبتركيز متساوي داخل الخلية $24\mu\text{M}$ ، وجدنا أن مادة النايغليينيد لها قمة إرجاع عند نفس كمون القمة لإرجاع الغليبيريد تقريباً، وكذلك فإن تيار القمة الناتج عن إرجاع مادة النايغليينيد يساوي نصف قيمة تيار القمة الناتج عن إرجاع الغليبيريد في نفس الشروط المثلى، مما يدل على أن زمرة الكربونيل في النايغليينيد ترجع (عدد الإلكترونات 2) مقارنة مع زمري الكربونيل في الغليبيريد (عدد الإلكترونات 4)، أما لدى المسح الكموني للغليمبيريد والذي يحتوي على ثلاثة زمر كربونيل فإنه أعطى قمة إرجاع عند نفس كمون القمة للغليبيريد إلا أن تيار القمة للأول كان يساوي مرة ونصف من تيار القمة للثاني مما يدل على إرجاع زمر الكربونيل الثلاث مرة واحدة في الغليمبيريد وبالتالي عدد الإلكترونات فيه يساوي 6 إلكترونات، الشكل رقم (51).

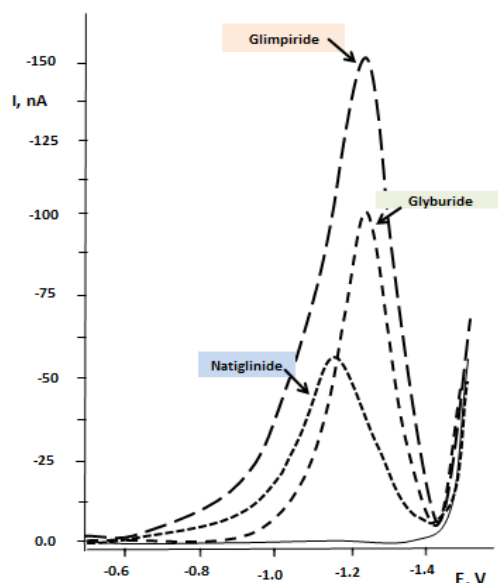
الشكل رقم (50)

الصيغة المنشورة للنايغليينيد Nateglinide

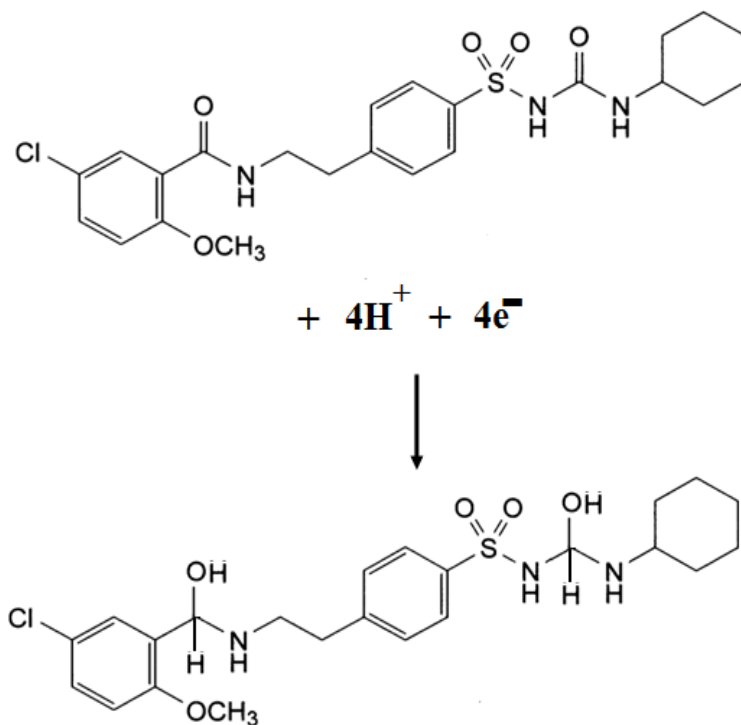


الشكل رقم (51)

المنحنيات الفولط أمبيرومتريية للمركبات غليبيريد ونايغليينيد وغلِيمبِيرِيد في وسط واقِي خَلِي عند pH 6.5 لتركيِز لكل منهم $24\mu\text{M}$.



ونعرض في الشكل رقم (52) المعادلة المقترحة لإرجاع الغليبيريد على مسرى الزئبق بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي.



الشكل رقم(52)

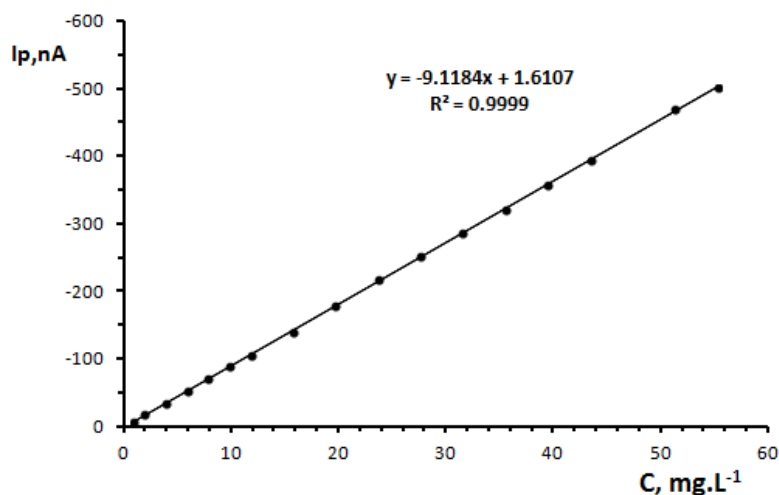
التفاعل الكهروكيميائي المقترح للغليبيريد على مسرى الزئبق

1-7-7- النتائج التحليلية والمنحنيات العيارية للغليبيريد:

Analytical Results and Calibration Curvers for the Determination of Glyburide

1-7-1- باستخدام مسرى DME

رسمنا المنحنيات العيارية لتحديد الغليبيريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 60mV على مسرى الزئبق القطار DME في وسط واقى خلي عند pH=6.5 وبتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (4) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية الموضحة في الشكل رقم (47)، وجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية في مجال للتراكيز من 0.494 mg.L^{-1} إلى 55.328 mg.L^{-1} وهو ما يعادل من $1 \text{ } \mu\text{M}$ إلى $112 \text{ } \mu\text{M}$ ، انظر الشكل رقم(53).



الشكل رقم (53)

المنحني العياري لتحديد الغليبيريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى خلى عند pH=6.5 على مسرى DME

إن معادلة المنحني العياري تعطى كما يلي:

$$I_p = -9.1184C + 1.6107$$

$$R^2 = 0.9999$$

حيث أن I_p : تيار القمة بـ nA ، و C تركيز الغليبيريد بـ $mg.L^{-1}$ ($\mu g.mL^{-1}$).

لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتركيز :

$$0.494-55.328 \text{ mg.L}^{-1}$$

(وتعطى معادلة المنحني العياري عندما يكون التركيز بـ nM كما يلي: $I_p = -0.0045C + 1.6107$)

أما حد الكشف (LOD) Limit of detection وحد التحديد الكمي (LOQ) limit of quantification :

$$LOD = 0.194 \mu M = 0.096 \text{ mg.L}^{-1}$$

$$LOQ = 0.645 \mu M = 0.318 \text{ mg.L}^{-1}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (5) نتائج تحديد محاليل عيارية للغليبيريد ضمن المجال الخطي المحدد في وسط واقى خلى عند pH=6.5 بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى DME .

الجدول رقم (5)

نتائج تحديد الغليبيريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات
60 mV في وسط واقى خلى عند pH=6.5 على المسرى DME.

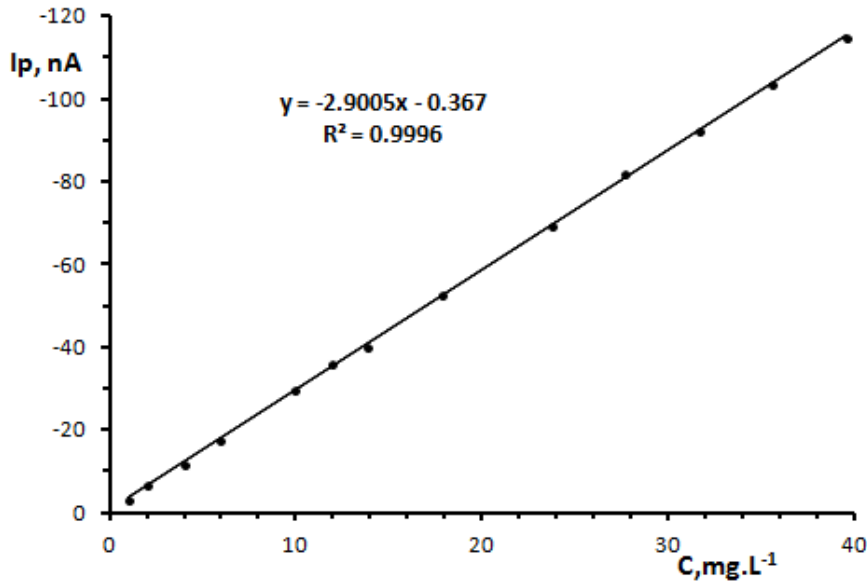
RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ mg.L ⁻¹	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ، mg.L ⁻¹	الانحراف المعياري SD، mg.L ⁻¹	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ، C، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ، C، μM
5.2	0.0345±0.534	0.0124	0.0278	0.534	0.494	1.00
4.7	0.0580±0.993	0.0209	0.0467	0.993	0.988	2.00
4.5	0.1115±1.996	0.0402	0.0898	1.996	1.976	4.00
4.3	0.2096±3.927	0.0755	0.1689	3.927	3.952	8.00
4.0	0.2944±5.928	0.1060	0.2371	5.928	5.928	12.00
3.7	0.3619±7.879	0.1304	0.2915	7.879	7.904	16.00
3.3	0.4062±9.915	0.1463	0.3272	9.915	9.880	20.00
3.1	0.4565±11.861	0.1644	0.3677	11.861	11.856	24.00
3.0	0.5888±15.808	0.2121	0.4742	15.808	15.808	32.00
3.0	0.7531±20.219	0.2713	0.6066	20.219	19.760	40.00
2.9	0.8528±23.687	0.3072	0.6869	23.687	23.712	48.00
2.8	0.9636±27.723	0.3471	0.7762	27.723	27.664	56.00
2.6	1.0215±31.647	0.3680	0.8228	31.647	31.616	64.00
2.4	1.1775±39.520	0.4242	0.9485	39.520	39.520	80.00
2.3	1.4656±51.327	0.5280	1.1805	51.327	51.376	104.0
2.2	1.5084±55.229	0.5434	1.2150	55.229	55.328	112.0

* n=5، t=2.776

إن نتائج تحديد الغليبيريد المبينة في الجدول رقم(5) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح
الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% بين 2.2% و 5.2% للتركيز 0.494 و 55.328 mg.L⁻¹
على التسلسل.

2-7-1- باستخدام مسرى SMDE

رسمنا المنحنيات العيارية لتحديد الغليبيريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 60mV على مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE في وسط واقى خلي عند pH=6.5 وبتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (4) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية الموضحة في الشكل رقم (48). ووجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية في مجال للتراكيز من 0.988 mg.L^{-1} إلى 39.520 mg.L^{-1} وهو ما يعادل من $2 \mu\text{M}$ إلى $80 \mu\text{M}$ ، انظر الشكل رقم(54).



الشكل رقم (54)

المنحني العياري لتحديد الغليبيريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى خلي عند pH=6.5 على مسرى SMDE.

إن معادلة المنحني العياري تعطى كما يلي:

$$I_p = -2.9005C + 0.367$$
$$R^2 = 0.9996$$

حيث أن I_p : تيار القمة بـ nA ، و C تركيز الغليبيريد بـ mg.L^{-1} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$).
لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتراكيز :
 $0.998\text{--}39.520 \text{ mg.L}^{-1}$

(وتعطى معادلة المنحني العياري عندما يكون التركيز nM كما يلي: $I_p = -0.0014C - 0.367$)

وتم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ فحصلنا على النتائج التالية:

$$\text{LOD} = 0.402 \mu\text{M} = 0.198 \text{ mg.L}^{-1}$$

$$\text{LOQ} = 1.340 \mu\text{M} = 0.662 \text{ mg.L}^{-1}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (6) نتائج تحديد محاليل عيارية للغليبيريد ضمن المجال الخطي المحدد في وسط واقى خلى عند pH=6.5 بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى SMDE.

الجدول رقم (6)

نتائج تحديد الغليبيريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 60 mV في وسط واقى خلى عند pH=6.5 على المسرى SMDE.

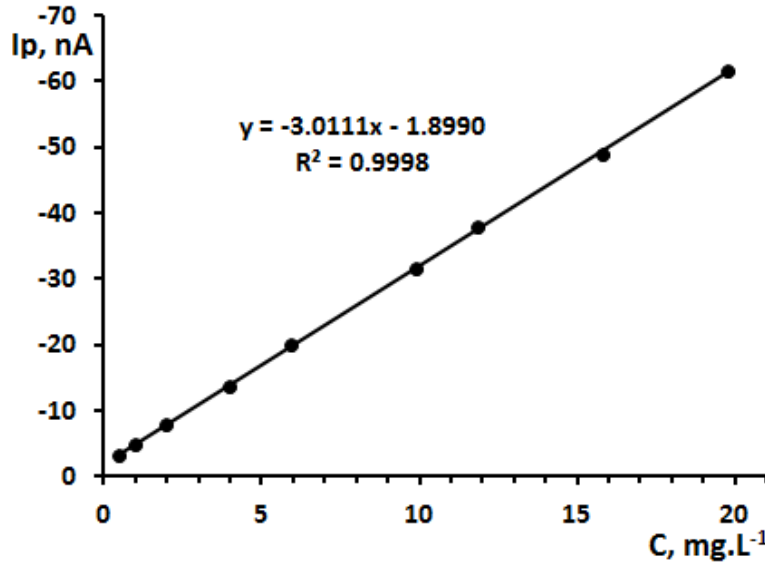
RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ mg.L ⁻¹	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ، mg.L ⁻¹	الانحراف المعياري SD، mg.L ⁻¹	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ C، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ، C، μM
4.4	0.0566±1.037	0.0204	0.0456	1.037	0.988	2.00
4.2	0.1026±1.967	0.0369	0.0826	1.967	1.976	4.00
3.9	0.1926±3.977	0.0694	0.1551	3.977	3.952	8.00
3.6	0.2672±5.977	0.0962	0.2152	5.977	5.928	12.00
3.5	0.4413±10.157	0.1590	0.3555	10.157	9.880	20.00
3.4	0.5034±11.925	0.1813	0.4055	11.925	11.856	24.00
3.1	0.6065±15.759	0.2185	0.4885	15.759	15.808	32.00
2.8	0.6847±19.696	0.2466	0.5515	19.696	19.760	40.00
2.6	0.7691±23.826	0.2770	0.6195	23.826	23.712	48.00
2.3	0.7944±27.822	0.2862	0.6399	27.822	27.664	56.00
2.1	0.8242±31.616	0.2969	0.6639	31.616	31.616	64.00
1.8	0.8954±40.068	0.3225	0.7212	40.068	39.520	80.00

* n=5، t=2.776

إن نتائج تحديد الغليبيريد المبينة في الجدول رقم(6) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% بين 1.8% و 4.4% للتراكيز 39.52 mg.L⁻¹ و 0.988 mg.L⁻¹ على التسلسل.

1-7-3- باستخدام مسرى HMDE:

رسمنا المنحنيات العيارية لتحديد الغليبيريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 60mV على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE في وسط واقى خلى عند pH=6.5 وبتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (4) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية الموضحة في الشكل رقم (49). ووجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية في مجال للتركيز من 0.494 mg.L^{-1} إلى 19.76 mg.L^{-1} وهو ما يعادل من $1 \text{ } \mu\text{M}$ إلى $40 \text{ } \mu\text{M}$ ، انظر الشكل رقم(55).



الشكل رقم (55)

المنحني العياري لتحديد الغليبيريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى خلى عند pH=6.5 على مسرى HMDE.

إن معادلة المنحني العياري تعطى كما يلي:

$$I_p = -3.0111C - 1.8990$$
$$R^2 = 0.9998$$

حيث أن I_p : تيار القمة بـ nA ، و C تركيز الغليبيريد بـ mg.L^{-1} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$).
لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتركيز :

$$0.494-19.76 \text{ mg.L}^{-1}$$

(وتعطى معادلة المنحني العياري عندما يكون التركيز nM كما يلي: $I_p = -0.0015C - 1.899$)

وتم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ فحصلنا على النتائج التالية:

$$\text{LOD} = 0.262 \text{ } \mu\text{M} = 0.129 \text{ mg.L}^{-1}$$

$$\text{LOQ} = 0.871 \text{ } \mu\text{M} = 0.430 \text{ mg.L}^{-1}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (7) نتائج تحديد محاليل عيارية للغليبيريد ضمن المجال الخطي المحدد في وسط واقى خلى عند pH=6.5 بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى HMDE.

الجدول رقم (7)

نتائج تحديد الغليبيريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 60 mV في وسط واقى خلى عند pH=6.5 على المسرى HMDE.

RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ mg.L ⁻¹	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ mg.L ⁻¹ ،	الانحراف المعياري mg.L ⁻¹ ،SD	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ mg.L ⁻¹ ،C	التركيز المأخوذ، C, μM
4.8	0.0309±0.5187	0.0111	0.0249	0.519	0.494	1.00
4.5	0.0569±1.0176	0.0205	0.0458	1.017	0.988	2.00
3.6	0.0905±2.0254	0.0326	0.0729	2.025	1.976	4.00
3.3	0.1615±3.942	0.0582	0.1301	3.942	3.952	8.00
3.0	0.2208±5.928	0.0795	0.1778	5.928	5.928	12.00
2.5	0.3054±9.840	0.1100	0.2460	9.840	9.880	20.00
2.3	0.3391±11.876	0.1222	0.2731	11.876	11.856	24.00
2.1	0.4111±15.769	0.1481	0.3311	15.769	15.808	32.00
2.0	0.4899±19.730	0.1765	0.3946	19.730	19.760	40.00

t=2.776 ، * n=5

إن نتائج تحديد الغليبيريد المبينة في الجدول رقم (7) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% بين 2.0% و 4.8% للتراكيز 19.760 mg.L⁻¹ و 0.494 mg.L⁻¹ على التسلسل.

مما سبق نجد أن أصغر تركيز تم تحديده للغليبيريد على مسرى DME و HMDE هو 1.00μM بانحراف عياري نسبي مئوي 5.2% و 4.8% على التسلسل، و 2.00μM على مسرى SMDE بانحراف عياري نسبي مئوي 4.4%.

إن النتائج السابقة تبين إمكانية تحديد الغليبيريد بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى خلى عند pH=6.5 باستخدام مسرى الزئبق القطار DME، أو مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE، أو مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE؛ حيث لاحظنا أن شكل القمة الفولط أمبيرومترية تأثر قليلاً بنموذج المسرى المستعمل؛ حيث كانت القمم أكثر حدةً وتناظراً على مسرى DME يليه مسرى SMDE يليه مسرى HMDE. إلا أن تيار القمة I_p كان أكبر في حال استخدام مسرى الزئبق القطار DME، ثم يليه عند استخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE، وأخيراً عند استخدام مسرى قطرة الزئبق SMDE .

تم حساب ثابت النفوذ للغليبيريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام المسارى الثلاثة من العلاقة:

$$I(nA) = K \cdot C(nM)$$

وذلك اعتماداً على معادلات المنحنيات العيارية عندما يكون التركيز محسوباً بوحدات nM والتيار بوحدات nA التالية :

$$I_p = -0.0045C + 1.6107 \text{ (مسرى DME)}$$

$$I_p = -0.0014C - 0.367 \text{ (مسرى SMDE)}$$

$$I_p = -0.0015C - 1.899 \text{ (مسرى HMDE)}$$

وكانت العلاقة بين ثوابت النفوذ للغليبيريد على المسارى الثلاث كالتالي :

$$K_{DME} = 3.000 K_{HMDE} = 3.214 K_{SMDE}$$

كما نستنتج من الدراسة السابقة أن معامل النفوذ k يكون أكبر في حال استخدام مسرى الزئبق القطار DME، ثم يليه عند استخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE، ثم عند استخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE.

ونعرض في الجدول رقم (8) أهم البيانات التي تدل على الدقة والحساسية للطريقة المقترحة لتحديد الغليبيريد على المسارى الثلاث DME، SMDE، HMDE.

الجدول رقم (8)

ملخص عن البيانات المحسوبة لدى تحديد مادة الغليبيريد بشكلها النقي بالطريقة الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات على المساري DME ، HMDE ، SMDE .

النتائج			البيانات
SMDE	HMDE	DME	
2.00 – 80.0 μM 0.988 – 39.52 mg.L^{-1}	1.00 – 40.0 μM 0.494 – 19.76 mg.L^{-1}	1.00 – 112.0 μM 0.494 – 55.328 mg.L^{-1}	المجال الخطي
0.9996	0.9998	0.9999	معامل الارتباط R^2
المعادلة المرجعية: $y=mC+b$			
-0.0014	-0.0015	-0.0045	الميل m (nA /nM)
-2.9005	-3.0111	-9.1184	الميل m (nA/ mg.L^{-1})
-0.367	-1.899	1.6107	الثابت (b)
1.34 μM 0.662 mg.L^{-1}	0.871 μM 0.430 mg.L^{-1}	0.645 μM 0.318 mg.L^{-1}	حد التحديد الكمي LOQ
0.402 μM 0.198 mg.L^{-1}	0.262 μM 0.129 mg.L^{-1}	0.194 μM 0.096 mg.L^{-1}	حد الكشف LOD
4.4%	4.8%	5.2%	RSD%

إن هذه الدراسة تبين أن تحديد الغليبيريد بالتحليل الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية يكون ممكناً باستخدام النماذج الثلاث للمساري وأن القيم الكبيرة لتيار القمة (Ip) لإرجاع الغليبيريد بالتحليل الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية على مسرى DME بالمقارنة مع قيمها باستخدام المسريين الآخرين سيؤدي إلى الحصول على نتائج تحليلية أفضل دقة وحساسية.

2- نتائج تحديد الريباغليينيد:

2-1- تأثير طرائق التحليل الفولط أمبيرومترية

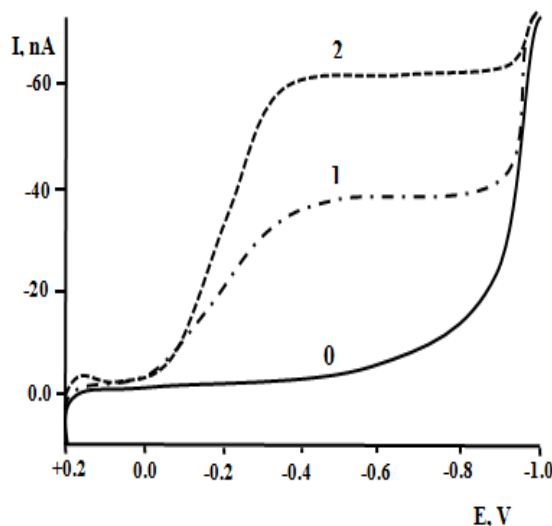
The effect of voltammetric methods

درسنا تأثير طرائق التحليل الفولط أمبيرومترية الآتية لتحديد الريباغليينيد على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE ومسرى الزئبق القطار DME ومسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE في وسط مائي بوجود واقي فوسفاتي $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$ ، بتركيز 5mM عند pH 7.0 :

2-1-1- التحليل الفولط أمبيرومترية الكلاسيكية

Classic Voltammetric Analysis

حصلنا بالتحليل الفولط أمبيرومترية الكلاسيكية (التيار المباشر) DC على المنحنيات الفولط أمبيرومترية الموضحة في الشكل رقم (56) ، نلاحظ من هذا الشكل أن للريباغليينيد موجة مصعدية ويكون كمون نصف الموجة عند $E_{1/2} = -200 \pm 10 \text{ mV}$ على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE.

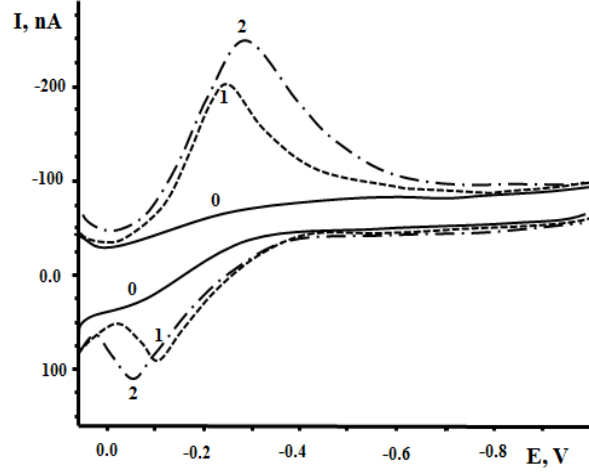


الشكل رقم (56)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية الكلاسيكية للريباغليينيد في وسط واقي فوسفاتي عند pH=7.0 وعلى مسرى HMDE للتركيز: 0-0 ؛ 1-5.43 ؛ 2-10.86 mg.L^{-1} .

2-1-2- التحليل الفولط أمبيرومترية الحلقية: Cyclic Voltammetric Analysis

تظهر منحنيات التحليل الفولط أمبيرومترية الحلقية CV للريباغليينيد قمة مصعدية واحدة عند كمون يتراوح ما بين -250mV إلى -300 mV لدى المسح الكموني نحو تزايد الكمون بالاتجاه السالب ولدى المسح العكسي للكمون نجد أن هناك قمة صغيرة تظهر عند كمون يتراوح بين 10mV إلى 70mV وتيارها موجب، وبما أن الكمونين في الاتجاه المباشر والعكسي لنفس التركيز من المادة الفعالة في الخلية متقاربين لذلك يمكن القول بأن التناثية شبه عكوسة وفقاً لما ذكر آنفاً في الفقرة (4-3-1-2) في القسم النظري ، انظر الشكل رقم (57).



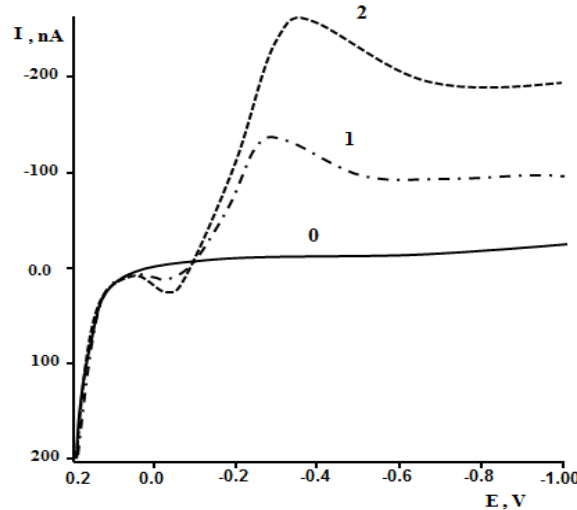
الشكل رقم (57)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية الحلقية للريباغليينيد في وسط واقى فوسفاتي عند $\text{pH}=7.0$ باستخدام مسرى HMDE للتراكيز: 0-0 ؛ 1- 3.62 ؛ 2- 7.24 mg.L^{-1} .

2-1-3- التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي العادي

Normal Pulse Voltammetric Analysis (NPV)

يعتبر التحليل الفولط أمبيرومترى العادي بمثابة تحليل بتيار مباشر (كلاسيكي) ولكن مع تطبيق نبضة كمونية على المسرى مما يؤدي إلى الحصول على موجة مشابهة لتلك الموجة في التحليل الكلاسيكي ولكن بحساسية أكبر وتيار أعلى. ويظهر التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي العادي NPV للريباغليينيد قمة مصعدية واحدة عند كمون $200 \pm 10\text{mV}$ لدى المسح الكموني نحو تزايد الكمون بالقيمة السالبة ، انظر الشكل رقم (58).



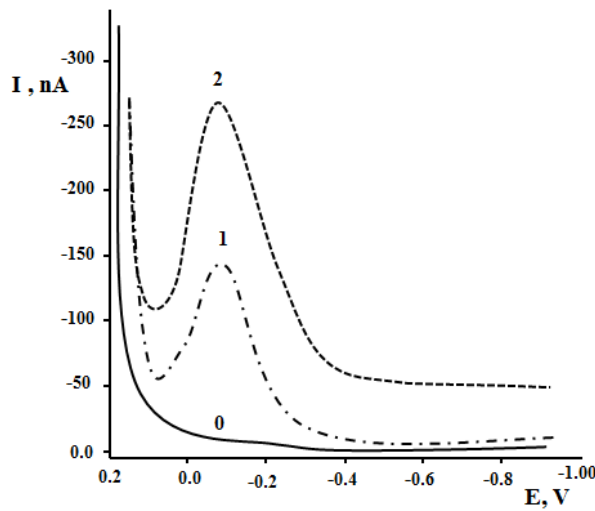
الشكل رقم (58)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية العادية للريباغليينيد في وسط واقى فوسفاتي عند $\text{pH}=7.0$ وعلى مسرى HMDE للتراكيز: 0-0 ؛ 1- 5.43 ؛ 2- 10.86 mg.L^{-1} .

2-1-4- التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة:

Square Wave Voltammetric (SqW)

استخدمنا التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة (SqW) بتطبيق سعة نبضة 50mV وخطوة كمونية 0.001V وضمن مجال للتردد يتراوح بين 50-300 Hz ؛ حيث وجدنا أن التردد الأمثل هو 50Hz من حيث تناظر القمة وعدم حصول تشويش فيها (أن التشويش ناتج عن سرعة المسح الكبيرة والمتزايدة بتطبيق تواتر مسح amplitude مقداره 45mV مع زيادة قيمة التردد)، تم العمل عند سرعة مسح $45\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ، وحصلنا على قمة أكسدة عند كمون قمة $10 \pm -100\text{ mV}$ ، كما هو موضح في الشكل رقم (59).



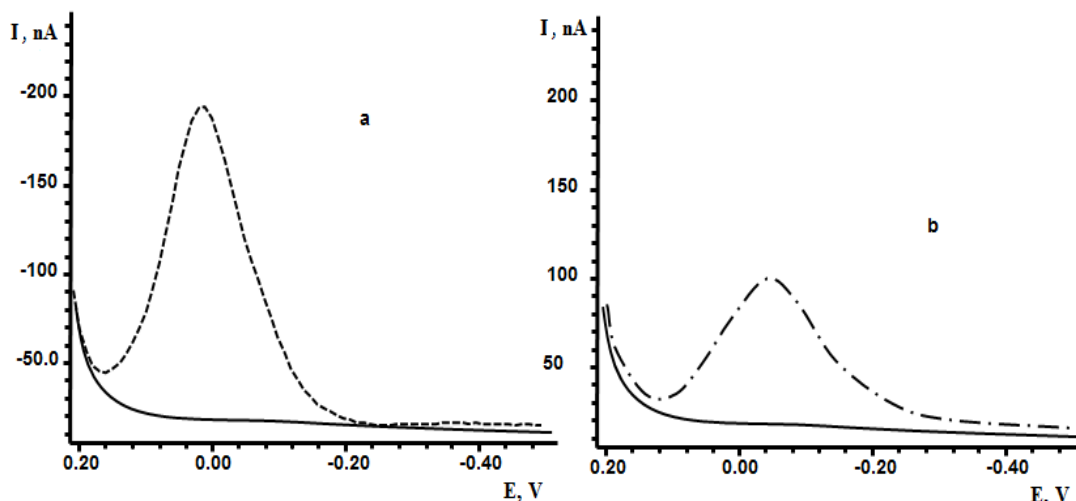
الشكل رقم (59)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية بطريقة SqW للريباغليينيد في وسط واقى فوسفاتي عند pH=7.0 وعلى مسرى HMDE للتراكيز: 0.0 -0؛ 1 -5.43؛ 2 -10.86 .mg.L⁻¹

2-1-5- التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي:

Differential Pulse Voltammetric Analysis (DPV)

استخدمنا طريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي DPV مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP ومع سعة سالبة وثابتة للنبضات DPVNP لتحديد مادة الريباغليينيد؛ فلدى تطبيق نبضة ذات سعة موجبة على مسرى الزئبق القطار DME ظهرت قمة عند كمون $E_p = +11 \pm 3\text{mV}$ تعبر عن أكسدة الريباغليينيد، ولدى تطبيق نبضة ذات سعة سالبة فإن قيمة تيار القمة يكون أقل وبإشارة موجبة، كما نلاحظ من هذا الشكل أن القمة الناتجة لدى تطبيق نبضة ذات سعة موجبة تكون أكثر حدة وتناظراً بالمقارنة مع القمة الناتجة لدى تطبيق نبضة ذات سعة سالبة DPVNP، انظر الشكل رقم (60)، ولهذا تم إجراء الدراسة باختيار التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP.



الشكل رقم (60)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية للربياغليينيد تركيزها 9.05 mg.L^{-1} في وسط واقى فوسفاتي عند $\text{pH}=7.0$ باستخدام مسرى DME -a مع سعة نبضة موجبة ، -b مع سعة نبضة سالبة.

2-2- التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات

Differential pulse Voltammetric with positive polarity DPVPP

2-2-1- تأثير نوع وتركيز الكهرليت :

The Effect of Electrolyte Type and its Concentration

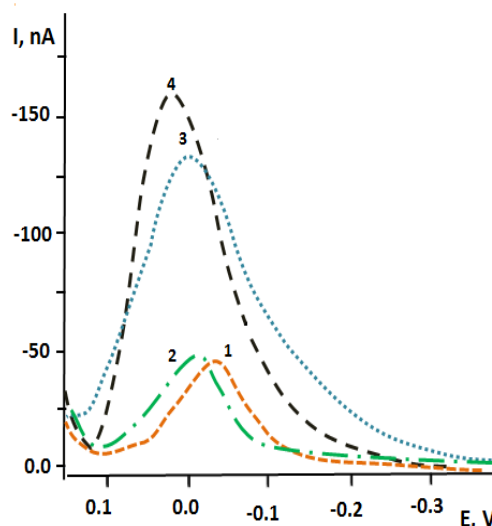
درسنا تأثير نوع الكهرليت في المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات للربياغليينيد وفقاً لما يلي: جربنا العديد من الكهرليات المستخدمة في التحليل الكهركيميائي نذكر منها: خلات الصوديوم، بورات الصوديوم، فوق كلورات الليثيوم وفوسفات ثنائية الصوديوم؛ حيث أن جميع هذه الكهرليات محضرة بتركيز 0.1 M وأجري المسح الكموني لعدة تراكيز من المادة الفعالة داخل الخلية عند $\text{pH} 7.0$ ، فوجدنا أنه مادة الربياغليينيد تعطي قمة اكسدة عند كمون $E_p = 11 \pm 3 \text{ mV}$ ، إلا أن الواقي الفوسفاتي كان الأفضل من حيث حدتها وتناظرها، الشكل رقم (61) .

الشكل رقم (61)

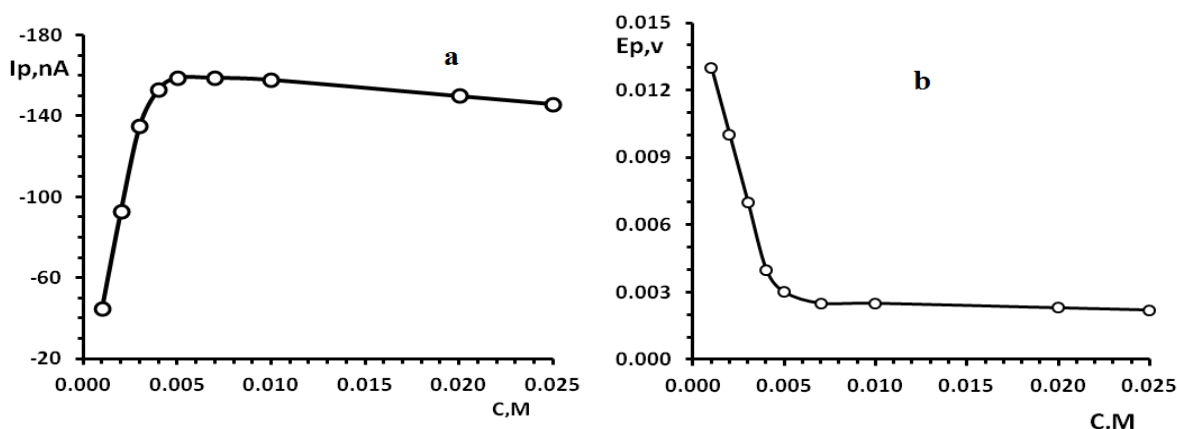
المنحني الفولط أمبيرومترى للربياغليينيد

بتركيز 9.05 mg.L^{-1} لدى استخدام الكهرليات الآتية:

(1) CH_3COONa ، (2) $\text{B}_2\text{O}_7\text{Na}$ ، (3) LiClO_4 ،
(4) Na_2HPO_4 .



درسنا تأثير تركيز الكهرليت المفضل وهو الواقي الفوسفاتي في المنحنيات الفولط أمبيرومترية للربياغليينيد ؛ حيث حضرنا محلولاً منه بتركيز أساسي 0.1M ومنه حضرنا التراكيز المدروسة. تم العمل في حجم ثابت للخلية مقداره 25mL وتمت الدراسة عند تركيز ثابت للمادة الفعالة في الخلية مقداره 9.05 mg.L^{-1} ، كما هو موضح في الشكل رقم (62، a). نلاحظ من هذا الشكل ان تيار القمة I_p يزداد بازدياد تركيز الكهرليت حتى التركيز 4mM ، ثم يتناقص تيار القمة قليلاً بعدها، وكانت القيمة 5mM هي المفضلة، كما وجدنا أن E_p يتناقص بازدياد تركيز الكهرليت حتى التركيز 4mM ، ثم يصبح E_p ثابتاً بعدها ، كما هو موضح في الشكل رقم (62، b) ، وكانت القيمة 5mM هي المفضلة.



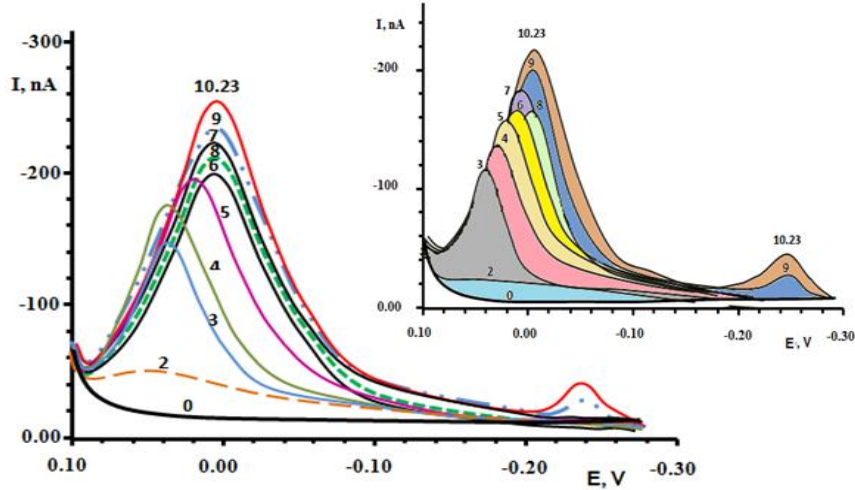
الشكل رقم (62)

تأثير تركيز الكهرليت في (a)- تيار القمة و (b)- كمن القمة لأكسدة الربياغليينيد بتركيز 9.05 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي في وسط وافي خلي عند $\text{pH}=7.0$ باستخدام مسرى .DME

2-2-2- تأثير pH الوسط في القمة المصعدية:

The Effect of pH on Anodic Peak

درسنا تأثير pH الوسط في كل من كمن القمة (E_p) وتيار القمة (I_p) لأكسدة الربياغليينيد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة DPVPP على مسرى الزئبق القطار DME في محلول وافي فوسفاتي ضمن مجال pH من 2.0 إلى 11.0، ثم رسمنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية في المجال من 0.1 V إلى -0.3 V وسعة نبضة موجبة 50mV وزمن نبضة 40 m Sec ، ونعرض في الشكل رقم (63) هذه المنحنيات؛ حيث نلاحظ من هذه المنحنيات أن قمة الأكسدة لا تظهر عند $\text{pH} < 3.0$ وعند $\text{pH} \geq 3.0$ تظهر قمة واضحة عند كمن يتراوح بين 2mV و 40mV ، أما عند قيم $\text{pH} > 8$ تظهر قمة جديدة عند كمن $E_p = -0.25 \text{ V}$ مجاورة للقمة المدروسة يمكن نسبها ربما إلى المركب الناتج عن تشتت الربياغليينيد في الأوساط القلوية والقلوية الضعيفة.

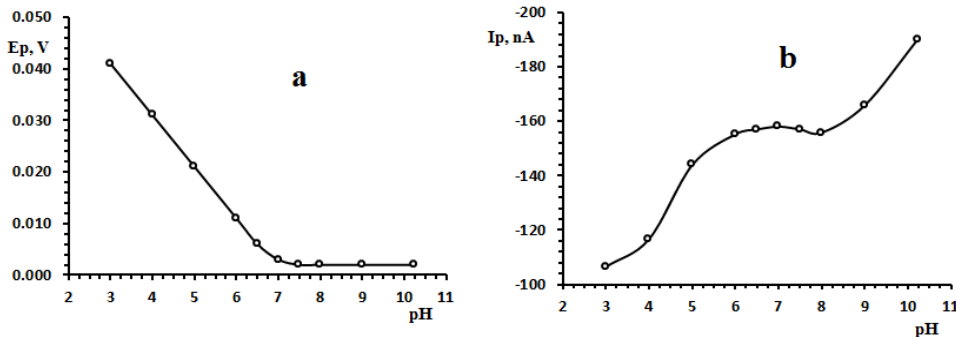


الشكل رقم (63)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية لأكسدة الريبافلغينيد بتركيز 9.05 mg.L^{-1} في وسط واقفي فوسفاتي تركيزه 5 mM باستخدام مسرى DME من أجل قيم pH المبينة؛ حيث الرقم 0 للكهرليت عند $\text{pH } 7$.

ويوضح الشكل رقم (64، a) العلاقة ما بين كمون القمة E_p و pH المحلول، يلاحظ منه أن كمون القمة ينزاح بالاتجاه الأقل ايجابية مع ازدياد قيمة pH ، ويُظهر أيضاً أن العلاقة بين كمون القمة و pH الوسط تكون طردية خطية ضمن مجال $\text{pH } 3 - 6.5$ ، أما معادلة المنحني للعلاقة $E_p = f(\text{pH})$ هي $E_p = 0.071 - 0.010 \text{ pH}$ ، $R^2 = 1$ ، وميل المنحني الممثل للدراسة 0.010 V/pH وأن كمون القمة المصعدية يتجه نحو القيم الأقل ايجابية مع ازدياد قيمة الـ pH .

إن تناقص قيمة كمون القمة بشكل ثابت مع زيادة قيمة pH الوسط يدل على أن عدد الالكترونات المتبادلة في العملية المسروية يساوي عدد البروتونات. ويظهر في الشكل رقم (64، b) علاقة تيار القمة المصعدية I_p بدلالة pH الوسط؛ حيث نلاحظ من الشكل الممثل للعلاقة أن تيار القمة يكون ثابتاً ضمن مجال pH يتراوح بين 6.0 و 7.5 ولقد تم اختيار القيمة $\text{pH } 7.0$ نظراً لكون القمة أكثر تناظراً وتقع ضمن مجال ثبات التيار.



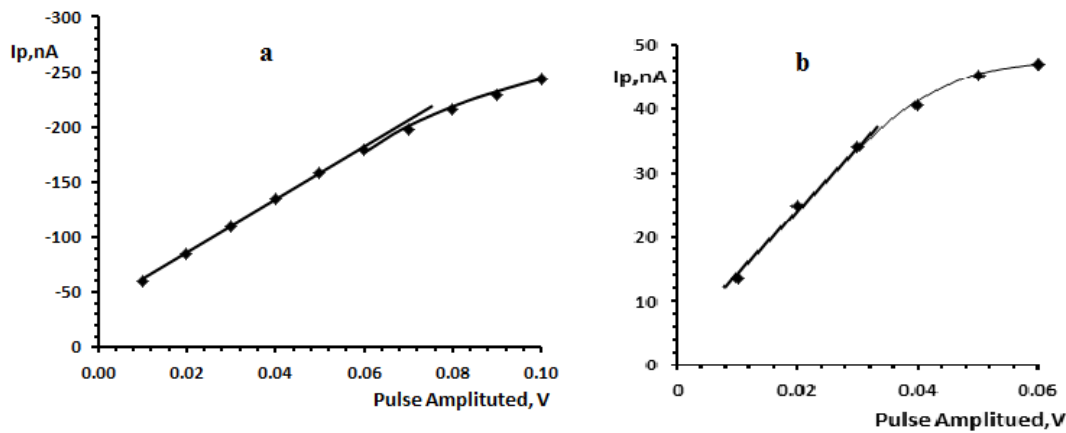
الشكل رقم (64)

تأثير pH المحلول في (a) E_p و (b) I_p لأكسدة الريبافلغينيد بتركيز 9.05 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 50 mV وزمن نبضة 40 m Sec .

3-2-2- تأثير سعة النبضة:

The Effect of Pulse Amplitude (P.A.)

درسنا تأثير سعة النبضة الموجبة والسالبة في قيمة I_p لأكسدة الريباجلينيد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME في وسط واقي فوسفاتي تركيزه 5mM عند pH=7.0، زمن النبضة 40 ms، سرعة مسح الكمون 6mV/Sec. ووجدنا أن تيار القمة I_p يزداد طردياً خطياً بازدياد سعة النبضة الموجبة حتى القيمة 60 mV، ثم ينحرف عن الخطية بعدها، واخترنا قيمة مفضلة لسعة النبضة تساوي 50 mV، وأن تيار القمة I_p يزداد طردياً خطياً بازدياد سعة النبضة السالبة حتى القيمة 40 mV، ثم ينحرف عن الخطية بعدها، واخترنا قيمة مفضلة لسعة النبضة تساوي 30 mV إلا أن السعة الموجبة أعطت قمة أكثر حدةً وتناظراً وحساسيةً بالنسبة لتيار القمة. الشكل رقم (65).



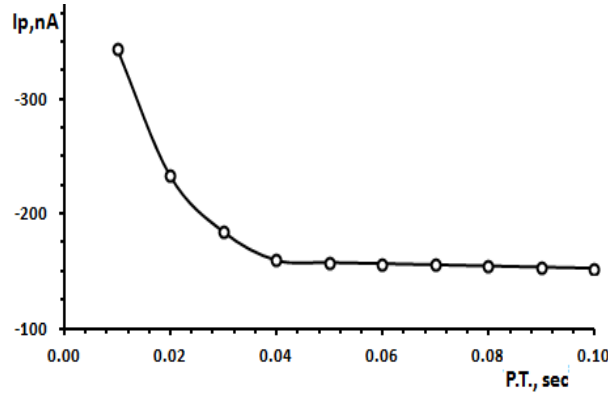
الشكل رقم (65)

تأثير سعة النبضة (a): الموجبة و (b): السالبة في تيار القمة I_p للريباجلينيد بتركيز 9.05 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME.

4-2-2- تأثير زمن النبضة:

The Effect of Pulse Time (P.T.)

درسنا تأثير زمن النبضة في التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 50mV للريباجلينيد بتركيز 9.05 mg.L^{-1} ، في وسط واقي فوسفاتي تركيزه 5mM على مسرى DME، ووجدنا أن I_p يتناقص بازدياد زمن النبضة حتى الزمن 30ms، ثم يصبح شبه ثابت عند زمن 40ms، واخترنا قيمة مفضلة لزمن النبضة تساوي 40ms والتي توافق بداية ثبات تيار القمة، انظر الشكل رقم (66).



الشكل رقم (66)

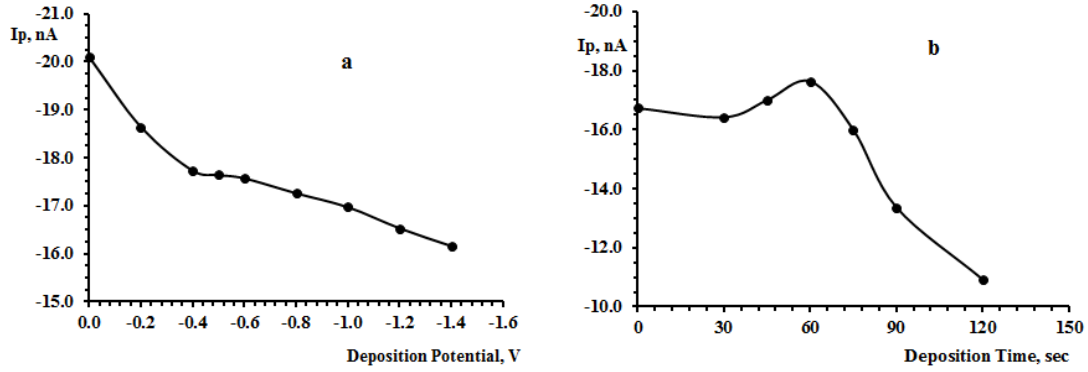
تأثير زمن النبضة الموجبة في I_p للريباغليينيد بتركيز 9.05 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي النفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 50 mV على مسرى DME.

2-2-5-دراسة تأثير كمون التراكم: The Effect of Deposition Potential

درسنا تأثير كمون التراكم على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE وبطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي النفاضلي DPV؛ حيث لاحظنا أنه لدى تكرار عملية المسح الكموني على تركيز واحد وعلى قطرة زئبق معلقة واحدة أن تيار القمة يتناقص بعد المسح الكموني الأول بشكل كبير ليثبت بعدها عند المسح الكموني الثاني والثالث والرابع، مما يدل على أن العملية المسروية لها خواص ادمصاصية، ويعزى تفسير ذلك إلى انفلات desorption بعض جزيئات المادة المدروسة من على سطح المسرى. ودرسنا تأثير كمون التراكم على تيار القمة ضمن مجال 0.0 V حتى -1.4 V عند تركيز ثابت للمادة الفعالة في الخلية؛ حيث يتناقص تيار القمة بازدياد كمون التراكم بالقيمة المطلقة وذلك حتى الكمون -0.4 V ثم يصبح شبه ثابتاً أثناء تغير كمون التراكم ولم يتأثر كمون القمة بكمون التراكم، إلا أن القمة تصبح أكثر تناظراً عند كمون تراكم مقداره -0.5 V لذلك تم اعتماد هذا الكمون كقيمة ثابتة لدى دراسة المنحنيات العيارية باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE، انظر الشكل (a,67).

2-2-6-دراسة تأثير زمن التراكم: The Effect of Deposition Time

درسنا تأثير زمن التراكم (وهو الزمن الذي يطبق فيه كمون الادمصاص على المسرى قبل أن يتم المسح الكموني) بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي النفاضلي على مسرى قطرة الزئبق المعلقة ضمن المجال من 0 sec حتى 120 sec ، لاحظنا أن تيار القمة يكون شبه ثابت حتى زمن 60 sec ثم يتناقص بعدها، وكذلك بالنسبة لكمون القمة فإنه يصبح شبه ثابت ضمن مجال لزمن التراكم من 60 sec وحتى 100 sec لذلك تم اختيار زمن التراكم 60 sec كقيمة مفضلة؛ حيث اعطى أعلى قيمة لتيار القمة وثبات في كمون القمة)، انظر الشكل رقم (b, 67)، لذلك تم اختيار هذا الزمن في دراسة المنحنيات العيارية للريباغليينيد على مسرى HMDE بطريقة DPV وفي الدراسات CV و SqW .



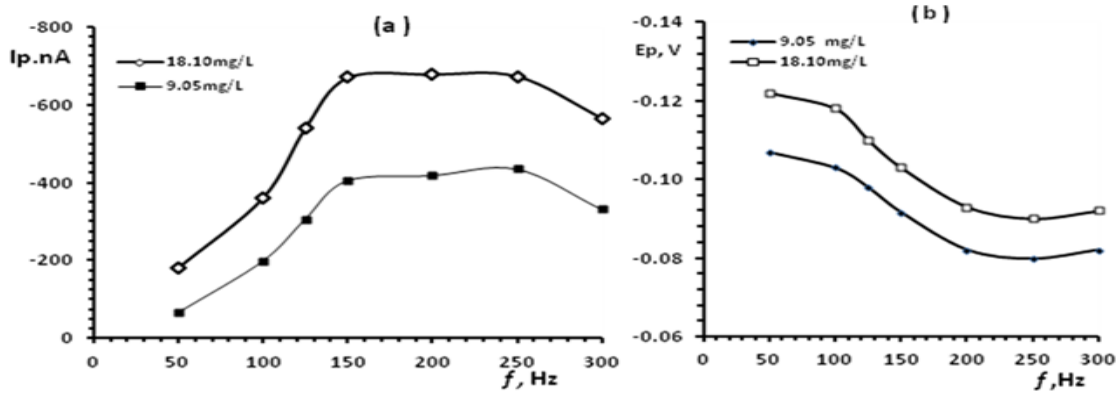
الشكل رقم (67)

تأثير (a): كمون الادمصاص و (b): زمن الادمصاص في تيار القمة I_p للريباغليينيد بتركيز 9.05 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى HMDE.

The Effect of frequency (f)

7-2-2-دراسة تأثير التردد:

درسنا تأثير التردد في تيار وكمون القمة للمادة الفعالة على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE وبطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة SqW وذلك عند تركيز ثابت للمادة الفعالة في الخلية مقداره 9.05 mg.L^{-1} و 18.1 mg.L^{-1} وذلك عند كمون تراكم ثابت -0.5 V ، ضمن مجال للتردد يتراوح بين 50 Hz و 300 Hz ولاحظنا أن تيار القمة للمادة الفعالة يزداد بين التردد 50 Hz إلى 150 Hz وبعد هذه القيمة يبقى ثابتاً حتى التردد 250 Hz ليتناقص بعدها بشكل طفيف، كما هو موضح في الشكل رقم (68، a). أما كمون القمة فإنه تناقص تدريجياً مع ازدياد التردد وبقي شبه ثابت ضمن مجال التردد $200-300 \text{ Hz}$ ، كما هو واضح من الشكل رقم (68، b).



الشكل رقم (68)

تأثير التردد في (a): تيار القمة و (b): كمون القمة للريباغليينيد بتركيز 9.05 mg.L^{-1} و 18.1 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة على مسرى HMDE.

نظرياً من علاقة التيار بالتردد نجد أن القيمة المثلى للتردد هي 200 Hz إلا أن القمة الفولط أمبيرومترية عند هذه القيمة غير متناظرة وفيها تشويش ناتج عن سرعة المسح الكبيرة لذلك تم تطبيق التردد 50 Hz كقيمة معتمدة في إكمال الدراسة بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية ذي الموجة المربعة.

اعتماداً على ما سبق فقد حددنا الشروط المثلى للتحليل الفولط أمبيرومترية النبضي للربياغليينيد على مسرى الزئبق ، كما هو مبين في الجدول رقم (9) .
الجدول رقم (9)

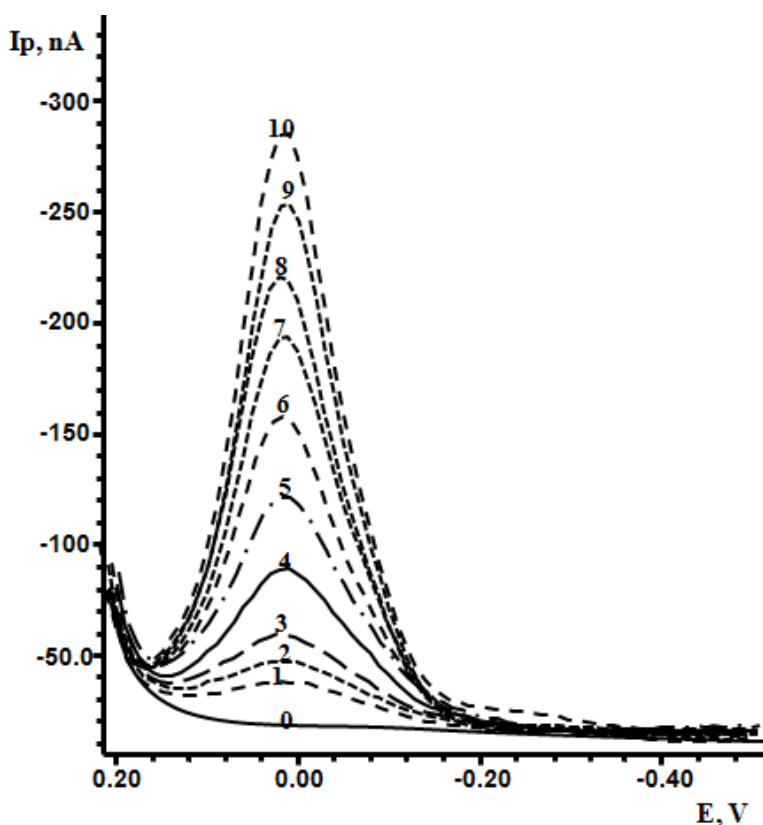
الشروط المثلى للتحليل الفولط أمبيرومترية النبضي للربياغليينيد على مسرى الزئبق.

Operating modes قيم العمل			Parameters البيانات
مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE	مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE	مسرى الزئبق القطر DME	المسرى الكاشف Indicator electrode
SqW، DC، CV،DPV	DPV	DPV	الطرائق التحليلية Analytical Methods
واقى فوسفاتي تركيزه 5mM			الكهرليت المناسب Supporting electrolyte
7.0			درجة الحموضة pH
أسييتو نتريل			المُحل Solvent
50 Mv			سعة النبضة Pulse Amplitude
40 ms			زمن النبضة Pulse Time
300 sec			زمن القرقرة Purge time
-0.5 V			كمون التراكم Deposition Potential
60 sec			زمن التراكم Deposition Time
DC ، NPV: 10 mV CV ، SqW: 1m V DPV: 3 mV	10 mV		الخطوة الكمونية Voltage Step
0.3sec	1sec	1 sec	زمن الخطوة الكمونية Voltage Step Time
DC, NP, DPV: 10 mV/ sec CV: 1000 mV/sec	10 mV/sec	10 mV/sec	سرعة مسح Scan rate
SqW: 50 Hz	لا يوجد		التردد Frequency

2-3- دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى الزئبق القطار:

Differential pulse Voltammograms with positive polarity using DME

درسنا التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات (DPVPP) على مسرى DME لتحديد الريباغليينيد، وحصلنا على المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية لتراكيز ما بين 0.362 mg.L^{-1} و 14.84 mg.L^{-1} ، ورسمنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية ابتداء من كمن المسح (Initial potential) $+0.2\text{V}$ وحتى كمن نهاية المسح (Final potential) -0.45V عند درجة حرارة الغرفة والشروط المثلى المحددة سابقاً، وحصلنا على قمة تدل على أكسدة الريباغليينيد كهركيميائياً عند كمن قمة $+11 \pm 3 \text{ mV}$ ، ونبين ذلك في الشكل رقم (69) .



الشكل رقم (69)

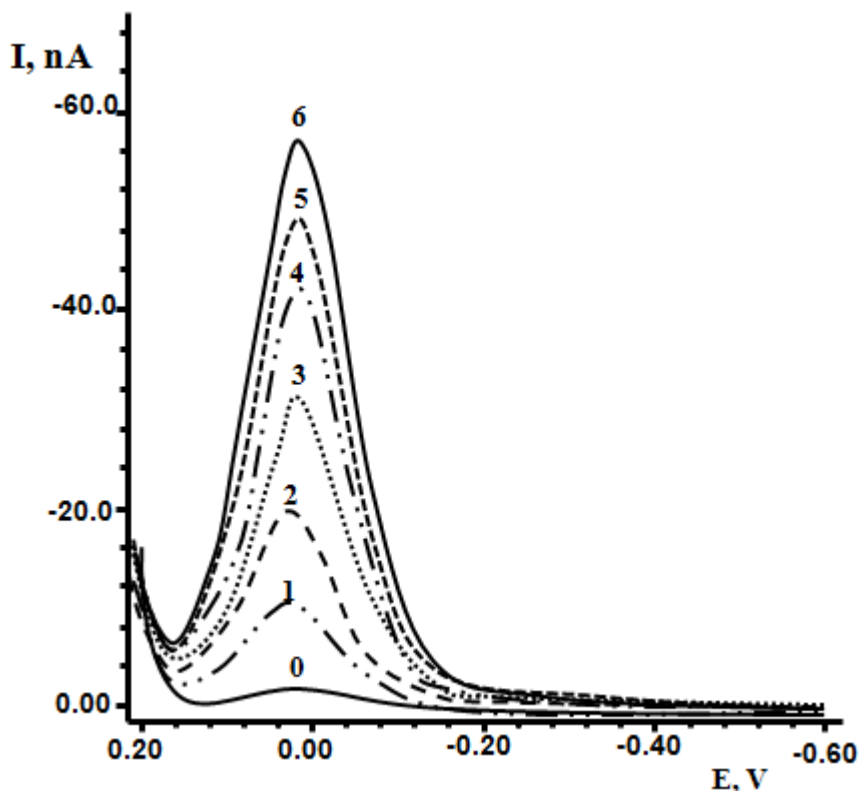
المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة نبضة موجبة 50mV على مسرى DME للريباغليينيد في وسط واقى فوسفاتي تركيزه 5mM عند $\text{pH}=7.0$ للتراكيز:

$0.0 - 0$ ؛ $0.362 - 1$ ؛ $0.905 - 2$ ؛ $1.81 - 3$ ؛ $3.62 - 4$ ؛ $5.43 - 5$ ؛ $7.24 - 6$ ؛ $9.05 - 7$ ؛
 $10.86 - 8$ ؛ $12.67 - 9$ ؛ $14.84 - 10$ mg.L^{-1} .

4-2-دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة:

Differential pulse Voltammograms with positive polarity using SMDE

درسنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة نبضة موجبة 50mV للربياغليينيد في المجال من +0.2 V إلى -0.60 V ، باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE في وسط واقى فوسفاتي 5mM عند pH=7.0 ، وحصلنا على المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية باستخدام تراكيز ما بين 0.902 mg.L^{-1} إلى 12.67 mg.L^{-1} ، انظر الشكل رقم (70) .
نلاحظ من هذا الشكل ظهور قمة تدل على أكسدة الربياغليينيد كهركيميائياً، عند كمن قمة تراوح ما بين +11 mV و -18 mV وإن هذه القمة أقل جودة وحساسية مما هي عليه عند استخدام مسرى DME.



الشكل رقم (70)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة نبضة موجبة 50mV على مسرى SMDE للربياغليينيد في وسط واقى فوسفاتي تركيزه 5mM عند pH=7.0 للتراكيز:
0- 0.0 ؛ 1- 1.81 ؛ 2- 3.62 ؛ 3- 5.43 ؛ 4- 7.24 ؛ 5- 9.05 ؛ 6- 10.86 .mg.L⁻¹

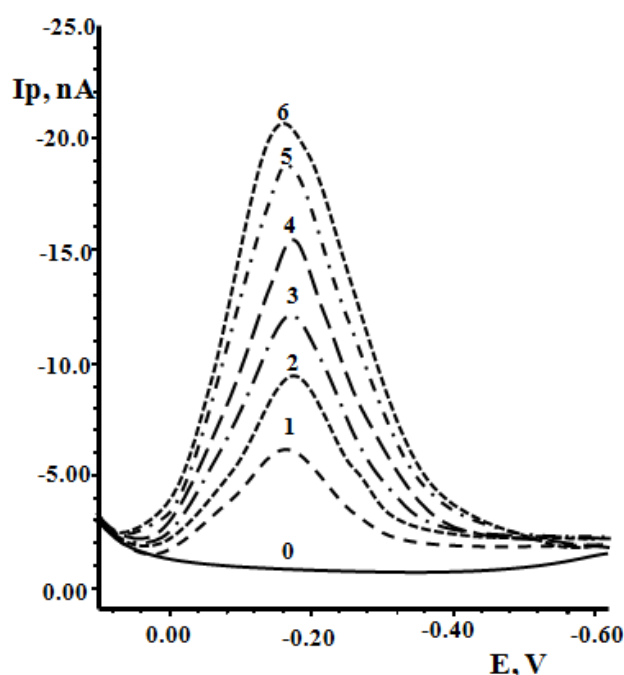
2-5- دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة

للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE

Differential pulse Voltammograms with Positive Polarity using (HMDE)

درسنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية عند سعة نبضة 50mV للربياغليينيد في المجال من +200mV إلى -600 باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE في وسط واقى فوسفاتي 5mM عند pH=7.0 وكمون ادمصاص -0.5V وزمن ادمصاص 60s، وحصلنا على المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية للتراكيز ما بين 0.905 mg.L^{-1} إلى 10.86 mg.L^{-1} ، انظر الشكل رقم (71).

نلاحظ من هذا الشكل ظهور قمة تدل على أكسدة الربياغليينيد كهركيميائياً، عند كمون قمة $E_p = -165 \pm 3 \text{ mV}$ ، وإن هذه القمة أقل جودة وحساسية مما هي عليه عند استخدام مسرى DME و SMDE.



الشكل رقم (71)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة نبضة موجبة 60mV على مسرى HMDE

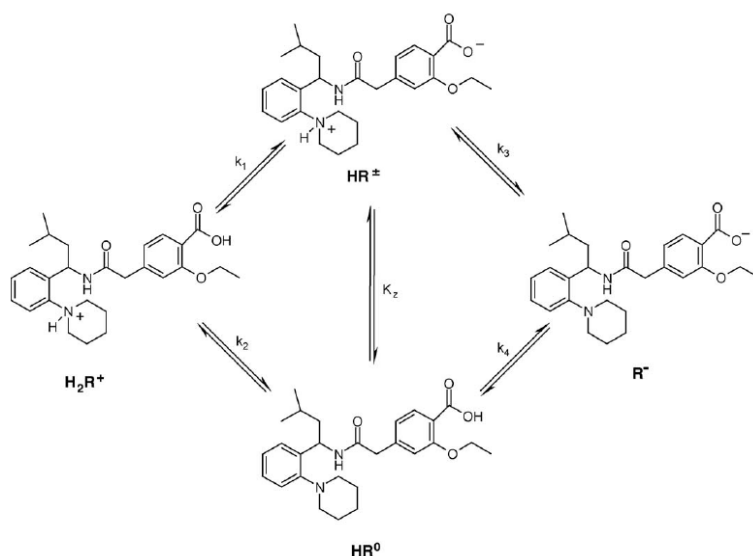
للربياغليينيد في وسط واقى فوسفاتي تركيزه 5mM عند pH=7.0 للتراكيز:

0 - 0.0 ؛ 1 - 1.81 ؛ 2 - 3.62 ؛ 3 - 5.43 ؛ 4 - 7.24 ؛ 5 - 9.05 ؛ 6 - 10.86 mg.L^{-1} .

2-6- تفسير العملية المسروية لأكسدة الريباغليزيد على مسرى الزئبق:

The redox mechanism of glyburide on mercury electrode

إن الخواص الكيميائية للريباغليزيد تكسبها خواص مذذبة بسبب وجود زمرة الكربونيل أميد -CO-NH- في صيغتها وهذا ما يكسبها صفة قلوية ضعيفة، ووجود زمرة الكربوكسيل -COOH يكسبها صفة حامضية ضعيفة في الأوساط المائية، كما تمتلك في صيغتها الكيميائية موقعين قابلين للبرتنة protonation، مما يسبب في تشكل أربع مواقع تكون في حالة توازن مع بعضها البعض. وفي الأوساط المعتدلة يوجد الريباغليزيد بشكلين الأول مشحون والثاني غير مشحون، كما هو موضح في الشكل رقم (72).



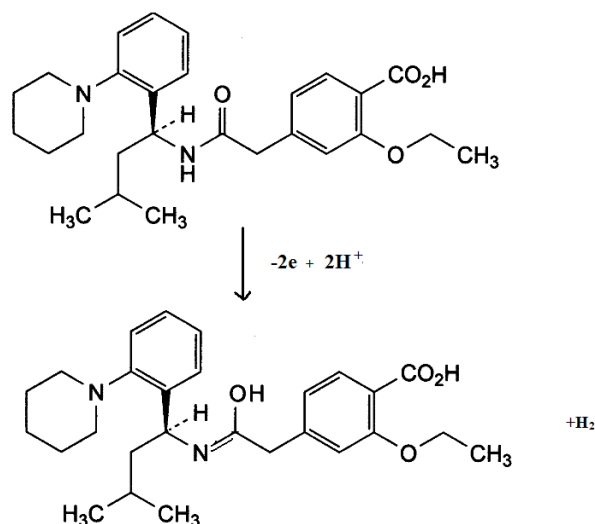
الشكل رقم (72)

شكل توضيحي يبين أشكال الريباغليزيد في جميع حالاتها المشحونة وغير المشحونة

كما أنه وبالمقارنة مع دراسة مرجعية لتحديد بعض مضادات السكري على مساري GCE و CPE في شروط مشابهة [52]، نجد أن هذه المواد لها قمة أكسدة ناتجة عن أكسدة زمرة الكربونيل أميد في وسط ضعيف القلوية. ولدى حساب عدد الإلكترونات المتبادلة اعتماداً على قانون فاراداي في حساب كمية الكهرباء الناتجة عن التفاعل الكهركيميائي من العلاقة :

$$Q=n.F.N$$

حيث: Q كمية الكهرباء بالكولون وتقاس مباشرة من الجهاز لكل تركيز داخل الخلية و N عدد المكافئات الغرامية للمادة و F ثابت فاراداي و n عدد الإلكترونات المتبادلة، نجد أن عدد الإلكترونات المتبادلة $n=2$ ويمكن تمثيل التفاعل على المسرى، كما هو موضح في الشكل رقم (73):



الشكل رقم (73)

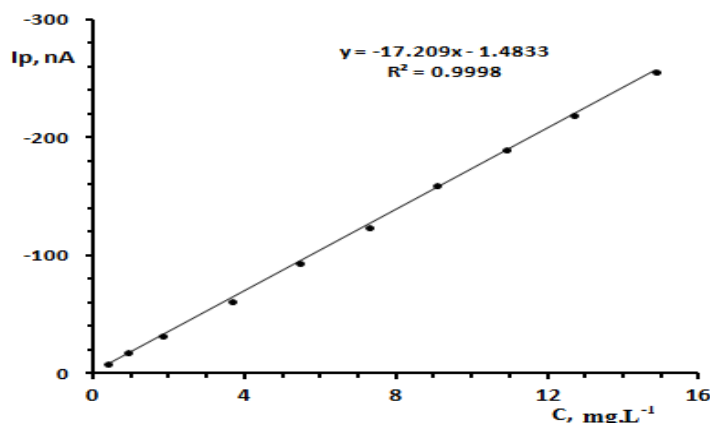
التفاعل الكهركيميائي للربياغليينيد على مسرى الزئبق في وسط مائي يحتوي وافي فوسفاتي تركيزه 5mM.

2-7- النتائج التحليلية والمنحنيات العيارية للربياغليينيد:

Analytical Results and Calibration Curvers for the Determination of Rebaglinide

2-7-1- باستخدام مسرى DME

رسمنا المنحنيات العيارية لتحديد الربياغليينيد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى الزئبق القطار DME في وسط وافي فوسفاتي عند $\text{pH}=7.0$ وبتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (9) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضة التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات الموضحة في الشكل رقم (69). وجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية في مجال للتركيز من 0.362 mg.L^{-1} إلى 14.84 mg.L^{-1} ، أي من $0.799 \text{ }\mu\text{M}$ إلى $32.789 \text{ }\mu\text{M}$ ، انظر الشكل رقم (74).



الشكل رقم (74)

المنحني العياري للربياغليينيد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط وافي فوسفاتي عند $\text{pH}=7.0$ على مسرى DME

إن معادلة المنحني العياري تعطى كما يلي:

$$I_p = -17.209C - 1.4833$$

$$R^2 = 0.9998$$

حيث أن I_p : تيار القمة بـ nA ، و C تركيز الريباغليينيد بـ mg.L^{-1} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$).
لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتراكيز :

$$0.362-14.84 \mu\text{g.mL}^{-1}$$

وتعطى معادلة المنحني العياري عندما يكون التركيز nM كما يلي: $I_p = -0.0079C - 0.6792$

وتم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ فحصلنا على النتائج التالية:

$$\text{LOD} = 0.042 \text{ mg.L}^{-1} = 0.093 \mu\text{M}$$

$$\text{LOQ} = 0.1265 \text{ mg.L}^{-1} = 0.279 \mu\text{M}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (10) نتائج تحديد محاليل عيارية للريباغليينيد ضمن المجال الخطي المحدد في وسط واقى فوسفاتي عند $\text{pH}=7.0$ بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى DME.

الجدول رقم (10)

نتائج تحديد الريباغليينيد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات

في وسط واقى فوسفاتي عند $\text{pH}=7.0$ على المسرى DME.

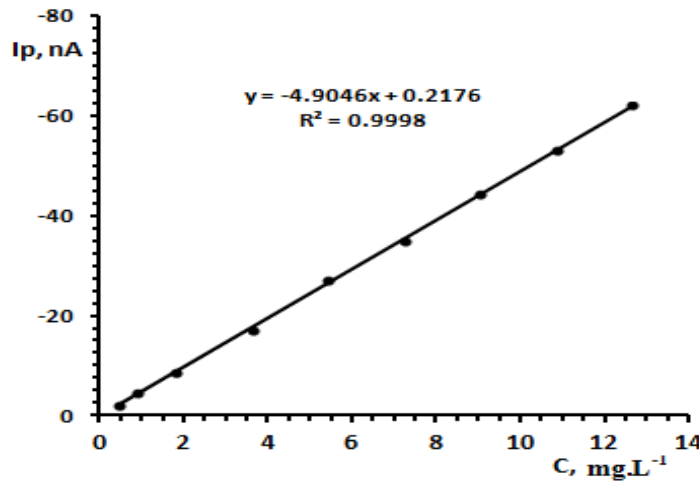
RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ ، mg.L^{-1}	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ، mg.L^{-1}	الانحراف المعياري SD، mg.L^{-1}	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، mg.L^{-1}	التركيز المأخوذ C، mg.L^{-1}	التركيز المأخوذ، C، μM
3.3	0.015 ± 0.360	0.005	0.012	0.360	0.36	0.8
2.6	0.030 ± 0.915	0.011	0.024	0.915	0.91	2
2.3	0.051 ± 1.80	0.018	0.041	1.80	1.81	4
2.0	0.089 ± 3.62	0.032	0.072	3.62	3.62	8
1.7	0.114 ± 5.41	0.041	0.092	5.41	5.43	12
1.6	0.144 ± 7.22	0.052	0.116	7.22	7.24	16
1.4	0.159 ± 9.11	0.057	0.128	9.11	9.05	20
1.3	0.173 ± 10.71	0.062	0.139	10.71	10.86	24
1.2	0.189 ± 12.66	0.068	0.152	12.66	12.67	28
1.1	0.202 ± 14.79	0.073	0.163	14.79	14.84	32.79

* n=5، t=2.776

إن نتائج تحديد الريباغليينيد المبينة في الجدول رقم (10) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف العياري النسبي المئوي RSD% ما بين 1.1% و 3.3% للتراكيز 0.362 mg.L^{-1} و 14.84 mg.L^{-1} على التسلسل.

2-7-2- باستخدام مسرى SMDE

رسمنا المنحنيات العيارية لتحديد الريباغليينيد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE في وسط واقى فوسفاتي عند pH=7.0 وبتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (9) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضة التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات الموضحة في الشكل رقم (70). وجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية في مجال للتركيز من 0.453 mg.L^{-1} إلى 12.67 mg.L^{-1} ، أي من $1 \text{ } \mu\text{M}$ إلى $28 \text{ } \mu\text{M}$ ، انظر الشكل رقم (75).



الشكل رقم (75)

المنحنى العياري للريباغليينيد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى فوسفاتي عند pH=7.0 على مسرى SMDE.

إن معادلة المنحنى العياري تعطى كما يلي:

$$I_p = -4.9046C + 0.2176$$
$$R^2 = 0.9998$$

حيث أن I_p : تيار القمة بـ nA ، و C تركيز الريباغليينيد بـ mg.L^{-1} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$).

لقد كان المنحنى العياري خطياً ضمن مجال جيد للتركيز :

$$0.453\text{--}12.67 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$$

(وتعطى معادلة المنحنى العياري عندما يكون التركيز nM كما يلي: $I_p = -0.0022C - 0.2176$)

وتم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ فحصلنا على النتائج التالية:

$$\text{LOD} = 0.053 \text{ mg.L}^{-1} = 0.117 \text{ } \mu\text{M}$$

$$\text{LOQ} = 0.161 \text{ mg.L}^{-1} = 0.356 \text{ } \mu\text{M}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (11) نتائج تحديد الريباغليينيد لمحاليل عيارية محضرة ضمن المجال الخطي المحدد في وسط واقى فوسفاتي عند pH=7.0 بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى SMDE.

الجدول رقم (11)

نتائج تحديد الريباغليينيد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى فوسفاتي عند pH=7.0 على المسرى SMDE.

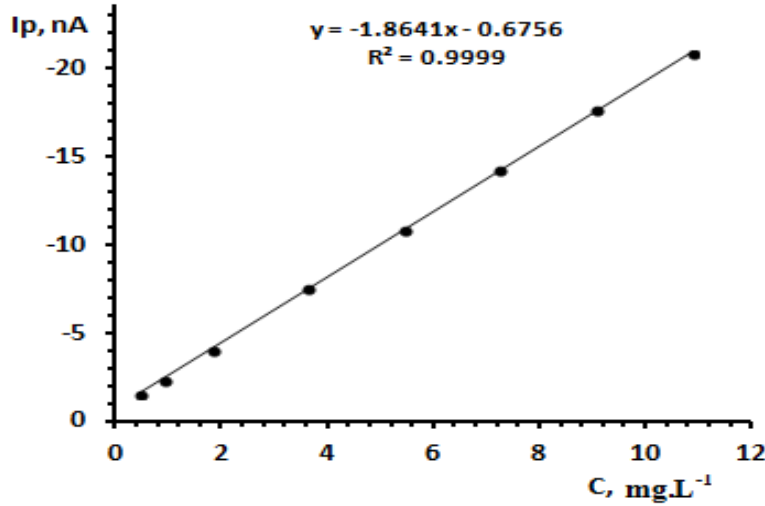
RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ ، mg.L ⁻¹	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ، mg.L ⁻¹	الانحراف المعياري SD، mg.L ⁻¹	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ C، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ، C، μM
3.5	0.020 ± 0.461	0.007	0.016	0.46	0.453	1
3.0	0.034 ± 0.910	0.012	0.027	0.91	0.905	2
2.6	0.058 ± 1.80	0.021	0.047	1.80	1.81	4
2.4	0.107 ± 3.58	0.039	0.086	3.58	3.62	8
2.2	0.150 ± 5.52	0.054	0.121	5.52	5.43	12
2.0	0.179 ± 7.19	0.064	0.144	7.19	7.24	16
1.6	0.180 ± 9.07	0.065	0.145	9.07	9.05	20
1.4	0.189 ± 10.85	0.068	0.152	10.85	10.86	24
1.3	0.205 ± 12.70	0.073	0.165	12.70	12.67	28

* n=5، t=2.776

إن نتائج تحديد الريباغليينيد المبينة في الجدول رقم (11) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% ما بين 3.5% و 1.2% للتركيز 0.453 mg.L⁻¹ و 12.67 mg.L⁻¹.

3-7-2- باستخدام مسرى HMDE

رسمنا المنحنيات العيارية لتحديد الريباغليينيد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى HMDE في وسط واقى فوسفاتي عند pH 7.0 وبتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (9) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية الموضحة في الشكل رقم (71). ووجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية في مجال للتركيز من 0.453 mg.L⁻¹ إلى 10.86 mg.L⁻¹، أي من 1 μM إلى 24 μM، انظر الشكل رقم (76).



الشكل رقم (76)

المنحني العياري للريباغليينيد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى فوسفاتي عند pH=7.0 على مسرى HMDE.

إن معادلة المنحني العياري تعطى كما يلي:

$$I_p = -1.8641C - 0.6756$$

$$R^2 = 0.9999$$

حيث أن I_p : تيار القمة بـ nA ، و C تركيز الريباغليينيد بـ $mg.L^{-1}$ ($\mu g.mL^{-1}$).
لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتركيز :

$$0.453-10.86 \mu g.mL^{-1}$$

(وتعطى معادلة المنحني العياري عندما يكون التركيز nM كما يلي: $I_p = -0.0008C - 0.6756$).

وتم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ فحصلنا على النتائج التالية:

$$LOD = 0.055 mg.L^{-1} = 0.121 \mu M$$

$$LOQ = 0.168 mg.L^{-1} = 0.371 \mu M$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (12) نتائج تحديد الريباغليينيد لمحاليل عيارية بتركيز من $0.453 \mu g.mL^{-1}$ إلى $10.86 \mu g.mL^{-1}$ في وسط واقى فوسفاتي عند pH=7.0 بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى HMDE.

الجدول رقم (12)

نتائج تحديد الريباغليينيد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى فوسفاتي عند pH=7.0 على المسرى HMDE.

RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ ، $\mu\text{g.mL}^{-1}$	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ، $\mu\text{g.mL}^{-1}$	الانحراف المعياري SD، $\mu\text{g.mL}^{-1}$	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، $\mu\text{g.mL}^{-1}$	التركيز المأخوذ C_{RPG} ، $\mu\text{g.mL}^{-1}$	التركيز المأخوذ، C_{RPG} ، μM
3.8	0.021 ± 0.442	0.008	0.017	0.442	0.453	1
2.9	0.032 ± 0.900	0.012	0.026	0.900	0.905	2
2.5	0.056 ± 1.80	0.020	0.045	1.80	1.81	4
2.0	0.091 ± 3.65	0.033	0.073	3.65	3.62	8
1.6	0.108 ± 5.44	0.039	0.087	5.44	5.43	12
1.3	0.117 ± 7.26	0.042	0.094	7.26	7.24	16
1.1	0.124 ± 9.08	0.045	0.100	9.08	9.05	20
1.0	0.134 ± 10.80	0.048	0.108	10.80	10.86	24

* n=5، t=2.776

إن نتائج تحديد الريباغليينيد المبينة في الجدول رقم (12) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي بين 3.8% و 1.0% للتركيزات 0.453 mg.L^{-1} و 10.86 mg.L^{-1} .

مما سبق نجد أن أصغر تركيز تم تحديده للريباغليينيد على مسرى DME هو $0.8 \mu\text{M}$ بانحراف عياري نسبي مئوي 3.4%. و على مسرى HMDE و مسرى SMDE فقد كان أصغر تركيز تم تحديده هو $1.0 \mu\text{M}$ بانحراف عياري نسبي مئوي 3.3% و 3.8% على التسلسل.

إن النتائج السابقة تبين إمكانية تحديد الريباغليينيد بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى فوسفاتي عند pH=7.0 باستخدام مسرى الزئبق القطار DME، أو مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE، أو مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE؛ حيث نلاحظ أن القمة أكثر حدةً وتناظراً وارتفاعاً عند استخدام مسرى الزئبق القطار DME، ثم يليه مسرى SMDE، وأخيراً مسرى HMDE وأن شكل القمة الفولط أمبيرومترية لم يتأثر بشكل ملحوظ لدى استخدام مسرى DME و SMDE، كما لاحظنا أن القمم على مسرى HMDE كانت عريضة ومذيلة قليلاً. وكان كمون القمة $E_{p_a} = 11 \pm 3 \text{ mV}$ على مسرى SMDE، DME، و $E_{p_a} = -165 \pm 5 \text{ mV}$ على مسرى HMDE.

تم حساب ثابت النفوذ للريباغليينيد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام المساري الثلاث من العلاقة:

$$I(nA) = K \cdot C(nM)$$

وذلك اعتماداً على معادلات المنحنيات العيارية عندما يكون التركيز محسوباً بواحدات nM

والتيار بواحدات nA التالية :

$$(DME \text{ مسرى}) I_p = -0.0079C - 0.6792$$

$$(SMDE \text{ مسرى}) I_p = -0.0022C - 0.2176$$

$$(HMDE \text{ مسرى}) I_p = -0.0008C - 0.6756$$

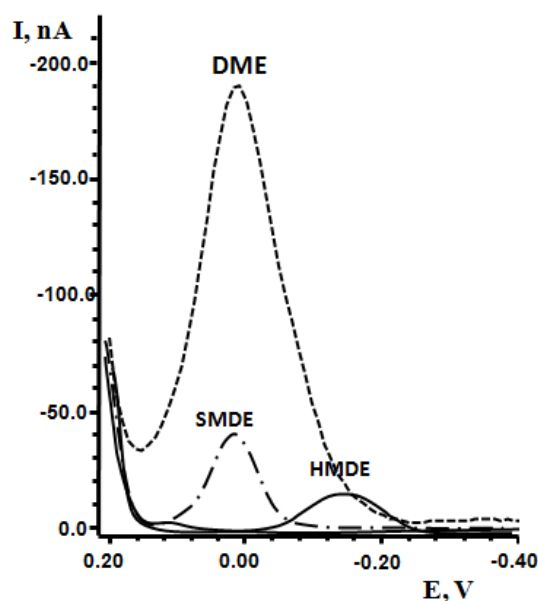
وكانت العلاقة بين ثوابت النفوذ للريباغليينيد على المساري الثلاث كالتالي :

$$K_{DME} = 9.875 K_{HMDE} = 3.591 K_{SMDE}$$

كما نستنتج من الدراسة السابقة أن معامل النفوذ k ولجميع التراكيز يكون أكبر في حال استخدام مسرى الزئبق القطار DME، ثم يليه عند استخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE، ثم مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE، انظر الشكل رقم (77).

ونعرض في الجدول رقم (13) أهم البيانات التي تدل على الدقة والحساسية للطريقة المقترحة

لتحديد الريباغليينيد على المساري الثلاث DME، SMDE، HMDE.



الشكل رقم (77)

تأثير نموذج المسرى في تيار القمة I_p وفي كمون القمة لأكسدة الريباغليينيد بتركيز 9.05 mg.L^{-1} بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة نبضة موجبة في وسط واقى فوسفاتي عند $\text{pH} = 7.0$.

الجدول رقم (13)

ملخص عن البيانات المحسوبة لدى تحديد مادة الريباغليينيد بشكلها النقي بالطريقة الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية على المساري DME، HMDE، SMDE .

النتائج			البيانات
SMDE	HMDE	DME	
1.00 – 28.0 μM 0.453 – 12.67 mg.L^{-1}	1.00 – 24.0 μM 0.453 – 10.86 mg.L^{-1}	0.8 – 32.79 μM 0.362 – 14.84 mg.L^{-1}	المجال الخطي
0.9998	0.9999	0.9998	معامل الارتباط R^2
المعادلة المرجعية: $I_p = mC + b$			
-4.9046	-1.8641	-17.209	الميل m (nA/ mg.L^{-1})
-0.0022	-0.0008	-0.0079	الميل m (nA/nM)
+0.2176	0.6756	-1.4833	الثابت (b)
0.117 μM 0.053 mg.L^{-1}	0.121 μM 0.055 mg.L^{-1}	0.093 μM 0.042 mg.L^{-1}	حد التحديد الكمي LOQ
0.356 μM 0.161 mg.L^{-1}	0.371 μM 0.168 mg.L^{-1}	0.279 μM 0.1265 mg.L^{-1}	حد الكشف LOD
3.5%	3.8%	3.3%	RSD%

إن هذه الدراسة تبين أن تحديد الريباغليينيد بالتحليل الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية يكون ممكناً باستخدام النماذج الثلاث للمساري، وأن القيم الكبيرة لتيار القمة (I_p) لأكسدة الريباغليينيد بالتحليل الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية على مسرى DME بالمقارنة مع قيمها باستخدام المسريين الآخرين سيؤدي إلى الحصول على نتائج تحليلية أفضل دقة وحساسية .

3- نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد:

درسنا العوامل المؤثرة لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى الزئبق . ووجدنا أن الخواص الكهركيميائية له على مسرى الزئبق القطار ومسرى قطرة الزئبق الساكنة تختلف عن الخواص الكهركيميائية على مسرى قطرة الزئبق المعلقة ، لذلك قمنا بدراسة كلتا الحالتين دراسة مفصلة وبيئنا التفاعلات الكهركيميائية في كلتا الحالتين مع التفسير.

أولاً: دراسة العوامل المؤثرة على تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بالتحليل الفولط

أمبيرومترى النبضي باستخدام مسرى DME و SMDE:

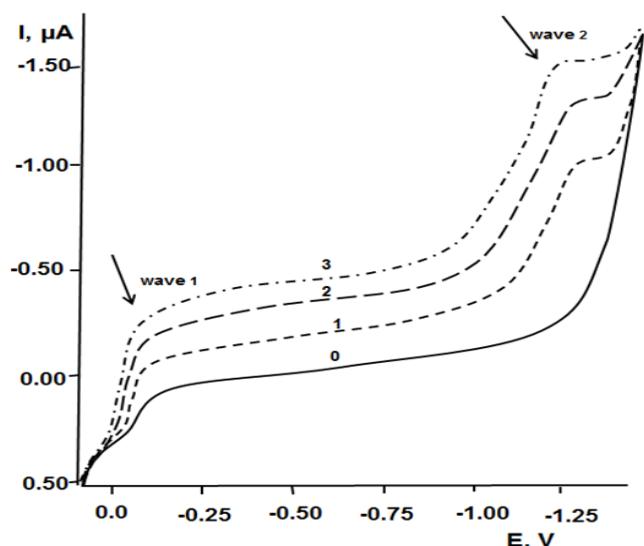
1- تأثير طرائق التحليل الفولط أمبيرومترى:

The Effect of Voltammetric Methods

درسنا تأثير طرائق التحليل الفولط أمبيرومترى الآتية لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد pioglitazone HCl (PGZ-HCl) في وسط مائي يحتوي على ميتانول بنسبة 32% بوجود وافي بريتون روبنسون B-R بتركيز 0.1M عند pH = 6.0 :

1-1 التحليل الفولط أمبيرومترى بتيار مباشر (DC) Direct Current Voltammetric (DC)

حصلنا على المنحنيات الفولط أمبيرومترية الموضحة في الشكل رقم (78)، نلاحظ من هذا الشكل أن البيوغليتازون هيدروكلوريد يعطي موجتي ارجاع الأولى wave₁ عند كمون نصف موجة E_{1/2} يتراوح ما بين 0.0mV إلى -20mV ، والثانية wave₂ عند كمون نصف موجة E_{1/2} يتراوح ما بين -1100mV إلى -1200 mV بالتحليل الفولط أمبيرومترى بتيار مباشر (الكلاسيكي) .



الشكل رقم (78)

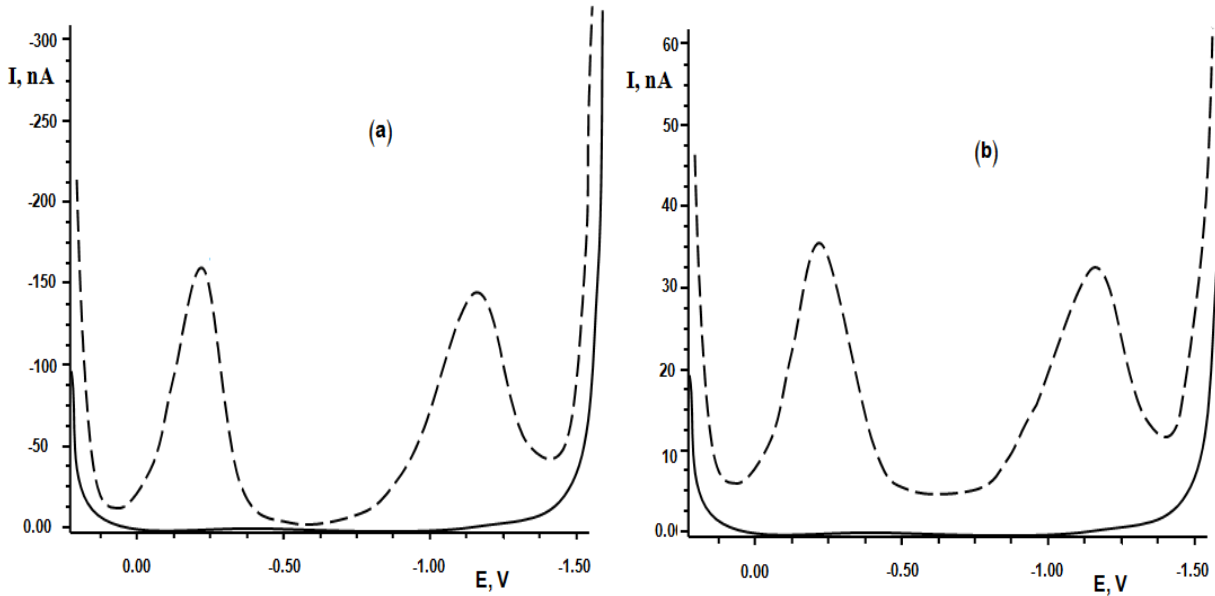
المنحنيات الفولط أمبيرومترية الكلاسيكية للبيوغليتازون هيدروكلوريد في وسط مائي عضوي (وافي بريتوني 0.1M مع الميتانول 32% v:v) عند pH 6.0 باستخدام مسرى الزئبق القطار DME للتركيز:

0 - 0.0 ؛ 1 - 8.0 ؛ 2 - 12.8 ؛ 3 - 16.0 mg.L⁻¹ .

2-1- التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي:

Differential Pulse Voltammetric (DPV)

استخدمنا طريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي DPV مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP ومع سعة سالبة وثابتة للنبضات DPVNP لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد، انظر الشكل رقم (79)، نلاحظ من هذا الشكل أن البيوغليتازون هيدروكلوريد يعطي قمتي ارجاع الأولى $peak_1$ عند كمون قمة Ep_1 يتراوح ما بين $-50mV$ إلى $-100mV$ ، والثانية $peak_2$ عند كمون قمة Ep_2 يتراوح ما بين $-975mV$ إلى $-1150mV$ ، نلاحظ من هذا الشكل أن القمتين الناتجتين لدى تطبيق نبضة ذات سعة موجبة تكون أكثر حدة وتناظراً وذات ارتفاعات أكبر بالمقارنة مع القمتين الناتجتين لدى تطبيق نبضة ذات سعة سالبة DPPNP، ولهذا تم إجراء الدراسة باختيار التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP.



الشكل رقم (79)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية للبيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز $16 mg.L^{-1}$ في وسط مائي/عضوي (واقي بريوني $0.1M$ مع الميثانول $32\% v:v$) عند $pH 6.0$ باستخدام مسرى DME:

. DPVNP (b)، DPVPP (a)

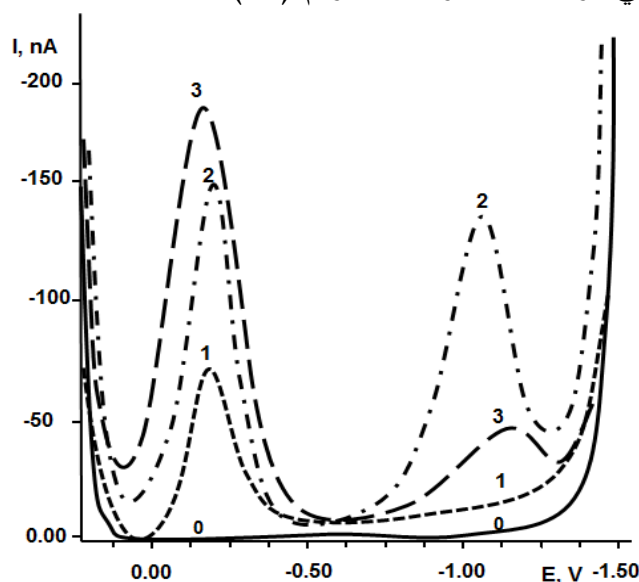
2- التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات

Differential pulse Voltammetric with Positive Polarity DPVPP

2-1- تأثير نوع وتركيز الكهرليت:

The Effect of Electrolyte Type and its Concentration

درسنا تأثير نوع الكهرليت في المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات للبيوغليتازون هيدروكلوريد PGZ-HCl وفقاً لما يلي: جربنا العديد من الكهرليات نذكر منها: الوافي الخلي، الوافي الفوسفاتي و وافي بريتون روبنسون B-R وجميعها محضرة بتركيز 0.1 M، إلا أن وافي بريتون روبنسون B-R كان الأفضل من حيث حدة القمة الفولط أمبيرومترية وتناظرها ومعامل النفوذ وتأثر كمن القمة بتغيرات التركيز للمادة المدروسة، وبناءً على هذه النتائج اخترنا وافي بريتون روبنسون B-R في دراستنا، انظر الشكل رقم (80).

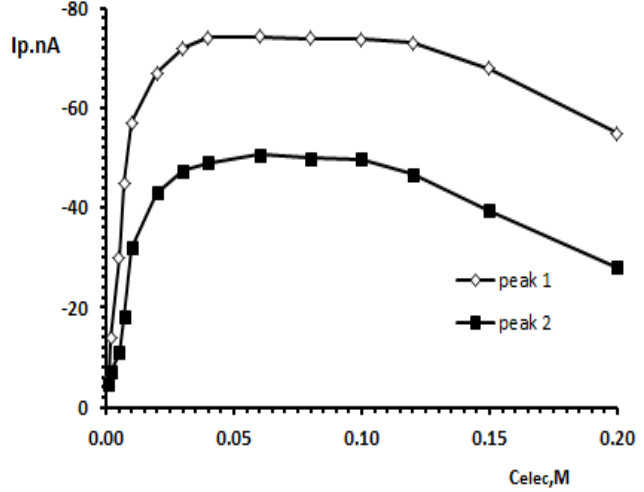


الشكل رقم (80)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية للبيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 16mg.L^{-1} في مختلف الأوساط المائية: (0) - كهرليت الوافي البريتوني بدون بيوغليتازون ، (1) - وافي خلي، (2) - وافي بريتوني ، (3) وافي فوسفاتي

درسنا تأثير تركيز الكهرليت المفضل وافي بريتون روبنسون B-R في المنحنيات الفولط أمبيرومترية PGZ-HCl ؛ حيث حضرنا محلولاً منه بتركيز أساسي 0.5M ومنه حضرنا التراكيز المدروسة. تم العمل في حجم ثابت للخلية مقداره 25mL وتمت الدراسة عند تركيز ثابت للمادة الفعالة في الخلية مقداره 7.87mg.L^{-1} ، كما هو موضح في الشكل رقم (81).

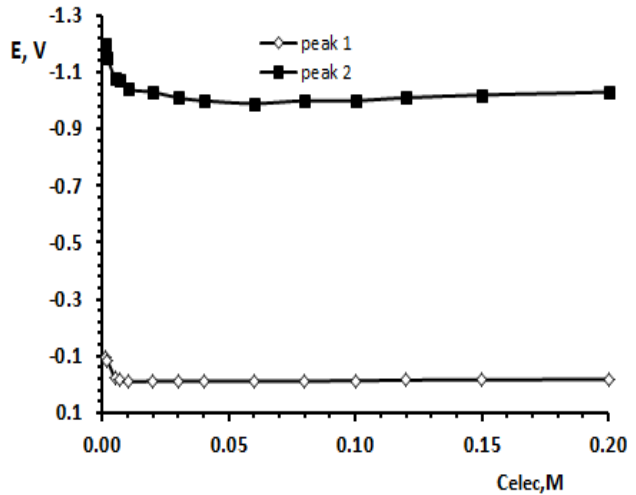
الشكل رقم (81)
تأثير تركيز الكهرليت في I_p لإرجاع
البيوغليتازون هيدروكلوريد بطريقة
التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي
التفاضلي في وسط وافي بريتون
روبسون B-R عند pH 6 والحوي
على 32% من الميتانول.



نلاحظ من هذا الشكل أن كلاً من تيار القمة I_{p1} و تيار القمة I_{p2} يزداد بازدياد تركيز الكهرليت حتى التركيز 0.03M ، ثم يصبح تيار القمتين ثابتاً حتى التركيز 0.12M ثم يتناقص بعدها، وكانت القيمة 0.1M هي المفضلة.

درسنا تأثير تركيز الوافي بريتون روبسون B-R في كموني القمة E_{p1} و E_{p2} للبيوغليتازون هيدروكلوريد PGZ-HCl . ووجدنا أن كمون القمة الأولى E_{p1} وكمون الثانية E_{p2} يتناقص بازدياد تركيز الكهرليت حتى التركيز 0.03M ، ثم يصبح E_{p1} و E_{p2} ثابتاً بعدها، كما هو موضح في الشكل رقم (82)، وبناءً على ذلك فإن الوافي البريتوني هو الوافي المفضل عند التركيز 0.1 M.

الشكل رقم (82)
تأثير تركيز الكهرليت في E_p لإرجاع
البيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز
7.87 mg.L⁻¹ بطريقة التحليل الفولط
أمبيرومترى النبضي التفاضلي في وسط وافي
بريتون روبسون B-R عند pH 6.0
والحوي على 32% من الميتانول.



2-2- تأثير نوع الوسط:

The Effect of Meduim Sort

درسنا تأثير نوع الوسط في تيار القميتين المهبطيتين للبيوغليتازون هيدروكلوريد ؛ حيث وجدنا أن القمة الأولى $peak_1$ تتأثر بشكل كبير بنوع الوسط ، أما القمة الثانية $peak_2$ فهي لا تتأثر كثيراً بنوع الوسط، درسنا إمكانية إضافة الميثانول كعامل مساعد على الانحلال في الخلية (لأن المادة المدروسة تترسب في التراكيز المرتفعة داخل الخلية بعد إجراء المسح الكموني) لذلك أضفنا الميثانول بحجم مدروس إلى الكهرليت وعند درجة حموضة محددة. وبإضافة الميثانول نلاحظ أن خط القاعدة يصبح أصغر وبالتالي نلغي التداخل الحاصل بين القميتين عند التراكيز المرتفعة للمادة في الخلية. ووجدنا أن النسبة الأمثل للميثانول هي 32% من محلول الكهرليت، ونبين في الجدول رقم (14) نتائج هذه الدراسة.

الجدول رقم (14)

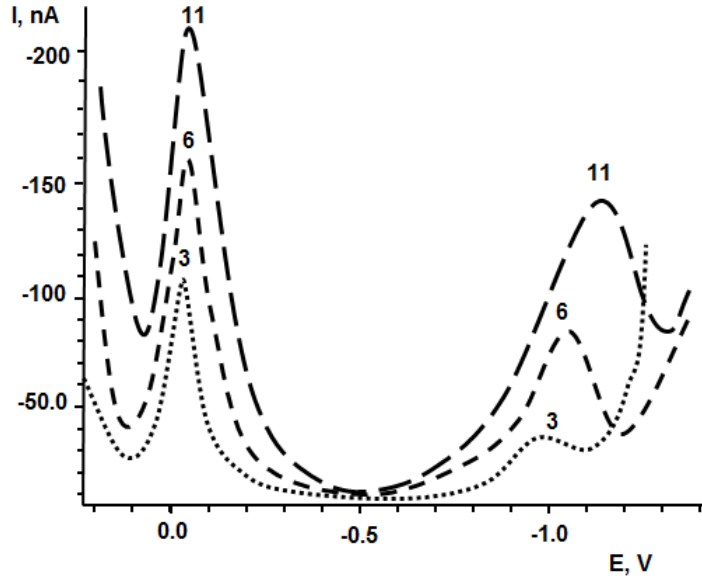
تأثير نسبة الميثانول المضاف إلى الخلية

النسبة المئوية للميثانول V%	مشاهدة محتوى الخلية
4% - 20%	تظهر عكارة في التراكيز المرتفعة بعد إجراء المسح الكموني
24%	تبدأ العكارة بالاختفاء بعد إجراء المسح الكموني
28% - 36%	تختفي العكارة تماماً بعد إجراء المسح الكموني
36% - 52%	تختفي العكارة ولكن تتذبل القمة وتصبح عريضة جداً بعد إجراء المسح الكموني

2-3- تأثير pH الوسط على القمم المهبطية:

The Effect of pH on Cathodic Peaks

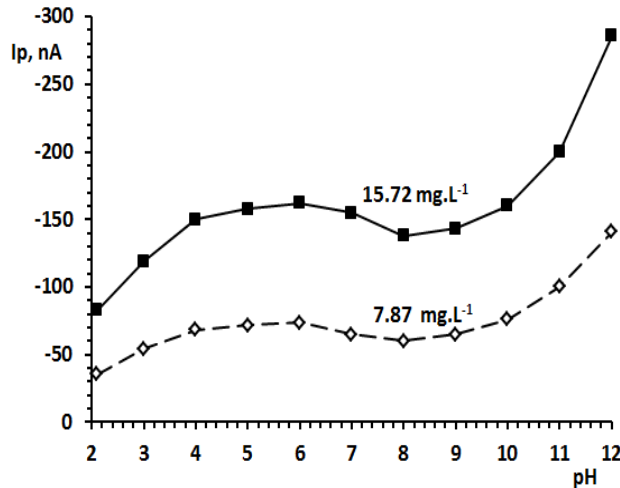
درسنا تأثير pH الوسط في كل من كمون القمة E_p وتيار القمة I_p للبيوغليتازون هيدروكلوريد من أجل التركيزيين 7.87 mg.L^{-1} و 15.72 mg.L^{-1} ، في وسط مائي/عضوي (واقى بريتوني 0.1 M وميثانول 32% v:v) عند قيم pH تراوحت ما بين 2.0 إلى 12.0 ، بطريقة التحليل الفولط أمبيرومتري النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP على مسرى الزئبق القطار DME وبتطبيق سرعة مسح 10 mV.s^{-1} ضمن مجال للكمون من $+200\text{mV}$ إلى -1500mV وسعة نبضة موجبة 60mV وزمن نبضة 40 ms ، ولاحظنا ظهور قمتي ارجاع الأولى عند كمون قمة E_{p1} يتراوح ما بين 8 mV و -50mV والثانية عند كمون قمة E_{p2} يتراوح ما بين -975mV إلى -1150mV ، انظر الشكل رقم(83)، كما لاحظنا أنه عند قيمة pH 6.0 تكون القمم أكثر تناظراً وحدةً من باقي قيم pH لذلك تم اختيار pH 6.0 كقيمة مفضلة لدراسة القميتين معاً.



الشكل رقم (83)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية للبيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 15.72 mg.L^{-1} في وسط وافي بريتوني 0.1M مع الميتانول بنسبة 32% وسعة نبضة موجبة 60mV عند قيم pH مختلفة مبينة في الشكل.

نلاحظ من المنحنيات الموضحة في الشكل رقم (83) أن تيار القمة الأولى I_{p1} يزداد مع ازدياد قيمة pH الوسط من 2.0 إلى 4.0 ، وبعدها يصبح شبه ثابتاً ضمن مجال pH من 4.0 إلى 9.0 ليزداد بعدها مع ازدياد الـ pH حتى القيمة 12.0، كما هو مبين في الشكل رقم (84). إلا أن تناظر القمة يتناقص بعد قيمة pH 8.0 ، كما أنها تصبح عريضة لذلك تم اختيار قيمة pH 6.0 كقيمة مفضلة من حيث شكل القمة وثبات تيارها.



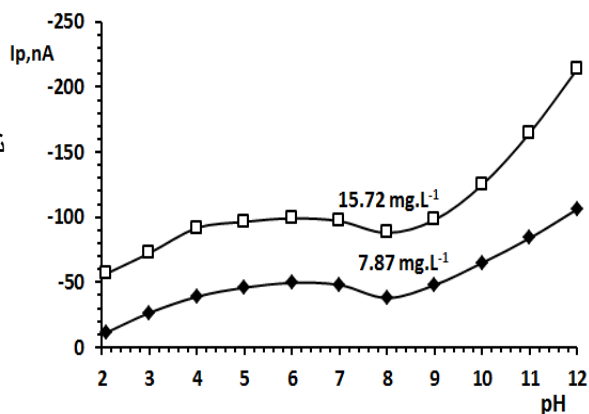
الشكل رقم (84)

تأثير pH المحلول في تيار القمة الأولى I_{p1} لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي على مسرى DME في وسط مائي/عضوي (وافي بريتوني 0.1M مع الميتانول 32%).

كما نلاحظ من المنحنيات الموضحة في الشكل رقم (83) أن تيار القمة الثانية I_{p2} يزداد بشكل طفيف مع ازدياد pH الوسط من 2.0 إلى 5.0 ، وبعدها يصبح شبه ثابت ضمن مجال pH من 5.0 إلى 7.0 ويتناقص قليلاً حتى pH 8.0 ليزداد بعدها مع ازدياد pH حتى القيمة 12.0، انظر الشكل رقم (85). إلا أن تناظر القمة يتناقص بعد قيمة pH 8.0 ، كما أنها تصبح عريضة بشكل كبير.

الشكل رقم (85)

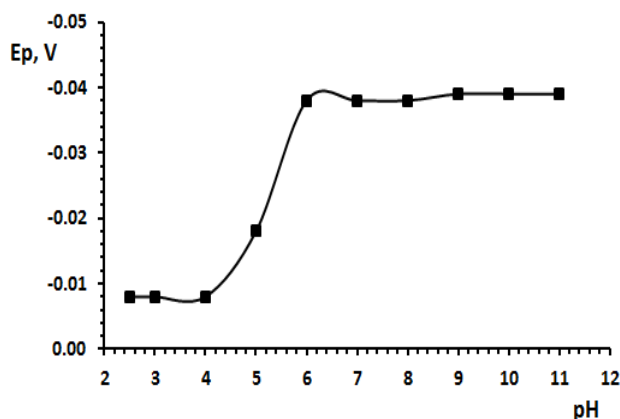
تأثير pH المحلول في تيار القمة الثانية I_{p2} لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME في وسط مائي عضوي (وافي بريوني 0.1M مع الميثانول 32% v:v).



كما نلاحظ من الشكل رقم (86) والذي يظهر العلاقة ما بين كمون القمة E_p بدلالة pH المحلول أن كمون القمة الأولى E_{p1} يكون ثابتاً ضمن مجال pH 2.0 – 4.0 ، ثم ينزاح كمون القمة بالاتجاه الأكثر سلبية مع ازدياد قيمة الـ pH حتى 6.0 لينتج بعدها ، مما يدل على أن العملية المسروية الحاصلة على المسرى كهركيميائية تشترك فيها البروتونات الموجودة في الوسط.

الشكل رقم (86)

تأثير pH المحلول في كمون القمة الأولى E_{p1} لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 15.72 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME في وسط مائي عضوي (وافي بريوني 0.1M مع الميثانول 32% v:v).



كما نلاحظ من الشكل رقم (87) والذي يظهر العلاقة ما بين كمون القمة E_p بدلالة pH المحلول أن كمون القمة الثانية E_{p2} يكون متناسباً طردياً خطياً مع قيمة الـ pH ضمن مجال pH 2.0 – 5.0 ؛ حيث المعادلة الممثلة للخطية:

$$E_{p2,1} = -0.9487 - 0.0103\text{pH} , (R^2=0.9994)$$

ثم ينزاح كمون القمة بالاتجاه الأكثر سلبية على شكل قفزة كمونية مع ازدياد قيمة الـ pH بين 5.0 حتى 6.0 ، وهذا المجال الضيق يوافق قيمة ثابت التشرّد للبيوغليتازون هيدروكلوريد pK_a 5.95. وبعد قيمة

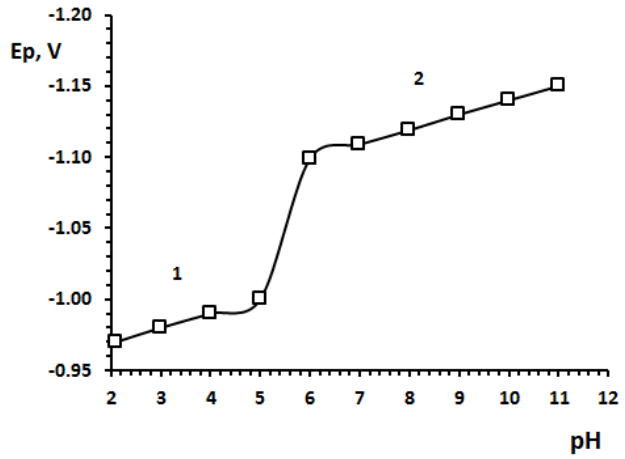
pH 6.0 يعود ليزداد كمون القمة طردياً خطياً مع زيادة قيمة الـ pH ضمن المجال 6.0- 12.0؛ حيث المعادلة الممثلة للخطية:

$$E_{p2,2} = -1.0373 - 0.0103\text{pH} , (R^2=0.9998)$$

وميل المنحني العياري الممثل للخطية في كلتا الحالتين هو 0.0103 V/pH أي أن ميل المنحني العياري هو 10.3 mV لكل وحدة pH مما يدل على أن العملية المسروية خاضعة لنظام لعاكوس على مسرى الزئبق القطار DME، كما أن الانزياح نحو الاتجاه الأكثر سلبية للكمون بقيمة ثابتة يدل على أن عدد الالكترونات والبروتونات المتبادلة متساوٍ في تفاعل الارجاع للبيوغليتازون هيدروكلوريد.

الشكل رقم (87)

تأثير pH المحلول في كمون القمة الثانية E_{p2} لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 15.72 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME في وسط مائي عضوي (وافي بريتوني 0.1M مع الميثانول 32% v:v).



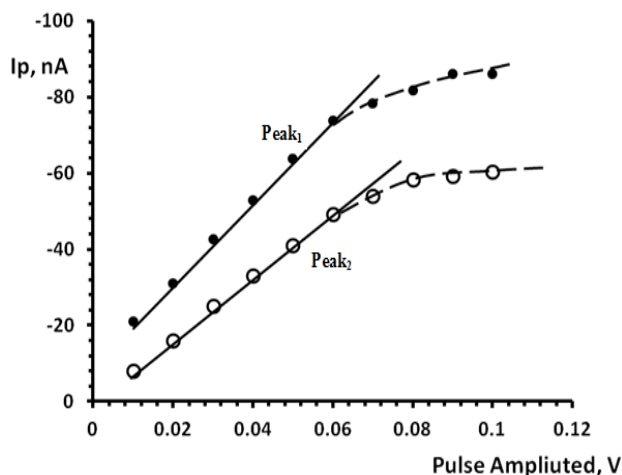
The Effect of Pulse Amplitude (P.A.)

4-2- تأثير سعة النبضة:

درسنا تأثير سعة النبضة الموجبة والسالبة في قيمة I_p لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 7.87 mg.L^{-1} في وسط مائي/عضوي (وافي بريتوني 0.1M مع الميثانول 32% v:v) عند pH 6.0، بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP ومع سعة سالبة وثابتة للنبضات DPVNP على مسرى الزئبق القطار DME وبتطبيق سرعة مسح 10 mV.s^{-1} في المجال الكموني +200mV و -1500 mV وزمن نبضة 40 ms ، ولاحظنا ظهور قمتي ارجاع الأولى عند كمون قمة E_{p1} يتراوح ما بين -8mV و -50mV ، والثانية عند كمون قمة E_{p2} يتراوح ما بين -975mV و -1150mV ، ووجدنا أن تيار القمة الأولى I_{p1} يزداد طردياً خطياً بازدياد سعة النبضة الموجبة حتى القيمة 70 mV ثم ينحرف عن الخطية بعدها، وأن تيار القمة الثانية I_{p2} يزداد طردياً خطياً بازدياد سعة النبضة الموجبة حتى القيمة 60 mV ، ثم ينحرف عن الخطية بعدها، انظر الشكل رقم (88). واخترنا قيمة مفضلة لسعة النبضة تساوي 60 mV لأنها أعطت قمتين أكثر حدة وتناظراً وحساسيةً بالنسبة لتيار القمة.

الشكل رقم (88)

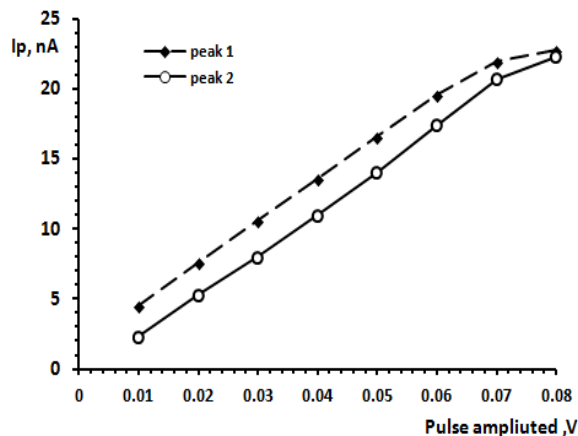
تأثير سعة النبضة الموجبة في تيار القمتين I_{p1} و I_{p2} لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 7.87 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي في وسط واقي بريتون روبنسون B-R تركيزه 0.1M والحاوي على 32% من الميتانول.



ولدى دراسة تأثير سعة النبضة السالبة على المسرى، وجدنا أن تيار القمة الأولى I_{p1} وتيار القمة الثانية I_{p2} يزدان بازياد سعة النبضة السالبة حتى السعة -70 mV ثم يحصل انحراف عن الخطية بعدها، إلا أن تطبيق النبضة السالبة تظهر قمتين أقل تناظراً بكثير منه عند تطبيق نبضة ذات سعة موجبة، وأن قيمة تيارات القمم الناتجة كانت صغيرة جداً مقارنة مع تيارات القمم عند تطبيق النبضة ذات السعة الموجبة، انظر الشكل رقم (89). وبما أن ارتفاع القمتين تتأثر كثيراً بقيمة سعة النبضة المطبقة على المسرى لذلك تم اعتماد النبضة الموجبة في التحديد الكمي والتطبيق الدوائي تبعاً لشكل القمة وتناظرها وارتفاعها .

الشكل رقم (89)

تأثير سعة النبضة السالبة في تيار القمتين I_{p1} و I_{p2} لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 7.87 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي في وسط واقي بريتون روبنسون B-R تركيزه 0.1M والحاوي على 32% من الميتانول.



The Effect of Positive Pulse time (P.T)

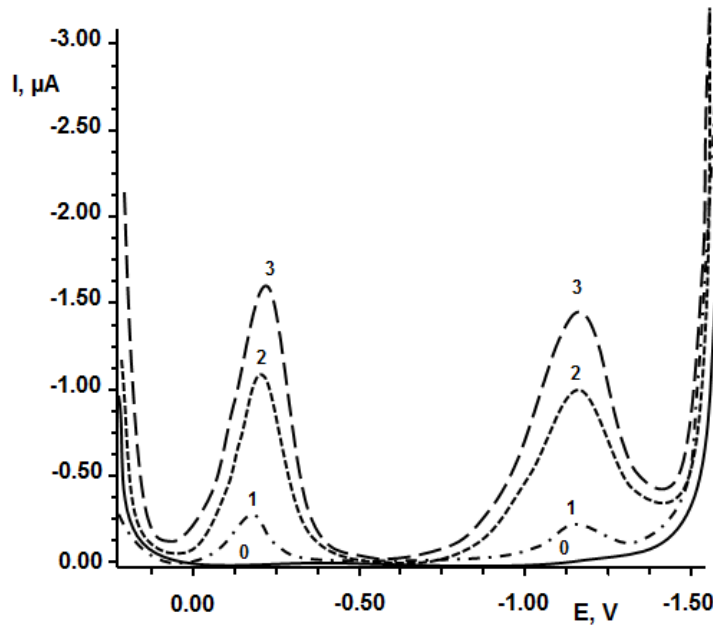
2-5- تأثير زمن النبضة الموجبة:

درسنا تأثير زمن النبضة الموجبة في قيمة I_{p1} و I_{p2} لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 7.87 mg.L^{-1} في وسط واقي بريتوني 0.1 M يحتوي على ميتانول بنسبة 32% عند $\text{pH } 6.0$ ، بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى الزئبق القطار DME وتطبيق سرعة مسح 10 mV/S ، ووجدنا أن قيمتي التيار للقمتين يتناقصان تدريجياً من القيمة 0.01 s إلى 0.04 sec ليثبت التيار بعدها، لذلك تم اختيار قيمة زمن النبضة عند ثبات التيار أي عند 0.04 s ، انظر الشكل رقم (90) .

3- دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى الزئبق القطار DME

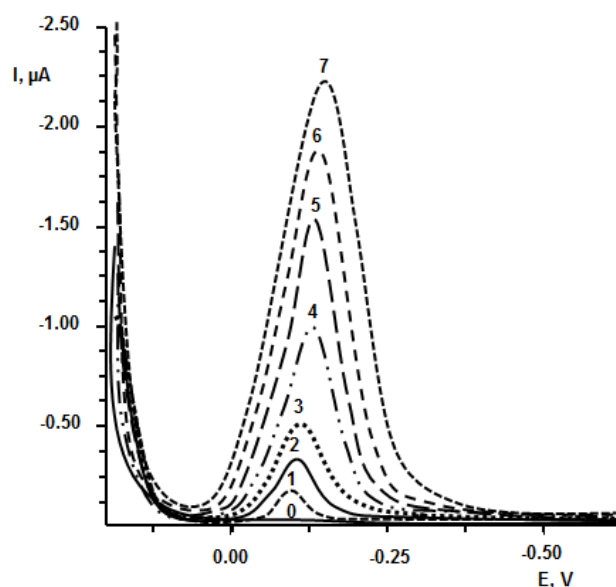
Differential pulse Voltammograms with positive polarity using DME

درسنا التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات (DPVPP) على مسرى DME لتحديد بيوغلينازون هيدروكلوريد PGZ-HCl بتركيز مختلفة من تركيز أساسي لها محضر 400mg.L^{-1} في وسط واقى بريوني يحتوي على الميثانول كعامل مساعد على الانحلال بنسبة 32% (v:v) وسعة نبضة موجبة 60 mV وزمن نبضة 0.04sec وسرعة مسح كموني 10mV.s^{-1} وكمون بداية المسح +200 mV وكمون نهاية المسح -1500 mV عند pH 6.0 ، ووجدنا أنه مادة البيوغلينازون هيدروكلوريد تعطي قمتي ارجاع الأولى عند كمون قمة E_{p1} تراوح ما بين -50 mV و -150mV وكمون القمة الثانية E_{p2} تراوح ما بين -975 mV و -1150 mV، انظر الأشكال رقم (91- 93)، حيث يوضح الشكل رقم (91) القمتين معاً.



الشكل رقم (91)

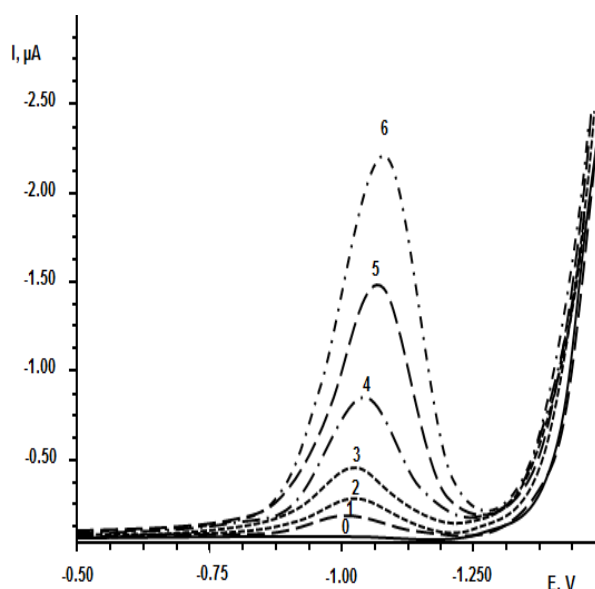
المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية للقمتين الأولى I_{p1} والثانية I_{p2} لإرجاع البيوغلينازون هيدروكلوريد مع سعة نبضة موجبة 60mV على مسرى DME في وسط واقى من بريون رونسون B-R تركيزه 0.1M يحتوي ميثانول بنسبة 32% عند pH=6.0 للتركيز:
-0 ، 16 -1 ، 96 -2 ، 144 -3 mg.L^{-1} .



الشكل رقم (92)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية للقيمة الأولى Ip_1 لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد مع سعة نبضة موجبة 60mV على مسرى DME في وسط واقى من بريتون روبنسون B-R تركيزه 0.1M يحتوي ميثانول بنسبة 32% عند pH=6.0 للتراكيز:

0.0 - 0 ، 16 - 1 ، 32 - 2 ، 40 - 3 ، 64 - 4 ، 128 - 5 ، 192 - 6 ، 224 - 7 $.mg.L^{-1}$



الشكل رقم (93)

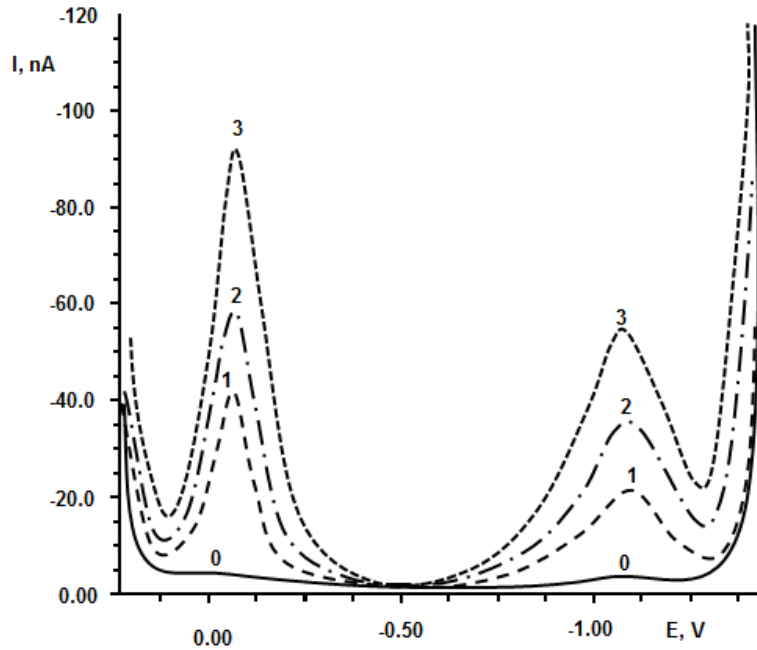
المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية للقيمة الثانية Ip_2 لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد مع سعة نبضة موجبة 60mV على مسرى DME في وسط واقى من بريتون روبنسون B-R تركيزه 0.1M يحتوي ميثانول بنسبة 32% عند pH=6.0 للتراكيز:

0.0 - 0 ، 3.2 - 1 ، 16 - 2 ، 40 - 3 ، 96 - 4 ، 144 - 5 ، 224 - 6 $.mg.L^{-1}$

4- دراسة المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE

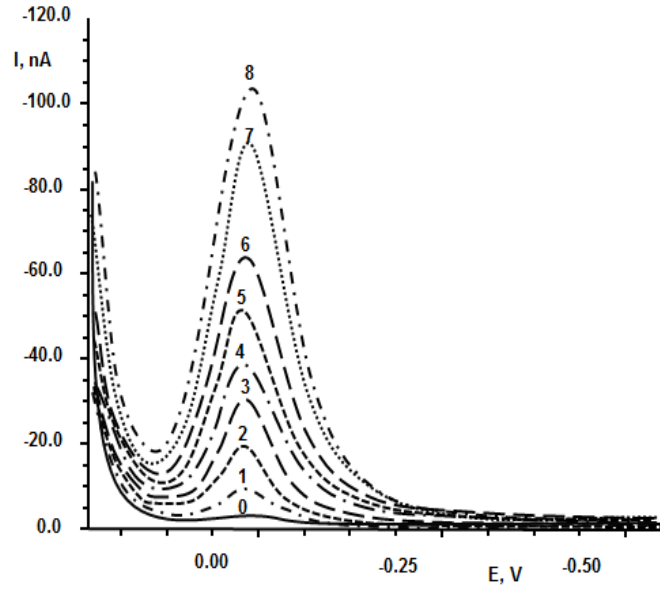
Differential pulse Voltammograms with Positive Polarity using SMDE

درسنا التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات (DPVPP) على مسرى SMDE لتحديد بيوغليتازون هيدروكلوريد PGZ-HCl بتراكيز مختلفة من تركيز أساسي لها محضر 400mg.L^{-1} في وسط واقى بريتنوني تركيزه 0.1M يحتوي على الميتانول كعامل مساعد على الانحلال بنسبة 32% (v:v) وسعة نبضة كمونية موجبة 60 mV وزمن نبضة 0.04sec وسرعة مسح كموني 10mV.s^{-1} وكمون بداية $+200\text{ mV}$ وكمون نهاية -1500 mV عند $\text{pH } 6.0$ (نفس الشروط المدروسة على مسرى DME). ووجدنا أنه مادة البيوغليتازون هيدروكلوريد تعطي قمتي ارجاع الأولى عند كمون قمة $E_{p1} = -100 \pm 8\text{ mV}$ والثانية عند كمون قمة $E_{p2} = -1050 \pm 50\text{ mV}$ ، ولكن لاحظنا أن القمم تكون أكثر حدةً وتناظراً لدى اجراء التحليل على مسرى الزئبق القطار، انظر الأشكال رقم (94-96)؛ حيث أن الشكل (94) يوضح ظهور القمتين معاً.



الشكل رقم (94)

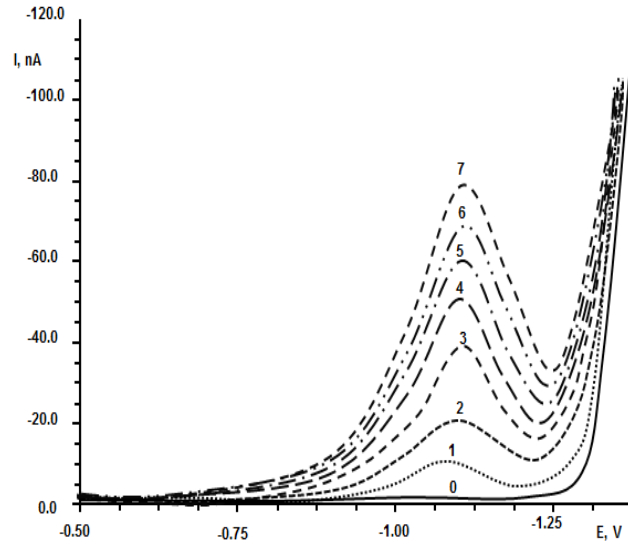
المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية للقمتين الأولى I_{p1} والثانية I_{p2} لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد مع سعة نبضة موجبة 60mV على مسرى SMDE في وسط واقى من بريتنون روبنسون B-R تركيزه 0.1M يحتوي ميتانول بنسبة 32% عند $\text{pH}=6.0$ للتركيز:
 $0.0 - 0$ ، $9.6 - 1$ ، $16 - 2$ ، $24 - 3$ mg.L^{-1}



الشكل رقم (95)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية للقيمة الأولى Ip_1 لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد مع سعة نبضة موجبة 60mV على مسرى $SMDE$ في وسط واقى من بریتون روبنسون B-R تركيزه 0.1M يحتوي ميثانول بنسبة 32% عند $\text{pH}=6.0$ للتركيز:

$0.0 - 0$ ، $3.2 - 1$ ، $6.4 - 2$ ، $9.6 - 3$ ، $12.8 - 4$ ، $16 - 5$ ، $19.2 - 6$ ، $24 - 7$ ، $28.8 - 8$ mg.L^{-1}



الشكل رقم (96)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية للقيمة الثانية Ip_2 لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد مع سعة نبضة موجبة 60mV على مسرى $SMDE$ في وسط واقى من بریتون روبنسون B-R تركيزه 0.1M يحتوي ميثانول بنسبة 32% عند $\text{pH}=6.0$ للتركيز:

$0.0 - 0$ ، $1.6 - 1$ ، $6.4 - 2$ ، $16 - 3$ ، $19.2 - 4$ ، $24 - 5$ ، $28.8 - 6$ ، $32 - 7$ mg.L^{-1}

لدى دراسة تأثير نوع المسرى على العملية المسروية الإرجاعية وجدنا أن:

- القمة الأولى I_{p1} التي ظهرت عند كمون قمة $E_{p1} = -100 \text{ mV}$ على مسرى الزئبق القطار ومسرى قطرة الزئبق الساكنة ولكنها تتزاح وتظهر عند كمون جديد $E_{p1} = -250 \text{ mV}$ على مسرى قطرة الزئبق المعلقة وتصبح القمة الناتجة أقل ارتفاعاً وأقل حدةً .
- القمة الثانية I_{p2} للبيوغليتازون هيدروكلوريد التي ظهرت عند كمون قمة $E_{p2} = -1050 \text{ mV}$ على مسرى الزئبق القطار DME ومسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE فإنها اختفت ولم تظهر على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE .
- لاحظنا ظهور قمة جديدة مجاورة للقمة الأولى عند كمون $E_{p3} = -500 \pm 50 \text{ mV}$ على مسرى قطرة الزئبق المعلقة؛ حيث ان هذه القمة تكون حادة جداً ومتناظرة مقارنة مع القمة الأولى التي ظهرت على كافة أنواع مسارى الزئبق ومقارنة مع القمة الثانية التي ظهرت على مسرى DME و SMDE ولم تُلحظ هذه القمة الا باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة.
- لدى دراسة تأثير كمون التراكم على مسرى قطرة الزئبق المعلقة لاحظنا أن القمة الثالثة I_{p3} تظهر بشكل واضح وتكون متناظرة بالتزامن مع اختفاء القمة الأولى I_{p1} على مسرى HMDE .
- بناءً على ما سبق فقد درسنا العوامل المؤثرة على ارجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى HMDE .

ثانياً: دراسة العوامل المؤثرة على تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي باستخدام مسرى HMDE:

درسنا الشروط المثلى بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE واعتمدنا على بعض الدراسات التي اجريناها على مسرى DME و SMDE من نوع الوسط وتركيزه، لكي نتمكن من المقارنة بين المسارى الثلاثة ضمن شروط متقاربة، بالإضافة إلى أن نوع الوسط الذي تم اختياره في هذه الدراسة وهو وسط مائي من وافي برينوني تركيزه 0.1 M ولايحتوي على الميثانول لأن التراكيز المستخدمة صغيرة في التحليل الفولط امبيرومترى التراكمي.

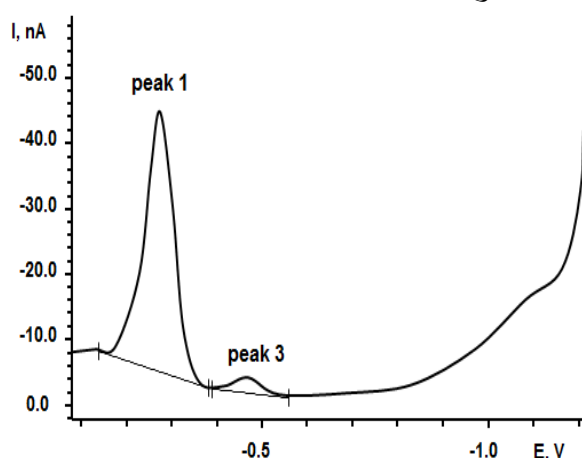
1- التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى HMDE:

Differential Pulse Voltammetric Analysis on HMDE

درسنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية بالتراكم الادمصاصي للبيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE في المجال 0.0 V إلى -1.0 V وفقاً للشروط التالية : سعة نبضة موجبة 60 mV ، زمن النبضة 40 ms ، سرعة مسح الكمون 10 mV.s^{-1} ، الكهرليت المستخدم بريتون روبنسون B-R محضرة بتركيز 0.1 M ، $\text{pH } 7.5$ ، وزمن تراكم $E_{\text{time}}=150 \text{ sec}$.

أ- عند تطبيق كمون تراكم $E_{acc.} = -0.8 \text{ V}$:

وجدنا أنه مادة البيوغليتازون هيدروكلوريد PGZ-HCl تعطي قمتي ارجاع الأولى عند كمون قمة Ep_1 يتراوح ما بين -200 mV و -250 mV وهي مماثلة للقمة الأولى التي ظهرت باستخدام المسريين SMDE و DME إلا أنها انزاحت باتجاه الكمون الأكثر سلبية وذلك نتيجة تغير pH الوسط من 6.0 إلى 7.5، واختفت القمة الثانية عند الكمون Ep_2 والذي يتراوح ما بين -975 mV و -1150 mV والتي ظهرت سابقاً على المسريين DME و SMDE، كما ظهرت قمة جديدة Ep_3 صغيرة عند الكمون -450 mV إلى -500 mV ، انظر الشكل رقم (97)، ولم ندرس المنحنيات الفولط أمبيرومترية والمنحني العياري للقمة الأولى عند تراكيز مختلفة نظراً لحساسيتها المنخفضة على مسرى HMDE مقارنة مع حساسيتها على المسريين SMDE و DME.

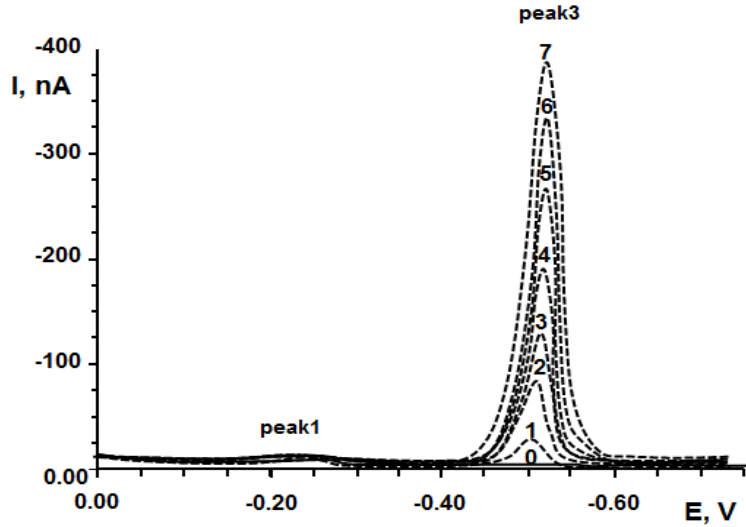


الشكل رقم (97)

المنحني الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بتركيز 2.06 mg.L^{-1} على مسرى HMDE عند كمون تراكم $E_{acc.} = -0.8 \text{ V}$ في وسط واقى من بريوني تركيزه 0.1 M عند $\text{pH} = 7.5$.

ب- عند تطبيق كمون تراكم $E_{acc.} = -1.55 \text{ V}$:

وجدنا انه عند تطبيق كمون التراكم $E_{acc.} = -1.55 \text{ V}$ أن مادة البيوغليتازون هيدروكلوريد PGZ-HCl تعطي أيضاً قمتي ارجاع الأولى عند كمون قمة Ep_1 يتراوح ما بين -200 mV و -250 mV ولكن هذه القمة كانت صغيرة جداً ولم نتمكن من استخدامها للتحديد الكمي، واختفت القمة الثانية Ep_2 والذي يتراوح كمونها ما بين -975 mV و -1150 mV (التي ظهرت على المسريين DME و SMDE)، كما ظهرت قمة جديدة Ep_3 حادة ومنتظرة عند الكمون -450 mV إلى -550 mV ، ناتجة عن ارجاع ذرة الكبريت في حلقة الثيازول الطرفية؛ حيث يشكل الكبريت مع الزئبق ملغمة عند كمون تراكم $E_{acc.} = -1.55 \text{ V}$ وهذه القمة لا تظهر إلا على مسرى قطرة الزئبق المعلقة، انظر الشكل رقم (98)؛ حيث تبين لنا وأثناء دراسة اتجاه المسح الكموني أن هذه القمة الأخيرة لا تظهر إلا في حال ظهرت القمة الأولى؛ حيث تظهر القمة الثالثة باختفاء القمة الأولى.



الشكل رقم (98)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى HMDE عند كمون تراكم $E_{acc.} = -1.55 \text{ V}$ في وسط واقى من بريتوني تركيزه 0.1 M عند $\text{pH} = 7.5$ للتركيز: $0.0 - 0, 0.4944 - 1, 0.66 - 2, 0.824 - 3, 1.236 - 4, 1.684 - 5, 2.060 - 6, 2.472 - 7 \text{ mg.L}^{-1}$.

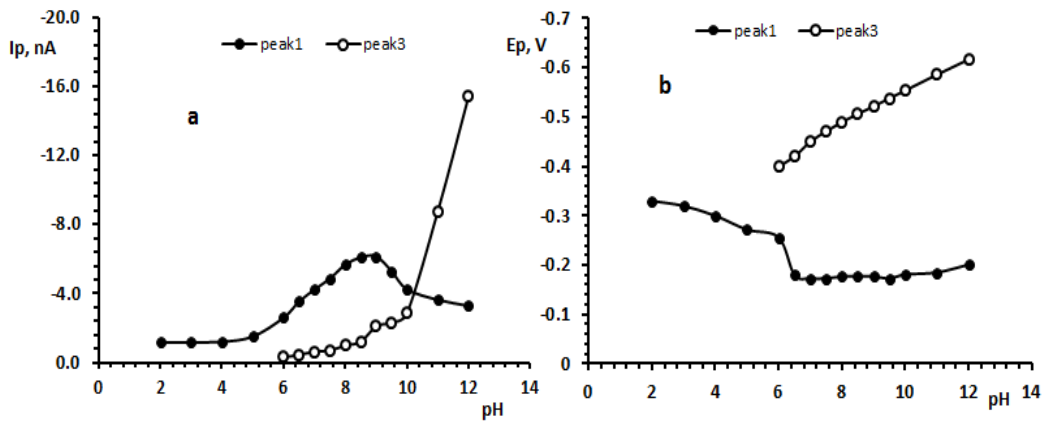
The Effect of pH

1-1- تأثير pH الوسط :

درسنا تأثير pH الوسط في كل من كمون وتيار القمة للبيوغليتازون هيدروكلوريد PGZ-HCl، في وسط مائي وبوجود واقى بريتون روبنسون B-R بتركيز 0.1 M من أجل قيم $\text{pH} 2.0 - 12.0$ بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضى التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE، وزمن ادمصاص 150 s ، وسرعة مسح 10 mV/s في المجال من 1500 mV إلى $+200$ وسعة نبضة موجبة 60 mV وزمن نبضة 40 ms ، وذلك بتطبيق كموني التراكم الأول عند -0.8 V والثاني عند -1.55 V ووجدنا أنه :

أ- عند تطبيق كمون تراكم -0.8 V :-

ينتج قمتي ارجاع الأولى عند كمون قمة تراوح بين -300 mV و -340 mV وتظهر هذه القمة عند $\text{pH} 2$ وتكون شبه ثابتة حتى $\text{pH} 4$ ، ثم يزداد تيار القمة بازدياد قيمة pH حتى 8 ثم يتناقص بعدها، في حين ينزاح كمون القمة نحو الكمون الأقل سلبية مع ازدياد قيمة pH الوسط ليصبح -200 mV وهي قمة واضحة بالنسبة للقمة الجديدة التي تظهر أيضاً عند كمون قمة تراوح بين -450 mV و -550 mV ، ابتداءً من $\text{pH} 6$ ويزداد تيار هذه القمة ببطء مع ازدياد قيمة pH المحلول حتى القيمة 10 pH ، ثم يزداد بحدة بعدها ويزداد أيضاً كمونها نحو القيم الأكثر سلبية، انظر الشكل رقم (99).

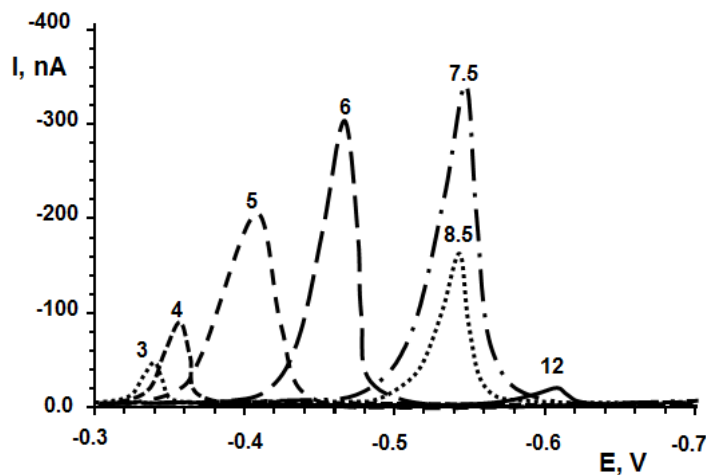


الشكل رقم (99)

تأثير pH الوسط في تيار وكمون القمة الأولى والثالثة عند تطبيق كمون تراكم -0.8 V لإرجاع PGZ-HCl بتركيز 2.06 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترية النبضي التفاضلي على مسرى HMDE في وسط وافي بريتوني 0.1 M : (a) - I_p بدلالة pH و (b) - E_p بدلالة pH .

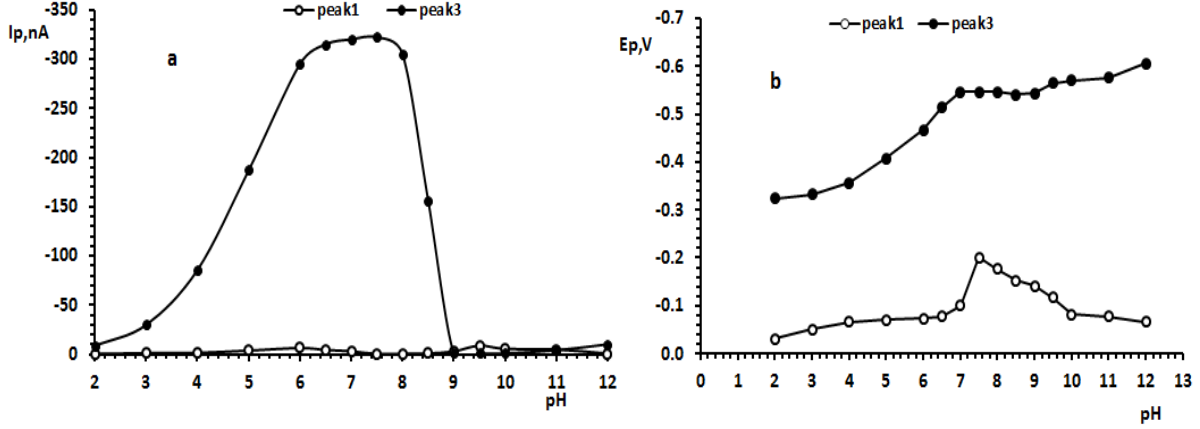
ب- عند تطبيق كمون تراكم -1.55 V :

نحصل على قمتي ارجاع الأولى عند كمون قمة E_{p1} يتراوح ما بين 30 mV إلى 100 mV - عند قيم pH تراوحت ما بين 2 إلى 7.0 وتيارها صغيرة جداً، والقمة الثانية الجديدة (الثالثة) عند كمون E_{p3} يتراوح ما بين 324 mV إلى 546 mV - عند قيم pH تراوحت ما بين 2 إلى 7.0، انظر الشكل رقم (100)، ويزداد تيارها بالقيمة المطلقة بازدياد قيمة pH الوسط حتى القيمة 6 ثم يثبت ضمن مجال pH (100)، أما كمون القمة فإنه يزداد بالاتجاه السالب حتى pH 7، ثم يثبت بعدها، انظر الشكل رقم (101).



الشكل رقم (100)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية للبيوغليتازون هيدروكلوريد للقمة الثالثة I_{p3} بتركيز 2.06 mg.L^{-1} في وسط وافي بريتوني 0.1 M على مسرى HMDE عند قيم pH مختلفة مبينة في الشكل.



الشكل رقم (101)

تأثير pH الوسط في تيار وكمون القمة الأولى والثالثة عند تطبيق كمون تراكم -1.55 V لإرجاع PGZ-HCl بتركيز 2.06 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى HMDE في وسط وافي بريتوني 0.1M : (a) I_p بدلالة pH و (b) E_p بدلالة pH .

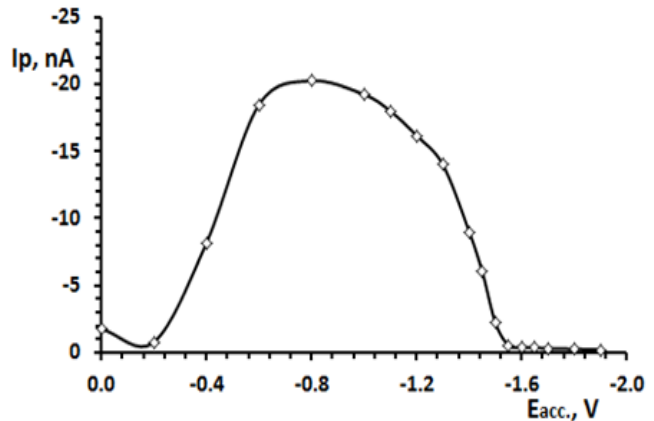
The Effect of Accumulation Potential

1-2- دراسة تأثير كمون التراكم:

درسنا تأثير كمون التراكم في تيار القمة (I_p) للبيوغليتازون هيدروكلوريد PGZ-HCl ، في وسط مائي وبوجود وافي بريتوني تركيزه 0.1M عند $\text{pH } 7.5$ ، بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات DPVPP على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE ضمن الجال 0.0V إلى -1.6 V وباتجاه تزايد الكمون وزمن ادمصاص 150s وسرعة مسح 10 mV/s وسعة نبضة موجبة 60mV وزمن نبضة 0.04sec ، فوجدنا أنه مادة البيوغليتازون هيدروكلوريد تعطي قمة ارجاع واحدة E_{p1} عند كمون يتراوح ما بين -200mV و -250mV وتظهر عند تطبيق كمون تراكم 0.0 V ويزداد تيار هذه القمة بالقيمة المطلقة اعتباراً من كمون تراكم -0.1 V لتبلغ قيمتها العظمى عند تطبيق كمون تراكم -0.6 V وتكون شبه ثابتة ضمن المجال لكمون التراكم من -0.6 V إلى -1.0 V ، ثم يتناقص تيار القمة بازدياد كمون التراكم حتى القيمة -1.6 V ، انظر الشكل رقم (102).

الشكل رقم (102)

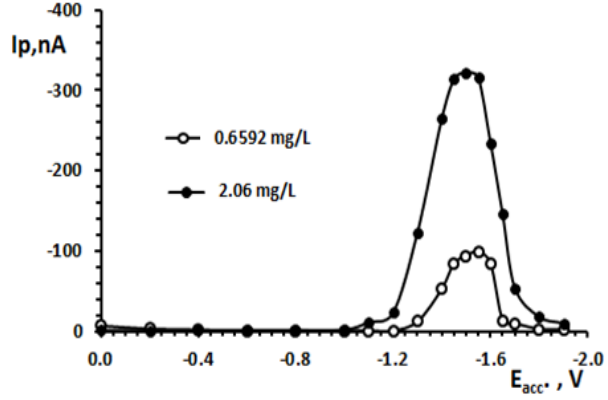
تأثير كمون التراكم E_{acc} في تيار القمة الأولى I_{p1} لإرجاع PGZ-HCl بتركيز 2.06 mg.L^{-1} بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى HMDE في وسط وافي بريتوني 0.1M عند $\text{pH } 7.5$.



ويبدأ ظهور القمة الثالثة الجديدة E_{p3} عند تطبيق كمون تراكم $-0.8 V$ ، ويزداد تيار هذه القمة بازدياد قيمة كمون التراكم حتى القيمة $-1.5 V$ ثم يثبت تيار القمة ضمن المجال الكموني للتراكم من $-1.5 V$ إلى $-1.6 V$ ، ليتناقص بحدّة بعدها، انظر الشكل رقم (103).

الشكل رقم (103)

تأثير كمون التراكم E_{acc} في تيار القمة الثالثة I_{p3} لإرجاع PGZ-HCl بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى HMDE في وسط وافي بريوني $0.1M$ عند $pH 7.5$.



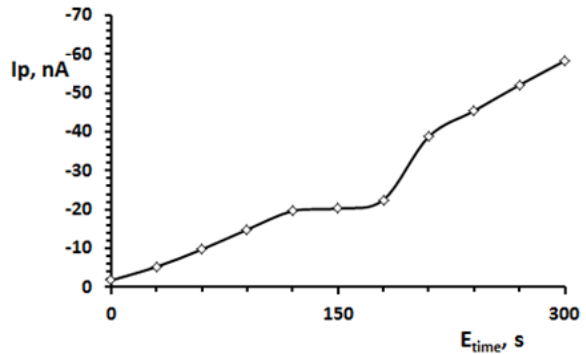
يتضح من الشكلين السابقين أن كمون التراكم الأمثل للقمة الأولى هو $-0.8V$ وللقمة الثالثة هو $-1.55V$.

3-1- دراسة تأثير زمن التراكم: The Effect of Accumulation Time (E_{time})

لدى دراسة تأثير زمن التراكم عند تطبيق كمون التراكم $-0.8 V$ و $-1.55 V$ ، نلاحظ من الشكل رقم (104) أن تيار القمة الأولى يزداد حتى الزمن $120sec$ ليبقى ثابتاً ضمن المجال $120 - 180 sec$ ، ثم يزداد بعدها ، كما نلاحظ من الشكل رقم (105) أن تيار القمة الثالثة الجديدة يزداد حتى الزمن $120s$ ثم يثبت تيار هذه القمة ضمن مجال للزمن $120 - 250sec$ ، ثم يتناقص بعدها، وبالتالي اخترنا زمن تراكم مفضل لدراسة العملية المسروية للقتين $150sec$.

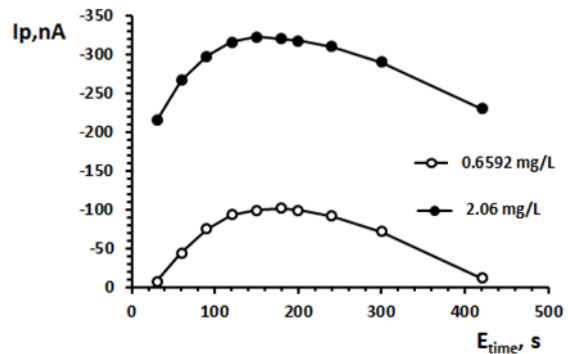
الشكل رقم (104)

تأثير زمن التراكم E_{time} في تيار القمة الأولى I_{p1} لإرجاع PGZ-HCl بتركيز $2.06 mg.L^{-1}$ بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى HMDE في وسط وافي بريوني $0.1M$.



الشكل رقم (105)

تأثير زمن التراكم E_{time} في تيار القمة الثالثة I_{p3} لإرجاع PGZ-HCl بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى HMDE في وسط وافي بريوني $0.1M$.



وبناءً على ما سبق نجد أن كمون التراكم المفضل للقمة الأولى على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE هو -0.8 V وزمن تراكم 150 sec ولكن تيار هذه القمة صغير جداً مقارنة مع تيارها على مسرى الزئبق القطار DME أو مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE ، وأن كمون التراكم المفضل للقمة الثالثة باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE هو -1.55 V وزمن تراكم 150 sec .

2- التحليل الفولط أمبيرومترى الحلقي: Cyclic Voltammetric Analysis

1-2- تأثير اتجاه المسح الكموني: The Effect of Scan Direction

درسنا تأثير اتجاه المسح الكموني على تيار وشكل القمم للبيوغليتازون هيدروكلوريد عند تركيز ثابت للمادة في الخلية 2.060mg.L^{-1} :

أ- عند تطبيق كمون تراكم -0.8 V :

عند تطبيق كمون تراكم -0.8 V حصلنا على القمة الأولى بقيمة تيار سالبة عند اجراء المسح الكموني باتجاه تزايد الكمون أي من الاتجاه الموجب للكمون إلى الاتجاه السالب وتراوح كمون القمة ما بين -200 mV و -250 mV ، ولدى المسح العكسي أي من السالب إلى الموجب لاحظنا أن تيار القمة الأولى ينخفض ليصبح ربع قيمته السابقة ويكون بإشارة موجبة كما أن كمون القمة ينزاح نحو الاتجاه الأكثر سلبية ويصبح حوالي -325 mV .

ب- عند تطبيق كمون تراكم -1.55 V :

عند تطبيق كمون تراكم -1.55 V فإن القمة الثالثة أعطت أعلى قيمة للتيار بقيمة سالبة عند اجراء المسح الكموني باتجاه تزايد الكمون من الاتجاه الموجب إلى الاتجاه السالب وكان كمون القمة في مجال تراوح بين -450 mV و -550 mV ، مع حدة وتناظراً في القمة. أما لدى المسح العكسي أي من السالب إلى الموجب لاحظنا أن القمة اختفت ولم تظهر أبداً مما يدل على أن القمة الثالثة لا تظهر إلا في حال ظهرت القمة الأولى أي أن القمة الثالثة تمثل المرحلة الثانية من تفاعل مادة PGZ-HCl على سطح المسرى (نواتج تفاعل المادة الأولى).

2-2- تأثير سرعة المسح الكموني: The Effect of Sweep Rate (v)

درسنا تأثير سرعة المسح عند تركيز ثابت للبيوغليتازون هيدروكلوريد 2.06 mg.L^{-1} في وسط وافي بريوني تركيزه 0.1M و $\text{pH } 7.5$ و سعة نبضة 60 mV وزمن نبضة 0.04sec ضمن مجال لسرعة المسح بين 400 mV.s^{-1} - 45 . ووجدنا أن هناك تناسب خطي بين تيار القمة وسرعة المسح حتى قيمة 400mV.s^{-1} لينحرف عن الخطية بعدها وتصبح القمة أقل تناظراً وحدة ، وتم اعتماد سرعة المسح 400 mV.s^{-1} كقيمة مثلى في الدراسة.

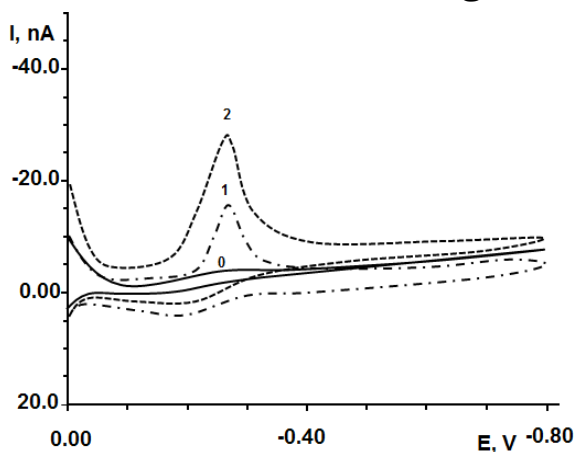
3- المنحنيات الفولط أمبيرومترية الحلقية للبيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى HMDE:

Cyclic Voltammograms of Pioglitazone HCl using HMDE

رسمنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية الحلقية للبيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE في وسط واقى بريتوني بتركيز 0.1 M و pH 7.5 وعند كموني التراكم -0.8 V و -1.55 V وزمن التراكم 150 sec وسرعة المسح $400\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ، وحصلنا على المنحنيات المبينة في الشكلين (106 و 107)؛ حيث نلاحظ أنه لدى المسح الكموني نحو تزايد الكمون بالقيمة المطلقة، وعند تطبيق كمون تراكم -0.8V تظهر قمة واحدة عريضة بتيار صغير تدل على ارجاع زمرة الأوكسي. وعند تطبيق كمون التراكم -1.55 V، تظهر القمة الثالثة الجديدة وهي ناتجة عن ارجاع ذرة الكبريت في حلقة الثيازول الطرفية؛ حيث يشكل الكبريت مع الزئبق ملغمة عند كمون تراكم -1.55 V وهذه القمة لا تظهر إلا على مسرى قطرة الزئبق المعلقة وتكون حادة وذات ارتفاع كبير مقارنة مع الأولى وفي كلتا الحالتين لا تظهر قمم في الاتجاه العكسي للمسح الكموني أي نحو تزايد الكمون في الاتجاه الموجب، مما يدل على أن مادة البيوغليتازون هيدروكلوريد يحصل لها تفاعلات ارجاع ولايحصل لها تفاعلات أكسدة وهذا يدل على أن الثنائية المتشكلة لدى تطبيق كمون التراكم على المسرى هي ثنائية لاعكوسة.

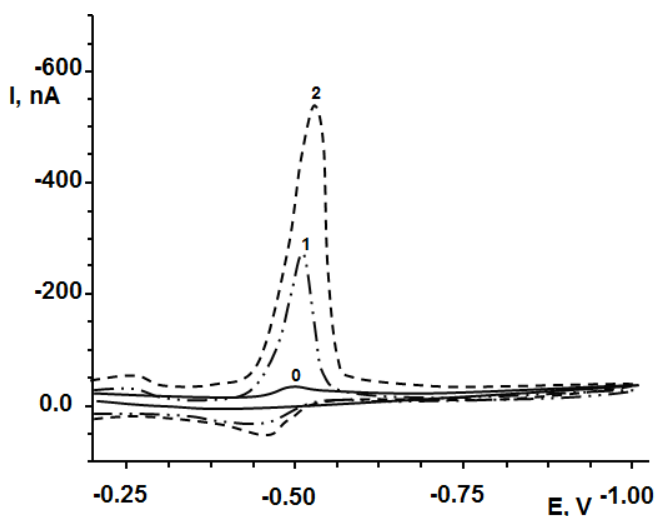
الشكل رقم (106)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية الحلقية
التراكمية للقمة الأولى Ip_1 لإرجاع
البيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى
HMDE عند كمون تراكم $E_{\text{acc.}} = -0.8\text{ V}$ في
وسط واقى من بريتوني B-R تركيزه 0.1M
عند pH=7.5 للتراكيز:
0 - 0.0 - 1 - 4 - 2 - 8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.



الشكل رقم (107)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية الحلقية
التراكمية للقمة الثالثة Ip_3 لإرجاع
البيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى
HMDE عند كمون تراكم $E_{\text{acc.}} = -1.55\text{ V}$
في وسط واقى من بريتوني B-R تركيزه
0.1M عند pH=7.5 للتراكيز:
0 - 0.0 - 1 - 4 - 2 - 8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.



4- التحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم الادمصاصي المهبطي ذو الموجة المربعة:

Square Wave Cathodic Adsorptive Stripping Voltammetry

درسنا التحليل الفولط أمبيرومترى بالتراكم الادمصاصي المهبطي ذو الموجة المربعة SWCAdSV للبيوغليتازون هيدروكلوريد في وسط وافي بريوني تركيزه 0.1 M عند pH 7.5 وعند كمون تراكم 1.55 V- وزمن تراكم 150 sec لتركيز ثابت من المادة الفعالة 2.06 mg.L^{-1} ، وقمنا برسم المنحنيات الفولط أمبيرومترية والمنحني العياري والتطبيق الدوائي بعد تثبيت بعض الشروط وهي:

4-4- تأثير الخطوة الكمونية: The Effect of Voltage Step (V.S.)

ثبتنا الشروط المثلى المذكورة آنفاً ثم قمنا بدراسة تأثير الخطوة الكمونية على شكل القمة المهبطية ضمن مجال تراوح بين 1 mV إلى 6 mV وذلك لتركيز ثابت من المادة الفعالة في الخلية مقداره 2.06 mg.L^{-1} ، ولاحظنا ثبات كمون القمة E_{p3} بين القيمتين للخطوة الكمونية 4 mV و 6 mV، وأن أعلى قيمة لتيار القمة I_{p3} وأفضل تناظر لها كان عند القيمة 6 mV، لذلك تم اعتماد هذه القيمة في الدراسة التحليلية كقيمة مثلى للخطوة الكمونية.

4-5- تأثير السعة: The Effect of Amplitude

درسنا تأثير السعة والتي هي الفرق الكموني الناتج عن التدرج الكموني المتزايد أثناء المسح ويتراوح مجال الدراسة لها بين 0.01 V و 1.00 V وهي ذات قيمة موجبة فقط، تمت دراسة تأثيرها على تيار القمة وشكل القمة وقد تبين أن القيمة 0.05 V هي المفضلة للسعة الكمونية.

4-6- تأثير التردد: The Effect of Frequency (f)

درسنا تأثير التردد أيضاً ضمن المجال 50 Hz إلى 400Hz؛ حيث لاحظنا أن تيار القمة I_{p3} متناسب طردياً مع التردد ضمن المجال السابق، كما أن شكل القمة لا يتأثر كثيراً بتغير التردد إلا أن أفضل قيمة للتردد كانت 100 Hz؛ حيث كانت القمة أكثر حدةً وتناظراً وبما أن سرعة المسح تتعلق بالتردد وفقاً للعلاقة: سرعة المسح الكموني (V.s^{-1}) = التردد (Hz) × الخطوة الكمونية (V) فإن سرعة المسح تتأثر بتغير التردد أكثر من تغير الخطوة الكمونية كون الأخيرة قيمتها صغيرة جداً مقارنة مع التردد وبالتالي التغير في قيمة الخطوة الكمونية لا يؤثر كثيراً على تغير سرعة المسح، لذلك فإن سرعة المسح الموافقة للتردد 100Hz هي 600 mV.s^{-1} .

اعتماداً على ماسبق يمكن تلخيص الشروط المثلى لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد PGZ-HCl على قطرة الزئبق المعلقة HMDE في الجدول رقم (16).

الجدول رقم (16)

الشروط المثلى للتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي للبيوغلينازون هيدروكلوريد على مسرى HMDE.

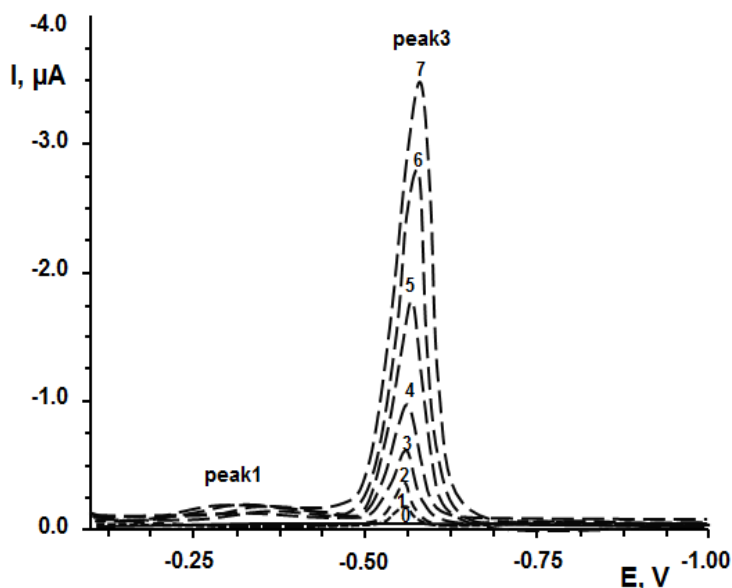
القمة الثالثة peak 3	القمة الثانية peak 2	القمة الأولى peak 1	العوامل المؤثرة Parametrate
HMDE			نوع المسرى Electrod Sort
SWCAdSV، CV ،DPV	DPV	CV،DPV	الطريقة Method
-450 ± 50 mV	لم تظهر	-200 to -250 mV	كمون القمة Peak Potential
واقى بريوني			نوع الكهرليت Electrolyt Sort
0.1 M			تركيز الكهرليت Electrolyt Concentration
7.5			pH
60 mV			سعة النبضة Pulse Amplitude
0.04sec			زمن النبضة Pulse Tim
-1.55 V	لا يوجد	-0.8 V	كمون التراكم Accumulation Potential
150 sec			زمن التراكم Accumulation Time
DPV : 4 mV CV : 4 mV SWCAdSV: 6 mV	لا يوجد	DPV: 6 mV	الخطوة الكمونية Voltage Step
0.05 V	لا يوجد		السعة Amplitude
DPV: 10 mV.s ⁻¹ CV: 400 mV.s ⁻¹ SWCAdSV: 600 mV.s ⁻¹	لا يوجد		سرعة المسح الكموني Sweep Rate, mV.s ⁻¹
100Hz	لا يوجد		التردد Frquency <i>f</i> , Hz

5- المنحنيات الفولط أمبيرومترية التربيعية بالتراكم الادمصاصي المهبطي على مسرى HMDE:

Square Wave Cathodic Adsorptive Stripping Voltammograms using HMDE

رسمنا المنحنيات الفولط أمبيرومترية التربيعية بالتراكم الادمصاصي المهبطي SWCAdSV

للبيوغليتازون هيدروكلوريد باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE ضمن الشروط المثلى المذكورة آنفاً. ووجدنا أن للمادة المدروسة قمة مهبطية حادة ومنتظرة وذات ارتفاع متزايد بازياد تركيزها داخل الخلية ضمن مجال خطي محدد، وتظهر هذه القمة عند كمون $E_{p3} = -550 \pm 50$ mV ناتجة عن ارجاع ذرة الكبريت في حلقة الثيازول الطرفية؛ حيث يشكل الكبريت مع الزئبق ملغمة عند كمون تراكم -1.55 V وهذه القمة لا تظهر إلا على مسرى قطرة الزئبق المعلقة نتيجة للمسح الكموني بالاتجاه السالب وهي قمة حادة جداً ومنتظرة ، انظر الشكل رقم (108).



الشكل رقم (108)

المنحنيات الفولط أمبيرومترية التربيعية بالتراكم الادمصاصي المهبطي SWCAdSV لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى HMDE عند كمون تراكم $E_{acc} = -1.55$ V في وسط وافي بيريتوني تركيزه $0.1M$ عند $pH=7.5$ للتراكيز:

$0.0 - 0.329 - 1$ ، $0.4944 - 2$ ، $0.66 - 3$ ، $0.824 - 4$ ، $1.236 - 5$ ، $1.684 - 6$ ، $2.060 - 7$ $mg.L^{-1}$

ثالثاً: تفسير العملية المسروية لإرجاع للبيوغليتازون هيدروكلوريد:

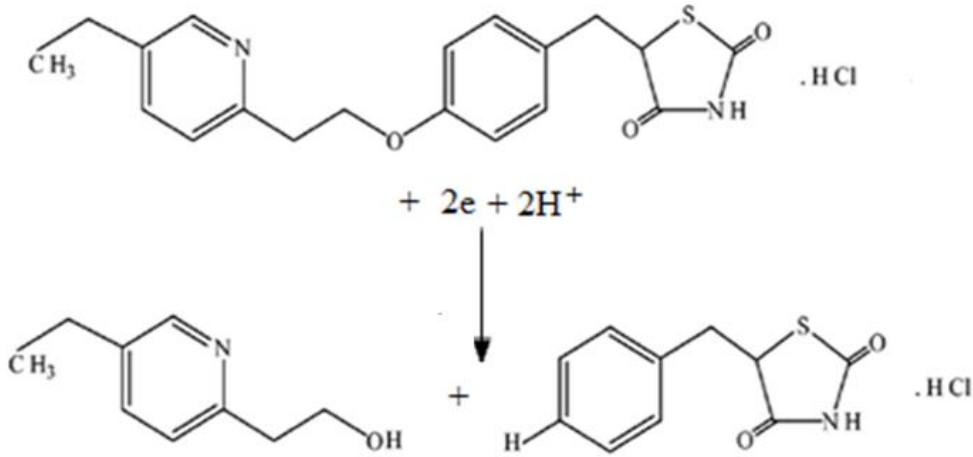
The redox mechanism of PGZ-HCl :

إن العملية المسروية الحاصلة على مسرى الزئبق للبيوغليتازون هيدروكلوريد هي عملية مهبطية ذات نظام لاعكوس تحصل على ثلاث زمر مختلفة في صيغتها الكيميائية وقد تم حساب عدد الالكترونات المتبادلة في كل تفاعل.

أ- بالنسبة للقمة الأولى Ip_1 التي تظهر باستخدام المساري DME و SMDE و HMDE:

- ينزاح كمون القمة Ep_1 نحو الاتجاه الأكثر سلبية مع ازدياد قيمة pH الوسط مما يدل على أن العملية ارجاعية يشترك فيها بروتونات الوسط.
- كما أنه لدى مسح الكمون بالاتجاهين المباشر والعكسي وجدنا أن التيار في الاتجاه العكسي للمسح الكموني ينخفض إلى ربع قيمته في الاتجاه المباشر للمسح الكموني .
- كما أنه لدى رسم المنحنيات الفولط أمبيرومتريّة الحلقية على مسرى قطرة الزئبق المعلقة لاحظنا ظهور قمة مهبطية لدى مسح الكمون نحو تزايد الكمون بقيمته المطلقة وعدم ظهور قمة في الاتجاه العكس للمسح الكموني مما يدل على أن العملية المسروية تخضع لنظام لاعكوس على مسرى الزئبق.
- درسنا تأثير كمون التراكم ووجدنا أن القمة تظهر عند كمون تراكم $-0.8V$ و تختفي عند قيم أعلى لكمون التراكم وهذا يدل على أن المادة تتحول من شكل إلى آخر بعد هذه القيمة لكمون التراكم ولا تعود لشكلها الأصلي أثناء إزالة التراكم.
- حسبنا عدد الالكترونات المتبادلة في التفاعل الكهركيميائي للارجاع ووجدنا انها تساوي $n=2$ وذلك وفقاً للعلاقة التي تربط نصف عرض القمة بعدد الالكترونات؛ حيث تم حساب نصف عرض القمة مباشرة من الجهاز ومن ثم طبقنا العلاقة عند قيم pH مختلفة للمحلول . ووجدنا أن عدد الالكترونات ضمن مجال pH من 2 إلى 5 يكون مساوياً الواحد $n=1$ ، أما عدد الالكترونات لمجال pH من 6 إلى 12 فإن عدد الالكترونات يصبح $n=2$ وهذا يدل على أن العملية ارجاعية المقترحة تتم في وسط معتدل والقلوي.
- قارنا البيوغليتازون هيدروكلوريد مع مركب danazole تمت دراسته مرجعياً [114] في نفس شروط العمل لكلا المركبين ولكن مع اختلاف نوع المسرى المستخدم؛ حيث استخدمنا في بحثنا مسرى الزئبق أما في الدراسة المرجعية فقد تم استخدام مسرى صلب، إلا أن كلا المركبين

يحتويان على زمرة أوكسي (-O-) oxi group، وبالتالي استنتجنا أن القمة الأولى تعود إلى إرجاع زمرة الأوكسي في وسط حمضي ضعيف، الشكل رقم (109).



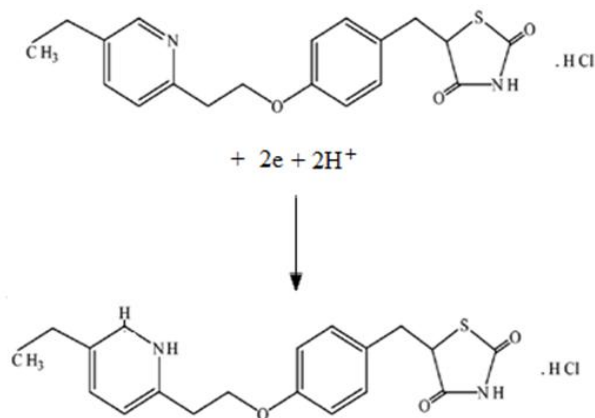
الشكل رقم (109)

الآلية المقترحة لارجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد وفقاً للقمة الأولى Ip_1 .

ب- بالنسبة للقمة الثانية Ip_2 والتي ظهرت على مسرى DME ومسرى SMDE:

- نلاحظ أن هذه القمة ظهرت لدى استخدام مسرى الزئبق القطار ومسرى قطرة الزئبق الساكنة ولم تظهر لدى استخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة، مما يدل على أن العملية المسروية هي تفاعل ارجاع على سطح مسرى متجدد.
- لاحظنا أيضاً أن كمون القمة Ep_2 ينزاح نحو الاتجاه الأكثر سلبية مع زيادة قيمة pH الوسط مما يدل على أن العملية ارجاعية يشترك فيها بروتونات الوسط.
- لاحظنا أن القمة لا تظهر بشكل واضح في الأوساط الحمضية القوية أي عند pH 2-3 وتبدأ بالظهور بشكل واضح ومتناظر تماماً ضمن مجال للـ 4 - 8 pH وبعد 8 pH تعود وتصبح عريضة وغير متناظرة، أي أن العملية ارجاعية تحصل بشكل جيد في الأوساط الحمضية الضعيفة إلى القلوية الضعيفة.
- لدى إجراء المسح العكسي للكمون أي نحو تناقص الكمون بالقيمة المطلقة، وجدنا أن القمة تظهر مع انزياح في كمون القمة وبارتفاع صغير جداً، مما يدل على أن العملية المسروية لا عكوسة.
- لدى حساب عدد الالكترونات المتبادلة وفقاً للعلاقة (15) في القسم النظري وجدنا أن $n=2$.

- قارنا المركب المدروس بيوغليتازون هيدروكلوريد مع مركب مدروس سابقاً glipizide ووجدنا أن كلاً من المركبين تحصل له عملية مسروية مهبطية تخضع لنظام لاعكوس تعود لإرجاع زمرة C=N في حلقة البيريديل pyridyl الطرفية ، كما هو موضح في الشكل رقم (110) :



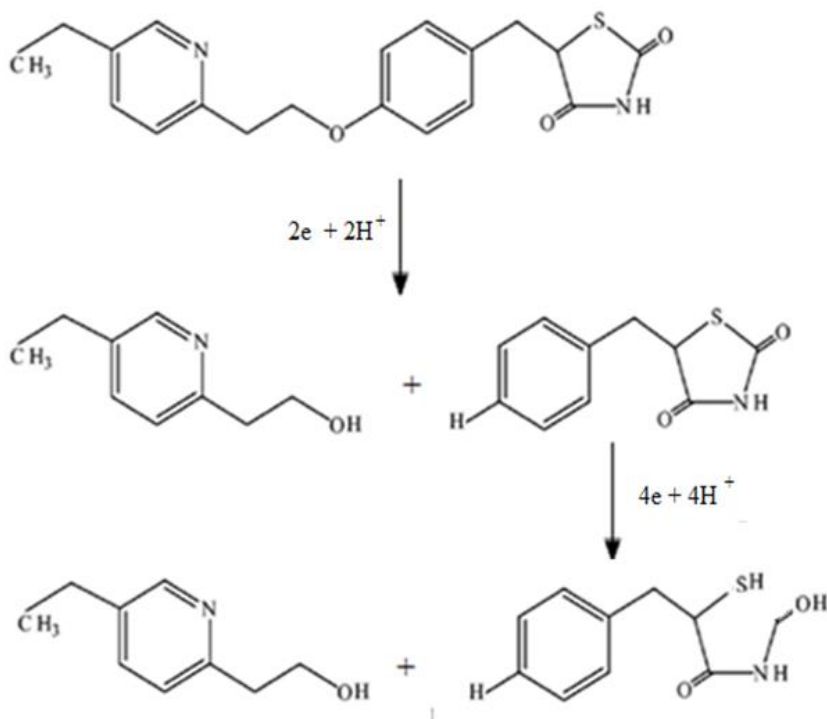
الشكل رقم (110)

الآلية المقترحة لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد وفقاً للقمة الثانية Ip₂ .

ج- بالنسبة للقمة الثالثة Ip₃ والتي تظهر على مسرى HMDE فقط:

- لاحظنا أن هذه القمة تظهر على مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE فقط بعد اجراء المسح الكموني ابتداءً من الكمون 0 V؛ حيث اجرينا التجربة التالية :
- قمنا بإجراء المسح الكموني باتجاه تزايد الكمون بالقيمة المطلقة بدءاً من كمون 0.0 V وحصلنا على قمتين الأولى Ip₁ والثالثة Ip₃؛ حيث أن القمة الأولى كانت صغيرة مقارنة مع القمة الثالثة وذلك عند كمون تراكم -1.55V، ثم كررنا العمل بالاتجاه العكسي للكمون فلم تظهر القمة الثالثة وظهرت فقط القمة الاولى ولكن بتيار صغير جداً وذو اشارة موجبة. ثم كررنا العمل مرة ثانية ولكن بدءاً من كمون -0.3V أي أعلى بالقيمة المطلقة من كمون القمة الأولى Ep₁ وبالاتجاه المباشر نحو تزايد الكمون بالقيمة المطلقة والعكسي نحو تناقص الكمون بالقيمة المطلقة ولاحظنا أن القمة الثالثة لاتظهر أبداً حتى عندما نطبق كمون التراكم النوعي لها ، مما يدل على أن القمة الثالثة تنتج عن التفاعل الكهركيميائي للمادة مع المسرى واعطاء القمة الأولى، ولدى تغيير كمون التراكم المطبق على المسرى تظهر القمة الثالثة.
- كما أنه لدى دراسة تأثير كمون التراكم لاحظنا أنه بعد تلاشي القمة الأولى تماماً تبدأ القمة الثالثة بالظهور.

- ولدى دراسة تأثير pH الوسط وجدنا أن القمة الثالثة تكون أفضل تناظراً وارتفاعاً في الوسط ضعيف القلوية pH=7.5.
- كما أن هذه القمة Ep₃ تتميز بحدتها العالية جداً وتناظرها مقارنة مع القمتين السابقتين على مسرى DME و SMDE، مما يدل على أنها تعود لذرة الكبريت في زمرة الثيازول أي أن هناك تراكم ملغمي على مسرى قطرة الزئبق المعلقة.
- قمنا بحساب عدد الالكترونات المتبادلة في العملية الارجاعية لهذه القمة عن طريق حساب نصف عرض القمة . ووجدنا أن عدد الالكترونات المتبادلة n=4.
- قارنا المركب المدروس بيوغليتازون هيدروكلوريد مع مركب مدروس سابقاً rosiglitazone؛ حيث أن كلا المركبين يحتويان على حلقة الثيازول. ووجدنا أن كلا من المركبين تحصل له عملية مسروية مهبطية تخضع لنظام لاعكوس تعود لإرجاع ذرة الكبريت المرتبطة في حلقة الثيازول الطرفية.
- وبالتالي فإن التفاعل الكلي الحاصل على مسرى قطرة الزئبق المعلقة للقمتين الأولى والثالثة يمكن تفسيره ، كما هو موضح في الشكل رقم (111) :



الشكل رقم (111)

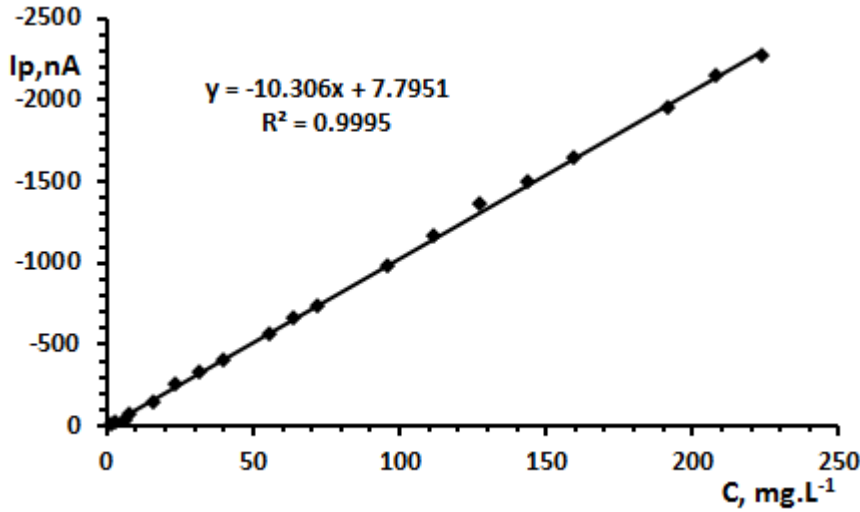
الآلية المقترحة لإرجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد على مسرى HMDE للقمتين الأولى Ip₁ والثالثة Ip₃ .

رابعاً: المنحنيات العيارية لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد:

Calibration Curvers for the Determination of Pioglitazone HCl

1- باستخدام مسرى DME:

رسمنا المنحنيات العيارية لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى الزئبق القطار DME في وسط واقى بريتوني عند pH=6.0 وبتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (16) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضة التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات الموضحة في الشكل رقم (92). ووجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية بالنسبة للقمة الأولى Ip_1 (والنااتجة عن ارجاع زمرة الأوكسي oxy group وتراوح كمون هذه القمة Ep_1 بين 50 mV إلى -150mV في مجال للتراكيز من $1.6mg.L^{-1}$ إلى $224mg.L^{-1}$ ، أي من $4 \mu M$ إلى $570 \mu M$ ، انظر الشكل رقم (112).



الشكل رقم (112)

المنحني العياري لتيار القمة الأولى Ip_1 لارجاع زمرة الأوكسي في البيوغليتازون هيدروكلوريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى B-R يحتوي على ميثانول بنسبة 32% وعند pH=6.0 على المسرى DME.

إن معادلة المنحني العياري لتيار القمة الأولى Ip_1 تعطى كما يلي:

$$Ip = -10.306C + 7.7951$$
$$R^2 = 0.9995$$

حيث أن Ip_1 تيار القمة بـ nA ، و C تركيز بيوغليتازون هيدروكلوريد بـ $mg.L^{-1}$ ($\mu g.mL^{-1}$). لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتراكيز : $1.6-224 mg.L^{-1}$

(وتعطى معادلة المنحني العياري عندما يكون التركيز nM كما يلي: $Ip_1 = -0.00405C + 7.7951$).

تم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ وحصلنا على النتائج التالية:

$$\text{LOD} = 0.211 \text{mg.L}^{-1} = 0.537 \mu\text{M}$$

$$\text{LOQ} = 0.640 \text{mg.L}^{-1} = 1.628 \mu\text{M}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية $I_{p1}=f(C)$ ، نعرض في الجدول رقم (17) نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد وفقاً للقيمة الأولى I_{p1} لمحاليل عيارية بتركيز محضرة ضمن المجال الخطي المحدد في وسط واقي بريتوني تركيزه 0.1 M يحتوي على الميتانول كعامل مساعد على الانحلال بنسبة 32% وعند pH=6.0 بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى DME.

الجدول رقم (17)

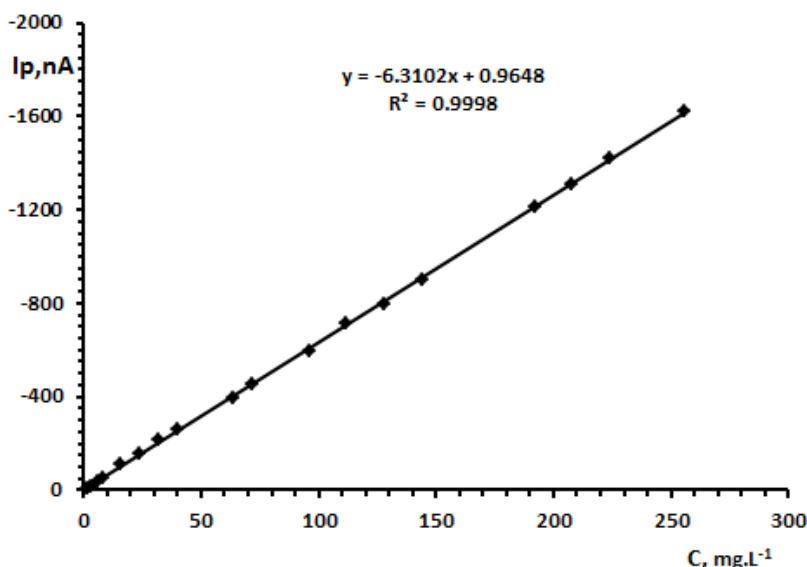
نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بالاعتماد على تيار القمة الأولى I_{p1} باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقي B-R تركيزه 0.1 M يحتوي على الميتانول بنسبة 32% وعند pH=6.0 على المسرى DME.

RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ ، mg.L ⁻¹	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ،mg.L ⁻¹	الانحراف المعياري SD، mg.L ⁻¹	التركيز المحدد، $\frac{X}{n}^*$ ، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ C، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ، C، μM
4.0	0.079 ± 1.590	0.029	0.064	1.59	1.60	4.072
3.8	0.149 ± 3.160	0.054	0.120	3.16	3.20	8.144
3.5	0.267 ± 6.140	0.096	0.215	6.14	6.40	16.28
3.3	0.325 ± 7.940	0.117	0.262	7.94	8.00	20.36
3.0	0.592 ± 15.890	0.213	0.477	15.89	16.0	40.72
2.7	0.818 ± 24.420	0.295	0.659	24.42	24.0	61.08
2.5	1.002 ± 32.290	0.361	0.807	32.29	32.0	81.44
2.3	1.132 ± 39.670	0.408	0.912	39.67	40.0	101.80
2.0	1.383 ± 55.720	0.498	1.114	55.72	56.0	142.52
1.8	1.449 ± 64.850	0.522	1.167	64.85	64.0	162.88
1.6	1.430 ± 72.000	0.515	1.152	72.00	72.0	183.24
1.5	1.785 ± 95.850	0.643	1.438	95.85	96.0	244.32
1.3	1.827 ± 113.230	0.658	1.472	113.23	112.0	285.04
1.2	2.380 ± 159.790	0.857	1.917	159.79	160.0	407.20
1.1	2.610 ± 191.160	0.940	2.103	191.16	192.0	488.63
1.5	3.890 ± 208.880	1.401	3.133	208.88	208.0	529.35
1.8	4.970 ± 222.380	1.790	4.003	222.38	224.0	570.07

* n=5، t=2.776

وتبين أن نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد المبينة في الجدول رقم (17) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% بين 4.0% و 1.8% للتركيز 1.6mg.L^{-1} و 224mg.L^{-1} على التسلسل.

كذلك بتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (16) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات الموضحة في الشكل رقم (93)، ووجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية بالنسبة للقمة الثانية Ip_2 والناجمة عن ارجاع زمرة السيان (C=N) والتي كمونها Ep_2 تراوح بين -975 mV إلى -1150 mV في مجال للتركيز من 1.6 mg.L^{-1} إلى 256 mg.L^{-1} ، أي من $4\text{ }\mu\text{M}$ إلى $651.51\text{ }\mu\text{M}$ ، انظر الشكل رقم (113).



الشكل رقم (113)

المنحني العياري لتيار القمة الثانية Ip_2 لارجاع زمرة السيان C=N في البيوغليتازون هيدروكلوريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترية النبضية التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقي بريتوني يحتوي على ميثانول بنسبة 32% وعند $\text{pH}=6.0$ على المسرى DME

إن معادلة المنحني العياري لتيار القمة الأولى Ip_2 تعطى كما يلي:

$$Ip_2 = -6.3102C + 0.9648$$

$$R^2 = 0.9998$$

حيث أن Ip_2 : تيار القمة بـ nA ، و C تركيز بيوغليتازون هيدروكلوريد بـ mg.L^{-1} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$).
لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتركيز :
 $1.6\text{--}256\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$

(وتعطى معادلة المنحني العياري عندما يكون التركيز nM كما يلي: $Ip=-0.00248C+0.9648$)

تم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ وحصلنا على النتائج التالية:

$$\text{LOD} = 0.224\text{mg.L}^{-1} = 0.570\text{ }\mu\text{M}$$

$$\text{LOQ} = 0.680\text{ mg.L}^{-1} = 1.730\text{ }\mu\text{M}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية ($I_{p2}=f(C)$) ، نعرض في الجدول رقم (18) نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد وفقاً للقيمة الثانية I_{p2} لمحاليل عيارية بتركيز محضرة ضمن المجال الخطي المحدد في وسط واقي بريوني تركيزه 0.1 M يحتوي على الميثانول كعامل مساعد على الانحلال بنسبة 32% وعند pH=6.0 بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى DME.

الجدول رقم (18)

نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بالاعتماد على تيار القمة الثانية I_{p2} الناتجة عن ارجاع زمرة السيان $C=N$ في صيغتها باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقي بريوني تركيزه 0.1 M يحتوي على الميثانول كعامل مساعد على الانحلال بنسبة 32% وعند pH=6.0 على المسرى DME.

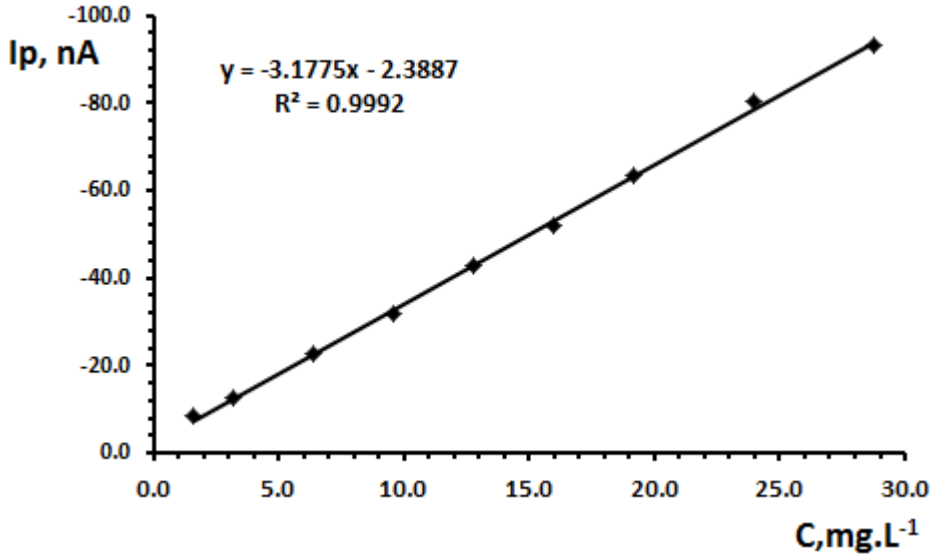
RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ ، mg.L ⁻¹	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ،mg.L ⁻¹	الانحراف المعياري SD، mg.L ⁻¹	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ C، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ، C، μM
4.3	0.084 ± 1.58	0.030	0.068	1.58	1.6	4.072
4.0	0.156 ± 3.14	0.056	0.126	3.14	3.2	8.144
3.7	0.290 ± 6.32	0.105	0.234	6.32	6.4	16.28
3.5	0.346 ± 7.96	0.125	0.279	7.96	8.0	20.36
3.2	0.644 ± 16.21	0.232	0.519	16.21	16.0	40.72
3.0	0.900 ± 24.15	0.324	0.725	24.15	24.0	61.08
2.8	1.120 ± 32.22	0.403	0.902	32.22	32.0	81.44
2.6	1.315 ± 40.72	0.474	1.059	40.72	40.0	101.80
2.3	1.596 ± 55.88	0.575	1.285	55.88	56.0	142.52
2.1	1.662 ± 63.74	0.599	1.339	63.74	64.0	162.88
1.9	1.697 ± 71.95	0.611	1.367	71.95	72.0	183.24
1.7	2.019 ± 95.64	0.727	1.626	95.64	96.0	244.32
1.5	2.099 ± 112.74	0.756	1.691	112.74	112.0	285.04
1.3	2.320 ± 143.78	0.836	1.869	143.78	144.0	366.47
1.2	2.859 ± 191.91	1.030	2.303	191.91	192.0	488.63
1.1	2.842 ± 208.07	1.024	2.289	208.07	208.0	529.35
1.1	3.075 ± 225.19	1.108	2.477	225.19	224.0	570.07
1.0	5.187 ± 256.72	1.148	2.567	256.72	256.0	651.51

* n=5، t=2.776

وتبين أن نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد المبينة في الجدول رقم(18) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% بين 4.3% و1.0% للتركيز 1.6mg.L⁻¹ و 256 mg.L⁻¹ على التسلسل.

2- باستخدام مسرى SMDE:

رسمنا المنحنيات العيارية لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE في وسط واقى بريوني تركيزه 0.1 M يحتوي على الميتانول بنسبة 32% عند pH=6.0 وتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (16) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضة التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات الموضحة في الشكل رقم (95). ووجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية بالنسبة للقمة الأولى Ip_1 (والنااتجة عن ارجاع زمرة الأوكسي oxy group) وكان كمون هذه القمة $Ep_1 = -100 \pm 8$ mV في مجال للتركيز من 1.6 mg.L^{-1} إلى 28.8 mg.L^{-1} ، أي من $4 \text{ } \mu\text{M}$ إلى $73.3 \text{ } \mu\text{M}$ ، انظر الشكل رقم (114).



الشكل رقم (114)

المنحني العياري لتيار القمة الأولى Ip_1 لارجاع زمرة الأوكسي في البيوغليتازون هيدروكلوريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى بريوني يحتوي على ميتانول بنسبة 32% وعند pH=6.0 على المسرى SMDE.

إن معادلة المنحني العياري لتيار القمة الأولى Ip_1 تعطى كما يلي:

$$Ip_1 = -3.1175C - 2.36887$$

$$R^2 = 0.9992$$

حيث أن Ip_1 : تيار القمة بـ nA ، و C تركيز بيوغليتازون هيدروكلوريد بـ mg.L^{-1} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$).
لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتركيز :
 $1.6 - 28.8 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$

(وتعطى معادلة المنحني العياري عندما يكون التركيز nM كما يلي: $Ip = -0.00126C - 2.3887$)

تم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ وحصلنا على النتائج التالية:

$$\text{LOD} = 0.195 \text{ mg.L}^{-1} = 0.496 \text{ } \mu\text{M}$$

$$\text{LOQ} = 0.590 \text{ mg.L}^{-1} = 1.501 \text{ } \mu\text{M}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (19) نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد لمحاليل عيارية بتركيز محضرة ضمن المحال الخطي المحدد في وسط واقى بريتوني تركيزه 0.1 M يحتوي على الميثانول كعامل مساعد على الانحلال بنسبة 32% وعند pH=6.0 بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى SMDE.

الجدول رقم (19)

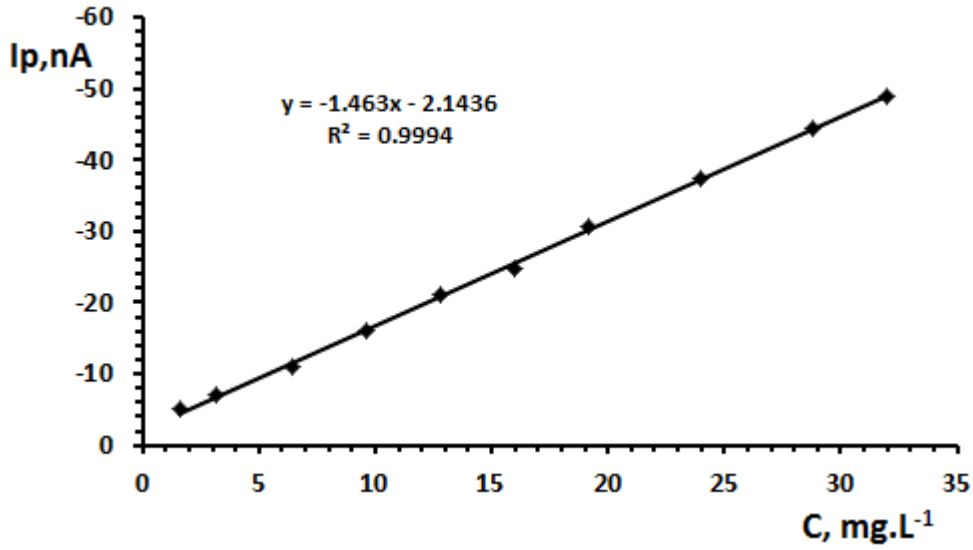
نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بالاعتماد على تيار القمة الاولى Ip_1 الناتجة عن ارجاع زمرة الأوكسي في صيغتها باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى بريتوني تركيزه 0.1 M يحتوي على الميثانول بنسبة 32% وعند pH=6.0 على المسرى SMDE.

RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ ، mg.L ⁻¹	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ، mg.L ⁻¹	الانحراف المعياري SD، mg.L ⁻¹	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ C, mg.L ⁻¹	التركيز المأخوذ، C, μM
3.6	0.073 ± 1.64	0.026	0.059	1.64	1.6	4.00
3.2	0.128 ± 3.23	0.046	0.103	3.23	3.2	8.00
2.8	0.222 ± 6.40	0.080	0.179	6.40	6.4	16.00
2.5	0.247 ± 7.94	0.089	0.199	7.94	8.0	20.36
2.3	0.367 ± 12.87	0.132	0.296	12.87	12.8	32.57
2.0	0.395 ± 15.88	0.142	0.318	15.88	16.0	40.72
1.7	0.407 ± 19.28	0.147	0.328	19.28	19.2	48.86
1.4	0.423 ± 24.32	0.152	0.340	24.32	24.0	61.08
1.2	0.428 ± 28.72	0.154	0.345	28.72	28.8	73.29

* n=5، t=2.776

إن نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد المبينة في الجدول رقم (19) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% بين 3.6% و 1.2% للتركيز 1.6 mg.L⁻¹ و 28.8 mg.L⁻¹ على التسلسل.

كذلك بتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم (16) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضة التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات الموضحة في الشكل رقم (96). وجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية بالنسبة للقمة الثانية Ip_2 والناتجة عن ارجاع زمرة السيان (C=N) وتراوح كمون هذه القمة Ep_2 بين -975 mV و -1150 mV في مجال للتركيز من 1.6 mg.L⁻¹ إلى 32 mg.L⁻¹، أي من 4 μM إلى 81.44 μM ، انظر الشكل رقم (115).



الشكل رقم (115)

المنحني العياري لتيار القمة الثانية Ip_2 لارجاع زمرة السيان $C=N$ في البيوغليتازون هيدروكلوريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى بريتوني يحتوي على ميتانول بنسبة 32% وعند $pH=6.0$ على المسرى $SMDE$.

إن معادلة المنحني العياري لتيار القمة الأولى Ip_2 تعطى كما يلي:

$$Ip_2 = -1.463C - 2.1436$$

$$R^2 = 0.9994$$

حيث أن Ip_2 تيار القمة بـ nA ، و C تركيز بيوغليتازون هيدروكلوريد بـ $mg.L^{-1}$ ($\mu g.mL^{-1}$).

لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتركيز :

$$1.6-32 \mu g.mL^{-1}$$

(وتعطى معادلة المنحني العياري عندما يكون التركيز nM كما يلي: $Ip=-0.00057C-2.1436$)

تم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ وحصلنا على النتائج التالية:

$$LOD = 0.221mg.L^{-1} = 0.562 \mu M$$

$$LOQ = 0.640 mg.L^{-1} = 1.628 \mu M$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (20) نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد لمحاليل عيارية بتركيز محضرة ضمن المحال الخطي المحدد في وسط واقى بريتوني تركيزه 0.1 M يحتوي على الميتانول كعامل مساعد على الانحلال بنسبة 32% وعند $pH=6.0$ بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى $SMDE$.

الجدول رقم (20)

نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد Ip_2 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي في وسط وافي بريتوني تركيزه 0.1 M يحتوي على الميتانول بنسبة 32% وعند $pH=6.0$ على المسرى $SMDE$.

RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ ، $mg.L^{-1}$	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ، $mg.L^{-1}$	الانحراف المعياري SD ، $mg.L^{-1}$	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، $mg.L^{-1}$	التركيز المأخوذ C ، $mg.L^{-1}$	التركيز المأخوذ، C ، μM
3.8	0.079 ± 1.680	0.029	0.064	1.68	1.6	4.00
3.5	0.114 ± 3.320	0.052	0.116	3.32	3.2	8.00
3.2	0.253 ± 6.370	0.091	0.204	6.37	6.4	16.00
3.0	0.298 ± 8.000	0.107	0.240	8.00	8.0	20.36
2.6	0.416 ± 12.890	0.150	0.335	12.89	12.8	32.57
2.4	0.475 ± 15.940	0.171	0.383	15.94	16.0	40.72
2.1	0.504 ± 19.320	0.182	0.406	19.32	19.2	48.86
1.8	0.536 ± 24.000	0.193	0.432	24.00	24.0	61.08
1.6	0.572 ± 28.820	0.206	0.461	28.82	28.8	73.29
1.4	0.557 ± 32.030	0.200	0.448	32.03	32.0	81.44

* $n=5$ ، $t=2.776$

إن نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد المبينة في الجدول رقم (20) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي $RSD\%$ بين 3.8% و 1.4% للتركيز $1.6 mg.L^{-1}$ و 32 $mg.L^{-1}$ على التسلسل.

كما أن النتائج السابقة تبين إمكانية تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط وافي بريتوني يحتوي على الميتانول بنسبة 32% عند $pH=6.0$ باستخدام مسرى DME أو $SMDE$ ، حيث نلاحظ أن تيار القمتين Ip_2 & Ip_1 أكثر حدةً وتناظراً وارتفاعاً عند استخدام مسرى DME ثم يليه مسرى $SMDE$ ، وأن شكل القمة الفولط أمبيرومترية لم يتأثر بشكل ملحوظ بنموذج المسرى المستعمل وتركيز المادة المحددة. إلا أن تيار القمة كان أكبر في حال استخدام مسرى الزئبق القطار DME منه عند استخدام مسرى قطرة الزئبق الساكنة $SMDE$. وكانت العلاقة بين ثابت النفوذ كالاتي:

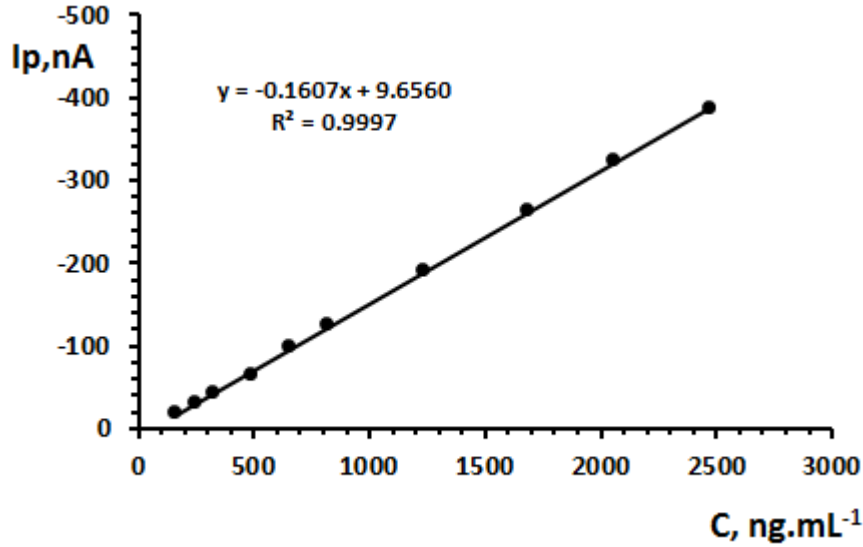
$$K_{DME} = 3.22 K_{SMDE} \quad \text{للقمة الأولى } Ip_1$$

$$K_{DME} = 4.35 K_{SMDE} \quad \text{للقمة الثانية } Ip_2$$

كما نستنتج من الدراسة السابقة أن ثابت النفوذ K ولجميع التراكيز يكون أكبر في حال استخدام مسرى DME ، منه عند استخدام مسرى $SMDE$. وأن القيم الكبيرة لتيار القمة (Ip) لارجاع البيوغليتازون هيدروكلوريد بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME بالمقارنة مع قيمها باستخدام المسرى الآخر سيؤدي إلى الحصول على نتائج تحليلية أكثر دقة وحساسية .

3- باستخدام مسرى HMDE:

رسمنا المنحنيات العيارية لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي DPV مع سعة موجبة وثابتة للنبضات وبطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة بالتراكم الادمصاصي المهبطي SWCAdSV باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلفة HMDE في وسط واقى بريتوني عند pH=7.5 وبتطبيق الشروط المثلى الموضحة في الجدول رقم(19) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية النبضة التفاضلية مع سعة موجبة وثابتة للنبضات الموضحة في الشكل رقم (98) والمنحنيات الفولط أمبيرومترية ذات الموجة المربعة SWCAdSV ، الموضحة في الشكل رقم (108). ووجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية بالنسبة للقمة باستخدام الطريقة النبضية التفاضلية DPV (والناجمة عن ارجاع ذرة الكبريت المرتبطة في حلقة الثيازول ؛ حيث كمون هذه القمة $E_{p3} = -500 \pm 50$ mV في مجال للتراكيز من 164.8 ng.mL^{-1} إلى 2472 ng.mL^{-1} ، أي من $0.419 \mu\text{M}$ إلى $6.29 \mu\text{M}$ ، انظر الشكل رقم(116).



الشكل رقم (116)

المنحني العياري لتيار القمة الثالثة I_{p3} لارجاع ذرة الكبريت المرتبطة في حلقة الثيازول في مادة البيوغليتازون هيدروكلوريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقى بريتوني عند pH=7.5 على المسرى HMDE.

إن معادلة المنحني العياري لتيار القمة الثالثة I_{p3} تعطى كما يلي:

$$I_{p3} = -0.1607C + 9.6560$$
$$R^2 = 0.9997$$

حيث أن I_{p3} تيار القمة بـ nA ، و C تركيز البيوغليتازون بـ $\mu\text{g.L}^{-1}$ (ng.mL^{-1}).

لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتراكيز :
 $164.8-2472\text{ng.mL}^{-1}$
 تم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ وحصلنا على النتائج التالية:

$$\text{LOD} = 30.76 \text{ ng.mL}^{-1} = 0.078 \mu\text{M}$$

$$\text{LOQ} = 93.20 \text{ ng.mL}^{-1} = 0.237 \mu\text{M}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (21) نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد لمحاليل عيارية بتراكيز محضرة ضمن المجال الخطي المحدد في وسط واقفي برييتوني تركيزه 0.1 M وعند pH=7.5 بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى HMDE.

الجدول رقم (21)

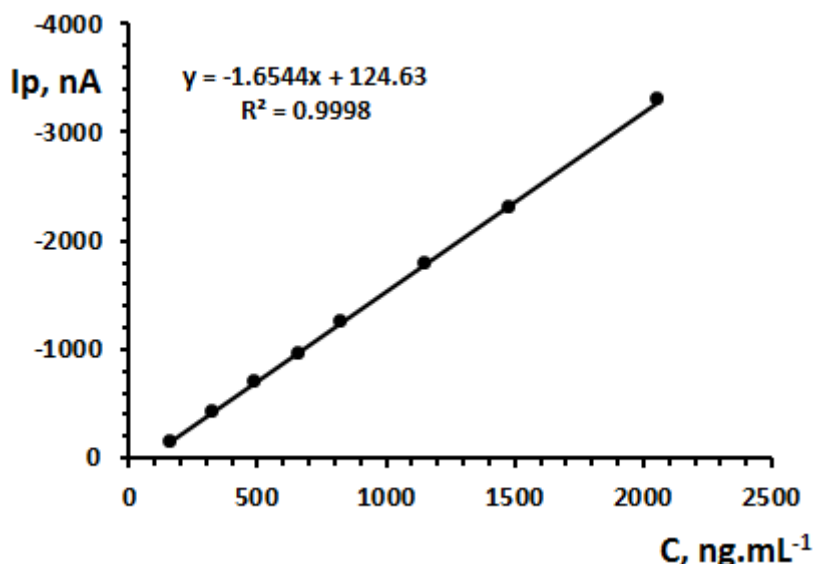
نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بالاعتماد على تيار القمة الثالثة Ip_3 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وسط واقفي برييتوني تركيزه 0.1 M وعند pH=7.5 على المسرى HMDE.

RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ ، ng.mL^{-1}	خطأ القياس التحليلي، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ ، ng.mL^{-1}	الانحراف المعياري SD, ng.mL^{-1}	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، ng.mL^{-1}	التركيز المأخوذ C, ng.mL^{-1}	التركيز المأخوذ، C, μM
5.5	11.58 ± 169.6	4.17	9.33	169.6	164.8	0.419
3.8	11.67 ± 247.3	4.20	9.40	247.3	247.2	0.629
3.0	12.21 ± 327.7	4.40	9.83	327.7	329.5	0.838
2.5	14.43 ± 464.9	5.20	11.62	464.9	494.4	1.258
2.0	16.63 ± 669.9	5.99	13.40	669.9	659.2	1.677
1.8	18.49 ± 827.4	6.66	14.89	827.4	824	2.097
1.4	21.70 ± 1248.6	7.82	17.48	1248.6	1236	3.145
1.2	25.30 ± 1698.5	9.12	20.38	1698.5	1684	4.285
1.1	28.20 ± 2065.1	10.16	22.71	2065.1	2060	5.242
1.0	30.61 ± 2465.7	11.03	24.66	2465.7	2472	6.291

* n=5، t=2.776

إن نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد المبينة في الجدول رقم (21) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% بين 5.5% و 1.0% للتراكيز 164.8ng.mL^{-1} و 2472ng.mL^{-1} على التسلسل.

كما وجدنا أن هذه المنحنيات تحقق علاقة طردية خطية بالنسبة للقمة I_{p3} باستخدام الموجة المربعة SWCAdSV في مجال للتراكيز من 164.8 ng.mL^{-1} إلى 2060 ng.mL^{-1} ، أي من $0.419 \mu\text{M}$ إلى $5.24 \mu\text{M}$ ، انظر الشكل رقم (117).



الشكل رقم (117)

المنحني العياري لتيار القمة الثالثة I_{p3} لارجاع ذرة الكبريت المرتبطة في حلقة الثيازول في مادة البيوغليتازون هيدروكلوريد باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة بالتراكم الادمصاصي المهبطي في SWCAdSV في وسط واقي بريتوني عند $\text{pH}=7.5$ على المسرى HMDE.

إن معادلة المنحني العياري لتيار القمة الثالثة I_{p3} تعطى كما يلي:

$$I_{p3} = -1.6544C + 124.63$$

$$R^2 = 0.9998$$

حيث أن I_{p3} تيار القمة بـ nA ، و C تركيز البيوغليتازون بـ $\mu\text{g.L}^{-1}$ (ng.mL^{-1}).

لقد كان المنحني العياري خطياً ضمن مجال جيد للتراكيز :

$$164.8\text{--}2060\text{ng.mL}^{-1}$$

تم حساب حد الكشف LOD وحد التحديد الكمي LOQ وحصلنا على النتائج التالية:

$$\text{LOD} = 15.52 \text{ ng.mL}^{-1} = 0.039 \mu\text{M}$$

$$\text{LOQ} = 47.03 \text{ ng.mL}^{-1} = 0.119 \mu\text{M}$$

وبناءً على معطيات المنحنيات العيارية نعرض في الجدول رقم (22) نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد لمحاليل عيارية بتراكيز من 164.8ng.mL^{-1} إلى 2060ng.mL^{-1} في وسط واقي بريتوني عند $\text{pH}=7.5$ بالتحليل الفولط أمبيرومترى بطريقة الموجة المربعة باستخدام مسرى HMDE.

الجدول رقم (22)

نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد بالاعتماد على تيار القمة الثالثة Ip_3 الناتجة عن ارجاع ذرة الكبريت في حلقة الثيازول في صيغتها باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة بالتراكم الادمصاصي المهبطي SWCAdSV في وسط وافي بريتوني تركيزه 0.1 M وعند pH=7.5 على المسرى HMDE.

RSD %	حد الثقة، $\frac{SD}{\sqrt{n}} t \pm \bar{X}$ ، $ng.mL^{-1}$	خطأ القياس التحليلي، $ng.mL^{-1}$ ، $\frac{SD}{\sqrt{n}}$	الانحراف المعياري $ng.mL^{-1}$ ،SD	التركيز المحدد، \bar{X}^* ، $ng.mL^{-1}$	التركيز المأخوذ C، $ng.mL^{-1}$	التركيز المأخوذ، C، μM
3.5	7.21 ± 165.90	2.60	5.81	165.9	164.8	0.419
3.2	13.20 ± 332.20	4.75	10.63	332.2	329.5	0.629
2.7	16.71 ± 498.40	6.02	13.46	498.4	494.4	0.838
2.1	16.93 ± 649.60	6.10	13.64	649.6	659.2	1.258
1.7	17.51 ± 830.90	6.32	14.13	830.9	824.0	1.677
1.3	18.67 ± 1156.70	6.73	15.04	1156.7	1153.6	2.097
1.1	20.06 ± 1468.60	7.23	16.16	1468.6	1483.2	3.145
1.0	25.70 ± 2070.00	9.26	20.70	2070.0	2060.0	4.285

* n=5، t=2.776

إن نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد المبينة في الجدول رقم(22) تمتاز بدقة وحساسية كبيرتين وتراوح الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% بين 3.5% و 1.0% للتركيز $164.8ng.mL^{-1}$ و $2060 ng.mL^{-1}$ على التسلسل.

إن النتائج السابقة تبين إمكانية تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد PGZ-HCl بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي DPV مع سعة موجبة وثابتة للنبضات والتحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة بالتراكم الادمصاصي المهبطي SWCAdSV في وسط وافي بريتون روبنسون B-R عند pH=7.5 باستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة HMDE، حيث نلاحظ أن هناك قمة ثالثة حادة جداً ومنتظرة وكمونها $Ep_3 = -500 \pm 50 mV$ ، قد ظهرت باستخدام هذا المسرى HMDE ولم تكن تظهر لدى استخدام مسر DME أو مسرى SMDE بالإضافة إلى ظهور القمة الأولى والتي كانت عريضة وأقل تناظراً عند كمن $Ep_1 = -200mV$ مقارنة مع المسريين السابقين وبالتالي فإن ظهور القمة الفولط أمبيرومترية وشكلها وارتفاعها تأثر بنموذج المسرى المستخدم. إلا أن تيار القمة Ip_3 كان أكبر في حال تطبيق طريقة SWCAdSV منه في حال تطبيق طريقة DPV واستخدام مسرى قطرة الزئبق المعلقة . HMDE

II-التطبيقات العملية

APPLICATIONS

طبقتنا الطرائق المطورة من قبلنا باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي باستخدام مساري DME و HMDE و SMDE على عدة نماذج من المستحضرات الدوائية السورية والمعتمدة أصولاً من وزارة الصحة في سورية، واستخدمنا طريقة المنحني العياري وطريقة الإضافات العياريّة من أجل تحديد كمية المادة الفعالة (الغليبوريد **Glyburide** والريباغليينيد **Rebaglinide** والبيوغليتازون هيدروكلوريد **Pioglitazone HCl** في بعض خافضات سكر الدم، وأنقينا خمسة عينات لكل نموذج من مصادر مختلفة (لها تاريخ الصلاحية ذاته).

1-تحديد الغليبوريد **Glyburide** في مستحضراته الصيدلانية:

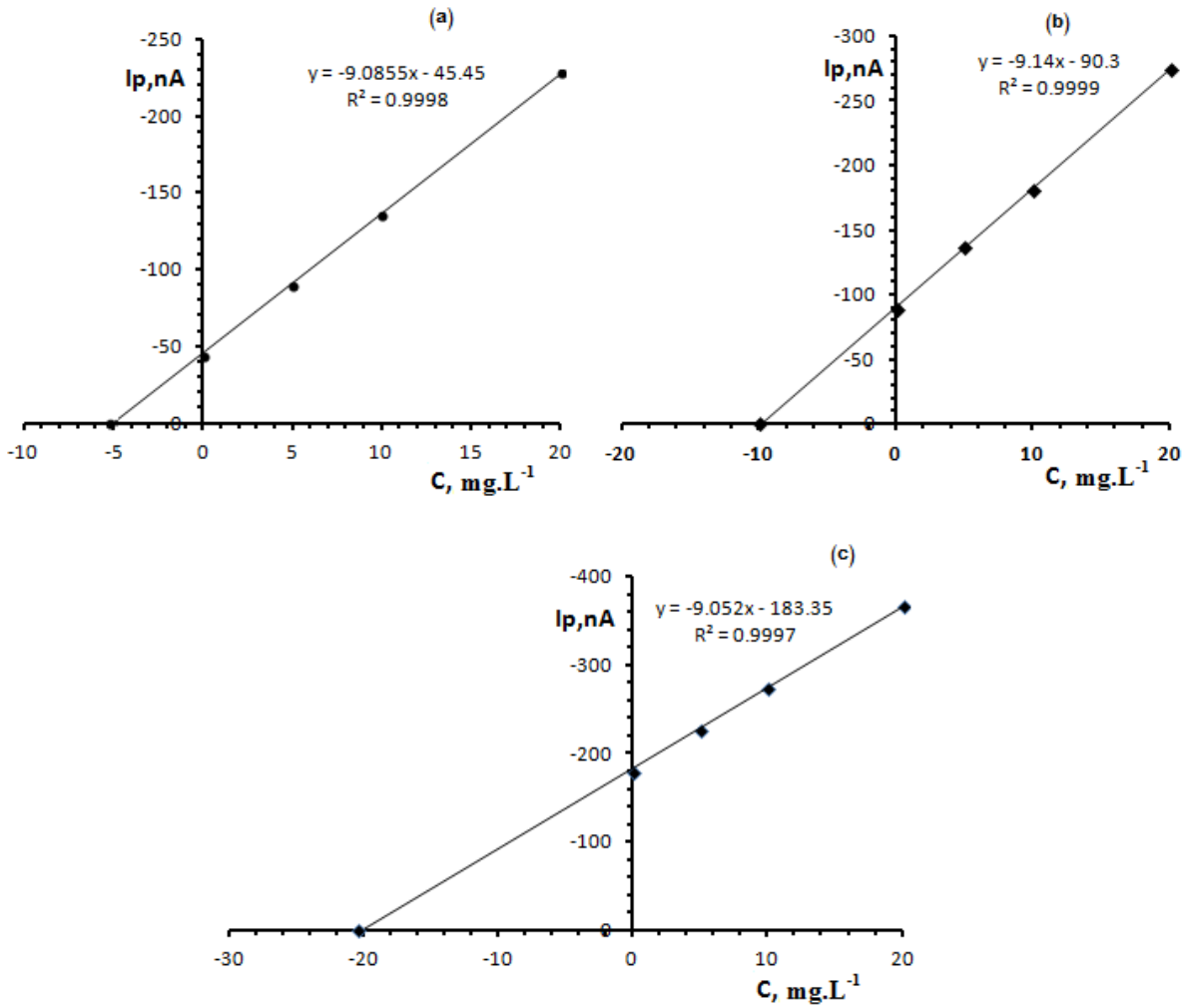
Determination of Glyburide in its Pharmaceutical Formulations

أجرينا عدة تطبيقات عملية لتحديد الغليبوريد في المستحضرات الصيدلانية على عدة أنواع من المستحضرات من إنتاج عدة شركات سورية وبعيارات مختلفة، بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات 60mV في وسط واقى خلى عند $\text{pH} = 6.0$ على مسرى الزئبق القطار DME؛ حيث تم التحديد بطريقتين طريقة المنحني العياري وطريقة الإضافات العياريّة، وكانت النتائج في كلتا الطريقتين متقاربة؛ حيث اعتمدنا في طريقة المنحني العياري على معادلة المنحني الآتية لحساب كمية المادة الفعالة:

$$I_p = -9.1184C + 1.6107$$

كما تم تحديد كمية المادة الفعالة في المستحضرات الصيدلانية بطريقة الإضافات العياريّة، ونعرض كمثل على ذلك تحديد الغليبوريد في المستحضر الصيدلاني **غليغورال Glicoral** في الشكل رقم (118).

ونعرض في الجدولين رقم (23 و 24) نتائج تحديد الغليبوريد في المضغوطات الدوائية وفقاً للطريقتين المذكورتين. تبين هذه النتائج أن كمية الغليبوريد مطابقة وضمن الحدود المسموح بها لما هو مُدوّن على العبوات الدوائية المدروسة .



الشكل رقم (118)

منحني طريقة الاضافات العيارية لتحديد الغليبوريد في المستحضر الصيدلاني غليغورال **Glicoral** (مضغوطات) باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع مسرى الزيتيق القطار (DME) وفق الشروط المثلى له ؛ حيث أن :

(a) لعينات عيار 1.25 mg/tab.

(b) لعينات عيار 2.5 mg/tab.

(c) لعينات عيار 5.0 mg/tab.

الجدول رقم (23)

نتائج تحديد الغليبيريد في المستحضرات الدوائية في واقى خلى عند pH = 6.5 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضى التفاضلى مع سعة موجبة وثابتة للنبضات على المسرى DME بطريقة المنحنى العيارى.

Recovery %	RSD%	\bar{X} mg/tablet	المحتوى Contents, mg/tab.	الاسم التجارى للمضغوطات
99.2	2.6	2.48	2.50	غليبومت Glibomet يونيفارما (دمشق - سوريا)
102.6	2.2	5.13	5.00	
107.6	2.3	5.38	5.00	غلو-ستات Glu-state تاميكو (دمشق - سوريا)
98.4	3.0	1.23	1.25	غليميت Glymet سيتى فارما (دمشق - سوريا)
103.6	2.1	5.18	5.00	
99.2	2.9	1.24	1.25	غليغورال Glicoral مختبرات راشا (دمشق - سوريا)
100.8	2.5	2.52	2.50	
102.0	2.2	5.10	5.00	
100.0	2.8	1.25	1.25	غليفورم Gly-form سيتى فارما (حلب - سوريا)
104.0	2.5	2.60	2.50	
103.0	2.0	5.15	5.00	
99.6	2.6	2.49	2.50	غلوفانس Gluvance السعد (حلب - سوريا)
104.0	2.1	5.20	5.00	
98.4	3.0	1.23	1.25	غليغوفورمين Glycoformine أوبرى (حلب - سوريا)
100.0	2.7	2.50	2.50	غليبورين Glyburine الوطنية للصناعات الدوائية (حلب - سوريا)
102.8	2.0	5.14	5.00	

الجدول (24)

نتائج تحديد الغليبيريد في المستحضرات الدوائية في واقى خلى عند pH = 6.5 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضى التفاضلى مع سعة موجبة وثابتة للنبضات على المسرى DME بطريقة الاضافات العيارية.

Recovery %	RSD%	\bar{X} mg/tablet	المحتوى Contents, mg/tab.	الاسم التجارى للمضغوظات Commercial Name
101.6	2.5	2.54	2.50	غليبوميت Glibomet
101.0	2.1	5.05	5.0	يونيفارما (دمشق - سوريا)
105.0	2.4	5.25	5.00	غلو-ستات Glu-state تاميكو (دمشق - سوريا)
100.0	2.6	1.25	1.25	غليميت Glymet
103.0	2.0	5.15	5.00	سيتي فارما (دمشق - سوريا)
102.4	2.4	1.28	1.25	غليغورال Glicoral
102.0	2.3	2.55	2.50	مختبرات راشا (دمشق - سوريا)
103.0	2.0	5.15	5.00	
100.8	2.6	1.26	1.25	غليفورم Gly-form
104.0	2.4	2.60	2.50	سيتي فارما (حلب - سوريا)
102.0	2.0	5.10	5.00	
100.8	2.7	2.52	2.50	غلوفانس Gluvance
102.0	2.4	5.10	5.00	السعد (حلب - سوريا)
99.2	2.8	1.24	1.25	غليغوفورمين Glycoformine
				أوبري (حلب - سوريا)
102.0	2.5	2.55	2.50	غليبورين Glyburine
103.2	2.2	5.16	5.00	الوطنية للصناعات الدوائية (حلب - سوريا)

2-تحديد الريباغليينيد Rebaglinide في المستحضرات الصيدلانية:

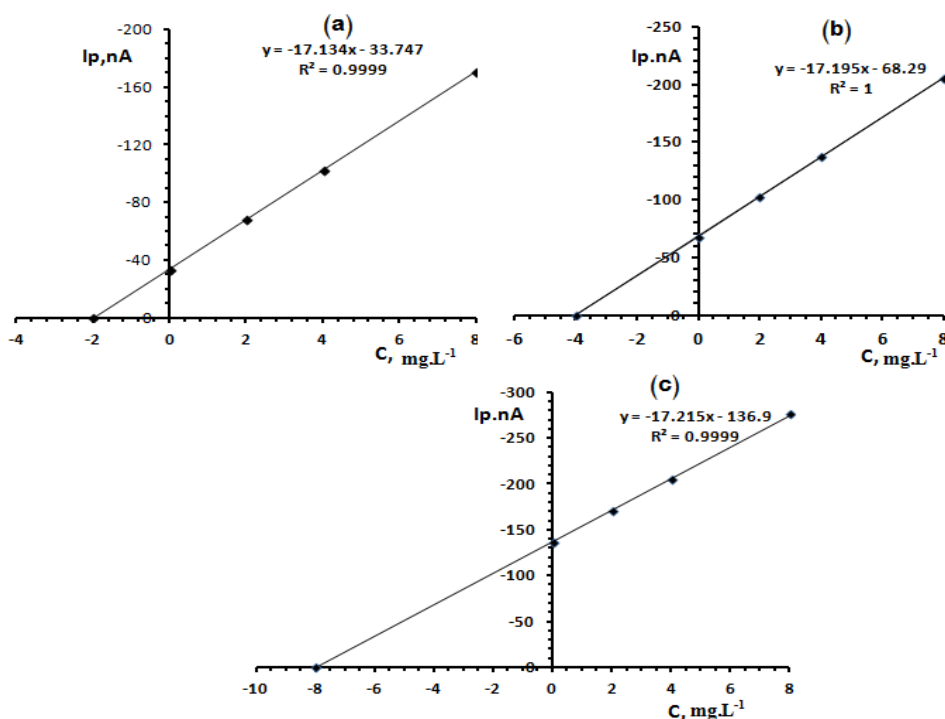
Determination of Rebaglinide in its Pharmaceutical Formulations

أجرينا تطبيق للدراسة المقترحة لتحديد الريباغليينيد في مستحضر دوائي واحد متوفر في السوق السورية وبعيارات مختلفة، وذلك بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وافي فوسفاتي $\text{pH} = 7.0$ ؛ حيث تم التحديد بطريقتين طريقة المنحني العياري وطريقة الإضافات العيارية وكانت النتائج في كلتا الطريقتين متقاربة؛ حيث اعتمدنا في طريقة المنحني العياري على معادلة المنحني الآتية لحساب كمية المادة الفعالة:

$$I_p = -17.209C + 1.4833$$

كما تم تحديد كمية المادة الفعالة في المستحضرات الصيدلانية بطريقة الإضافات العيارية، ونعرض

في الشكل رقم (119)، تحديد الريباغليينيد في مستحضر غلينيد Glinide على DME.



الشكل رقم (119)

منحني طريقة الإضافات العيارية لتحديد الريباغليينيد في المستحضر الصيدلاني غلينيد Glinide (مضغوطات) باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME وفق الشروط المثلى له؛ حيث: (a) لعينات عيار 0.50 mg/tab.، (b) لعينات عيار 1.0 mg/tab.، (c) لعينات عيار 2.0 mg/tab.

ونعرض في الجدولين رقم (25 و 26) نتائج تحديد الريباغليينيد في المضغوطات الدوائية. وتبين هذه النتائج أن كمية الريباغليينيد مطابقة وضمن الحدود المسموح بها لما هو مُدَوَّن على العبوات الدوائية المدروسة.

الجدول رقم (25)

نتائج تحديد الريباغليينيد في المستحضرات الدوائية في وافي فوسفاتي عند pH = 7.0 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات بطريقة المنحني العياري.

Recovery %	RSD%	\bar{X} , mg/tablet	المحتوى Contents, mg/tab.	الاسم التجاري للمضغوظات	نوع المسرى
98.8	5.1	0.494	0.50	غليينيد Glinide	DME
101.6	5.1	1.016	1.00		
103.2	4.1	2.064	2.00		
102.0	3.5	0.510	0.50		SMDE
99.4	5.2	0.994	1.00		
102.1	3.5	2.042	2.00		
100.0	4.0	0.500	0.50		
102.2	4.7	1.022	1.00		HMDE
101.8	3.9	2.036	2.00		

الجدول رقم (26)

نتائج تحديد الريباغليينيد في المستحضرات الدوائية في وافي فوسفاتي عند pH = 7.0 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات بطريقة الاضافات العيارية.

Recovery %	RSD%	\bar{X} , mg/tablet	المحتوى Contents, mg/tab.	الاسم التجاري للمضغوظات	نوع المسرى
99.2	5.0	0.496	0.50	غليينيد Glinide	DME
101.0	5.3	1.010	1.00		
102.8	4.1	2.056	2.00		
102.0	2.9	0.510	0.50		SMDE
99.0	5.1	0.990	1.00		
102.7	3.2	2.054	2.00		
101.0	4.0	0.505	0.50		
102.5	4.1	1.025	1.00		HMDE
101.7	3.7	2.034	2.00		

3- تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد Pioglitazone HCl في المستحضرات الصيدلانية:

Determination of Pioglitazone HCl in its Pharmaceutical Formulations

أجرينا عدة تطبيقات عملية لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية على عدة أنواع من المستحضرات من إنتاج عدة شركات سورية وبعيارات مختلفة، بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات في وافي بريوني تركيزه 0.1 M يحتوي على الميثانول بنسبة 32% عند pH = 6.0 على مسرى DME؛ حيث تم التحديد بطريقتين طريقة المنحنى العياري وطريقة الإضافات العياريّة وكانت النتائج في كلتا الطريقتين متقاربة، واعتمدنا في طريقة المنحنى العياري على معادلة المنحنى الآتية لحساب كمية المادة الفعالة:

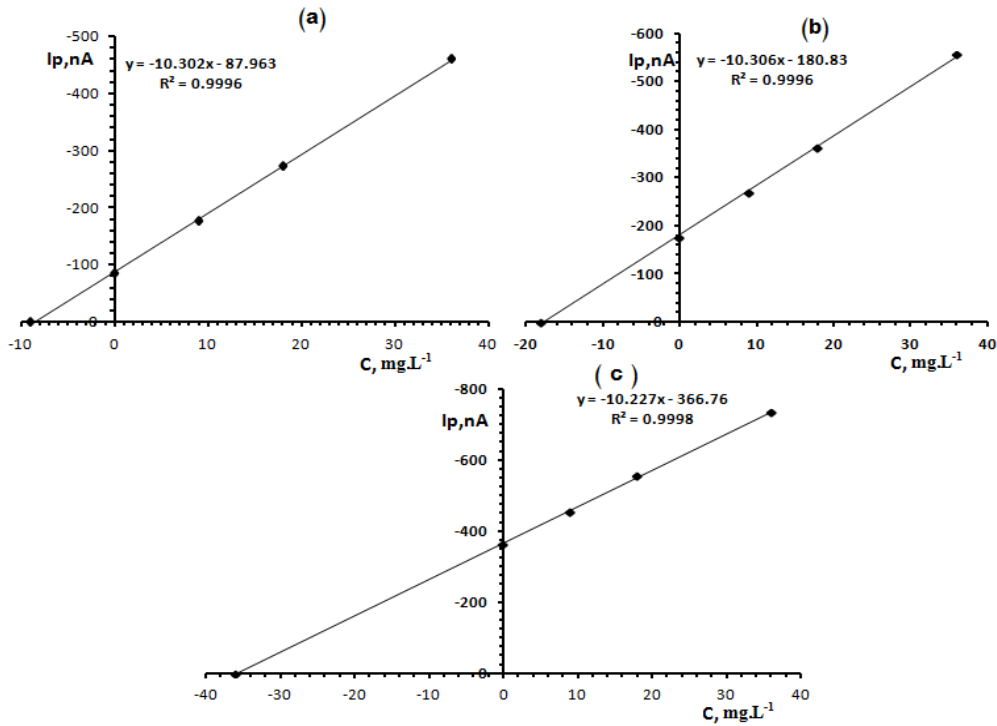
- معادلة المنحنى اعتمادا على تيار القمة الأولى I_{p1} تعطى بالعلاقة التالية:

$$I_{p1} = -10.306C + 7.7951$$

- معادلة المنحنى اعتمادا على تيار القمة الثانية I_{p2} تعطى بالعلاقة التالية:

$$I_{p2} = -6.3102C + 0.9648$$

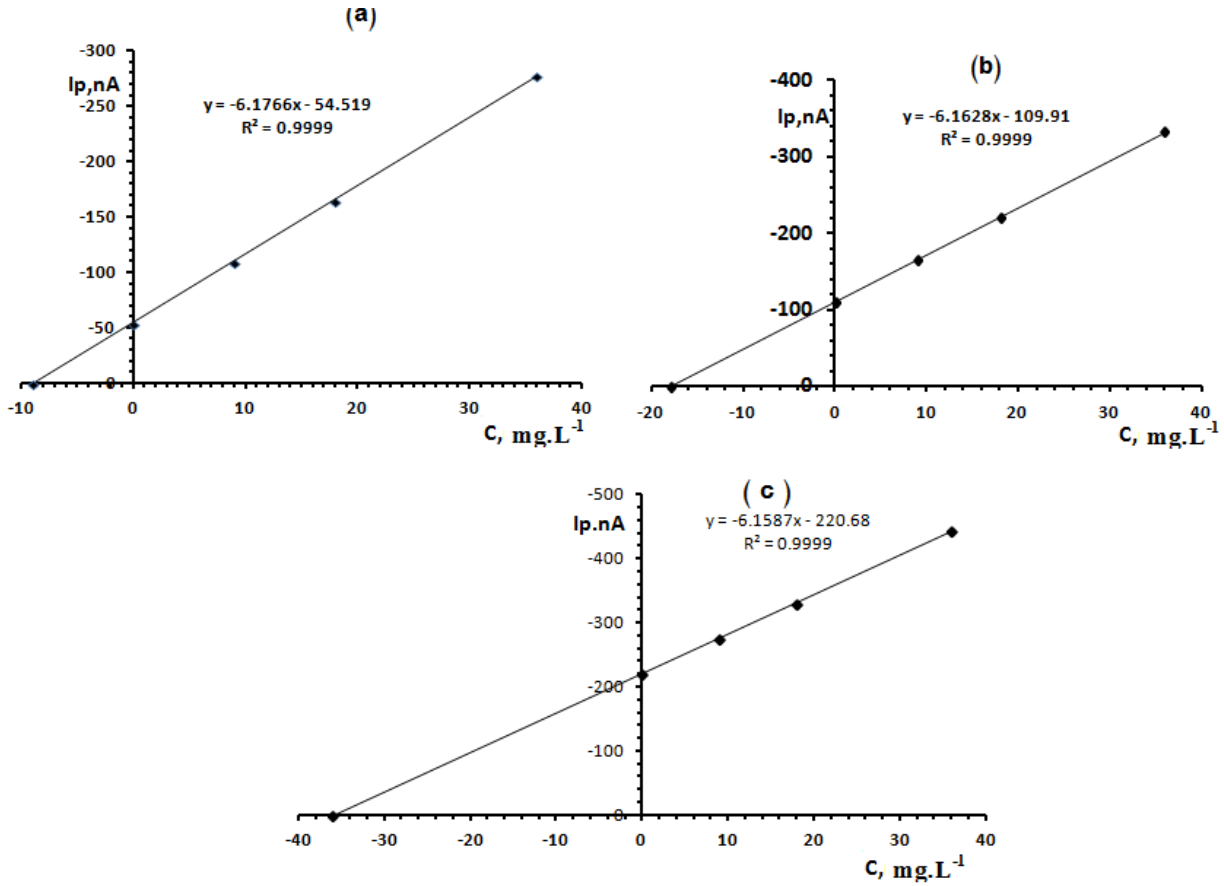
كما تم تحديد كمية المادة الفعالة في المستحضرات الصيدلانية بطريقة الإضافات العياريّة، ونعرض كمثل تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في مستحضر بيوغليت Pioglit في الشكلين (120 و 121).



الشكل رقم (120)

منحنى طريقة الإضافات العياريّة لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضر الصيدلاني

بيوغليت Pioglit (مضغوطات) باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME بالاعتماد على تيار القمة الأولى I_{p1} ؛ حيث: (a) لعينات عيار 15 mg/tab، (b) لعينات عيار 30 mg/tab، (c) لعينات عيار 45 mg/tab.



الشكل رقم (121)

منحني طريقة الاضافات العيارية لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضر الصيدلاني بيوغليت Pioglit (مضغوطات) باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي على مسرى DME بالاعتماد على تيار القمة الثانية Ip_2 ؛ حيث: (a) لعينات عيار 15 mg/tab، (b) لعينات عيار 30 mg/tab، (c) لعينات عيار 45mg/tab.

وقد حددت القيمة الوسطية لكمية البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية بعد حسابها اعتماداً على تيار القمة الأولى والثانية، ونعرض في الجدولين (27 و 28) نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المضغوطات الدوائية، وتبين هذه النتائج أن كمية البيوغليتازون هيدروكلوريد مطابقة وضمن الحدود المسموح بها لما هو مُدوّن على العبوات الدوائية المدروسة .

الجدول رقم (27)

نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية في وافي بريتوني يحتوي على المينانول
بنسبة 32% عند pH = 6.0 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة
للنبضات على مسرى DME بطريقة المنحني العياري.

Recovery %	RSD%	\bar{X} mg/tablet	المحتوى Contents, mg/tab.	الاسم التجاري للمضغوظات Commertial Name
99.0	2.2	14.85	15	بيوغليت Pioglit بركات (حلب _ سوريا)
100.3	1.6	30.08	30	
99.9	1.3	44.97	45	
100.8	2.3	15.12	15/500mg metformin	بيوغليت ميت Pioglit met بركات (حلب _ سوريا)
99.6	2.0	14.94	15/850mg metformin	
101.5	2.4	15.22	15	اكتاوزن اسيا Actaoze Asia آسيا (حلب _ سوريا)
103.4	1.5	31.01	30	
99.0	1.1	44.57	45	
104.0	2.0	15.60	15	ديفاست Defast يونيفارما (دمشق_سوريا)
101.0	1.7	30.30	30	

الجدول رقم (28)

نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية في وافي بريتوني يحتوي على المينانول
بنسبة 32% عند pH = 6.0 باستخدام التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة
للنبضات على مسرى DME بطريقة الإضافات العيارية.

Recovery %	RSD%	\bar{X} mg/tablet	المحتوى Contents, mg/tab.	الاسم التجاري للمضغوظات Commertial Name
99.5	2.0	14.92	15	بيوغليت Pioglit بركات (حلب _ سوريا)
100.3	1.7	30.10	30	
102.2	1.3	46.00	45	
101.0	2.3	15.15	15/500mg metformin	بيوغليت ميت Pioglit met بركات (حلب _ سوريا)
99.9	2.0	14.98	15/850mg metformin	
102.0	2.4	15.30	15	اكتاوزن اسيا Actaoze Asia آسيا (حلب _ سوريا)
104.3	1.5	31.30	30	
99.5	1.1	44.76	45	
103.0	2.0	15.45	15	ديفاست Defast يونيفارما (دمشق_سوريا)
102.2	1.7	30.66	30	

كما أجرينا عدة تطبيقات عملية لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية على عدة أنواع من المستحضرات من إنتاج عدة شركات سورية وبعيارات مختلفة في وافي بريتون روبنسون $pH = 7.5$ على مسرى HMDE؛ حيث تم التحديد بطريقتين، بطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات وطريقة التحليل الفولط أمبيرومترى ذو الموجة المربعة SWCAdSV بالاعتماد على طريقة المنحني العياري وكانت النتائج في كلتا الطريقتين متقاربة؛ حيث اعتمدنا في طريقة المنحني العياري على معادلة المنحني الآتية لحساب كمية المادة الفعالة:

- معادلة المنحني اعتمادا على تيار القمة الثالثة Ip_3 بطريقة DPV تعطى بالعلاقة التالية:

$$Ip_3 = -0.167C + 9.6560$$

- معادلة المنحني اعتمادا على تيار القمة الثالثة Ip_3 بطريقة SWCAdSV تعطى بالعلاقة التالية:

$$Ip_3 = -1.654C + 24.63$$

ونعرض في الجدولين (29 و 30) نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المضغوطات الدوائية.

الجدول رقم (29)

نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية في وسط وافي بريتونى عند $pH = 7.5$ بالتحليل الفولط أمبيرومترى النبضي التفاضلي مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى HMDE بطريقة المنحني العياري.

Recovery %	RSD%	\bar{X} mg/tablet	المحتوى Contents, mg/tab.	الاسم التجاري للمضغوطات Commertial Name
99.3	4.0	14.9	15	بيوغليت Pioglit بركات (حلب _ سوريا)
105.3	2.8	31.6	30	
102.2	2.4	46.0	45	
102.0	3.8	15.3	15/500mg metformin	بيوغليت ميت Pioglit met بركات (حلب _ سوريا)
100.7	3.5	15.1	15/850mg metformin	
100.0	3.3	15.0	15	اكتاوزن آسيا Actaoze Asia آسيا (حلب _ سوريا)
101.0	2.7	30.3	30	
102.2	2.3	46.0	45	
100.0	3.6	15.0	15	ديفاست Defast يونيفارما (دمشق_سوريا)
105.0	3.0	31.5	30	

الجدول رقم (30)

نتائج تحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الدوائية في وسط وافي بريتوني عند $pH = 7.5$ باستخدام التحليل الفولط أمبيرومتر ذي الموجة المربعة SWCAdSV مع سعة موجبة وثابتة للنبضات باستخدام مسرى HMDE بطريقة المنحني العياري.

Recovery %	RSD%	\bar{X} mg/tablet	المحتوى Contents, mg/tab.	الاسم التجاري للمضغوظات Commertial Name
100.7	3.6	15.1	15	بيوغليت Pioglit بركات (حلب _ سوريا)
102.0	2.5	30.6	30	
101.1	2.2	45.5	45	
99.3	3.5	14.9	15/500mg metformin	بيوليت ميت Pioglit met بركات (حلب _ سوريا)
102.7	3.5	15.4	15/850mg metformin	
99.3	3.2	14.9	15	اكتاوزن آسيا Actaoze Asia آسيا (حلب _ سوريا)
102.0	2.6	30.6	30	
100.0	2.1	45.0	45	
99.3	3.2	14.9	15	ديفاست Defast يونيفارما (دمشق_سوريا)
103.3	2.8	31.0	30	

وتبين هذه النتائج أن كمية البيوغليتازون هيدروكلوريد مطابقة وضمن الحدود المسموح بها لما هو مُدَوَّن على العبوات الدوائية المدروسة .

ومما سبق نقترح تطبيق هذه الطرائق في معامل الأدوية في مختبرات ضبط الجودة لمراقبة المنتجات الدوائية وتحديد نقاوة المواد الفعالة دوائياً لأنها دقيقة وحساسة وانتقائية ولاتحتاج إلى معالجة مسبقة للعينات الصيدلانية.

الاستنتاجات
Deductions

1- طورنا طريقة تحليلية فولط أمبيرومترية نبضية لتحديد بعض مضادات السكري التالية: غليبوريد Glyburide، ريباغليينيد Rebaglinide وبيوغلينازون هيدروكلوريد Pioglitazone Hydrochloride ، تميزت هذه الطريقة بانتقائية ممتازة وحساسية كبيرة وتكلفة منخفضة وسرعة وسهولة في الاستخدام، بالمقارنة مع الطرائق المرجعية التي تحتاج إلى معالجة مسبقة للعينات بالإضافة إلى انها ذات تكلفة كبيرة.

2- إن تغيير نوع الكهروكاثود أو تركيزه أو شروط العمل الكهروكيميائي يؤدي إلى تغيير في العملية المسروية، فإما أن تظهر القمة أو تختفي أو يتغير شكلها وحدتها وتناظرها، ولهذا قمنا بدراسة وتثبيت الشروط المثلى لكل من المواد المدروسة وتطبيق هذه الشروط لدى رسم المنحنيات العيارية وتحديد المجالات الخطية وحد الكشف وحد التحديد الكمي وكذلك التطبيق على المستحضرات الصيدلانية.

3- درسنا مختلف طرائق التحليل الفولط أمبيرومترية التي تعطينا معلومات عن طبيعة العملية المسروية مصعدية كانت أم مهبطية وطبقنا بعض القوانين المرجعية في اثبات الزمرة التي حصل عليها التفاعل الكهروكيميائي، واقترحنا معادلة التفاعل التي تبين الحالة التي تتحول إليها المادة لدى اقترابها من سطح المسرى واستنتجنا أن لكل مركب خواص كهروكيميائية مميزة له من خلال الزمر الوظيفية التي يمتلكها. طبقنا لأول مرة القوانين الرياضية التي تستخدم لدراسة العمليات المسروية وتفسر الخواص الكهروكيميائية للزمر الوظيفية الفعالة كهروكيميائياً وتحدد عدد الإلكترونات المتبادلة مع المسرى.

4- لدى دراسة مادة الغليبوريد والتي تنتمي لمجموعة السلفونيل يوريا، وجدنا أن للمادة خواص كهروكيميائية تعزى لوجود زمرة الكربونيل فيها وتم اثبات أن هذه الزمرة يحصل فيها تفاعل ارجاع وفقاً لثنائية لا عكوسة؛ حيث ظهرت قمة مهبطية عند كمن قمة $E_p = -1.225$ V في وسط وافي خلي بتركيز 5mM و pH 6.5 ، ولاحظنا أن هذه القمة تكون أفضل ما يمكن عند درجة حموضة معتدلة أو ضعيفة القلوية وذلك تبعاً لخواصها المرجعية التي تبين انها تمتلك ثابت تشرد pKa مساوياً 6.8 أي قريباً من درجة حموضة الوسط التي تمت فيه الدراسة، مما يدل على أن المادة عند هذه القيمة يمكن أن تكتسب شحنة أو أن تنتشر وبالتالي يصبح اقترابها من سطح المسرى وفقاً لأحدى الآليات (الهجرة أو النقل أو الحمل) أسهل مما لو كانت بشكلها الجزيئي غير المتشرد.

5- قارنا المركب المدروس غليبوريد مع مركبات أخرى وهي الناتيغلينيد Nateglinide (تحتوي على زمرة كربونيل واحدة في صيغتها) والغليمبيريد (تحتوي على ثلاث زمر كربونيل في صيغتها). وجدنا أن كافة المركبات المذكورة تظهر قمة في نفس الموقع، مما يدل على أن

العملية المسروية واحدة، كما وجدنا أن تيار القمة يتأثر بعدد زمر الكربونيل في الصيغ الكيميائية ويزداد بازدياد عددها، مما يؤكد لنا أن ارجاع الغليبيريد يحصل على زمرة الكربونيل وذلك بعد حساب عدد الالكترونات المتبادلة مع المسرى.

6- تمكنا من تحديد مادة الغليبيريد Glyburide بشكلها النقي وفي مستحضراتها الصيدلانية مع العلم ان بعض المستحضرات الصيدلانية كانت فيها المضغوطة حاوية على الغليبيريد Glyburide بكمية (1.25mg , 2.5mg, 5mg) بالإضافة إلى مادة الميتفورمين هيدروكلوريد Metformin Hydrochloride والتي تكون كميتها المرافقة (500 mg , 850 mg) مما يدل ان الطريقة المطبقة هي طريقة ذات انتقائية عالية جداً؛ حيث استطعنا تحديد الغليبيريد بتراكيز منخفضة دون أي تداخلات مع الميتفورمين هيدروكلوريد في الشكل النقي وفي المستحضرات الصيدلانية بمردود Recovery تراوحت ما بين 98.4% إلى 107.6%، مما يدل على أن السلوك الكهركيميائي للغليبيريد يختلف عنه للميتفورمين هيدروكلوريد بنفس شروط العمل وان وجود الميتفورمين والسواغات الاخرى لايعيق عملية التحديد.

7- لدى دراسة مركب الريباغليينيد Rebaglinide وجدنا أن للمركب خواص كهركيميائية تختلف تماماً عن خواص الغليبيريد علماً أن للمركبين زمر وظيفية متشابهة، إلا أن العملية المسروية للريباغليينيد كانت مصعدية خاضعة لنظام شبه عكوس تعود لزمرة الكربونيل أميد.

8- تم اثبات السلوك الكهركيميائي للريباغليينيد اعتماداً على خواصها الكيميائية، وبعض الدراسات المرجعية التي تعطينا فكرة عن العملية المسروية مثل علاقة كمن القمة بقيمة pH الوسط وعلاقة تيار القمة وكمونها بسرعة المسح. حسبنا عدد الالكترونات المتبادلة رياضياً. ووجدنا مرجعياً أن هناك دراسة كهركيميائية للريباغليينيد وفقاً لعملية مسروية مصعدية لم يتم التطرق فيها للزمرة الحاصل عليها التفاعل الكهركيميائي، ولذلك اقترحنا معادلة التفاعل الكهركيميائي للريباغليينيد على سطح مسرى الزئبق بكافة نماذجه القطار DME والقطرة الساكنة SMDE والمعلقة HMDE، ومن ثم رسمنا المنحنيات العيارية وحددنا المجالات الخطية وأجرينا تطبيق الطريقة الفولط أمبيرومتريّة النبضية التفاضلية لتحديد الريباغليينيد في المستحضرات الصيدلانية المتوفرة في الأسواق السورية بمردود تراوحت ما بين 98.8% إلى 103.2%.

9- ولدى دراسة مركب البيوغليتازون هيدروكلوريد Pioglitazone Hydrochloride وهو مركب ينتمي لمجموعة الثيازول، لاحظنا أن للمركب خواص كهركيميائية تعود لعدد من الزمر الكهركيميائية الموجودة في صيغتها والتي تمت دراستها بالتفصيل بتطبيق مختلف الطرائق الكهركيميائية التفاضلية والحلقية والادمصاصية على مختلف نماذج مسرى الزئبق.

- 10- وجدنا أن البيوغليتازون هيدروكلوريد يخضع لعملية مسروية مهبطية وفقاً لنظام ثنائية لعاكوسة في وسط واقي برينوني وعند pH 6 أو pH 7.5 وفقاً لنموذج المسرى المستخدم؛ حيث لاحظنا ظهور ثلاثة قمم للمادة: الأولى تظهر عند كمون قمة $E_{p1} = -0.1$ V والثانية عند كمون قمة $E_{p2} = -1.05$ V والثالثة عند كمون قمة $E_{p3} = -0.55$ V .
- 11- لاحظنا أن القمة الأولى والثانية تظهر لدى استخدام مسرى الزئبق القطار DME ومسرى قطرة الزئبق الساكنة SMDE، واقترحنا الآلية للتفاعلات الحاصلة على سطح المسرى، وبيننا أن القمة الأولى تعود لارجاع زمرة الأوكسي والثانية تعود لارجاع زمرة السيان C=N في الصيغة الكيميائية للبيوغليتازون هيدروكلوريد، وحسبنا عدد الالكترونات المتبادلة وفقاً للعلاقات الرياضية. ووجدنا أنها تساوي 2 لكل زمرة.
- 12- كما لاحظنا أن القمة الثانية لاتظهر لدى استخدام مسرى قطرة الزئبق المعقدة HNDE وإنما تظهر القمة الأولى فقط وبتيار قمة صغير، ثم تظهر القمة الثالثة على شكل قمة حادة جداً ومتناظرة بالمقارنة مع القمتين السابقتين واثبتنا أنها ناتجة عن ارجاع ذرة الكبريت المرتبطة في حلقة الثيازول. وتم حساب عدد الالكترونات المتبادلة في العملية المسروية التابعة للقمة الثالثة ووجدنا أنها تساوي 4. ومن ثم رسمنا المنحنيات العيارية وحددنا المجالات الخطية وأجرينا تطبيق الطريقة الفولط أمبيرومتريية النبضية التفاضلية والطريقة الفولط أمبيرومتريية ذات الموجة المربعة لتحديد البيوغليتازون هيدروكلوريد في المستحضرات الصيدلانية المتوفرة في الأسواق السورية بمردود تراوحت ما بين 99.3% إلى 105.3% .
- 13- إن هذه الطرائق سهلة وحساسة ودقيقة وانتقائية وتستخدم لأول مرة لتحديد بعض مضادات السكري في دراسة السلوك الكهركيميائي للزمر الوظيفية الكيميائية الفعالة كهركيميائياً اعتماداً على الخواص الكيميائية للمركب وكذلك اعتماداً على بعض العلاقات الرياضية للعمليات المسروية في الدراسات الفولط أمبيرومتريية.
- 14- إن الطرائق المطورة في هذا البحث تصلح من أجل تحديد الغليبوريد والريباغلينيد والبيوغليتازون هيدروكلوريد في المضغوطات بدون اعاقاة من السواغات المضافة أو من المركبات الدوائية المرافقة لها ونقترح تطبيقها في ضبط الجودة للمستحضرات الصيدلانية المدروسة.

المراجع
References

- 1- David G. G., 2011- **Greenspan's basic & clinical endocrinology 9th ed.**, New York: *McGraw-Hill Medical*. pp. Chapter 17.
- 2- Rother K.I., 2007- "**Diabetes treatment-bridging the divide**", *The New England Journal of Medicine*, **356 (15)**, 1499-501.
- 3- Brian C., Leutholtz I., 2011- **Exercise and disease management 2nd ed.**, Boca Raton: *CRC Press*, p. 25.
- 4- Leonid P., 2009- **Principles of diabetes mellitus 2nd ed.**, New York: *Springer*. p. 3.
- 5- Ripsin C.M., Kang H., Urban R.J., 2009- "**Management of blood glucose in type 2 diabetes mellitus**", *American family physician* , **79 (1)**, 29-36.
- 6- Clinical Guidelines Task Force, International Diabetes Federation (2005). "Glucose control: oral therapy" . In: *Global Guideline for Type 2 Diabetes*. Brussels: International Diabetes Federation, 35–8, 2007.
- 7- Grell W., Hurnaus R., Griss G. et al.,1998- **Repaglinide and related hypoglycemic benzoic acid derivatives**, *J. Med. Chem.*,**41**,5219-5246.
- 8- American Diabetes Association,2009- **Standards of medical care in diabetes**, *Diabetes Care*, **32(1)**, 13–61.
- 9- WHO, 2010- **Model List of Essential Medicines** , 16th edition, *World Health Organization*, **22**, p. 24.
- 10- Bailey C.J., Day C., 2004- **Metformin: its botanical background**, *Practical Diabetes International*, **21(3)**, 115-117.
- 11- Michael K. , 2011- **The Use of Medicines in the United States: Review of 2010**, *IMS Institute for Healthcare Informatics*, **28**.
- 12- Garry G. G., Jeroen P., Manit A., Richard O. D., Matthew P. D., Janna K. D., Timothy J. F., Jerry R. G., Louise C. G., Carl M. K., John E. R., Peter T. and Kenneth M. W.,2011- **Clinical Pharmacokinetics of Metformin**, *Clin Pharmacokinet* , **50 (2)**, 81-98.
- 13- Marble A., 1971- "**Glibenclamide, a new sulphonylurea: whither oral hypoglycaemic agents?**", *Drugs*, **1 (2)**, 109-15.
- 14- Hennessey J.V., Bustamante M.A. and Teter M.L.,1994- **Bedtime dosing of glyburide and the treatment of type II diabetes mellitus**, *Am. J. Med. Sci.*, **308**, 234.
- 15- Jaber L.A., Antal E.J. and Welshman I.R., 1996- **Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyburide in young and elderly patients with NIDDM**, *Ann. Pharmacother.*, **30**, 472.
- 16- Oliver S., Windfeld K., Hatorp V.,1997- **Pharmacokinetics and bioavailability of repaglinide, a new OHA for patients with NIDDM**, *Diabetes*, **46 (1)**, 331A.
- 17- Krishna Reddy KVSR, Babu J., Mathad V., et al.,2003- **Impurity profile study of Rebaglinide**, *J. Pharm Biomed Anal.*, **32**, 461-467.

- 18- Comer J., Tam K., in: Testa B, van H., de Waterbeemd, Folkers G., Guy (Eds.) R., 2001- **Pharmacokinetic Optimization in Drug Research: Biological, Physicochemical and Computational Strategies**, Wiley-VCA, Zurich , pp. 275–304.
- 19- **Waugh J., Keating G.M., Plosker G.L., Easthope S., Robinson D.M., 2006- Pioglitazone: a review of its use in type 2 diabetes mellitus, *Drugs*, 66(1), 85-109.**
- 20- Chilcott J., Tappenden P., Jones M.L., Wight J.P.,2001- **A systematic review of the clinical effectiveness of pioglitazone in the treatment of type 2 diabetes mellitus, *Clin. Ther.*, 23, 1792–1823.**
- 21- Serajuddin ATM,2007- **Salt formation to improve drug solubility, *Adv Drug Del Rev*, 59, 603-616.**
- 22- Babu N.J. and Nangia A.,2011- **Solubility advantage of amorphous drugs and pharmaceutical cocrystals, *Crys Grow Des*, 11, 2662-2679.**
- 23- Li A. and Yalkowsky S.H., 1998- **Predicting cosolvency. 1. Solubility ratio and solute logKow, *Ind Eng Chem Res*,37, 4470-4475.**
- 24- Anton N. and Vandamme T.F.,2011- **Nano-emulsions and micro-emulsions: Clarification of the critical differences, *Pharm Res*, 28, 978-985.**
- 25- Mizuuchi H., Jaitely V., Murdan S., and Florence A.T.,2008- **Room temperature ionic liquids and their mixtures: Potential pharmaceutical solvents, *Eur J Pharm Sci*, 33, 326-331.**
- 26- Jayantilal K., Sami Q., Omar A., Boby A., Ali Al., Syed M., 2001- **A Novel Extractionless HPLC Fluorescence Method for the Determination of Glyburide in the Human Plasma: Application to a Bioequivalence Study, *J Pharm Pharmaceut Sci* , 4(2):201-206.**
- 27- Adams W. J. , Skinner G. S. , Bombardt P. A. , Courtney M. , Brewer J. E. ,1982- **Determination of glyburide in human serum by liquid chromatography with fluorescence detection, *Anal. Chem.*, 54 (8), 1287–1291.**
- 28- **Christelle G., Bhushan K., Katarina Al. and Gideon K.,2008- A simple and rapid HPLC method for the detection of glyburide in plasma original research communication (analytical), *Clinical Biochemistry*, 41(3), 167-173.**
- 29- Donna W. Gilchrist,2007- **Using HPLC to Determine Metformin and Glyburide in Human Serum Using Solid Phase Extraction, *Ballroom Posters* (Greenville Hyatt Regency Hotel).**
- 30- Wade J. Adams , D. Scott Krueger, **Specific and sensitive high-performance liquid chromatographic determination of glyburide, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 68 (9), 1138-1140.**
- 31- Rajendran S.D., Philip B.K., Gopinath R., Suresh B.,2007- **RPHPLC method for the estimation of glibenclamide in human serum, *Indian***

- Journal of Pharmaceutical Sciences*, **69** (6), 796-799.
- 32- Uiblein M., Sistovaris N.,1982- **High performance liquid column and Thin layer chromatographic determination of human serum Glibenclamide at therapeutic levels**, *J Chromatogr*,**227**, 93-101.
- 33- Emilsson H., Sjoberg S., Svedner M.,1986- **High performance liquid chromatographic determination of Glibenclamide in human plasma and urine**, *J Chromatogr* , **383**, 93-102.
- 34- Niopas I., Daftslos A.C.,2002- **High performance liquid chromatographic method for the determination of Glibenclamide in human plasma and its application to pharmacokinetic studies**, *J Pharm Biomed Anal*, **28**, 653-657.
- 35- Abdel-Hamid M.E., Suleiman M.S.,1989- **A Rapid high performance liquid chromatography assay of Glibenclamide in serum**, *J Clin Pharm Ther*,**14**,181-188.
- 36- Suresh B. N., Brian J. K., Mary F.H.,2007- **Validation of a sensitive LC–MS assay for quantification of glyburide and its metabolite 4-transhydroxy glyburide in plasma and urine: An OPRU Network study**, *Journal of Chromatography B*, **860**, 34–41
- 37- Hireen N.M., Arvind G. J. , Pranav S. Sh.,2007- **Liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of antidiabetic drugs metformin and glyburide in human plasma**, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **45**, 97–106
- 38- Showchien H., Krzysztof S.,2002- **High-throughput bioanalytical method using automated sample preparation and liquid chromatography–atmospheric pressure ionspray mass spectrometry for quantitative determination of glybenclamide in human serum**, *Journal of Chromatography B*, **772**, 347–356.
- 39- Abd-Elgawad R., Shimaa E.,2010- **Voltammetric and spectrophotometric study on the complexation of glibenclamide with β -cyclodextrin**, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **68** (3-4), 417-421.
- 40- Radi A.E.,2004- **Voltammetric study of glibenclamide at carbon paste and Sephadex-modified carbon paste electrodes**, *Anal. Bioanal. Chem.*, **378**, 822-826.
- 41- Castoldi D., Tofanetti O.,1979- **Gas chromatographic determination of glibenclamide in plasma**, *Clin Chim Acta.*, **16;93(2)**, 195-198.
- 42- Patel J.R., Suhagia B.N., Patel B.H., 2007- **Simultaneous Spectrophotometric Estimation of Metformin and Rebaglinide in a Synthetic Mixture**, *indian journal of pharmaceutical sciences*, **69(6)**, 844-846.
- 43- Sameer A. M., Abdulrahman K. B., 2011- **Specrtophotometric determination of Rebaglinide in tablets based on charge-transfer complexation reaction with chloranilic acid and dichloro-dicyano benzoquinone**, *chemical industry& chemical engineering quarterly* , **17(4)**,

469-476.

- 44- Jain SK, Agarwal GP, Jain NK,2005- **Spectrophotometric determination of repaglinide in tablet dosage forms**, *indian journal of pharmaceutical sciences*, **67 (2)**, 249-251 .
- 45- Abu Bakar R. , Mohd Suhaimi Abd. W. , Ahmad I., Zabidah I., Siew H. G.,2007- **Method development and validation of Rebaglinide in human plasma by HPLC and its application in pharmacokinetic studies**, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* , **45(43)**, 1831-1835.
- 46- Zhang J. , Gao F. , Guan X., Sun Y. , Gu J., **2011- Determination of Rebaglinide in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry**, *Acta Phamaceutica Sinica B*, **1 (1)** , 40-45.
- 47- Vipul P. R., Devanand B. Sh.,2007- **A Validated Chiral LC Method for the Enantiomeric Separation of Repaglinide on Amylose Based Stationary Phase**, *Chromatographia*, **66**, 7-8 .
- 48- Gandhimathi M., Ravi T. K., Susan K. R., 2003- **Determination of Repaglinide in Pharmaceutical Formulations by HPLC with UV Detection**, *Analytical Sciences*,**19(12)**, 1675 .
- 49- Anna B. Anna G. Hanna H.,2006- **Development and Validation of a New High-Performance Liquid Chromatography Method for the Determination of Gliclazide and Repaglinide in Pharmaceutical Formulations**, *Journal of AOAC International*, **89 (2)**, 319-325.
- 50- Anna B., Anna G., Lukasz K., Tadeusz I. and Patrycja M.,2011- **Elaboration and validation of a new capillary electrophoresis (CE) method in non-aqueous milieu for the analysis of hypoglycemic drug repaglinide in pharmaceuticals**, *ANNALES*,**24** , 9-15.
- 51- EL-Raies. M. A. N., Mohamad G.G., Attaia A.K., 2008- **Electrochemical Determination of the Antidiabetic Drug Rebaglinide**, *YAKUGAKU ZASSHI* ,**128(1)**, 171-177.
- 52- Al-Arfaj N. A., Al-Abdulkareem E., Aly F. A., 2008- **A Validated Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Antidiabetic Agent Pioglitazone HCl in Tablets and Biological Fluids**, *International journal of Biomedical science*, **4 (4)**,310-318.
- 53- Vijaya K., Nageswara R.P., Jaswanth K. I.,2012- **Simultaneous determination of pioglitazone and candesartan in human plasma by LC-MS/MS and its application to a human pharmacokinetic study**, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, **2(3)**, 167-173.
- 54- Ravikanth C.H., Anil Kumar A., Uday Kiran V., Prashanth S., Madhu B., Narsimha R. Y,2011- **Sensitive and Rapid HPLC Method for the Determination of Pioglitazone in Rat Serum**, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research* , **3(1)**, 38-41.
- 55- AMR L. S.,2008- **Determination of Pioglitazone Hydrochloride in Tablets by High-Performance Liquid Chromatography**, *Pak. J. Anal.*

Environ. Chem., **9(2)**.

- 56- Srinivasulu D., Sastry B. S., Omprakash G.,2010- **Development and Validation of New RP-HPLC Method for Determination of Pioglitazone HCL in Pharmaceutical Dosage Forms**, *International Journal of Chemistry Research*,**1 (1)**.
- 57- Lakshmi K.S., Rajesh T., Shrinivas Sh.,2009- **Determination of Pioglitazone and Glimpiride in Pharmaceutical Formulations and Rat Plasma by RP-LC**, *International Journal of PharmTech Research*, **1(3)**,496-499.
- 58- Venugopal S., Kalpana S., Jagadishbabu A., Upendra M. T., Devanna N.,2012- **Development and validation of stability indicating reverse phase HPLC method for the determination of impurities in pioglitazone Hydrochloride**, *Int J Pharm Biomed Sci* , **3(3)**, 89-96.
- 59- Abro K., Memon N., Bhangar M.I., Mahesar S.A., Perveen S., 2011- **Liquid Chromatographic Determination of Pioglitazone in Pharmaceuticals, Serum and Urine Samples**, *Pak. J. Anal. Environ. Chem.* , **12(1&2)**.
- 60- Sonali D. R., Patil P.M., Jadhav S. B. and Chaudhari P.D.,2012- **UV Spectrophotometric Simultaneous Determination of Metformine Hydrochloride and Pioglitazone Hydrochloride in Combined Dosage Form**, *Asian J. Pharm. Ana.*, **2(1)**, 05-09.
- 61- Seema M. D., Pramod B. K., Nikhil D. A.,2013- **UV Spectrophotometric Absorption Correction Method for the Simultaneous Estimation of Pioglitazone HCl, Metformin HCl and Glibenclamide in Multicomponent Formulation**, *International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **3(1)**, 18-22.
- 62- Massoud A., Mohadeseh Z., Mohammad K. R., Shahrooz S. and Abbas K., 2010- **Extractive Spectrophotometric Method for Determination of Pioglitazone Hydrochloride in Raw Material and Tablets Using Ion-Pair Formation**, *E-Journal of Chemistry*, **7(3)**, 915-921.
- 63- Farnoush F., Mohammad R. G., Ensieh Nasli-E., Bagher L., Siavash R., Parviz N.,2010- **Potentiometric Sensor for Quantitative Analysis of Pioglitazone Hydrochloride in Tablets Based on Theoretical Studies**, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **5**, 880 – 894.
- 64- Daneshgar P., Norouzi P., Dousty F., Ganjali M. R., Moosavi-Movahedi A. A.,2009- **Square Wave Voltammetry**, *Curr. Pharm. Anal.*, **5**, 246.
- 65- Faridbod F., Ganjali M. R., Safaraliee L., Riahi S., Hosseini M., Norouzi P., 2009- **Verapamil Potentiometric Membrane Sensor for Verapamil Pharmaceutical Analysis. Computational Investigation**, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **4**, 1419-1435.
- 66- Javanbakht M., Mohammadi A., Ganjali M.R., Norouzi P., Faridbod F., Pirelahi H., 2007- **PVC-Based on Thiopyrilium Derivatives Membrane Electrodes for Determination of Histamine**, *J. Chinese Chem. Soc.*, **54**, 1495.

- 67- Faridbod F., Ganjali M. R., Labbafi S., Dinarv R., Riahi S., and Norouzi P., 2009- **A New Metoclopramide Potentiometric Membrane Sensor for Analysis in Pharmaceutical Formulation and Urine: Concerns to Theoretical Study**, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **4**, 772-786.
- 68- Ganjali M. R., Vesimohammadi B., Riahi S., and Norouzi P., 2009- **Promethazine Potentiometric Membrane Sensor for Promethazine Hydrochloride Pharmaceutical Analysis; Computational Study**, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **4**, 740-754.
- 69- Waheed A. B., Mohammed A. El-R., Inas M. M., 2010- **Electrochemical determination of some antidiabetic drugs for type 2 diabetic patients**, *Talanta*, **82**, 106-112
- 70- Maloy J.R., 1983- **Factors affecting the shape of current-potential curves**, *J. Chem. Educ.*, **60**, 285.
- 71- Lingane J., 1941- **Interpretation of the Polarographic Waves of Complex Metal Ions**, *Chem. Rev.*, **29**, 1-35.
- 72- Barker G. C., Jenkin I. L., 1952- **Square-wave polarography**, *Analyst*, **77**, 685.
- 73- Borman S.B., 1982- **New electroanalytical pulse techniques**, *Anal. Chem.*, **54**, 698A-705A
- 74- . Osteryoung J., . Osteryoung R.A., 1985- **Square Wave Voltammetry**, *Anal. Chem.*, **57**, 101A-105A.
- 75- Odea J.J., Osteryoung J., Osteryoung R.A., 1981- **Square Wave Voltammetry at the Mercury Film Electrode: Theoretical Treatment**, *Anal. Chem.*, **53**, 695.
- 76- Samuelsson R., Odea J.J., Osteryoung J., 1980- **Rapid Scan Square Wave Voltammetric Detector for HPLC**, *Anal. Chem.*, **52**, 2215.
- 77- Gerhardt G.C., Cassidy R.M., Baranski A.S., 1998- **Square-Wave Voltammetry Detection for Capillary Electrophoresis**, *Anal. Chem.*, **70**, 2167-2173.
- 78- Nicholson R.S., Shain I., 1964- **Theory of stationary electrode polarography single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems**, *Anal. Chem.*, **36**, 706.
- 79- Echegoyen L., Echegoyen L.E., 1998- **Electrochemistry of Fullerenes and Their Derivatives**, *Acc. Chem. Res.*, **31**, 593.
- 80- Andrieux C.P., Hapiot P., Saveant J.M., 1990- **Ultramicroelectrodes for fast electrochemical kinetics**, *Electroanalysis*, **2**, 183.
- 81- Pearce P. J., Bard A. J., 1980- **Polymer films on electrodes: Part III. Digital simulation model for cyclic voltammetry of electroactive polymer film and electrochemistry of poly(vinylferrocene) on platinum**, *J. Electroanal. Chem.*, **114**, 89-115.

- 82- Wopschall R. H., Shain I., 1967- **Effects of adsorption of electroactive species in stationary electrode polarography**, *Anal. Chem.*, **39**, 1514-1527.
- 83- Sluyters-Rehbach, M., Sluyter J. R., 1975- **Some basic views on the influence of reactant adsorption on wave shapes in D.C., A.C. and linear sweep voltammetry**, *J. Electroanal. Chem.*, **65**, 831-841.
- 84- Brown A. P., Anson F. C., 1977- **Cyclic and differential pulse voltammetric behavior of reactants confined to the electrode surface**, *Anal. Chem.*, **49**, 1589.
- 85- Gosser, D. K., Jr., 1994- **Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms**, Wiley, Chichester, West Sussex, England.
- 86- Wang, J., 1985- **Stripping Analysis: Principles, Instrumentation and Applications**, VCH Publishers, Deerfield Beach, FL.
- 87- Wang, J., **Voltammetry after nonelectrolytic preconcentration**, in A. J. Bard, ed., *Electroanalytical Chemistry*, Marcel Dekker, New York, 1989, Vol. **16**, p. 1.
- 88- Paneli M., Voulgaropoulos A., 1993- **Applications of adsorptive stripping voltammetry in the determination of trace and ultratrace metals**, *Electroanalysis*, **5**, 355-373.
- 89- Copeland T. R., Skogerboe R. K., 1974- **Anodic Stripping Voltammetry**, *Anal. Chem.*, **46**, 1257A-1268A.
- 90- Florence T. M., 1970- **Anodic stripping voltammetry with a glassy carbon electrode mercury-plated in situ**, *J. Electroanal. Chem.*, **27**, 273-281.
- 91- Van den Berg C. M. G., 1991- **Potentials and potentialities of cathodic stripping voltammetry of trace elements in natural waters**, *Anal. Chem. Acta*, **250**, 265-276.
- 92- Economou A., Fielden P. R., 2003- **Mercury film electrodes: developments, trends and potentialities for electroanalysis**, *Analyst*, **128**, 205-213.
- 93- Wang J., 2005- **Stripping Analysis at Bismuth Electrodes: A Review**, *Electroanalysis*, **17**, 1341-1346.
- 94- Nicholson R. S., Shain I., 1964- **Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems**, *Anal. Chem.*, **36**, 706-723.
- 95- Joseph W., 2006- **Analytical Electrochemistry**, 3rd ed., *Published by John Wiley & Sons, Inc.*, Hoboken, New Jersey.
- 96- Proszt J., Cielezsky V., Gyorobiro K.K., 1967- **Polarographic Textbook**, *Akademia Kiado*, Budapest, 385-388.
- 97- Meites L., Israel Y., 1961- **The Calculation of Electrochemical Kinetic Parameters from Polarographic Current-Potential Curves**, *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 4903-4906.

- 98- Laviron E., 1980- **A multilayer model for the study of space distributed redox modified electrodes: Part I Description and discussion of the model**, *J. Electroanal. Chem.*, **112**, 1-9.
- 99- Zayed S.I.M. , Issa Y.M., 2009- **Cathodic adsorptive stripping voltammetry of drotaverine hydrochloride and its determination in tablets and human urine by differential pulse voltammetry**, *BIO. J. E. C.*, No of Pages 4.
- 100- Razak O.A., Gazy A.A., Wahbi A.M., 2002- **Polarographic determination of phenytoin and benzophenone (as impurity) in pharmaceutical preparations**, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **28**, 613–619.
- 101- Debnath C., Haslinger E., Likussar W., Michelitsch A., 2006- **Determination of the antimalaria drug artemether in pharmaceutical preparations by differential pulse polarography**, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **41**, 638-643.
- 102- Najjar F., Baltas M., Gorrichon L., Moreno Y., Tzedakis T., Vial H., Andre-Barres C., 2003- **Synthesis and Electrochemical Studies of New Antimalarial Endoperoxides**, *Eur. J. Org. Chem.*, **17**, 3335-3343.
- 103- Workentin M.S., Maran F., Wayner D.D.M., 1995- **Reduction of Di-tert-Butyl Peroxide: Evidence for Nonadiabatic Dissociative Electron Transfer**, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**(7), 2120–2121.
- 104- Chen H.Y., Chen Y., Zhu S.M., Bian N.S., Shan F., Li Y., 1999- **Decomposition mechanism of an artemisinin-type compound via hemin-electrocatalysis**, *Talanta*, **48**, 143-150.
- 105- Donkers R.L., Workentin M.S., 1998- **First Determination of the Standard Potential for the Dissociative Reduction of the Antimalarial Agent Artemisinin**, *J. Phys. Chem.B*, **102**, 4061-4063.
- 106- Zhang F., Gosser D.K., Meshnick S.R., 1992- **Hemin-catalyzed decomposition of artemisinin (qinghaosu)**, *Biochem. Pharmacol.*, **43**, 1805-1809.
- 107- Chen Y., He C.X., Zhu S.M., Chen H.Y., Li Y., 1997- **Electrocatalytic Reduction of Artemether by Hemin**, *J. Electrochem. Soc.*, **144**, 1891-1894.
- 108- Workentin M.S., Donkers R.L., 1998- **Dissociative Electron Transfer to Biologically Relevant Bicyclic Endoperoxides. Determination of Thermochemical Parameters**, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 2664–2665.
- 109- Saveant J.M., 1994- in: P.S. Mariano (Ed.), **Advances in Electron Transfer Chemistry**, JAI Press Inc., Greenwich, CT, 53-116.
- 110- Saveant J.M., 1993- **Electron transfer, bond breaking, and bond formation**, *Acc. Chem. Res.*, **26**, 455-461.
- 111- Berzas J.J., Rodrigues J., Castaneda G., Villasenor M.J., 2000- **Voltammetric behavior of sildenafil citrate (Viagra) using square wave and adsorptive stripping square wave techniques Determination in**

- pharmaceutical products**, *Analytic. Chimica. Acta.*, **714**, 143-148.
- 112- Nuran Özaltın, 2000- **Differential pulse polarographic determination of tenoxicam in pharmaceuticals and added to blood**, *Analytica. Chimica. Acta.* , **406**, 183–189.
- 113- Radi A.E., Ghonaeim M., Beltagi A., 2001- **Cathodic Adsorptive Stripping Square-Wave Voltammetry of the Anti-inflammatory Drug Meloxicam**, *Chem. Pharm. Bull.*, **49(10)**, 1257-1260.
- 114- Al-Omar M., Al-Majed A., Sultan M., Gadkariem E.A., Belal F., 2005- **Voltammetric study of danazol and its determination in capsules and spiked biological fluids**, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **37**, 199-204.
- 115- El-Sherbiny D., El-Enany N., Belal F., 2008- **Voltammetric Determination of Rosiglitazone in Pharmaceutical Preparations and Human Plasma**, *Analytical Letters*, **41**, 806–821.
- 116- Miller J.C., Miller J.N., 1993- **Statistics for Analytical Chemistry**, *Ellis Hardwood Series*, PTR Prentice Hall, New York/London, p. 119.
- 117- Karl J. Umiker, Matthew J. Morra,, I. Francis Cheng, 2002- **Aqueous sulfur species determination using differential pulse Polarography**, *Microchemical Journal*, **73**, 287–297.

الأبحاث المنشورة

Researches

- 1- Mandil H. , Sakur A. A., Alulu S., 2012- **Differential pulse polarographic analysis of glyburide in pure form and pharmaceutical formulations**, *Asian J. Chem.*, **24**: 2980-2984
- 2- Mandil H., Sakur A. A., Alulu S., 2013- **Polarographic behavior and quantification of the Anti-diabetic drug Repaglinide in pure form and pharmaceutical formulations**, *Int. J. Pharmacy and Pharm. Sci.*, **5(3)**, 503-508.
- 3- Mandil H., Sakur A. A., Alulu S., 2013- **Novel Polarographic Methods for Determination of Pioglitazone HCl in Pure form and Pharmaceutical Formulations**, *Int. J. of Pharmacy and Pharm. Sci.*, **5(3)**.
- 4- Mandil H., Sakur A. A., Alulu S., 2013- **Stripping voltammetric quantification of pioglitazone HCl in pure form and pharmaceutical formulation**, *Research Journal of Aleppo University, Science Basic Series*, **No.90**.

ملخص انگليزي
Abstract

Pulse Voltammetric Analysis of Some Anti-diabetic drugs in its Pharmaceutical Preparations

1-Determination of glyburide in pure form and pharmaceutical formulations by differential pulse Voltammetric analysis

Effect of Voltammetric method: Direct Current Voltammetry (DCP), Cyclic Voltammetry(CV), Square Wave (SqW), Differential Pulse Voltammetry Positive Polarity (DPVPP) and Differential Pulse Voltammetry Negative Polarity (DPVNP) of Glyburide in presence of 5mM acetate buffer at pH 6.5 as electrolyte by using dropping mercury electrode (DME) and hanging mercury drop electrode (HMDE) were studied. DPVPP was found to give the greatest sensitivity. An Cathodic peak was obtained at potential varying between -1.220 to -1.225V versus Ag/AgCl/3M KCl due to the reduction of the two carbonyl group, shows fig.(1). The fact that no peaks were observed in the anodic branch scans suggests that the process is an irreversible one.

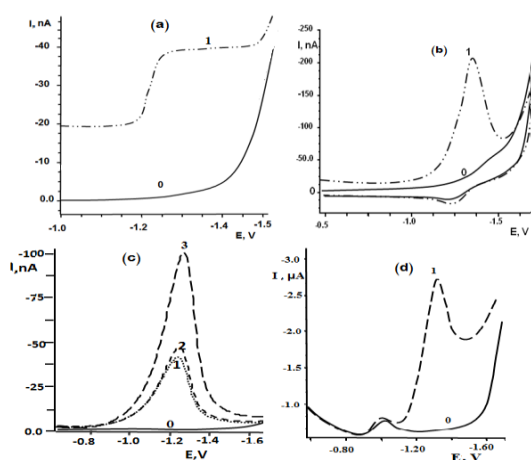


Fig.(1): The Voltammetric Curves for the determination of glyburide in presence of 5 mM CH_3COONa at pH 6.5, (a) DC of glyburide (1– elec. 2–11.856 mg.L^{-1} on HMDE), (b) CV of glyburide (0– elec. 1–11.856 mg.L^{-1} on HMDE), (C) DPVPP of glyburide (0– elec. 1–11.856 mg.L^{-1} on SMDE, 2–11.856 mg.L^{-1} on HMDE, 3–11.856 mg.L^{-1} on DME), (d) SqW of glyburide (0– elec. 1–11.856 mg.L^{-1} on HMDE).

Depending on the relationship between pulse amplitude and frequency, the number of electrons in half reaction will be 4 electrons and by comparison with nateglinide and glimpiride, the nateglinide and glimpiride containing one and three carbonyl group, respectively, and the glyburide containing two carbonyl groups. The peak current of nateglinide and glimpiride are 1/2 and 2/3, respectively, of that obtained by glyburide at same concentration of material. Each of one carbonyl group exchange two electrons with electrode, so two ones of it exchange 4 electrons as shown in fig.(2) accordance to the following equation:

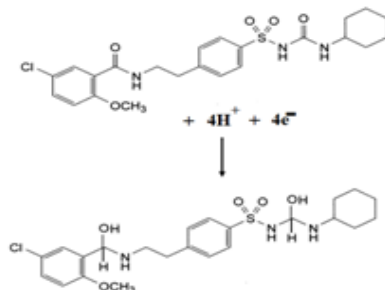


Fig.(2):The proposed mechanism for the reduction of carbonyl groups in optimal conditions of glyburide analysis.

Effect of pH: The voltammetric behaviour of the tested drug was found to be affected by the solution pH and the type of the supporting electrolyte. The different investigations were then carried out in the best supporting electrolyte, i.e. the acetate buffer over the pH range 2.0–11.0.

At $\text{pH} \leq 3$ the drug precipitates and no well-defined peak can be recorded. It was observed that the peak potential shifts to more negative direction when the solution pH was increased from 4 to 6 and then constant between 6 to 8.5 and decreased after 8.5 to 11. The decrease of the peak current with the increase of the solution pH is attributed to the fact that the electroactive species of the drug occur in the basic form and the drug molecules. The dependence of peak potential (E_p) and peak current (I_p) on pH is shown in Fig.3 curve 1 & 2, respectively.

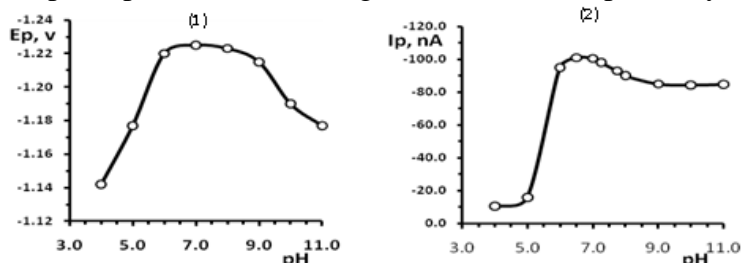


Fig.(3):The effect of pH values on DPVPP analysis using DME of glyburide 24 μM in acetate buffer: 1- E_p . 2- I_p .

Effect of electrolyte concentration: Different supporting electrolytes, in different concentrations (0.0– 0.015 M), namely HCl, H_2SO_4 , acetic acid/sodium acetate, ammonium chloride/aqueous ammonia, KCl, phosphate buffer, borate buffer and lithium perchlorate/perchloric acid buffer were investigated. From all those supporting electrolytes the acetate buffer solution was found to give the best and most reproducible results. It did not only give the highest peak current but it also gave the most symmetrical peak shape. The acidic buffer formed muddy solution with soluble drug in acetonitril and the peak had completely disappeared. The optimum concentration of the acetate buffer at the respective pH was found to be 5mM.

Effect of pulse amplitude: The effect of pulse amplitude on DPV voltammograms using DME to determine of glyburide in acetate buffer pH 6.5 was studied. The peak current I_p increases proportional as a function to the increasing of DPVNP up to the value -30 mV. Therefore the value of pulse amplitude $E = -20$ mV was chosen as optimum value and the peak current I_p increases proportional as a function to the increasing of DPVPP up to the value +70 mV. Therefore the value of pulse amplitude $E = +60$ mV was chosen as optimum value.

Effect of electrodes sorts DME, SMDE and HMDE: DPV voltammograms was studied for standard solutions of glyburide on the potential range from -600 mV to -1700 mV in acetate buffer pH 6.5 by using DME, SMDE, HMDE electrodes. Well-defined electrochemical reduction peak for glyburide was noticed at E_p range between -1220 mV to -1225 mV. It was found that, the diffusion factor using DME was greater than their values using HMDE and using SMDE: $K_{\text{DME}} = 3.000 K_{\text{HMDE}} = 3.214 K_{\text{SMDE}}$

Calibration curves: Calibration curves for the determination of glyburide by DPV using DME, SMDE and HMDE electrodes were studied. The heights of current peaks I_p was proportional to the concentration of glyburide over the range 1.00–112.0 μM using DME ($y = -0.0045X + 1.6107$, $R^2 = 0.9999$; y: I_p , nA and X: $C_{(\text{Gly})}$, nM), 1.00–40.00 μM using HMDE ($y = -0.0015X - 1.899$, $R^2 = 0.9998$ and 2.00–80.00 μM using SMDE ($y = -0.0014X - 0.367$, $R^2 = 0.9996$ by DPVPP method. The limits of quantifying glyburide were 1.00 μM and 2.00 μM with the relative standard deviation (RSD) of $\pm 5.2\%$, $\pm 4.8\%$ and $\pm 4.4\%$ using DME, SMDE and HMDE, respectively. The lower limits of detection (LOD) and lower limits of quantification (LOQ) were calculated according to the following equations: $\text{LOQ} = 10(\text{SD})$, $\text{LOD} = 3(\text{SD})$. where SD is the standard deviation obtained from 5 different runs. The calculated values for each drug at DME, SMDE and HMDE are presented in Tables 1&2.

Application to pharmaceutical preparations: The proposed method has been successfully applied for the determine of glyburide in its commercial tablets using differential pulse voltammetry in acetate buffer pH 6.5. The results of quantitative analysis for glyburide were calculated by calibration curves and the standard addition methods, see Table3.

Table 1: Summary of validation parameters for the determination of glyburide in pure forms by DPVPP methods ON DME, HMDE and SMDE.

Parameter	Data		
	DME	HMDE	SMDE
Linearity range (μM)	1.00-112.0	1.00-40.0	2.00-80.0
Correlation coefficient (R^2)	0.9999	0.9998	0.9996
Regression equation:			
Slope	-0.0045	-0.0015	-0.0014
Intercept	1.6107	-1.899	-0.367
Limit of quantification, μM	0.645	0.871	1.340
Limit of detection, μM	0.194	0.262	0.402
RSD%	5.2	4.8	4.4

Table 2: Evaluation of accuracy and precision of the proposed methods for determination of glyburide on DME, HMDE and SMDE by DPVPP.

Electrode sort	C_{Gly} , taken, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	C_{Gly} , found, \bar{x}^* , $\mu\text{g.mL}^{-1}$	SD, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Analytical standard error, $\frac{SD}{\sqrt{n}}$, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Confidence limits $\bar{x} \pm \frac{SD}{\sqrt{n}}$ t, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	RSD %
DME	0.494	0.534	0.0278	0.0124	0.534 \pm 0.0345	5.2
	0.988	0.993	0.0467	0.0209	0.993 \pm 0.0580	4.7
	1.967	1.996	0.0898	0.0402	1.996 \pm 0.1115	4.5
	3.952	3.927	0.1689	0.0755	3.927 \pm 0.2096	4.3
	5.928	5.928	0.2371	0.1060	5.928 \pm 0.2944	4.0
	7.904	7.879	0.2915	0.1304	7.879 \pm 0.3619	3.7
	9.880	9.915	0.3272	0.1463	9.915 \pm 0.4062	3.3
	11.856	11.861	0.3677	0.1644	11.861 \pm 0.4565	3.1
	15.808	15.808	0.4742	0.2121	15.808 \pm 0.5888	3.0
	19.760	20.219	0.6066	0.2713	20.219 \pm 0.7531	3.0
	23.712	23.687	0.6869	0.3072	23.712 \pm 0.8528	3.0
	27.664	27.723	0.7762	0.3472	27.723 \pm 0.9637	2.8
	31.616	31.647	0.8228	0.3680	31.647 \pm 1.0215	2.6
	39.520	39.520	0.9485	0.4242	39.520 \pm 1.1775	2.4
51.376	51.327	1.1805	0.5280	51.327 \pm 1.4656	2.3	
55.328	55.229	1.2150	0.5434	55.229 \pm 1.5085	2.2	
HMDE	0.494	0.5187	0.0249	0.0111	0.5187 \pm 0.0309	4.8
	0.988	1.0176	0.0458	0.0205	1.0176 \pm 0.0569	4.5
	1.967	2.0254	0.0729	0.0326	2.0254 \pm 0.0905	3.6
	3.952	3.942	0.1301	0.0582	3.942 \pm 0.1615	3.3
	5.928	5.928	0.1778	0.0795	5.928 \pm 0.2208	3.0
	9.880	9.840	0.2460	0.1100	9.840 \pm 0.3054	2.5
	11.856	11.876	0.2731	0.1222	11.876 \pm 0.3391	2.3
	15.808	15.769	0.3311	0.1481	15.769 \pm 0.4111	2.1
19.760	19.730	0.3946	0.1765	19.730 \pm 0.4899	2.0	
SMDE	0.988	1.037	0.0456	0.0204	1.037 \pm 0.0566	4.4
	1.967	1.967	0.0826	0.0369	1.967 \pm 0.1026	4.2
	3.952	3.977	0.1551	0.0694	3.977 \pm 0.1926	3.9
	5.928	5.977	0.2152	0.0962	5.977 \pm 0.2671	3.6
	9.880	10.157	0.3555	0.1590	10.157 \pm 0.4413	3.5
	11.856	11.925	0.4055	0.1813	11.925 \pm 0.5034	3.4
	15.808	15.759	0.4885	0.2185	15.759 \pm 0.6065	3.1
	19.760	19.696	0.5515	0.2466	19.696 \pm 0.6847	2.8
	23.712	23.826	0.6195	0.2770	23.712 \pm 0.7691	2.6
	27.664	27.822	0.6399	0.2862	27.822 \pm 0.7944	2.3
	31.616	31.616	0.6323	0.2828	31.616 \pm 0.7850	2.0
39.520	40.068	0.7212	0.3226	40.068 \pm 0.8954	1.8	

* n=5, t=2.776

Table 3.Determination of glyburide in some pharmaceutical formulations using DPVPP methods on DME at pH= 6.5 using standard addition method.

Commercial name	Contents in tab., mg	\bar{X} , mg in tab.	RSD%	Recovery %
Glibomet ,Tablet Unipharma (Damascus – Syria)	2.50	2.48	2.6	99.2
	5.0	5.13	2.2	102.6
Glu-stat ,Tablet Tamecco (Damascus – Syria)	5.00	5.38	2.3	107.6
Glymet ,Tablet Ruba Pharma (Damascus – Syria)	1.25	1.23	3.0	98.4
	5.00	5.18	2.1	103.6
Glicoral ,Tablet Racha Labs. (Damascus – Syria)	1.25	1.24	2.9	99.2
	2.50	2.52	2.5	100.8
	5.00	5.10	2.2	102.0
Glyform ,Tablet City Pharma Co. (Aleppo – Syria)	1.25	1.25	2.8	100.0
	2.50	2.60	2.5	104.0
	5.00	5.15	2.0	103.0
Gluvans ,Tablet El-Saad Pharma (Aleppo – Syria)	2.50	2.49	2.6	99.6
	5.00	5.20	2.1	104.0
Glicuformine ,Tablet Oubari Pharma (Aleppo – Syria)	1.25	1.23	3.0	98.4
Glyburine ,Tablet National Co. for Pharma. Indus. (Aleppo – Syria)	2.50	2.50	2.7	100.0
	5.00	5.14	2.0	102.8

2-Voltammetric behavior and quantification of the Anti-diabetic drug Rebaglinide in pure form and pharmaceutical formulations

Study of methods: The voltammetric behavior Rebaglinide was investigated in aqueous medium at various pH using DC, CV, SqW, DPVPP and DPVNP at DME and HMDE in presence of 5mM phosphate buffer as electrolyte. DPVPP was found to give the greatest sensitivity. In all the electro-analytical techniques well-defined oxidation peaks were obtained in the potential of $11 \pm 3\text{mV}$ (vs. Ag/AgCl/3MKCl). The DC-voltammograms of RPG in presence of 5mM phosphate buffer at pH 7 as electrolyte exhibited one irreversible oxidation wave **Fig. 5,a**. The half-wave potentials of the oxidation wave shifted to more negative values upon the increase of pH. This behaviour indicated the involvement of protons in the electrode reaction and that the proton-transfer reaction precedes the electrode process proper. The cyclic voltammetric behaviour of RPG on surface of the HMDE in 5mM phosphate buffer as electrolyte (pH 7) at different potential sweep rates RPG exhibited one well defined oxidation peak at all concentration levels. On the reverse sweep, no distinct reduction wave was observed, indicating that the drug is irreversible at the mercury electrode. An anodic peak was obtained at potential varying between -250 to -300 mV, **Fig.5,b**. A more developed peak current was achieved of the drug onto the electrode surface, a decrease of the oxidation current occurs with the number of successive scans is due to the chemisorption of RPG oxidation products on the mercury electrode surface. The electrochemical oxidation of RPG was studied over a wide pH range between 2 to 11 using differential pulse DPV. One main oxidation peak appears and the potential depends on pH. The oxidation of RPG peak, occurs at $E_{pa} = 11 \pm 3\text{mV}$ at DME and SMDE but $E_{pa} = -165 \pm 5\text{mV}$ at HMDE. **Fig.5,c**.

Effect of pH and electrolyte: During pH study and depending on RPG properties in alkaloid medium, a new peak occurs at $E_{pa} = -250\text{mV}$ may refer to dissociation of RPG and gave a new peak. It is obvious from the figure that the peak current reaches its maximum value at pH 7, i.e.; fiat medium is suitable for the determination of RPG By using DPV technique.

The voltammetric behaviour of the tested drug was found to be affected by the solution pH and the type of the supporting electrolyte. This supporting electrolyte was chosen for subsequent measurement experiments. The effect of buffer constituents was also studied in the presence of several supporting electrolytes at pH 7, e.g acetate, borate, perchlorate, Britton–Robinson and phosphate. Best results were obtained in the phosphate buffer solution; therefore, phosphate buffer (pH 7) was employed throughout this study. The concentration of phosphate buffer was studied also, and it was given the best result at 5mM from height and shape of peak.

The relationship of peak potential and pH was roughly linear with peak potential shifting towards negative values with increase in pH. The shift of the E_p values to more negative potentials upon the increase of pH indicated the involvement of protons in the electrode reaction and that the proton-transfer reaction precedes the electrode process proper. At $\text{pH} < 3$ no well-defined peak can be recorded but it was well developed at $\text{pH} \geq 3$.

The pH dependence of the peak potential is shown on **Fig.6**. The potential of the anodic peak of RPG was shifted linearly towards less positive potential values with increasing the pH between 3 and 6 by 0.010 V/pH. The dependence is linear over the whole pH range and follows the relationship $E_p = 0.071 - 0.010 \text{ pH}$, $R^2 = 1.000$. The slope of the line, 10mV per pH unit, shows that the oxidation mechanism of RPG involves the same number of electrons and protons. **Fig.6,a**. The anodic peak potential is shifted to less positive values by increasing the pH, with slope of 10 mV/pH unit until pH 7.0, and then it remains practically pH-independent, **Fig.6,b**. The best results with respect to signal enhancement accompanied by sharper response was obtained with Phosphate buffer at pH 7.0. All tested drugs possess $-\text{NH}-\text{CO}-$ ionizable group depending on the solution pH, which was used for analytical measurements. By the consideration of the electrostatic attraction, one could expect that the cationic form exists at pH 6-7 for RPG.

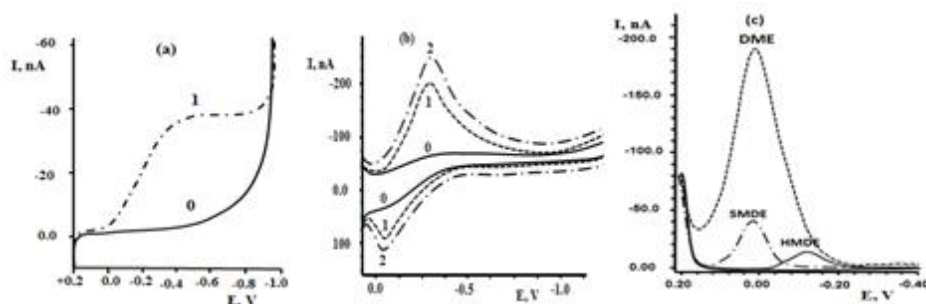


Fig.5: The Voltammetric Curves for the determination of RPG in presence of 5 mM phosphate buffer at pH 7.0, (a) DC (0–elec. 1- 5.43 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ on HMDE), (b) CV (0– elec. 1- 3.62 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2- 7.24 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ on HMDE), (c) DPV, 9.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

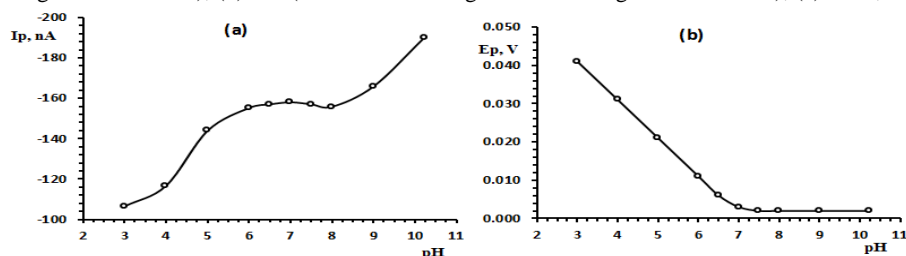


Fig.6: The effect of pH values (for DPV using DME of RPG 9.05 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ in phosphate buffer: a- $I_p = f(\text{pH})$, b - $E_p = f(\text{pH})$.

Influence of deposition time: The relationship between peak current of RPG and deposition time was also investigated. It was found that the peak current had a high valuable deposition time at 60sec. Also, the quality of the peak shape of RPG deteriorated when the deposition time exceeded 75s. Therefore, a deposition time of 60s was selected for this work.

Influence of deposition potential: The influence of deposition potential on the peak current of RPG was also examined over the potential range 0 to -1.4V and the optimum peak current was achieved at -0.5V. Hence, deposition potential of -0.5V was used throughout the present study.

Effect of pulse amplitude : In addition, the impact of varying the excitation peak pulse amplitude on the voltammetric current intensity was also evaluated. The effect of this operating variable was studied over the range of 10–100 mV, and the current was increased by increasing of pulse amplitude. It was observed that the best shape of peak was obtained at 50 mV pulse amplitude. After 60 mV, the shape of the peak was not so good. So, 50 mV pulse amplitude was the ideal choice for this operational parameter.

Effect of electrodes sorts DME, SMDE and HMDE: DPV voltammograms was studied for standard solutions of RPG in the potential range from 200 mV to -1500 mV in phosphate buffer

pH 7 by using DME, SMDE, HMDE electrodes. Well-defined electrochemical oxidation peak for Rebaglinide was noticed at Ep range between +11 mV to +31 mV. It was found that, the diffusion factor using DME was greater than their values using HMDE and using SMDE:

$$K_{DME} = 9.917 K_{HMDE} = 2.67 K_{SMDE}$$

The electrochemical behavior of RPG: RPG possesses one weakly basic and one weakly acidic group resulting in amphoteric nature of the molecule in the aqueous solutions. The existence of two protonation sites gives rise to the four possible species in equilibrium with each other. The differential pulse voltammetric behavior was investigated for RPG compound in phosphate buffer at pH 7, a voltammetric peak at Ep = +11mV was observed. Based on the voltammetric studies which were carried out on RPG, this obtained voltammetric wave is probably due to the electrochemical oxidation of -CO-NH- group. A proposed mechanism for the electrochemical oxidation of this electro-active group. Due to its intense sensitivity, Faraday's law related the measured charge Q (Coulombs) transferred to the amount of material electrolyzed as: $N = Q/nF$, where N is the number of moles of substance being electrolyzed, n the number of electrons transferred per reactant molecule, and F the Faraday's constant. The charge Q (Coulombs) was read directly from the digital coulometer. The total number of electrons (n) consumed for the overall oxidation reaction of the drug were found to equal 2 electron/drug molecule.

Calibration curves: Calibration curves for the determination of RPG by DPV using DME, SMDE and HMDE electrodes were studied. The peaks current Ip were proportional to the concentration of RPG over the ranges, 0.362–14.84 mg.L⁻¹, 0.453–10.86 mg.L⁻¹ and 0.435–12.67mg.L⁻¹ at pH 7 using DME, HMDE and SMDE respectively, by DPVPP method, **Fig. 7**. The limit of quantifying RPG was 0.362 mg.L⁻¹, with the relative standard deviation (RSD) of ± 3.8% using DME. The lower limit of detection (LOD) and lower limits of quantization (LOQ) were calculated and all values for each drug at DME, SMDE and HMDE are presented in Tables 4&5.

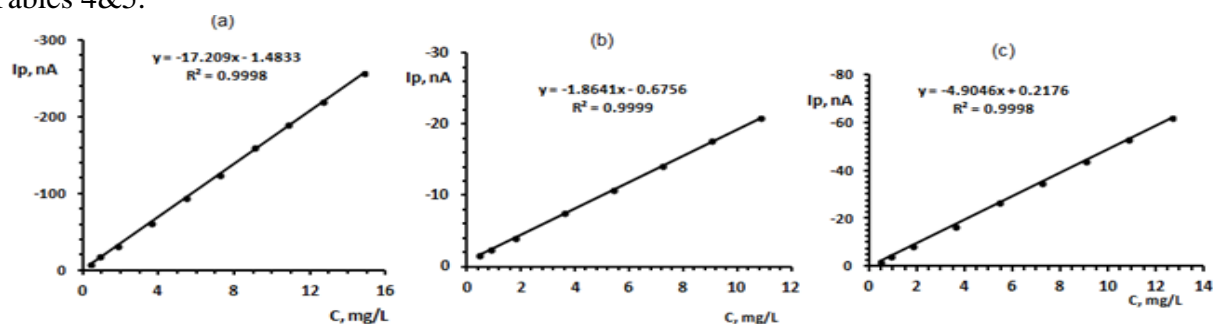


Fig. 7: Calibration curves for the determination of RPG using differential pulse Voltammetry with positive amplitude, buffer at pH 7.0 . (a) dropping mercury electrode (DME), (b) hanging mercury drop electrode (HMDE) in phosphate & (c) static mercury drop electrode (SMDE).

Table 4: The optimum parameters established for determination of RPG using differential pulse Voltammetry with positive amplitude in Phosphate buffer at pH 7.0

Parameters	Operating modes		
	DME	SMDE	HMDE
Working electrode	DME	SMDE	HMDE
Supporting electrolytes (buffer)	Phosphate, 5mM		
pH	7.0		
Solvent for RPG	acetonitrile		
Value of pulse amplitude	60mV		
Initial potential	200 mV		
Final potential	-400 mV		
Peak Potential, mV	+11 to -25 mV		
LOD(3.3SD)	0.042 mg.L ⁻¹	0.053 mg.L ⁻¹	0.055 mg.L ⁻¹
LOQ (10SD)	0.126 mg.L ⁻¹	0.161 mg.L ⁻¹	0.168 mg.L ⁻¹
Linearity range of concentration	0.362 to 14.84 mg.L ⁻¹	0.453 to 12.67 mg.L ⁻¹	0.453 to 10.86 mg.L ⁻¹
RSD	3.4%	3.5%	3.8%
Regression equation:	* $y = -17.209x - 1.4833$	$y = -4.9046x + 0.2176$	$y = -1.8641x - 0.6756$
Slope	17.209	4.9046	1.8641
Intercept	1.4833	0.2176	0.6756
Correlation coefficient (R ²)	0.9998	0.9998	0.9999

* y= nA, x= concentration of Rebaglinide mg.L⁻¹).

Table 5: Evaluation of accuracy and precision of the proposed methods for determination of RPG on DME, HMDE and SMDE by DPVPP.

Electrode sort	C _{RPG} , taken, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	C _{RPG} , found, $\frac{\bar{C}^*}{X}$, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	SD, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Analytical standard error, $\frac{SD}{\sqrt{n}}$, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Confidence limits $\bar{X} \pm \frac{SD}{\sqrt{n}}$, $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD %
DME	0.362	0.360	0.012	0.006	0.370 ± 0.015	3.4
	0.905	0.915	0.024	0.011	0.915 ± 0.030	2.6
	1.81	1.80	0.041	0.019	1.80 ± 0.051	2.3
	3.62	3.62	0.072	0.032	3.62 ± 0.090	2.0
	5.43	5.41	0.092	0.041	5.41 ± 0.114	1.7
	7.24	7.22	0.116	0.052	7.22 ± 0.143	1.6
	9.05	9.11	0.128	0.057	9.11 ± 0.158	1.4
	10.86	10.71	0.139	0.062	10.71 ± 0.173	1.3
	12.67	12.66	0.152	0.068	12.66 ± 0.189	1.2
HMDE	14.84	14.79	0.163	0.073	14.79 ± 0.202	1.1
	0.453	0.442	0.017	0.008	0.442 ± 0.021	3.8
	0.905	0.900	0.026	0.012	0.900 ± 0.032	2.9
	1.81	1.80	0.045	0.020	1.80 ± 0.056	2.5
	3.62	3.65	0.073	0.033	3.65 ± 0.091	2.0
	5.43	5.44	0.087	0.039	5.44 ± 0.108	1.6
	7.24	7.26	0.094	0.042	7.26 ± 0.117	1.3
	9.05	9.08	0.100	0.045	9.08 ± 0.124	1.1
SMDE	10.86	10.80	0.108	0.048	10.80 ± 0.134	1.0
	0.453	0.461	0.016	0.007	0.461 ± 0.020	3.5
	0.905	0.910	0.027	0.012	0.910 ± 0.034	3.0
	1.81	1.80	0.047	0.021	1.80 ± 0.058	2.6
	3.62	3.58	0.086	0.039	3.58 ± 0.107	2.4
	5.43	5.52	0.121	0.054	5.52 ± 0.151	2.2
	7.24	7.19	0.144	0.064	7.19 ± 0.179	2.0
	9.05	9.07	0.145	0.065	9.07 ± 0.180	1.6
	10.86	10.85	0.152	0.068	10.85 ± 0.189	1.4
	12.67	12.70	0.152	0.068	12.70 ± 0.189	1.2

* n=5, t=2.776

Application to pharmaceutical preparations

The proposed method has been successfully applied for the analysis of Rebaglinide in its commercial tablets. Pharmaceutical preparation Glinide determined using differential pulse voltammetry with positive polarity at DME, SMDE and HMDE in phosphate buffer at PH 7.0. The results of quantitative analysis for RPG were calculated by calibration curves and the standard addition methods, see Table 6.

Table 6: Determination of Repaginate in some pharmaceutical formulations using DPVPP methods at pH 7.0 using calibration curves method.

Commercial name	Electrode	Labeled RPG In tablet, mg	\bar{X} , mg in tablet	SD, $\text{mg} \pm \bar{x}$	Recovery %	F-value ^b	t-value ^b
Glinide©, Tablet BALSAM (HOMS – Syria)	DME	0.50	0.494	0.494 ± 0.028	98.8 ± 5.60	1.96	1.828
		1.00	1.016	1.016 ± 0.052	101.6 ± 5.20	1.46	1.397
		2.00	2.064	2.064 ± 0.085	103.2 ± 4.25	3.14	2.020
	SMDE	0.50	0.510	0.510 ± 0.018	102.0 ± 3.60	1.44	1.376
		1.00	0.994	0.994 ± 0.062	99.4 ± 6.20	2.40	1.758
		2.00	2.042	2.042 ± 0.072	102.1 ± 3.60	1.78	1.880
		0.50	0.500	0.500 ± 0.020	100.0 ± 4.00	2.04	2.064
		1.00	1.022	1.022 ± 0.048	102.2 ± 4.80	2.25	1.307
		2.00	2.036	2.036 ± 0.080	101.8 ± 4.00	1.67	1.568

^a Average of five replicates.^b Tabulated t-value at 95% confidence level is 2.776. Tabulated F-value at 95% confidence level is 6.39.

3-Novel Voltammetric Methods for Determination of Pioglitazone HCl in Pure form and Pharmaceutical Formulations

Effect of supporting electrolyte: The effect of supporting electrolyte was examined using different supporting electrolytes including: Britton–Robinson, acetic acid–sodium acetate, sodium citrate–citric acid and sodium tartrate–tartaric acid buffers (each 0.1M) was studied by DPV. B-R buffer was selected for further work because it gave the highest peak current and the best peak shape of the PGZ-HCl, it was added methanol with electrolyte in 32% as a solubilizer. The addition of methanol, to the electrolyte solution, decreases the effect of adsorption on the electrode process.

Effect of pH: The electrochemical behavior of PGZ-HCl has been investigated, in 0.1M B-R buffer containing 32% methanol, at different pH from 2.0 to 12.0 on the peak current I_p and peak potential E_p were examined. The voltammograms of the DPV for $7.87 \mu\text{g.mL}^{-1}$ and $15.72 \mu\text{g.mL}^{-1}$ PGZ-HCl in B-R at different pH values using DME shown in Fig.11&12. Two reduction peaks were observed, the first peak E_{p1} is in the range of potential at -0.008 to -0.040 V, while the second peak E_{p2} is in the potential ranges at -0.975 to -1.150 V, Fig.12. It was found that the cathodic peak_{1&2} current at DME were increased at pH values between 2.0–4.0, with constant I_{p1} & I_{p2} at pH values between 4.0–7.0, then almost decrease at pH values between 7.0–9.0 and then increased after pH >9.0, **Fig.8&9,a**. Therefore, the proper value of pH was 6 for both two peaks. The E_{p1} was shifted to more negative direction when the solution pH was increased from 2.0 to 6.0 and then constant between 6.0 to 12.0, **Fig.8.b**, it is observed that the reduction potential of PGZ-HCl shifted to more negative values with pH increase, indicating the presence of chemical reaction with participation of protons. Also, PGZ-HCl produced a well-defined cathodic E_{p2} over the pH range of 2.0–12.0 in B-R buffer. Reduction of PGZ-HCl at the DME was found to be pH-dependent as the E_p values were shifted to more negative values upon increasing the pH, indicating the irreversible nature of the reduction process. A plot of E_p vs. pH gave two straight lines with one break at pH 6 assigning a theoretical pKa value of PGZ-HCl a mean pKa value of 5.95. **Fig.9,b**. The relation between E_p and the pH of the solution is represented by the following equations:

$$E_{p2,1} = -0.9487 - 0.0103\text{pH} \quad (R^2 = 0.9994) \quad \text{over the pH range 2 - 5.}$$

$$E_{p2,2} = -1.0373 - 0.0103\text{pH} \quad (R^2 = 0.9998) \quad \text{over the pH range 6 - 12.}$$

The E_{p2} of PGZ-HCl was shifted linearly towards more negative potential values with increasing the pH between 2 to 5 and 6 to 12 by 0.0103 V/pH. The slope of the line at two cases was -0.9487 & -1.0373 V per pH unit, with mainly slope of -0.993 V/pH, shows that the reduction mechanism of PGZ-HCl involves the same number of electrons and protons.

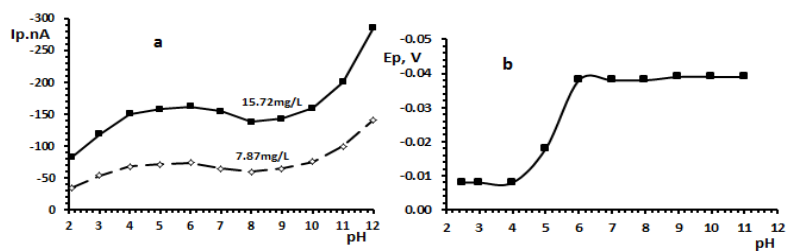


Fig.8: The effect of pH values using DME of PGZ-HCl for I_{p1} in B-R buffer 0.1M containing 32% (v:v) methanol: a- I_p (for two concentration, 7.87 & 15.72 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), b- E_p (for one concentration 15.72 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

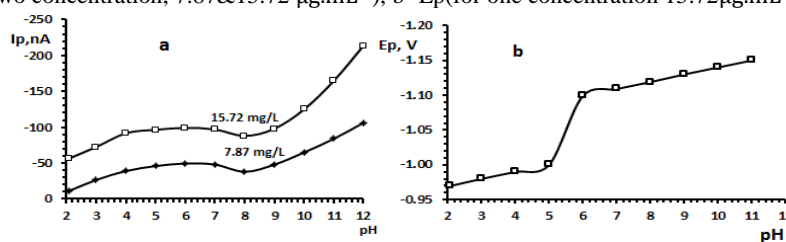


Fig. 9: The effect of pH values using DME of PGZ-HCl for I_{p2} in B-R buffer 0.1M containing 32% (v:v) methanol: a- I_p (for two concentration, 7.87 & 15.72 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), b- E_p (for one concentration 15.72 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Study of Methods and its conditions: The DC-voltammograms of PGZ-HCl at pH 6, using DME, exhibited two irreversible reduction waves (**Fig.10,a**). The half-wave potentials of the reduction waves shifted to more negative values upon the increase of pH. This behaviour indicated the involvement of protons in the electrode reaction and that the proton-transfer reaction precedes the electrode process proper.

The voltammetric methods of PGZ-HCl were investigated at pH 6 using DC, DPVPP and DPVNP in presence of 0.1M B-R buffer as electrolyte with 32% methanol. DPVPP was found to give the greatest sensitivity. The voltammetric methods of PGZ-HCl using DME & SMDE were given two well-defined reduction peaks, the first peak E_{p1} is in the range of potential at -0.05 to -0.10 V, while the second peak E_{p2} is in the potential ranges at -0.975 to -1.150 V, **Fig.10, b&c**.

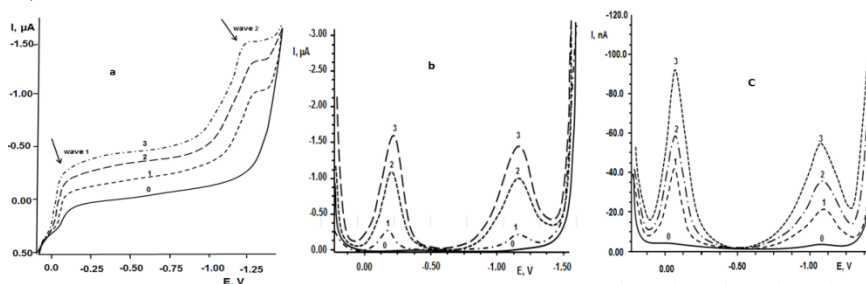


Fig.10: The Voltammetric Curves for the determination of PGZ-HCl in B-R buffer 0.1M containing 32% (v:v) methanol at pH 6.0, (a) DC using DME (0-elec, 1- 8, 2- 12.8 & 3- 16 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), (b) DPVPP using DME (0-elec, 1- 16, 2- 96 & 3- 144 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), (c) DPVPP using SMDE (0-elec, 1- 9.6, 2- 16 & 3- 24 $\mu\text{g.mL}^{-1}$).

Effect of pulse amplitude: The effect of pulse amplitude on voltammograms of DPV using DME for the determination of PGZ-HCl at pH 6 was studied over the range of 10-100 mV. The peak current I_{p1} & I_{p2} increases proportionally with increasing of pulse amplitude positive polarity. Therefore the value of pulse amplitude 60 mV for DPVPP was chosen as optimum value.

Effect of electrode sort: DPV voltammograms were studied for standard solutions of PGZ-HCl in the potential range from 200 mV to -1500 mV in 0.1 M B-R buffer containing 32% methanol at pH 6.0 by using DME and SMDE electrodes.. It was found that, the diffusion factor using DME was greater than their value using SMDE as been: $K_{\text{DME}}=3.22K_{\text{SMDE}}$ for I_{p1} and $K_{\text{DME}}=4.32K_{\text{SMDE}}$ for I_{p2} .

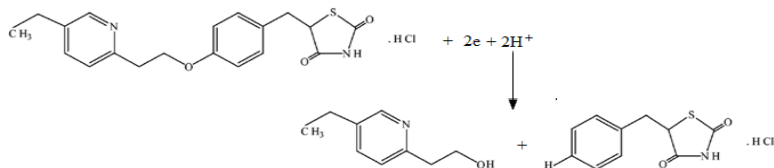
The electrochemical behaviour of PGZ-HCl: The chemical structure of PGZ-HCl is characterized by the presence of oxy and C=N groups which are susceptible for the reduction into another groups at DME&SMDE.

The differential pulse voltammetric behavior was investigated for PGZ-HCl compound in 0.1 M B-R buffer containing 32% (v:v) methanol at pH 6.0 using DME & SMDE were given two well-defined reduction peaks, The first peak (E_{p1}) in the range of potential at -0.05 to -0.10 V was observed. The first peak may be attributed to the reduction of oxy group (peak₁). A proposed mechanism, for the electrochemical reduction of this electro-active group, was studied and depending on the relationship between $W_{1/2}$ and number of electrons, it was calculated and confirmed that the number of electron of this reduction operating were two electron. This mechanism suggests that the electrochemical reaction is an irreversible process. Such quantitation depends not only on the corresponding peak potentials but also on the width of the peak. The width of the peak (at half-height) is related to the electron stoichiometry:

$$W_{1/2} = \frac{3.52RT}{nF}$$

The number of electrons transferred during the reduction process was accomplished through comparing the peak₁ height of PGZ-HCl with that obtained from an equimolar solution of an earlier studied compound having similar functional group and of nearly identical value of the

diffusion-coefficient, namely, danazol. The electrode reaction is suggested to proceed as follows:



The second peak (Ep_2) is in the potential ranges at -0.975 to -1.150 V a voltammetric peak₂ was observed as a well-defined 2-electron irreversible cathodic peak₂ which may be attributed to reduction of the C=N double bonds of the pyridyl ring of the target molecule. A proposed mechanism, for the electrochemical reduction of this electro-active group, was studied and depending on the relationship between $W_{1/2}$ and number of electrons, it was calculated and confirmed that the number of electrons of this reduction operating were two electrons. The number of electrons transferred during the reduction process was accomplished through comparing the peak₂ height of PGZ-HCl with that obtained from an equimolar solution of an earlier studied compound having similar functional group and of nearly identical value of the diffusion-coefficient, namely, glipizide. The electrode reaction is suggested to proceed as follows:

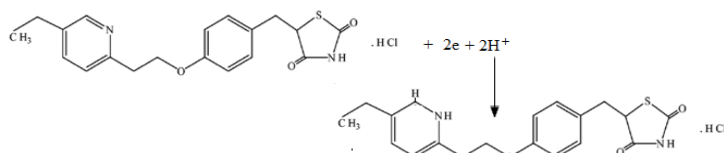


Table 7. The optimum parameters established for determination of PGZ-HCl using differential pulse Voltammetry with positive amplitude in B-R buffer 0.1M containing 32% (v:v) methanol at pH 6.0.

Parameters	Operating modes	
	DME & SMDE	
Electrode	DME & SMDE	
Supporting electrolytes	B-R buffer 0.1M containing 32% (v:v) methanol	
pH	6.0	
Solvent for PGZ-HCl	methanol	
Pulse amplitude	60mV	
Initial potential	200 mV	
Final potential	-1500 mV	
Reduction peaks	Peak1	Peak2
Peak Potential, mV	Ep_1 : -0.05 to -0.10 V	Ep_2 :-0.975 to -1.150 V
Linearity range of concentration	1.6 - 224 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, DME 1.6 - 28 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, SMDE	1.6 - 256 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, DME 1.6 - 32 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, SMDE
RSD% at DME & SMDE	4.0% & 3.6%	
Regression equation at DME	* $y = -10.306x + 7.7951$; ($R^2=0.9995$)	
SMDE	* $y = -3.1775x - 2.3887$; ($R^2=0.9992$)	
LOD (3.3SD) at DME & SMDE	0.211 & 0.195	
LOQ (10SD) at DME & SMDE	0.640 & 0.590	
	0.224 & 0.221	
	0.680 & 0.640	

* $y = \text{nA}$, $x = \text{concentration of PGZ-HCl, } \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Calibration curves: Calibration curves for the determination of PGZ-HCl compound in 0.1M B-R buffer containing 32% (v:v) methanol at pH 6.0 by DPV using DME and SMDE electrodes were studied. The first peak Ip_1 were proportional to the concentration of PGZ-HCl over the ranges, 1.6–224 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and 1.6–28 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ using DME & SMDE, respectively, **Fig.11**. The limit of quantifying PGZ-HCl was 1.6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ with the relative standard deviation (RSD) of $\pm 4.0\%$ using DME and $\pm 3.6\%$ using SMDE. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) was found to be 0.211 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and 0.195 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (LOD), 0.640 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and 0.590 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (LOQ) using DME & SMDE, respectively. The second peak Ip_2 were proportional to the concentration of PGZ-HCl over the ranges, 1.6–256 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and 1.6–32 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ using DME and SMDE respectively, **Fig.12**. The limit of quantifying PGZ-HCl was 1.6 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, with RSD of $\pm 4.3\%$ using DME and $\pm 3.8\%$ using SMDE. The limit of detection

(LOD) and limit of quantification (LOQ) was found to be $0.224\mu\text{g.mL}^{-1}$ and $0.221\mu\text{g.mL}^{-1}$ (LOD), $0.680\mu\text{g.mL}^{-1}$ and $0.640\mu\text{g.mL}^{-1}$ (LOQ) using DME&SMDE, respectively, tables 7-9.

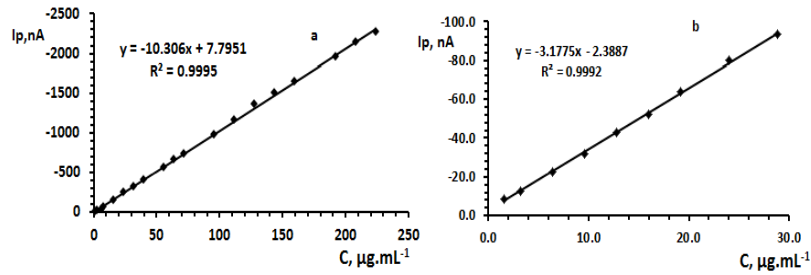


Fig.11: Calibration curves for the determination of PGZ-HCl of Ip_1 using DPVPP(a)DME& (b)SMDE in B-R buffer 0.1M containing 32% (v:v) methanol at pH 6.0.

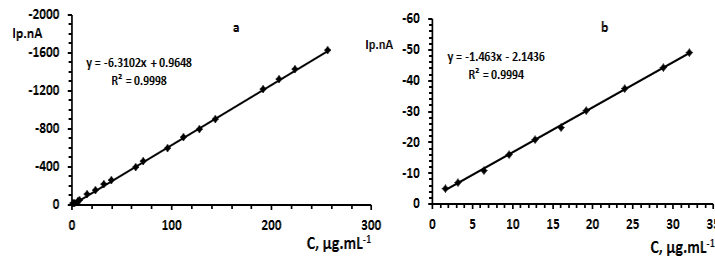


Fig.12: Calibration curves for the determination of PGZ-HCl of Ip_2 using DPVPP(a)DME& (b)SMDE in B-R buffer 0.1M containing 32% (v:v) methanol at pH 6.0.

Table 8: Evaluation of accuracy and precision of the proposed methods for determination of PGZ-HCl (Ip_1) on DME and SMDE, by DPVPP.

Electrode	$C_{\text{PGZ-HCl taken}}$	$C_{\text{PGZ-HCl found}}$	SD, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Analytical standard error, $\frac{SD}{\sqrt{n}}$, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Confidence limits $\bar{X} \pm \frac{SD}{\sqrt{n}}$, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	RSD %
	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	\bar{X} , $\mu\text{g.mL}^{-1}$				
DME	1.60	1.591	0.064	0.029	1.591 ± 0.065	4.0
	3.20	3.16	0.120	0.054	3.16 ± 0.150	3.8
	6.40	6.14	0.215	0.096	6.14 ± 0.267	3.5
	8.00	7.94	0.262	0.117	7.94 ± 0.325	3.3
	16.0	15.89	0.477	0.213	15.8 ± 0.592	3.0
	24.0	24.42	0.659	0.295	24.42 ± 0.819	2.7
	32.0	32.29	0.807	0.361	32.29 ± 1.002	2.5
	40.0	39.67	0.912	0.408	32.29 ± 1.133	2.3
	56.0	55.72	1.114	0.498	55.72 ± 1.383	2.0
	64.0	64.85	1.167	0.522	64.85 ± 1.449	1.8
	72.0	72.00	1.152	0.515	72.00 ± 1.430	1.6
	96.0	95.85	1.438	0.643	95.85 ± 1.785	1.5
	112.0	113.23	1.472	0.658	113.23 ± 1.827	1.3
	160.0	159.79	1.917	0.858	159.79 ± 2.379	1.2
192.0	191.16	1.912	0.855	191.16 ± 2.374	1.0	
208.0	208.88	3.133	1.401	208.88 ± 3.890	1.5	
224.0	222.38	4.003	1.790	222.38 ± 4.970	1.8	
SMDE	1.60	1.641	0.059	0.026	1.641 ± 0.073	3.6
	3.20	3.23	0.103	0.046	3.23 ± 0.128	3.2
	6.40	6.40	0.179	0.080	6.40 ± 0.222	2.8
	8.00	7.94	0.199	0.089	7.94 ± 0.243	2.5
	12.8	12.87	0.296	0.132	12.87 ± 0.367	2.3
	16.0	15.88	0.318	0.142	15.88 ± 0.394	2.0
	19.2	19.28	0.328	0.147	19.28 ± 0.407	1.7
	24.0	24.32	0.316	0.141	24.32 ± 0.392	1.3
	28.8	28.72	0.316	0.141	28.72 ± 0.492	1.1

* n=5, t=2.776

Table 9: Evaluation of accuracy and precision of the proposed methods for determination of PGZ-HCl(Ip₂) on DME and SMDE, by DPVPP.

Electrode	$C_{\text{PGZ-HCl taken}}$	$C_{\text{PGZ-HCl found}}$	SD, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Analytical standard error, $\frac{SD}{\sqrt{n}}$, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Confidence limits		RSD %
	$\mu\text{g.mL}^{-1}$	\bar{X} , $\mu\text{g.mL}^{-1}$			$\bar{X} \pm \frac{SD}{\sqrt{n}}$	t, $\mu\text{g.mL}^{-1}$	
DME	1.60	1.584	0.068	0.030	1.591 ± 0.085		4.3
	3.20	3.140	0.126	0.056	3.140 ± 0.156		4.0
	6.40	6.320	0.234	0.105	6.320 ± 0.290		3.7
	8.00	7.960	0.279	0.125	7.960 ± 0.346		3.5
	16.0	16.21	0.519	0.232	16.21 ± 0.644		3.2
	24.0	24.15	0.725	0.324	24.15 ± 0.900		3.0
	32.0	32.22	0.902	0.403	32.22 ± 1.120		2.8
	40.0	40.72	1.059	0.474	40.72 ± 1.314		2.6
	56.0	55.88	1.285	0.575	55.88 ± 1.596		2.3
	64.0	63.74	1.339	0.599	63.74 ± 1.662		2.1
	72.0	71.95	1.367	0.611	71.95 ± 1.696		1.9
	96.0	95.64	1.626	0.727	95.64 ± 2.019		1.7
	112.0	112.74	1.691	0.756	112.74 ± 2.099		1.5
	144.0	143.78	1.869	0.836	143.78 ± 2.321		1.3
	192.0	191.91	2.294	1.026	191.91 ± 2.484		1.2
	208.0	208.07	2.289	1.024	208.07 ± 2.841		1.1
224.0	225.19	2.927	1.309	225.19 ± 3.634		1.3	
256.0	256.72	4.108	1.837	256.72 ± 5.100		1.6	
SMDE	1.60	1.680	0.064	0.029	1.680 ± 0.079		3.8
	3.20	3.320	0.116	0.052	3.320 ± 0.114		3.5
	6.40	6.37	0.204	0.091	6.370 ± 0.253		3.2
	8.00	8.00	0.240	0.107	8.00 ± 0.298		3.0
	12.8	12.89	0.335	0.150	12.89 ± 0.416		2.6
	16.0	15.94	0.383	0.171	15.94 ± 0.475		2.4
	19.2	19.32	0.406	0.182	19.32 ± 0.504		2.1
	24.0	24.00	0.432	0.193	24.00 ± 0.536		1.8
	28.8	28.82	0.432	0.193	28.82 ± 0.537		1.5
	32.0	32.03	0.448	0.200	32.03 ± 0.557		1.4

* n=5, t=2.776

Application to pharmaceutical preparations: The proposed method has been successfully applied for the analysis of PGZ-HCl in its commercial tablets. Pharmaceutical preparation determined using DPVPP at DME and SMDE in 0.1M B-R buffer containing 32% methanol at pH 6.0. There were no interferences within containing of metformin HCl in some tablets. The results of quantitative analysis for PGZ-HCl were calculated by calibration curves method, Table 10.

Table 10: Determination of PGZ-HCl in some pharmaceutical formulations by DPVPP methods using DME&SMDE at pH 6.0 using calibration curves method.

Commercial name	Contents, mg/tablet	\bar{X} , mg/tablet	$\bar{X} \pm \text{SD}$, mg	RSD%	Recovery %
Pioglit ,BPI (Aleppo – Syria)	15	14.85	14.85 ± 0.075	2.2	99.0
	30	30.08	30.08 ± 0.040	1.6	100.3
	45	44.97	44.97 ± 0.085	1.3	99.9
Pioglit met,BPI (Aleppo – Syria)	15/500mg metformin	15.12	15.12 ± 0.060	2.3	100.8
	15/850mg metformin	14.94	14.94 ± 0.025	2.0	99.6
Actaoze Asia, Asia(Aleppo – Syria)	15	15.22	15.22 ± 0.075	2.4	101.5
	30	31.01	31.01 ± 0.040	1.5	103.4
	45	44.57	44.57 ± 0.085	1.1	99.0
DEFAST ,Unipharma	15	15.60	15.60 ± 0.075	2.0	104.0

(Damascus – Syria)	30	30.30	30.30 ± 0.040	1.7	101.0
--------------------	----	-------	-------------------	-----	-------

4-Stripping voltammetric quantification of the Pioglitazone HCl in Pure form and pharmaceutical formulation

DP voltammetric studies: Fig.13, a showed the voltammograms of PGZ-HCl at many concentrations. It demonstrated that the I_{p1} was very small and not well defined peak comparing with I_{p3} , so, this study had confine only about I_{p3} . The conditions affecting the enhancement of the peak associated with the pre-concentration step was studied.

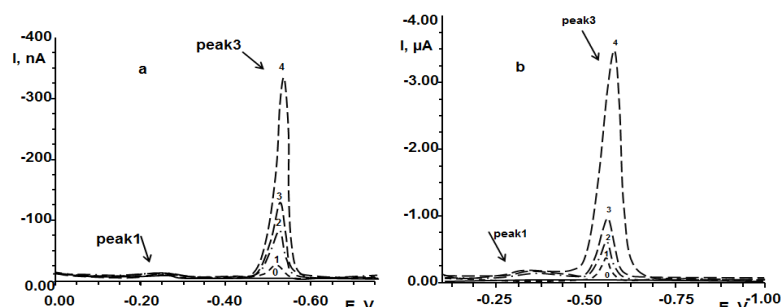


Fig.(13): The adsorptive stripping voltammetric curves for determination of PGZ-HCl (peak1&2) in presence of 0.1 M B-R buffer at pH 7.5, a- DPV, b- SWCA-DSV; (0– elec. 1- 494.4 ng.mL⁻¹, 2- 659.9ng.mL⁻¹,3- 824 ng.mL⁻¹, 4-2060 ng.mL⁻¹)

pH Effects: Fig.14 showed the relationship between I_p & E_p vs. pH at accumulation potential $E_{acc.}=-0.8V$ and Fig.15 showed the relationship between I_p & E_p vs. pH at accumulation potential $E_{acc.}=-1.55V$. The peaks current have its maximum value at pH 7.5, the peaks potential are shifted to more negative values indicating the irreversible nature of the reduction process.

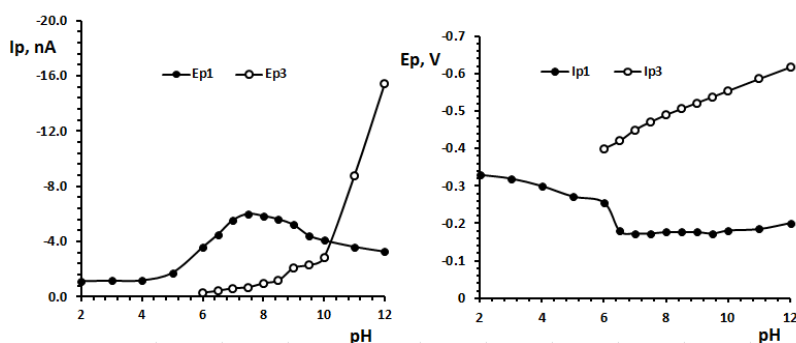


Fig.(14):The effect of pH values using HMDE of PGZ-HCl (2060ng.mL⁻¹) in B-R buffer 0.1M and at accumulation potential $E_{acc.}=-0.8V$:a- I_p vs. pH b- I_p vs. pH.

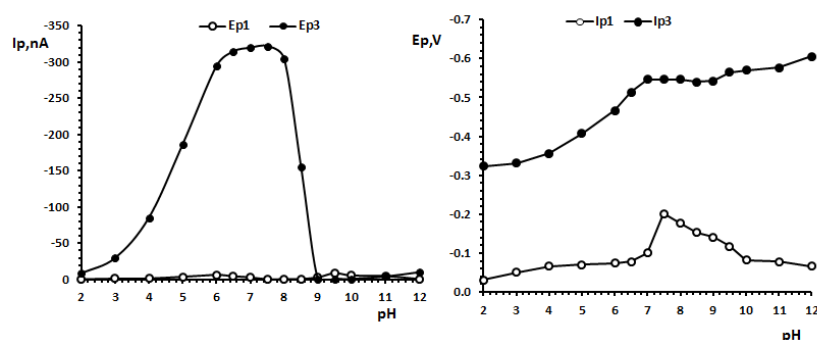


Fig.(15):The effect of pH values using HMDE of PGZ-HCl (2060 ng.mL⁻¹) in B-R buffer 0.1M and at accumulation potential $E_{acc.}=-1.55V$:a- I_p vs. pH b- I_p vs. pH.

Accumulation Potential: The effect of accumulation potential on the adsorptive peak current was studied for PGZ-HCl at 150 s accumulation time (Fig.16, a), the current peak1 gave the highest value at -0.8V on changing the accumulation potential ($E_{acc.}$) from 0.0 to -1200 mV and then this peak disappeared and the peak3 appeared gradually by increasing accumulation potential more than -1200 mV and it had been constant between -1500 to -1600 mV, and then

decreased gradually by increasing accumulation potential so, the best value was -1.55 V for peak2, show **fig.17, a**.

Accumulation Time: The effect of the accumulation time on the two adsorptive peaks current were studied for PGZ-HCl (**Fig.16, b**). The current increases directly with increasing the accumulation time (E_{time}), indicating that the longer the accumulation time, the increase the drug concentration at the electrode surface, and the larger the peak current, then as the accumulation time increases the peak current tends to level decreased, 150 s accumulation time was generally used for subsequent studies, show **fig.17, b**. However, ultimate choice of accumulation time should depend on the concentration range studied.

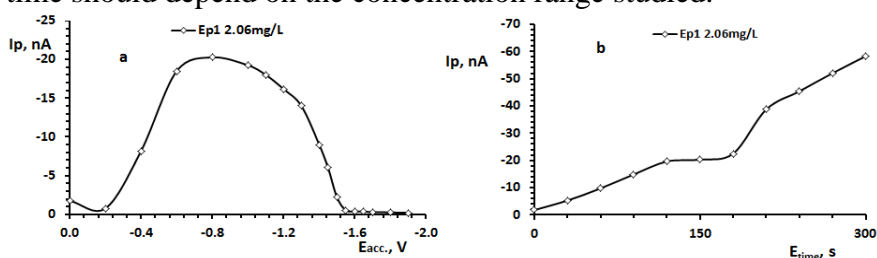


Fig. 16 : The effect of accumulation potential ($E_{acc.}$) and accumulation time (E_{time}) values using HMDE on peak1 of PGZ-HCl in B-R buffer 0.1M at pH=7.5 :a- Ip vs. Eacc. , b- Ip vs. Etime.

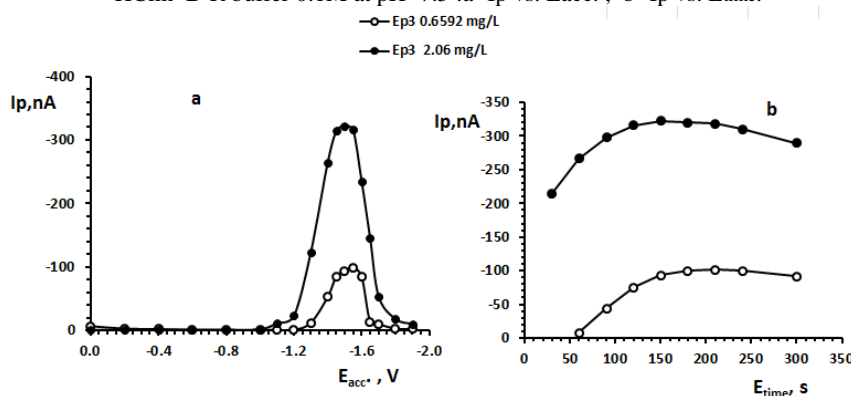


Fig. 17: The effect of accumulation potential ($E_{acc.}$) and accumulation time (E_{time}) values using HMDE on Ip_3 of PGZ-HCl in B-R buffer 0.1M at pH=7.5 :a- Ip vs. Eacc. , b- Ip vs. Etime.

Cyclic voltammetric studies: **Fig. 18,a&b** illustrates the cyclic voltammograms of PGZ-HCl solution in 0.1 M B-R buffer at pH 7.5 and scan rate $v=400 \text{ mVs}^{-1}$. A well-defined reduction peaks appears at -0.25 V and -0.50 V at $E_{acc.}=-0.8 \text{ V}$ and $E_{acc.}=-1.55 \text{ V}$, respectively. The peak1 may be due to the reduction of oxy bond and the peak3 may be due to reduction of sulfur atom in thiazol ring of the drug and no oxidation peaks are observed in the anodic branch which suggests that the process is irreversible. The repetitive cyclic voltammograms show that the peaks current decreases sharply in the second and third cycles and this behavior gives an indication of an adsorption character.

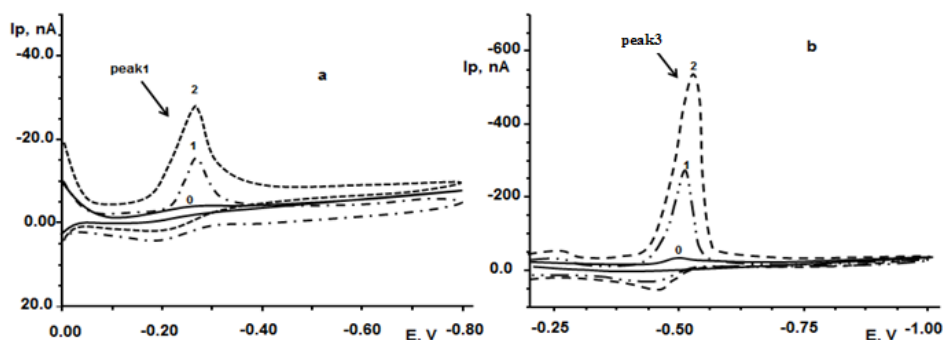


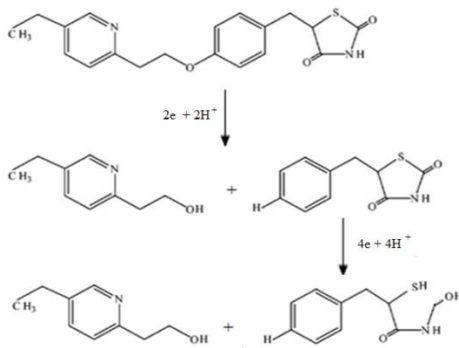
Fig. 18: The Cyclic Voltammetric (CV) Curves for the determination of PGZ-HCl in presence of 0.1 M B-R buffer at pH 7.5, a- Ip_1 , b- Ip_3 ; (0- elec. 1- 4000 ng.mL^{-1} 2- 8000 ng.mL^{-1} on HMDE).

Square wave stripping voltammetry studies of peak3:

Optimization of an analytical procedure: Square-wave cathodic adsorptive stripping (SWCAdS) voltammograms for 2060ng.mL⁻¹ PGZ-HCl in the B-R universal buffers of pH 2–12 following its accumulation onto the HMDE for 150 s exhibited a single irreversible cathodic peak between the entire pH range from 3 to 9. The peak current intensity was much developed in a B-R universal buffer of pH 7.5. So it was chosen as a supporting electrolyte for the rest of the present work.

The peak current for 2060ng.mL⁻¹PGZ-HCl in a B-R universal buffer of pH 7.5 following its accumulation onto the HMDE at -1.55V for 150 s was optimized by changing the pulse-amplitude(α), frequency (f), scan increment (Es) within the ranges 10–60mV, 50–300 Hz and 1–6mV, respectively. Although the SWCAdS voltammetric peak current intensity of PGZ-HCl was almost directly proportional to each of α , f and Es, however a sharper peak and a much developed peak current intensity were obtained under the following conditions $\alpha=50$ mV, $f = 100$ Hz and $E_s = 6$ mV.

The electrochemical behaviour of PGZ-HCl: Based on the voltammetric studies, voltammetric peak1 is probably due to the electrochemical reduction of oxy bond and gave two compounds. A proposed mechanism, for the electrochemical reduction of this electro-active group, was studied and depending on the relationship between $W_{1/2}$ and number of electrons, it was calculated and confirmed that the number of electron of this reduction operating were two electron. This mechanism suggests that the electrochemical reaction is an irreversible process. Such quantitation depends not only on the corresponding peak potentials but also on the widths of the peak. The width of the peak (at half-height) is related to the electron stoichiometry : $W_{1/2}=3.52RT/nF$. The number of electrons transferred during the reduction process was accomplished through comparing the peak1 height of PGZ-HCl with that obtained from an equimolar solution of an earlier studied compound having similar functional group and of nearly identical value of the diffusion-coefficient, namely, Rosiglitazone [45]. Then, at a second step, the reaction of first step concluded and the peak1 disappeared over the accumulation potential -1.0 V. After this value of E_{acc} . The peak 2 begin to appeared as a sharp peak. The cathodic peak3 was appeared using HMDE at $E_{p3}=-0.5\pm 0.05$ V using HMDE. The number of electrons consumed during the reduction process was found through comparison of the peak height of pioglitazone HCl with that obtained from an equimolar solution of a previously studied, structurally related compound with a nearly identical value of diffusion coefficient, namely rosiglitazone. Also, the width of peak3 (at half-height) is related to the electron stoichiometry Hence, it is concluded that four electrons are involved in the reduction process. Based on the presence of a sulfur atom in the thiazolidinedione basic moiety. The electrode reaction is suggested to proceed for peak1 and peak3 as follows:



Precision and repeatability:Each determination either for the standards or the test solutions of the four drugs has been carried out at least five times. The relative standard deviation (RSD) was calculated to be 3.2% and 3.5% by DPV and SWCAdSV, respectively, indicating the high precision of the methods and the confidence in its, repeatability.

Calibration curves: Calibration curves for the determination of PGZ-HCl compound in 0.1M B-R buffer at pH 7.5 by DPV and SWCAdSV using HMDE electrode were studied. The second peak I_{p3} were proportional to the concentration of PGZ-HCl over the ranges, 164.8–2472 ng.mL^{-1} and 164.8–2060 ng.mL^{-1} by DPV and SWCAdSV, respectively, using HMDE, **Fig.18, a&b**. The limit of quantifying PGZ-HCl was 164.8 ng.mL^{-1} , with RSD of $\pm 3.8\%$ by DPV and $\pm 3.5\%$ by SWCAdSV. Limits of detection were 30.76 ng.mL^{-1} and 15.52 ng.mL^{-1} , and limits of quantification were 93.20 ng.mL^{-1} and 47.03 ng.mL^{-1} , by DPV and SWCAdSV, respectively, tables 11-13.

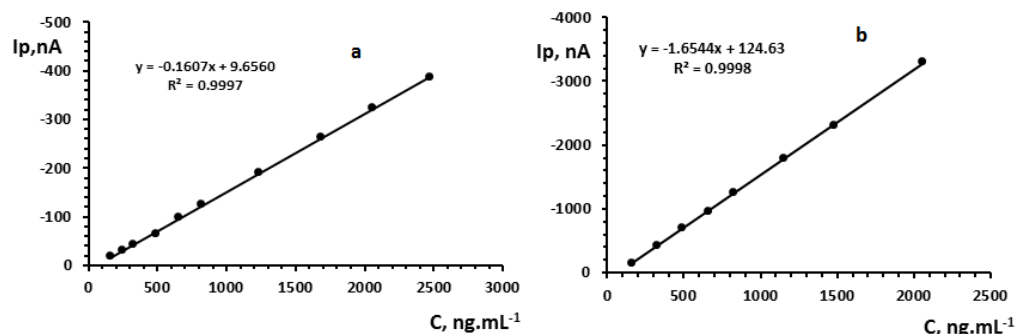


Fig.18: Calibration curves for the determination of PGZ-HCl in B-R buffer 0.1M at pH 7.5 of I_{p3} by a- DPV, b- SWCAdSV methods.

Table11: The optimum parameters established for determination of PGZ-HCl (I_{p3}).

Parameters	Operating modes	
Methods	DPV, DC, CV and SWCAdSV	
Electrode	HMDE	
Supporting electrolytes	B-R buffer 0.1M	
pH	7.5	
Solvent for PGZ-HCl	methanol	
Pulse amplitude	60mV	
Purge gas	Pure N ₂	
Purge time	300 sec	
Initial potential	0.0 mV	
Final potential	-1000 mV	
Reduction peaks	DPV	SWCAdSV
Peak Potential, V	Ep ₁ : -0.165 ± 0.04 V Ep ₃ : -0.450 ± 0.05 V	Ep ₁ : -0.25 ± 0.05 V Ep ₃ : -0.50 ± 0.05 V
Accumulation Potential, V	For peak1, E _{acc.} = -0.8V and for peak3, E _{acc.} = -1.55V	
Accumulation Time, sec.	150 s	
Linearity range	164.8– 2472 ng.mL^{-1}	164.8– 2060 ng.mL^{-1}
Limit of Quantifying	247.2 ng.mL^{-1}	164.8 ng.mL^{-1}
RSD%	3.8%	3.5%
Regression equation	* y = -0.1607x + 9.6560; (R ² = 0.9997)	* y = -1.6544x - 124.63; (R ² = 0.9998)
LOD (3.3SD)	30.76 ng.mL^{-1}	15.52 ng.mL^{-1}
LOQ (10SD)	93.20 ng.mL^{-1}	47.03 ng.mL^{-1}

* y= nA, x= concentration of PGZ-HCl, ng.mL^{-1}).

Application to pharmaceutical preparations: The proposed methods have been successfully applied for the analysis of PGZ-HCl in its commercial tablets using differential pulse voltammetry and square wave cathodic adsorptive stripping voltammetry at HMDE in 0.1M B-R buffer at pH 7.5. There were no interferences within containing of metformin HCl in some tablets. The results of quantitative analysis for PGZ-HCl were calculated by calibration curves method, Table 14.

Table 12: Evaluation of accuracy and precision of the proposed method **DPV** for determination of PGZ-HCl (**Ip₃**).

$C_{PGZ-HCl}$ taken, mg/L	$C_{PGZ-HCl}$ found, \bar{X} , ng.mL ⁻¹	SD, ng.mL ⁻¹	Analytical standard error, $\frac{SD}{\sqrt{n}}$, ng.mL ⁻¹	Confidence limits $\bar{x} \pm \frac{SD}{\sqrt{n}} t$, ng.mL ⁻¹	RSD %
164.8	169.6	9.33	4.17	169.6 ± 11.58	5.5
247.2	247.3	9.40	4.20	247.3 ± 11.67	3.8
329.5	327.7	9.83	4.40	327.7 ± 12.21	3.0
494.4	464.9	11.62	5.20	464.9 ± 14.43	2.5
659.2	669.9	13.40	6.66	669.9 ± 16.63	2.0
824	827.4	14.89	6.63	827.4 ± 18.49	1.8
1236	1248.6	17.48	7.82	1248.6 ± 21.70	1.4
1684	1698.5	20.38	9.12	1698.5 ± 25.30	1.2
2060	2065.1	20.65	9.24	2065.1 ± 25.64	1.0
2472	2465.7	24.66	11.03	2465.7 ± 30.61	1.0

* n=5, t=2.776

Table 13: Evaluation of accuracy and precision of the proposed method **SWCAdSV** for determination of PGZ-HCl (**Ip₃**).

$C_{PGZ-HCl}$ taken, mg/L	$C_{PGZ-HCl}$ found, \bar{X} , ng.mL ⁻¹	SD, ng.mL ⁻¹	Analytical standard error, $\frac{SD}{\sqrt{n}}$, ng.mL ⁻¹	Confidence limits $\bar{x} \pm \frac{SD}{\sqrt{n}} t$, ng.mL ⁻¹	RSD %
164.8	165.9	5.81	2.60	165.9 ± 7.21	3.5
329.5	332.2	10.63	4.75	332.2 ± 13.20	3.2
494.4	498.4	13.46	6.02	498.4 ± 16.71	2.7
659.2	649.6	13.64	6.10	649.6 ± 16.94	2.1
824.0	830.9	13.29	5.95	830.9 ± 16.51	1.6
1153.6	1156.7	15.04	6.73	1156.7 ± 18.67	1.3
1483.2	1468.6	16.16	7.23	1468.6 ± 20.06	1.1
2060.0	2070.0	20.70	9.26	2070.0 ± 25.70	1.0

* n=5, t=2.776

Table 14: Determination of PGZ-HCl in some pharmaceutical formulations by SWCAdSV method using HMDE at pH 7.5 using calibration curves method.

Commercial name	Content, mg/tablet	DPV method			SWCAdSV method		
		\bar{X} mg/tablet	RSD%	Recovery%	\bar{X} mg/tablet	RSD%	Recovery%
Pioglit ,BPI (Aleppo – Syria)	15	14.9	4.0	99.3	15.1	3.6	100.7
	30	31.6	2.8	105.3	30.6	2.5	102.0
	45	46.0	2.4	102.2	45.5	2.2	101.1
Pioglit-met, BPI (Aleppo – Syria)	15/500mg metformin HCl	15.3	3.8	102.0	14.9	3.5	99.3
	15/850mg metformin HCl	15.1	3.5	100.7	15.4	3.5	102.7
Actaoze Asia, Asia (Aleppo – Syria)	15	15.3	3.3	102.0	15.1	3.2	100.7
	30	32.0	2.7	106.7	31.0	2.6	103.3
	45	46.0	2.3	102.2	45.0	2.1	100.0
Defast, Unipharma (Damascus –Syria)	15	15.0	3.6	100.0	14.9	3.2	99.3
	30	31.5	3.0	105.0	30.6	2.8	102.0

Conclusion:

- 1- A sensitive method is described for the determination of glyburide as antidiabetic in its pure form and dosage forms. The proposed method depends upon the polarographic activity of glyburide using CV, DC, SqW and DPP in acetate buffer. At a sweep rate of 100 mVs⁻¹ the cyclic voltammograms showed a well-defined cathodic peak with high selectivity. The DPP gave a reproducible well defined diffusion controlled peak for each

- drug at a sweep rate of 10 mVs^{-1} . The reduction peak was used to determine the tested drug concentrations. Whereby a well-defined cathodic wave is produced over the pH range 2.0-11.0. The current-concentration relationship was found to be rectilinear over the range 1.00-112, 2.00-80 and 1.00-40 μM with a RSD of 5.2, 4.4 and 4.8 % using DME, SMDE and HMDE respectively. The limit of quantitation was 0.645 μM and the limit of detection 0.194 μM using DME. The proposed method was successfully applied to the determination of glyburide in tablets.
- 2- The electrochemical behaviour of Rebaglinide (RPG) in phosphate buffers is described at a mercury electrode has been investigated using DPP, CV, DC and SqW. Rebaglinide (RPG) exhibits a well-defined irreversible oxidation peak over the entire pH 2-11. DPP was used to determine RPG in pure form. The anodic peak was observed at 11 mV vs. Ag/AgCl. The peak current varied linearly in the following ranges of 0.362 –14.84 mg.L^{-1} , 0.453– 10.86 mg.L^{-1} and 0.435– 12.67 mg.L^{-1} at pH 7.0 using DME, HMDE and SMDE respectively. The relative standard deviation (RSD) did not exceed of 3.4%, 3.8% and 3.5 % .Regression analysis showed a good correlation coefficient ($R^2=0.9998$) between I_p and concentration over the studied range with detection limit (LOD) of 0.042, 0.053 & 0.055 mg.L^{-1} and quantification limit (LOQ) of 0.127,0.161& 0.168 mg.L^{-1} using DME, HMDE and SMDE, respectively. The proposed method was successfully applied to the analysis of RPG in pure and pharmaceutical dosage forms with average recovery of 98.8 to 103.2%. The results obtained agree well with the contents stated on the labels.
 - 3- In the proposed method, differential pulse voltammetric analysis of PGZ-HCl in pure and pharmaceutical dosage forms in 0.1M B-R buffer containing 32% (v:v) methanol at pH 6.0 and 7.5 have been investigated using DME, SMDE and HMDE. Three reduction peaks were observed. The first peak(E_{p1}) is in the range of potential at 0.031 to -0.048 V using DME & SMDE and in the range of potential at -0.20 to -0.25 V using HMDE, may be attributed to the reduction of oxy group. The second peak may be attributed to reduction of the C=N double bonds of the pyridyl ring of the target molecule(E_{p2}) is in the potential ranges at -0.975 to -1.150 V using DME&SMDE but it disappeared when use HMDE. The third peak may be attributed to reduction of the sulfur atom in thiazol ring (E_{p3}) and it is in the potential ranges at -0.50 to -0.55 V. The I_{p1} were proportional to the concentration over the ranges 1.6 –224 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and 1.6–28 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ using DME&SMDE respectively, and the I_{p2} were proportional to the concentration of PGZ-HCl over the ranges 1.6–256 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ and1.6–32 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ using DME & SMDE, respectively. The I_{p1} and I_{p3} were proportional to the concentration over the ranges 247.2 –2472 ng.mL^{-1} and 164.8–2060 ng.mL^{-1} by DPV and SWCAdSV using HMDE, respectively. Applying DME, SMDE and HMDE over mentioned methods in this context were successfully carried out for the first time. The RSD% did not exceed of $\pm 4.0\%$ & $\pm 3.6\%$ using DME & SMDE, respectively and the RSD did not exceed of $\pm 3.8\%$ & $\pm 3.5\%$ by DPV and SWCAdSV using HMDE for I_{p3} , respectively. The proposed method was successfully applied to the analysis of PGZ-HCl in pure and pharmaceutical dosage forms with average recovery of 99.0 to 105.0%.The results obtained agree well with the contents stated on the labels.

Aleppo University
Faculty of Science
Department of Chemistry



*Pulse Voltammetric Analysis of Some Anti-diabetic
drugs in its Pharmaceutical Preparations*

Thesis Submitted for PhD. Sc. Degree in Analytical Chemistry

Submitted by

Safaa Ahmad Alulu

Supervised by

Prof. Dr. H. MANDIL

Prof. Dr. A. AL.SAKUR

2013

Aleppo University
Faculty of Science
Department of Chemistry



***Pulse Voltammetric Analysis of Some Anti-diabetic
drugs in its Pharmaceutical Preparations***

Thesis Submitted for PhD. Sc. Degree in Analytical Chemistry

Submitted by

Safaa Ahmad Alulu

2013