



دولة ليبيا
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة سبها - كلية العلوم
قسم الكيمياء



مشروع تخرج مقدم لاستكمال متطلبات الحصول على درجة البكالوريوس بعنوان:

التقدير الطيفي للباراسيتامول باستخدام تفاعل الإزدواج الديازوني مع الحمضين
الأمينيين ألانين والتيروسين

**Spectrophotometric Determination of Paracetamol Using
Diazotization Coupling Reaction with alanine and tyrosine
amino acids**

مقدم من الطالبتين:

رحمة ابولاسعاد إِمحمد

رحمة آدم أحمد

إشراف:

د. عائشة أحمد أبوبكر العباسي

الفصل الدراسي ربيع 2024

العام الجامعي 2023-2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(وَيَسْأَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّي وَمَا أُوتِيتُمْ مِنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا)

صدق الله العظيم

[سورة الإسراء: 85]

الإهداء

أرى مرحلتي الدراسية قد شارفت على الانتهاء بالفعل، بعد تعب ومشقة دامت سنين في سبيل العلم والعلم حملت في طياتها أمنيات الليالي، وأصبح عناني اليوم للعين قرّة، ها أنا اليوم أقف على عتبة تخرجني أقطف ثمار تعبي بكل فخر، فاللهم لك الحمد قبل أن ترضى ولك الحمد إذا رضيت ولك الحمد بعد الرضى، لأنك وفقنتني على إتمام هذا النجاح وتحقيق حلمي. وبكل حب اهدي ثمرة تخرجني:

إلى الذي زين اسمي بأجمل الألقاب، من دعمني بلا حدود وأعطاني بلا مقابل إلى من علمني أن الدنيا سلاحها العلم والمعرفة، داعمي الأول في مسيرتي وسندي وملاذي بعد الله وفخري واعتزازي:

..... **والدي العزيز**

إلى من جعل الله الجنة تحت أقدامها، واحتضني قلبها قبل يديها وسهلت لي الشدائد بدعائها، إلى القلب الحنون والشمعة التي كانت لي في الليالي المظلمات، سر قوتي ونجاحي جنّتي:

..... **والدتي العزيزة**

إلى من بهم أكبر وعليهم أعتمد وبوجودهم أكتسب قوة ومحبة لا حدود لها إلى من عرفت منهم معنى الحياة:

..... **سندي وعزوتي إخوتي وأخواتي**

إلى ملائكة رزقني الله بهن لأعرف من خلالهن طعم الحياة الجميلة:

..... **صديقاتي**

إلى من أمدوني بالقوة والتوجيه وآمنوا بي ودعموني في الأوقات الصعبة لأصل إلى ما أنا عليه الآن:

..... **عائلتي دمت لي سنداً لا عمر له**

وأخيراً من قال أنا لها "تالها" وأنا لها إن أبت رغماً عنها أتيت بها، ما كنت لأفعل لولا توفيق من الله فالحمد لله الذي ما تيقنت به خيراً وأملاً إلا وأغرقني سروراً وفرحاً ينسيني مشقتي.

كلمة شكر

الحياة دقائق وثنان تدور بنا بين عمل جاد وأمل بمستقبل مشرق.. وفي قلوبنا كل التبجيل والاحترام لمن أعتني بعلمه فوضعه بين أيدينا نغوص في بحوره لنغرف منها، إلى الأيادي الجليلة التي رافقتنا على طريق العلم، وزودتنا من معارفها وخبراتها، إلى السادة أعضاء الهيئة التدريسية في كلية العلوم قسم الكيمياء .

وفاءً وتقدير واعتراً منا بالجميل نتقدم بجزيل الشكر للدكتورة المخلصة التي رافقتنا في مسيرتنا لإنجاز هذا البحث وكانت لها بصمات واضحة من خلال توجيهاتها ودعمها الأكاديمي، التي لم تألو إلى مساعدتنا في مجال البحث العلمي للدكتورة الفاضلة: **عائشة العباسي** على هذه الدراسة وصاحبة الفضل في توجيهنا ومساعدتنا في تجميع المادة البحثية، فجزاها الله كل خير

كما نشكر عائلاتنا التي صبرت وتحملت معنا ورفدتنا بكثير من الدعم على جميع الأصعدة، ونشكر الأصدقاء والأحباب، ونشكر الأستاذة نورية علي بالخير كما أتقدم بالشكر الجزيل لجميع أعضاء لجنة المناقشة على منحنا وقتهم في قراءة وتحليل وتقييم هذه الدراسة، لكم مني جمعياً جزيل الشكر والامتنان وفائق الاحترام والتقدير .

الباحثان

فهرس المحتويات

ه	فهرس المحتويات.....
ز	فهرس الأشكال.....
ح	فهرس الجداول.....
ط	الملخص.....
1	1. المقدمة.....
2	1.1 تقدير المادة الفعالة في المنتجات الدوائية.....
2	1.1.1 دقة القياس وصحة القياس.....
3	2.1.1 أهمية تقدير المادة الفعالة في المنتجات الدوائية.....
3	2.1 التقنيات التحليلية لتقدير الأدوية.....
4	1.2.1 تقنيات المعايرة.....
4	2.2.1 التقنيات الكروماتوغرافية.....
6	3.2.1 التقنيات الطيفية.....
7	4.2.1 الطرق الكهروكيميائية.....
8	3.1 الباراسيتامول.....
8	1.3.1 آلية عمل الباراسيتامول في جسم الإنسان.....
9	2.3.1 الطرق المستخدمة في تقدير الباراسيتامول.....
11	4.1 تقدير الباراسيتامول باستخدام الأشعة المرئية والأشعة فوق البنفسجية.....
12	1.4.1 أصباغ الأزو.....
13	2.4.1 استخدام الأحماض الأمينية في تقدير الباراسيتامول.....
15	5.1 الهدف من هذه الدراسة.....
16	2. الجزء العملي.....
16	1.2 المواد والأجهزة المستخدمة.....
16	1.1.2 المواد الكيميائية المستخدمة.....
16	2.1.2 الأجهزة المستخدمة.....
16	3.1.2 الأدوات المستخدمة.....
17	2.2 تحضير المحاليل القياسية.....
17	1.2.2 تحضير المحاليل القياسية للكواشف المستخدمة.....
18	2.2.2 تحضير المحاليل القياسية للباراسيتامول.....
18	3.2.2 تحضير المحاليل القياسية للأحماض الأمينية.....
18	3.2 تحديد الظروف المثالية لتقدير الباراسيتامول.....
18	1.3.2 تأثير حمض الهيدروكلوريك.....
19	2.3.2 تأثير نترتيت الصوديوم.....

19.....	3.3.2 تأثير حجم وتركيز الباراسيتامول.
20.....	4.3.2 تأثير الحمض الأميني.
20.....	5.3.2 تأثير هيدروكسيد الصوديوم.
20.....	4.2 المنحنى القياسي لتعيين الباراسيتامول.
21.....	5.2 تقدير الباراسيتامول في الأدوية.
21.....	1.5.2 محلول أقراص الباراسيتامول (100 µg/mL).
22.....	2.5.2 الخطوات المعملية للتقدير.
23.....	3. النتائج والمناقشة.
23.....	1.3 آلية تفاعل الإزدواج بواسطة الديازوتايز.
25.....	2.3 قيمة الإمتصاص القصوى لصبغة الأزو من محلول الباراسيتامول.
26.....	3.3 تحديد الظروف المثالية لتقدير الباراسيتامول.
26.....	1.3.3 تأثير حمض الهيدروكلوريك.
27.....	2.3.3 تأثير نيتريت الصوديوم.
29.....	3.3.3 تأثير هيدروكسيد الصوديوم.
30.....	4.3 تأثير تركيز الباراسيتامول والأحماض الأمينية.
30.....	1.4.3 تأثير تركيز الباراسيتامول والأنين.
31.....	2.4.3 تأثير تركيز الباراسيتامول والتيروسين.
32.....	5.3 تأثير الزمن على ثبات صبغة الأزو الملونة.
33.....	6.3 المنحنى القياسي لتعيين الباراسيتامول.
34.....	7.3 بيان مدي دقة وصحة القياس بالطريقة المستخدمة في تعيين الباراسيتامول.
34.....	1.7.3 الخطية وحدود الكشف.
35.....	2.7.3 دراسة دقة التحليل اليومي وما بين الأيام.
39.....	3.7.3 قيم الاستعادة.
40.....	8.3 تقدير الباراسيتامول في الأدوية التجارية.
40.....	4. الإستنتاج والتوصيات.
40.....	1.4 الإستنتاج.
40.....	2.4 التوصيات.
41.....	المراجع.

فهرس الأشكال

- الشكل 1: التركيب الكيميائي للباراسيتامول 8
- الشكل 2: آلية عمل الباراسيتامول 9
- الشكل 3: الطرق المستخدمة في تقدير الباراسيتامول..... 10
- الشكل 4: الديازوتة وإزدواج الأزو 13
- الشكل 5: التركيب الكيميائي للتيروسين 14
- الشكل 6: التركيب الكيميائي للأنين 15
- الشكل 7: تحضير المحاليل وقياس الإمتصاصية داخل المعمل..... 17
- الشكل 8: آلية مقترحة لتسلسل التفاعل بين الباراسيتامول والأحماض الأمينية..... 24
- الشكل 9: طيف الإمتصاص للكواشف المستخدمة في الدراسة 25
- الشكل 10: يوضح تأثير حمض الهيدروكلوريك 27
- الشكل 11: يوضح تأثير نترت الصوديوم 28
- الشكل 12: يوضح تأثير هيدروكسيد الصوديوم مع الأحماض الأمينية..... 29
- الشكل 13: يوضح تأثير كمية حمض أنين..... 30
- الشكل 14: يوضح تأثير كمية حمض التيروسين..... 31
- الشكل 15: يوضح تأثير الزمن..... 32
- الشكل 16: يوضح معادلة الخط المستقيم لحمض أنين 33
- الشكل 17: يوضح معادلة الخط المستقيم لحمض التيروسين..... 34

فهرس الجداول

- الجدول 1: تقدير بعض المواد الفعالة في بعض الأدوية باستخدام تقنية Uv-Vis 6
- الجدول 2: الكواشف والطرق المستخدمة في تعيين الباراسيتامول بطريقة Uv-Vis..... 12
- الجدول 3: أهم الخواص الفيزيائية للأحماض المستخدمة..... 14
- الجدول 4: المواد الكيميائية والشركة المصنعة..... 16
- الجدول 5: الأجهزة المستخدمة..... 16
- الجدول 6: الأدوية التي تم استخدامها لتقدير الباراسيتامول 21
- الجدول 7: الطول الموجي لصبغة الأزو الصفراء..... 25
- الجدول 8: الإمتصاصية عند حجوم مختلفة من حمض الهيدروكلوريك..... 26
- الجدول 9: الإمتصاصية عند حجوم مختلفة من نترتيت الصوديوم..... 28
- الجدول 10: الإمتصاصية عند حجوم مختلفة من هيدروكسيد الصوديوم..... 29
- الجدول 11: الإمتصاصية عند تراكيز وحجوم مختلفة من حمض ألانين..... 30
- الجدول 12: الإمتصاصية عند تراكيز وحجوم مختلفة من حمض التيروسين..... 31
- الجدول 13: تغير الإمتصاصية تحت تأثير الزمن..... 32
- الجدول 14: الامتصاص للمحاليل القياسية المحضرة للباراسيتامول النقي..... 33
- الجدول 15: ملخص المعاملات الكمية والبيانات الإحصائية..... 34
- الجدول 16: دقة التحليل اليومي وما بين الأيام لحمض ألانين..... 36
- الجدول 17: دقة التحليل اليومي وما بين الأيام لحمض التيروسين..... 37
- الجدول 18: دقة التحليل اليومي وما بين الأيام لحمضين ألانين والتيروسين..... 38
- الجدول 19: دقة الطريقة عن طريق قيمة الاستعادة..... 39
- الجدول 20: تقدير الباراسيتامول في الأدوية التجارية..... 40

المخلص

تقدير الباراسيتامول في الأدوية التي تحتوي عليه هو إجراء تحليلي مهم في تحليل الأدوية. يتضمن البحث تطوير الطريقة الطيفية لتقدير الباراسيتامول، حيث تعتمد الطريقة على أزوتة بارا-امينو فينول الناتج من التحلل الحامضي للباراسيتامول وذلك بمفاعله مع أيون النتريت بوجود حامض الهيدروكلوريك ثم إزدواج ملح الدايازونيوم الناتج في وسط قاعدي مع الأحماض الأمينية تحت الدراسة لتكوين صبغة آزوية صفراء مستقرة وذائبة في الماء. حيث تم استخدام كلا من الحمض الأميني ألانين والحمض الأميني التيروسين في هذا العمل، لتكوين صبغات آزوية ذات لون اصفر تعطي أعلى شدة امتصاص عند 421 نانومتر لكل من الحمضين. تم تطبيق هذه الطريقة بنجاح لتقدير الباراسيتامول في الأقراص باستخدام طيف الأشعة فوق البنفسجية بما يتماشى مع المتطلبات الدولية الروتينية للتحاليل المعتمدة. حيث تم تحليل العديد من الأدوية التي تحتوي على الباراسيتامول لتقييم حساسية الطريقة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها مدى دقة الطريقة المقترحة. وبناءً على ذلك، يمكن استخدام هذه التقنيات لقياس كمية الباراسيتامول في الأقراص.

الكلمات المفتاحية: التقدير الطيفي، الباراسيتامول، الأقراص الصيدلانية، الأزوتة والإزدواج، الأحماض الأمينية.

الفصل الاول

المقدمة

1. المقدمة

علم الكيمياء جزء مهم في صناعة الأدوية وتطويرها. ومثال على ذلك، يتم استخدام مبادئ الكيمياء العضوية والعضوية الصيدلانية في تصميم الأدوية، والمهمة الجديدة للمركبات وإمكانية تفاعله مع جسم الإنسان. ويعتمد العلاج بالأدوية بشكل كبير على فهم طريقة العلاج، وتوزيعه، واستقلابه، وإخراجه من جسم الإنسان. بصفة عامة، يمكن القول إن علم الكيمياء الرئيسي يتقن عملية تطوير الأدوية، ويسهم بشكل كبير في تحسين الرعاية الصحية وعلاج الأمراض. في العصر الحالي، يتم إدخال عدد متزايد من الأدوية وتركيبات الأدوية إلى السوق بمعدل ينذر بالخطر [1]. قد تكون هذه الأدوية أو التركيبات إما كيانات جديدة أو تعديلات هيكلية جزئية لتلك الموجودة أو أشكال جرعات جديدة وأشكال جرعات متعددة المكونات. وتنقسم الأدوية إلى عدة أنواع وفئات تشمل الأدوية الصيدلانية، الأدوية النفسية (مضادات الاكتئاب والمهدئات)، والأدوية العشبية (الأعشاب الطبية والمكملات الغذائية). كما أنها تستخدم علم الأدوية بدراسة تفاعلات الأدوية في الجسم، الآثار الجانبية للأدوية، وكيفية استخدامها بشكل آمن وفعال.

دواء يحتوي على المادة الفعالة الباراسيتامول وكثيراً ما يتم دمجه مع مواد نشطة إضافية ويستخدم في خفض درجة الحرارة [2] ويعد أحد الأدوية الشائعة والمتاحة دون وصفة طبية.

يعد التقييم الدقيق لمحتوى الباراسيتامول في التركيبات الدوائية أمراً بالغ الأهمية لضمان فعاليته وسلامته. حيث تم استخدام العديد من التقنيات التحليلية للتقييم الكمي للباراسيتامول، مثل القياس الطيفي، والكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء، وقياس المعايرة، ومع ذلك قد تعاني هذه الأساليب من قيود مثل التعقيد أو التكلفة العالية، أو قلت الحساسية. وبالتالي يتطلب الأمر إنشاء طريقة بسيطة أكثر حساسية وفعالية وأقل تكلفة لتقييم الباراسيتامول في تركيبات الأدوية. تتضمن الطريقة المقترحة تقدير الباراسيتامول من خلال تفاعل ملح الديازونيوم مع كاشف الإزدواج، متبوعاً بتحليل طيفي.

إن تقييم الباراسيتامول باستخدام تفاعل الإزدواج مع أملاح الديازونيوم هو طريقة تستخدم لقياس احتواء العينة على الباراسيتامول. يتكون التفاعل من تحويل مجموعة الأمين الاروماتية الناتجة من تحلل

الباراسيتامول إلى ملح الديازونيوم الذي يقترن بكاشف إزدواج مناسب لتكوين صبغة أزو ملونة، والتي يمكن قياسها طيفياً عند طول موجي محدد [3].

1.1 تقدير المادة الفعالة في المنتجات الدوائية

المادة الفعالة هي المكون الدوائي الذي يعتبر المسؤول الأساسي عن تأثير الدواء في الجسم، وتساهم في تحقيق الفعالية العلاجية للدواء. تختلف المواد الفعالة حسب نوع الدواء ووظيفته المحددة ولا يتم تحديده بشكل دقيق في اسم الدواء، ولذلك تعتبر دراسة هذه المواد وفهمها عنصراً ضرورياً لتطوير الأدوية.

يتم تقدير المادة الفعالة عن طريق إجراء تحاليل واختبارات معملية متعددة. تشمل هذه الاختبارات تحديد نسبة المادة الفعالة الموجودة في المستحضر، وذلك بتطبيق تقنيات محللة مثل المطيافية والكروماتوغرافية. عادةً ما يتم إجراء هذه الاختبارات من قبل الشركات المصنعة للمستحضرات الدوائية، حيث يتم اختيار الطرق اللازمة لتجزئة وتحليل المكونات الفعالة في المستحضر، وتحديد تركيز المادة الفعالة في الصيغة [4, 5]. بعد ذلك، يتم تحديد الجرعة الصحيحة للمادة الفعالة في المنتج الدوائي، وذلك بالاعتماد على تأثيراتها الموجودة والمعلومات المتاحة حول امتصاصها وتوزيعها واستقلابها في الجسم. تقدير المادة الفعالة ذو أهمية كبيرة في صناعة المنتجات الدوائية، حيث تساعد في ضمان جودة وسلامة المستحضر وتحقيق فعالية العلاج المرجوة.

1.1.1 دقة القياس وصحة القياس

دقة وصحة القياس في المنتجات الدوائية تعتبر عاملاً مهماً جداً في صناعة هذه المنتجات. فعند تصنيع الأدوية، يجب أن تتم العمليات بدقة عالية لضمان توفر جرعات الدواء المناسبة والصحيحة للمرضى. تتطلب دقة القياس استخدام أجهزة ومعدات معايرة بشكل صحيح وتحت أيدي أفراد مدربين ومؤهلين. كما يجب استخدام أساليب وأدوات قياس موثوقة ومعتمدة عالمياً.

من الضروري أيضاً إجراء اختبارات وفحوصات دورية للمواد المستخدمة في تصنيع الأدوية للتأكد من صحة القياس والجودة. على سبيل المثال، يجب على الشركات المصنعة للأدوية اختبار المكونات النشطة والإضافية للتأكد من تطابقها مع المعايير والمواصفات المطلوبة. وبالإضافة إلى ذلك، يجب توفير عمليات تحكم صارمة ومحكمة لضمان وجود نظام جودة قائم. يجب تدريب وتوعية الموظفين

في هذه الشركات بأهمية القياسات الدقيقة والمنهجية، بالإضافة إلى توعية المرضى بضرورة اتباع تعليمات الاستخدام بدقة [6]. باختصار، يجب أن تلتزم الشركات المصنعة للأدوية بأعلى المعايير وأفضل الممارسات فيما يتعلق بدقة القياس وصحة القياس لضمان سلامة المرضى وفعالية العلاجات الدوائية.

2.1.1 أهمية تقدير المادة الفعالة في المنتجات الدوائية

تحقيق المادة الفعالة في المنتجات الدوائية يترتب عليها أهمية كبيرة. تساهم في التأكيد على قوة وفعالية العلاج الذي يتلقاه المرضى. إذا لم تكن نسبة المادة الفعالة في المنتج صحيحة، فإنها قد تؤدي إلى عدم تحقيق النتائج المتوقعة أو فشل العلاج بشكل عام.

التقدير الصحيح للمادة الفعالة يساعد أيضاً في ضمان سلامة المنتجات الدوائية. إذا كانت نسبة المادة الفعالة أعلى من المستوى الآمن، فقد يتسبب ذلك في حدوث آثار جانبية خطيرة على صحة المرضى. بالمقابل، إذا كانت النسبية أقل من المطلوب، فقد يكون للمنتج تأثير محدود أو غير موجود تماماً [7].

بالإضافة إلى ذلك، يتم فحص تقدير المادة الفعالة من قبل الهيئات الرقابية والمنظمات الصحية. يعد تحديد المادة الفعالة بدقة والتأكد من وجودها ضمن الحدود المسموح بها واحداً من المعايير المهمة التي يتطلبها التنظيم القانوني والقوانين الصحية [8].

2.1 التقنيات التحليلية لتقدير الأدوية

كما نعلم أن الكيمياء التحليلية تلعب دوراً هاماً في مجالات العلوم والطب وترتبط بفصل وتحديد المكونات الكيميائية للمواد قيد الدراسة. ويتناول هذا العلم بشكل أساسي جانبيين من التوصيف الكيميائي: النوعي (ما هو) والكمي (كم هو). بالإضافة إلى أن التحليل النوعي يتم تحديده من خلال اللون أو الرائحة أو نقطة الانصهار، إلى جانب التحليل الكمي يتم تحقيقه عن طريق قياس الوزن أو الحجم. ومع ذلك، يتم استخدام طرق تحليلية مختلفة بشكل روتيني لتحليل عينات الأدوية والمستحضرات الصيدلانية والسوائل البيولوجية [9].

يمكن تقسيم الطرق التحليلية إلى الطرق غير الآلية والطرق الآلية. في الطرق غير الآلية (طرق الكيمياء الرطبة) تستخدم للفصل مثل الترسيب والاستخلاص والتقطير. أما الطرق الآلية فيتم تحديد

تركيبها الكيميائي باستخدام الآلة وتشمل طرق الفحص الطيفية، والكروماتوغرافيا، وطرق التحليل الكهربائي. ولذلك فإن تحليل الأدوية يظهر دوراً كبيراً في تطوير الأدوية وتصنيعها واستخدامها العلاجي. تعتمد الصناعات الدوائية على التحليل الكيميائي الكمي، للتأكد من أن جودة ونقاء وفعالية المواد الخام المستخدمة والمنتجات النهائية التي يتم الحصول عليها تلبى المواصفات المطلوبة. وبالتالي، بالنسبة للتركيبات الصيدلانية التي تم إدخالها حديثاً، يصبح من الضروري تطوير طرق تحليلية جديدة لأنه في بعض الأحيان يحتوي شكل الجرعة على مواد أخرى من المحتمل أن تتداخل في الاختبار وإذا لم يتم تصحيحها قد تنقل خطأ نظامياً إلى الاختبار.

1.2.1 تقنيات المعايرة

تم اختراع طريقة التحليل بالمعايرة في عام 1835 على يد جاي-لوساك، وتسمى بالطريقة الحجمية أو المعايرة بالتحليل الحجمي. ثبت أن طرق المعايرة بالمعايرة مفيدة في القياسات الحركية التي يتم تطبيقها لتحديد معدلات التفاعل. ولها بعض المزايا التي تشمل توفير الوقت والجهد، وأيضاً من الطرق الدقيقة، والسبب هو عدم الحاجة إلى استخدام المعايير المرجعية. على سبيل المثال، تم تحديد الباراسيتامول في أشكال الجرعات التجارية بطرق قياس المعايرة [9-11]. إلى جانب تطبيقه في تقدير الباراسيتامول، تم تحديد الجابنتين في أشكال الجرعات التجارية بطرق قياس المعايرة [9, 11]

2.2.1 التقنيات الكروماتوغرافية

تم تنفيذ معظم عمليات الفصل الكيميائي باستخدام مجموعة متنوعة من التقنيات بما في ذلك كروماتوغرافيا العمود المفتوح، وكروماتوغرافيا الورق، وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة. بشكل أساسي، الكروماتوغرافيا هي تقنية فصل تفصل المخاليط إلى مكونات فردية باستخدام الطور المتحرك والطور الثابت. تتحرك المكونات المختلفة للخليط بسرعات مختلفة مما يؤدي إلى انفصالها. يعتمد الفصل على التقسيم بين الطور المتحرك والثابت. ويكون الطور الثابت عبارة عن دعامة صلبة ذات طبيعة امتزازية والطور المتحرك عبارة عن طور سائل أو غازي [9].

1.2.2.1 الطبقة رقيقة TLC

كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) هي تقنية قديمة، في TLC، يتم طلاء الطور الصلب، المادة الممتزة، على دعامة صلبة كطبقة رقيقة عادة على دعامة من الزجاج أو البلاستيك أو الألومنيوم. يعتمد TLC على عملية توزيع متعددة المراحل، والتي تتضمن "مادة ماصة" مناسبة (الطور الثابت)، ومذيبات أو مخاليط مذيبات (الطور المتحرك)، وجزيئات العينة. وهنا حددت عوامل مختلفة كفاءة هذا النوع من الفصل الكروماتوغرافي. يجب أن تظهر المادة المازة انتقائية شديدة تجاه المواد التي يتم فصلها بحيث تكون الاختلافات في معدل الانتشار [9, 12].

2.2.2.1 كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة عالية الأداء (HPTLC)

HPTLC تقنية فصل سريعة ومرنة بدرجة كافية لتحليل مجموعة واسعة من العينات. وهناك العديد من المزايا لاستخدام HPLC لتحليل المركبات مقارنة بالتقنيات الأخرى. يعد التحليل اللوني للطبقة الرقيقة عالي الأداء شكلاً متقدماً من TLC الآلي؛ ظهرت كأداة مهمة في تحليل المخدرات. مثل كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء، والقياس الطيفي، والمعايرة، وما إلى ذلك [9, 13].

3.2.2.1 تحليل كروماتوغرافيا السائل عالي الأداء (HPLC)

HPLC تقنية متقدمة للكروماتوغرافيا السائلة، تم تحديدها لأول مرة في عام 1980، لفحص المواد الدوائية السائلة [14]. هنا، تُستخدم طرق HPLC لفصل الخليط المعقد من الجزيئات الموجودة في الأنظمة الكيميائية والبيولوجية، من أجل التعرف بشكل أفضل على دور الجزيئات الفردية. تعتبر خصوصية طريقة HPLC ممتازة ويمكن تحقيق الدقة والدقة الكافية في نفس الوقت. خلال دراسة المراجع، لوحظ أن HPLC كان النظام الأكثر استخداماً على نطاق واسع بين التقنيات الكروماتوغرافية [9, 14, 15].

4.2.2.1 كروماتوغرافيا الغاز

كروماتوغرافيا الغاز تقنية فصل قوية للكشف عن المركبات العضوية المتطايرة. ويتيح الجمع بين الفصل والكشف المباشر إمكانية التحديد الكمي الدقيق للمخاليط المعقدة، بما في ذلك آثار المركبات وصولاً إلى أجزاء في الترليون في بعض الحالات المحددة. تلعب كروماتوغرافيا الغاز السائل دوراً كبيراً في تحليل المنتج الصيدلاني. وفي الآونة الأخيرة، تم استخدام كروماتوغرافيا الغاز لفحص الأدوية مثل الأيزوتريتينيون [15] والكوكابين [9, 16].

3.2.1 التقنيات الطيفية

1.3.2.1 القياس الطيفي للأشعة فوق البنفسجية

أحد التقنيات القيمة في التحليل الصيدلاني، استنادًا إلى الامتصاص الطبيعي للأشعة فوق البنفسجية والتفاعلات الكيميائية [17]. يتم تعريف القياس الطيفي على أنه القياس الكمي لخصائص الامتصاص أو النفاذ للإشعاع عند مروره خلال المادة كدالة للطول الموجي. وتستخدم هذه التقنيات مثل التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية والأشعة تحت الحمراء والامتصاص الذري بشكل شائع [18]. مزايا هذه الأساليب انخفاض الزمن والدقة. لقد زاد استخدام القياس الطيفي للأشعة فوق البنفسجية والمرئية المطبق بشكل خاص في تحليل أشكال الجرعات الصيدلانية بسرعة خلال السنوات القليلة الماضية. هنا، يتم تسليط الضوء على الطرق الطيفية للأشعة فوق البنفسجية المرئية [9]، يوضح (الجدول 1) الطرق الطيفية للأشعة فوق البنفسجية والتي تغطيها بعض المنشورات.

الجدول 1 : تقدير بعض المواد الفعالة في بعض الأدوية باستخدام تقنية UV-Vis [9]

Drugs	Ref.
Dapsone	[19]
Amiloride	[20]
Famotidine And Ibuprofen	[21]
Ornidazole And Norfloxacin	[22]
Domperidone And Pantoprazole	[23]
Paracetamol And Dexibuprofen	[24]
Paracetamol And Ondansetron	[25]
Ibuprofen And Pseudoephedrine	[26]
Trimethoprim And Sulphamethaxole	[27]
Paracetamol and Aceclofenac	[28]
Tizanidine and Aceclofenac	[29]
Tramadol and Acetaminophen	[30]
Paracetamol and Caffeine	[31]
Ascorbic acid and Acetaminophen	[32]
Praziquantel and Albendazole	[33]
chlordiazepoxide and Amitriptyline	[34]
Salicylic acid Benzoic acid	[35]

2.3.2.1 التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء

تعد تقنيات التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء سريعة وغير مدمرة التي توفر تحليلاً متعدد المكونات لأي مصفوفة تقريباً. في السنوات الأخيرة، ربما يرجع الاهتمام الصيدلاني المتزايد بالتحليل الطيفي IR إلى مزاياه الرئيسية مقارنة بغيره، مثل سهولة إعداد العينة دون أي معالجات مسبقة، واحتمال فصل موضع قياس العينة باستخدام مجسات الألياف الضوئية [9, 36].

3.3.2.1 التحليل الطيفي بالرنين المغناطيسي النووي (NMR)

منذ أن ظهر التقرير الأول في عام 1996 تم استخدام التحليل الطيفي للرنين المغناطيسي النووي لوصف جزيئات الدواء. على مدى السنوات القليلة الماضية، تم تقديم الأساليب ووجدت تطبيقاً واسع النطاق في كل من البحوث الصيدلانية والأكاديمية. هنا تكشف الدراسات السابقة أنه تم نشر العديد من المراجع حول تطبيق الرنين المغناطيسي النووي في التحليل الكمي من أجل تحديد شوائب الدواء، وتوصيف تكوين المنتجات الدوائية وتحديد كمية الأدوية في التركيبات الصيدلانية والسوائل البيولوجية [9, 37].

4.3.2.1 قياس الفلور وقياس الفوسفور

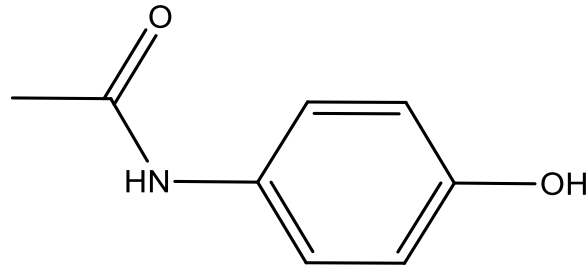
يعد قياس الطيف الفلوري أحد التقنيات التي تخدم غرض الحساسية العالية دون فقدان الخصوصية أو الدقة. تمت ملاحظة زيادة تدريجية في عدد المقالات حول تطبيق قياس الفلور وقياس الفوسفور في التحليل الكمي لمختلف الأدوية في أشكال الجرعات والسوائل البيولوجية في الماضي القريب [9, 38].

4.2.1 الطرق الكهروكيميائية

على مدى السنوات القليلة الماضية، يمكن أن يُعزى الاهتمام المتجدد بالتقنيات الكهروكيميائية جزئياً إلى الأجهزة الأكثر تطوراً وزيادة فهم التقنية نفسها. على سبيل المثال، تم تطوير الكربون الزجاجي والجسيمات النانوية من ثاني أكسيد التيتانيوم لتقدير الإيمبيرامين والتريميبرامين والديسيبرامين [9, 39]. تمت دراسة السلوك الكهروكيميائي لهذه الأدوية باستخدام قياس الجهد الدوري، والتحليل الطيفي الكهروكيميائي، وقياس الجهد النبضي التفاضلي الممتص [9, 39]. وقد تم تطوير قطب الجرافيت الحراري القاعدي المعدل بالكربون النانوي المعدل بالكابيسين أو أقطاب عجينة الكربون المعدل بالكلورانيل من أجل تحديد البنزوكائين واليدوكائين [9, 40].

3.1 الباراسيتامول

الباراسيتامول (اسيتو أمينو فينول)، هو الأسم الشائع للمركب والمسمى كيميائياً ب-N اسيتايل-بارا-أمينو فينول، او4-هيدروكسي اسيتانلايد، وله صيغة جزيئية $C_8H_9NO_2$ وكما هو مبين في (الشكل 1). إنه مسحوقاً أبيض بلوري الشكل، وزنه الجزيئي 151.2 جم/مول، له درجة انصهار تقريباً 168 درجة مئوية. قليل الذوبان جداً في الإيثر او كلوريد الميثيلين ويزوب جزئياً في الماء (1.0-5.0 غم / 100 مل) وله قابلية كبيرة للذوبان في الكحول. وهو مثل الفينول له خواص حامضية ضعيفة إذ إن الاس الهيدروجيني pH للمحلول يتراوح بين 5.5 و6.5 [41].



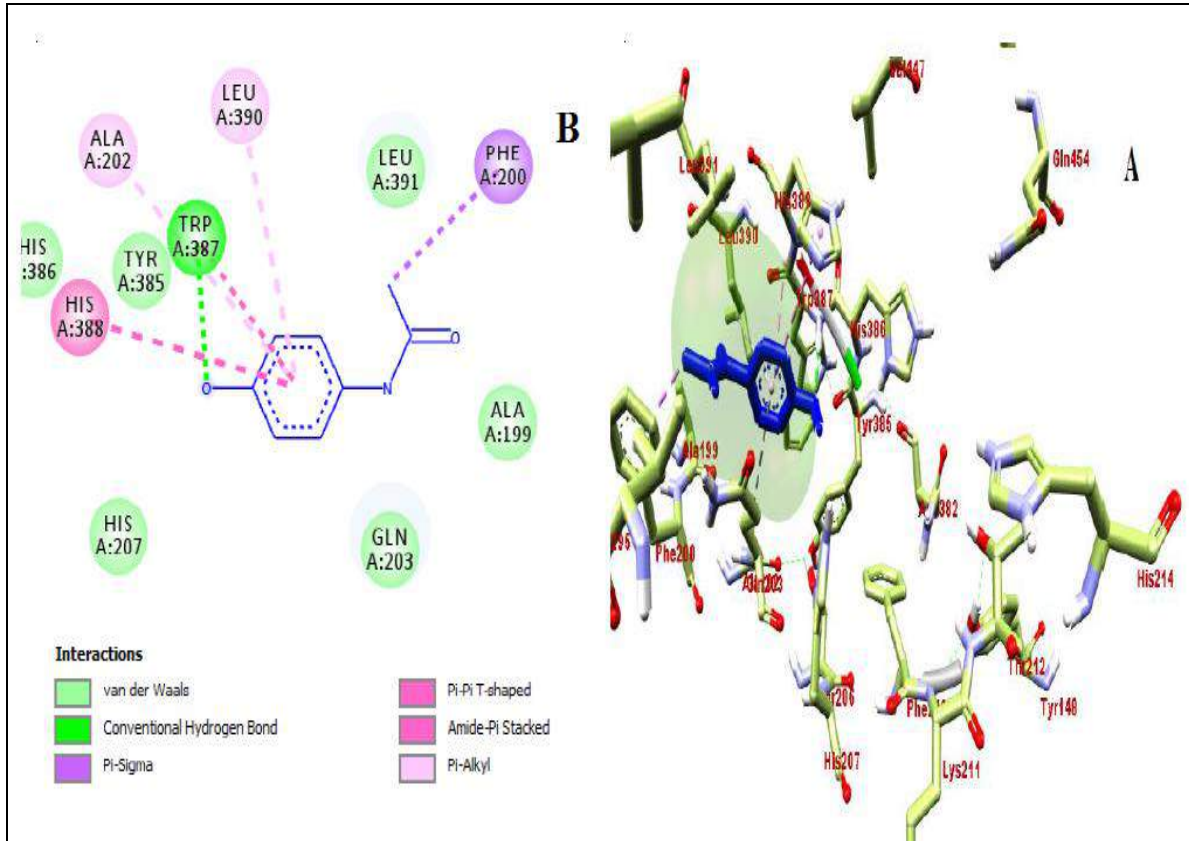
الشكل 1: التركيب الكيميائي للباراسيتامول

إن توفير جرعة دقيقة وصحيحة من الباراسيتامول في المنتجات الدوائية يشكل جزءاً أساسياً من ضمان فعالية المنتجات الدوائية وسلامتها للمرضى. يستخدم الباراسيتامول لتقليل أعراض الزكام والبرد مثل الصداع والحمى والآلام الجسم عامة. كما يستخدم أيضاً لتخفيف الآلام الناتجة عن الأسنان والعضلات والتهاب المفاصل. يعمل الباراسيتامول عن طريق تثبيط إنزيم يوجد في الجسم يُعرف باسم (سايكلو أوكسيجيناز)، والذي يساهم في إنتاج مواد كيميائية تسبب الألم والحمى. بذلك، يعمل الباراسيتامول على تقليل إنتاج هذه المواد والتأثير على جهاز المناعة في الجسم. من الأهمية بمكان تجنب تجاوز الجرعة الموصى بها للباراسيتامول. حيث يمكن أن يؤدي تناول جرعة زائدة إلى تلف الكبد والأعضاء الداخلية الأخرى. كما يجب استشارة الطبيب قبل تناول الباراسيتامول في حالات خاصة مثل الحمل أو الأمراض المزمنة [42].

1.3.1 آلية عمل الباراسيتامول في جسم الإنسان

ميكانيكية عمل الباراسيتامول تتمثل في تثبيط إنزيم سايكلو أوكسيجيناز في الخلايا العصبية والخلايا الموجودة في الجسم التي تنتج بروستاغلاندينات. التي تلعب دوراً رئيسياً في تأثير الألم والتهاب

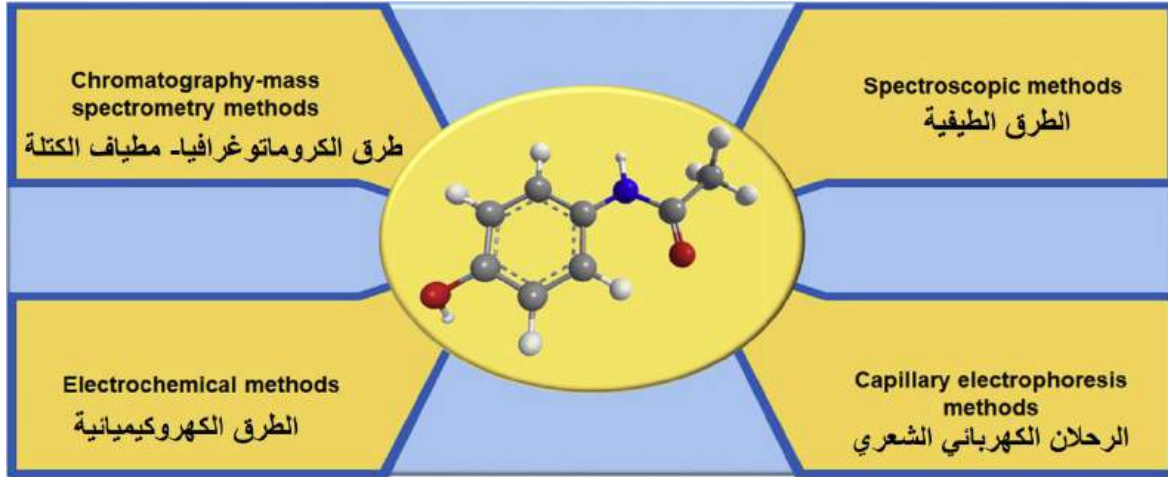
الأنسجة، ويعني تثبيط هذه المركبات الكيميائية أن يقلل من الألم والالتهاب (الشكل 2). علاوة على ذلك، يعتقد أن الباراسيتامول يؤثر أيضاً على مراكز التحكم في الحمى في الدماغ، حيث يمكن استخدامه لتخفيض درجة الحرارة في حالات الحمى. ومع ذلك، لا يزال العلماء لا يفهمون تماماً ميكانيكية عمل الباراسيتامول بشكل كامل، ولا يزال هناك العديد من الأبحاث التي تجرى لاستكشاف تأثيراته وآلية عمله بالتفصيل الأكبر [43].



الشكل 2: آلية عمل الباراسيتامول [44]

2.3.1 الطرق المستخدمة في تقدير الباراسيتامول

تم تقدير الباراسيتامول بطرائق متعددة (الشكل 3) إذ قدر بالطرائق الطيفية [41, 45-47] وبطريقة الكروماتوغرافيا [48, 49]، وقدّر الباراسيتامول أيضاً بتقنية الحقن الجرياني [50-52]، وقدّر الباراسيتامول بطريقة الأزوتة والإزدواج باستعمال الكاشف فلورو اسيتوفينون [53, 54]. باختصار، تم التوضيح من خلال الدراسات السابقة أن الطرق المستخدمة في تقدير الباراسيتامول تعتبر دقيقة وفعالة وتستخدم في العديد من الدراسات السريرية والبحوث الصيدلانية.



الشكل 3: الطرق المستخدمة في تقدير الباراسيتامول [55]

1.2.3.1 في تقنيات الكروماتوغرافيا، تستخدم تقنيات تفصل العينة إلى مكوناتها المختلفة باستخدام مركب يشبه الباراسيتامول (يعمل كمراجع) وتحديد كمية الباراسيتامول الموجودة في العينة بناءً على الانتقال أو الإحتجاز النسبي للمرجع و الباراسيتامول أثناء التفاعل الكيميائي [56]. في دراسة حديثة، تم استخدام طريقة HPLC لتقدير الباراسيتامول في عينات الدم، وأظهرت النتائج دقة عالية وموثوقية في تحديد مستويات الباراسيتامول في الدم. كما تم استخدام نموذج المنحنى القياسي للتأكد من صحة النتائج ودقتها. بالإضافة إلى ذلك، قد تم استخدام الطريقة الحيوية لتحليل نشاط الأنزيمات المختلفة في التمثيل الغذائي للباراسيتامول في الجسم، وتقدير تأثيرها على صحة الأفراد.

2.2.3.1 الطرق الكهروكيميائية مفيدة في تقدير الباراسيتامول بسبب قدرتها على قياس المستويات الدقيقة للمركب في العينات. تعتمد هذه الطرق على مفهوم تحويل العملية الكهربائية إلى طريقة لقياس تركيز الباراسيتامول في المحلول. يمكن استخدام التحليل الكهربائي والثابت الكهربائي للقيام بذلك [57]. من أمثلة الطرق الكهروكيميائية المستخدمة في تقدير الباراسيتامول، إمكانية توجيه الضوء نحو التقنية الفولتامترية والأمبيرومترية. وتعتمد التقنية الفولتامترية على قياس التغيرات الكهربائية في المحلول عند تطبيق جهد كهربائي ثابت معين. بينما تعتمد التقنية الأمبيرومترية على قياس تغير التيار الكهربائي أثناء تطبيق جهد كهربائي ثابت. وباستخدام هذه الطرق الكهروكيميائية. يمكن تحديد تركيز الباراسيتامول في العينة بدقة وسهولة [58].

3.2.3.1 القياس الطيفي في تقدير الباراسيتامول يتم استخدام جهاز قياس الطيف الكهرومغناطيسي لتسجيل ترددات محددة من الإشعاع الكهرومغناطيسي الذي يمر خلال عينة الباراسيتامول. ويتم تحليل هذه الترددات ومقارنتها بنماذج معروفة سابقاً للباراسيتامول لتحديد تركيزه في عينة المراد تقديرها.

4.2.3.1 يحظى الفصل الكهربائي الشعري (CE) بشعبية كبيرة مقارنة بالطرق التحليلية التقليدية مثل تقنيات التحليل اللوني في عمليات التصنيع والكشف عن الأدوية، نظراً لمزاياه بما في ذلك استخدام المذيبات الصديقة للبيئة والإنتقائية العالية وكفاءة الفصل العالية ووقت التحليل القصير واستخدام الطور المتحرك وحجم العينة الصغير. [59, 60]. بالإضافة إلى ذلك، فإن الأجهزة المطلوبة بسيطة: فهي تتكون من أقطاب كهربائية، وأنظمة إدخال العينات، وشعري، ومصدر طاقة، وكاشف، وأنظمة معالجة السوائل [55, 59].

4.1 تقدير الباراسيتامول باستخدام الأشعة المرئية والأشعة فوق البنفسجية

تعتمد هذه التقنية على مبدأ أن الباراسيتامول يمتص كمية محددة من الطاقة المشعة عند تعرضه للضوء في نطاق الأشعة المرئية والأشعة فوق البنفسجية. لتقدير تركيز الباراسيتامول يتم إعداد محاليل معروفة التركيز من الدواء ثم يتم قياس الامتصاص الضوئي لهذه المحاليل باستخدام الأشعة المرئية والأشعة فوق البنفسجية ويتم استخدام هذه القراءات لبناء منحنى الامتصاص الضوئي مقابل التركيز ومن ثم يستخدم هذا المنحنى لتحديد تركيز الباراسيتامول في العينات المعروفة، تعتبر هذه الطريقة موثوقة ودقيقة وتستخدم على نطاق واسع في صناعة الأدوية والبحوث العلمية لتحليل ومراقبة جودة الباراسيتامول، تقدير الباراسيتامول باستخدام الأشعة المرئية والأشعة فوق البنفسجية يعتبر أحد الأساليب الحديثة والفعالة في علم التحليل الكيميائي.

الجدول 2: الكواشف والطرق المستخدمة في تعيين الباراسيتامول بطريقة Uv-Vis [61]

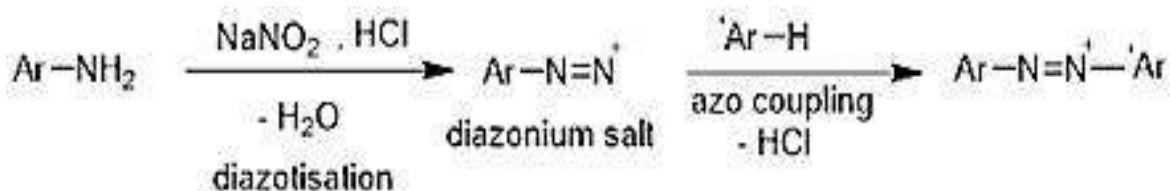
المرجع	الكاشف	طريقة
[62]	3-ميثيل-2-بنزوتيازونيون هيدرازهين في وجود كبريتات الأمونيوم السيريك	في وسط قلوي واستخلاصه الى كلوروفورم عند طول موجي 535 نانومتر
[63]	السيريوم	لمدة 90 دقيقة؛ في حمام كبريتك المركز في حمام مائي عند 80 درجة مئوية وعند طول موجي 410 نانومتر
[64]	اوتو- كرسول	
[65]	صوديوم 2,1 نقتوكوينون 4- سلفونات وستيل ثلاثي ميثيل بروميد الأمونيوم	في وسط قلوي تحديد منتجات التحليل المائي للباراسيتامول والفيناسيتين عند طول موجي 570 و500 نانومتر على التوالي
[66]	كبريت الصوديوم والحديد أو سيريوم	في درجة حرارة المحيطة : تحديد بارأمينوفينول وأسيتامينوفين عن طريق تكوين صبغة تشبه صبغة الميثيلين الزرقاء عند طول موجي 550 نانومتر
[67]	بيروكايبتكول البنفسجي	في ظل الظروف الأساسية لتشكيل زوج معقد- ايون ملون عند طول موجي 652 نانومتر
[68]	خليط برومات بروميد	التحليل الحركي؛ توليد البروم ؛ تحديد الباراسيتامول وحمض أسيتيل الساليسليك في المخاليط ؛ تطبيق الأندثار الجزئي للمربعات الصغرى علي البيانات الضوئية الحركية
[69]	الكبريت في وجود الحديد	التحليل المائي القلوي بمساعدة الميكروويف عند طول موجي 540 نانومتر في 1.5 دقيقة فقط تحت قوة اشعاع 640 وات
[70]	مولبيدات الأمونيوم	في وسط حمضي قوي لإنتاج المولبيدنيوم الأزرق عند طول موجي 670 نانومتر
[71]	مولبيدات الأمونيوم	عند طول موجي 695 نانومتر
[72]	3-سيانو-ميثوكسي بيريدينيوم+ بيركلورات + ميثوكسي إيتانول + الكلورامين	عند طول موجي 448 و476 نانومتر

1.4.1 أصباغ الأزو

صبغة الأزو هي فئة كبيرة من الأصباغ العضوية الاصطناعية التي تحتوي على النيتروجين كمجموعة الأزو $-N=N-$ كجزء من بنيتها الجزيئية وأكثر من نصف الأصباغ التجارية تنتمي إلى هذه الفئة [73]. اعتمادًا على الخصائص الكيميائية، تنقسم هذه الأصباغ إلى عدة فئات تحدها المواد الكيميائية التي ترتبط بها أو الطرق التي يتم تحضيرها [74, 75]. على عكس معظم المركبات العضوية، وتمتلك أصباغ الأزو لونًا ونتيجة لذلك، فإن مركبات الأزو تستخدم على نطاق واسع

كعوامل تلوين في صناعات الجلود والنسيج وفي تركيز الأدوية [74, 75]. يتم تحديد لون أصباغ الأزو من خلال روابط الأزو والمركبات العضوية المرتبطة بها، وهي ضرورية لإعطاء الأصباغ ألوانًا مختلفة [74, 76]. ويتم التفاعل على مرحلتين تفاعل الديازوتة (تكوين أملاح الديازونيوم) وتفاعل إزدواج الأزو (الشكل 4).

المرحلة الأولى، تتضمن عملية الديازوتة معالجة الأمين العطري الأولي ($Ar-NH_2$)، الذي يشار إليه بمكون الديازو، مع نترتيت الصوديوم في وسط حامضي وفي درجات حرارة منخفضة نسبيًا لتكوين ملح الديازونيوم (ArN^+Cl^-). المرحلة الثانية هي الإزدواج التي يتم فيها تفاعل ملح الديازونيوم غير المستقر نسبيًا من مكون إزدواج، والذي قد يكون فينول، أو أمين عطري أو مشتق من حمض الكيتون، لتكوين صبغة ما أو صبغة الأزو [74].



الشكل 4: الديازوتة وإزدواج الأزو

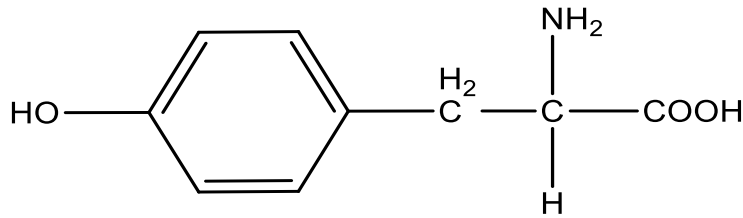
2.4.1 استخدام الأحماض الأمينية في تقدير الباراسيتامول

الأحماض الأمينية هي تلك المركبات التي تحتوي على مجموعة كربوكسيلية ($COOH^-$) ومجموعة أمينية (NH_2) مرتبطة بالذرة المركزية. في هذه البحث سوف يتم استخدام الأحماض الأمينية في تقدير الباراسيتامول. وتعتمد هذه الطريقة على تفاعل الباراسيتامول مع الأحماض الأمينية، مما يؤدي إلى تكوين مركب ذو لون. يتم قياس شدة اللون المتكون ومن خلالها يمكن تحديد تركيز الباراسيتامول في العينة. تعد هذه الطريقة هامة في مجال الكيمياء التحليلية لتحليل المركبات العضوية.

1.2.4.1 التيروسين

هو حمض أميني ضروري للجسم (الشكل 5)، ويعتبر من البروتينات الأساسية التي تحافظ على صحة الجسم، يدخل التيروسين في العديد من الوظائف المهمة في الجسم، مثل تكوين النورأبينفرين والدوبامين، والليزان يلعبان دورًا هامًا في الجهاز العصبي المركزي. كما أن التيروسين يساعد في تحسين وظائف الدماغ، وتعزيز الذاكرة والتركيز. وبالإضافة لذلك، يعتبر التيروسين مادة قوية مضادة للأكسدة تساعد في الحماية من الأمراض وتعزيز صحة الجلد والشعر.

بعض الخواص الفيزيائية للتيروسين مدرجة في (الجدول 3).



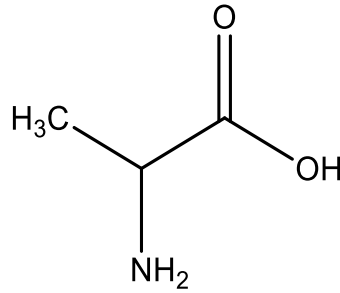
الشكل 5: التركيب الكيميائي للتيروسين

الجدول 3: أهم الخواص الفيزيائية للأحماض المستخدمة

ألانين	التيروسين	Properties
Alanine	Tyrosine	اسم IUPAC
2-Aminopropanoic acid	L-2-Amino-3-(4-hydroxyphenyl) propanoic acid	أسماء أخرى
$C_3H_7NO_2$	$C_9H_{11}NO_3$	Chemical formula
89.094 g·mol ⁻¹	181.191 g·mol ⁻¹	Molar mass
white solid	white solid	Appearance
167.2 g/L (25 °C)	0.453 g/100 mL	Solubility in water
حمض أميني غير أساسي	حمض أميني غير أساسي	أهميته

2.2.4.1 الألانين

هو أحد الأحماض الأمينية العشرين الموجودة في الطبيعة (الشكل 6)، يوجد في شكلين متصاوغين: L- و D- ألانين، وينتج عنه الخليط الراسمي (بعض الخواص الفيزيائية مدرجة في الجدول 3). الألانين هو حمض أميني غير أساسي يتواجد بمستويات عالية في حالته الحرة في البلازما. يتم إنتاجه من البيروفات عن طريق النقل. ويشارك في استقلاب السكر والأحماض، ويزيد من المناعة، ويوفر الطاقة لأنسجة العضلات والدماغ والجهاز العصبي المركزي [77, 78].



الشكل 6: التركيب الكيميائي للألانين

5.1 الهدف من هذه الدراسة

- الهدف الرئيسي لهذا البحث هو تطوير طريقة طيفية لتقدير الباراسيتامول، حيث تعتمد الطريقة على أزوتة بارا-امينو فينول الناتج من التحلل الحامضي للباراسيتامول وذلك بمفاعله مع أيون النتريت بوجود حامض الهيدروكلوريك ثم إزدواج ملح الدايازونيوم الناتج في وسط قاعدي مع الأحماض الأمينية تحت الدراسة لتكوين صبغة آزوية صفراء مستقرة وذائبة في الماء.
- تقدير نسبة الباراسيتامول في بعض منتجات شركات الأدوية مثل الشركة التونسية والفرنسية والهندية والإماراتية والإنجليزية.

الفصل الثاني

الجزء العملي

الفصل الرابع الاستنتاج والتوصيات

4. الاستنتاج والتوصيات

1.4 الاستنتاج

تضمن البحث طريقة لتقدير الباراسيتامول في المادة النقية وكذلك بعض المستحضرات الصيدلانية باستخدام طريقة طيفية بسيطة وحساسة، حيث تم تقدير كميات متناهية في الصغر من الباراسيتامول. تعتمد الطريقة على تفاعل بارا امينو فينول (الناتج من التحلل الحامضي الباراسيتامول) مع ايون النترت بوجود حامض الهيدروكلوريك لتكوين ملح الدايازونيوم، ثم إزدواج ملح الدايازونيوم الناتج في وسط قاعدي مع عاملي الإزدواج للحمض الأميني ألانين والتيروسين لتكوين صبغة آزوية صفراء مستقرة وذائبة في الماء. تم قياس شدة الامتصاص للصبغة الناتجة عند الطول الموجي 421 نانوميتر وكانت تتبع قانون بير- لامبرت في نطاق من 0 إلى 30 (µg/mL) من الباراسيتامول. تبين أن كمية الباراسيتامول المحددة بهذه الطريقة تتفق بشكل وثيق مع الكمية التي وضعها المصنعون، مما يدل على ملاءمة طريقة تقدير الباراسيتامول في المستحضرات الصيدلانية. وقد وجد أن نسبة الاستعادة تتراوح بين 85 % الى 103%.

2.4 التوصيات

نوصي بالتالي :-

- بإجراء مسح موسع يغطي المزيد من أنواع المستحضرات الصيدلانية التي تحتوي على الباراسيتامول والمتوفرة في الأسواق الليبية.
- قبل توزيع أي أدوية جديد يتم إجراء التدقيق المناسب والاختبارات الدوائية المناسبة التي يجب أتباعها للتأكد من الالتزام بمواصفات الجودة.
- استخدام أحماض أمينية أخرى مع الأدوية لتقدير الباراسيتامول.
- توفير الأجهزة والمعدات اللازمة في المختبرات لتمكين الطالب من إجراء المزيد من الأبحاث في هذا المجال بكل سهولة وضمان الجودة مما يؤدي إلى توفير الوقت والمال.

- [1] G. Pifferi, P. Santoro, and M. Pedrani, "Quality and functionality of excipients," (in eng), *Farmaco*, vol. 54, no. 1-2, pp. 1-14, Jan-Feb 1999, doi: 10.1016/s0014-827x(98)00101-3.
- [2] S. S. Ayoub, "Paracetamol (acetaminophen): A familiar drug with an unexplained mechanism of action," *Temperature*, vol. 8, no. 4, pp. 351-371, 2021/10/02 2021, doi: 10.1080/23328940.2021.1886392.
- [3] S. Benkhaya, S. M'Rabet, and A. El Harfi, "Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes," *Heliyon*, vol. 6, no. 1, 2020.
- [4] S. Hansen, S. H. Hansen, S. Pedersen-Bjergaard, and K. Rasmussen, *Introduction to Pharmaceutical Chemical Analysis*. Wiley, 2011.
- [5] S. Pedersen-Bjergaard, B. Gammelgaard, and T. G. Halvorsen, *Introduction to Pharmaceutical Analytical Chemistry*. Wiley, 2019.
- [6] T. H. Marwick and T. P. Abraham, *ASE's Comprehensive Strain Imaging, E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2021.
- [7] L. Liu, A. Mouallem, K. P. Xiao, and J. Meisel, "Assay of active pharmaceutical ingredients in drug products based on relative response factors: Instrumentation insights and practical considerations," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 194, p. 113760, 2021/02/05/ 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113760>.
- [8] S. E. Vignaduzzo, R. M. Maggio, and A. C. Olivieri, "Why should the pharmaceutical industry claim for the implementation of second-order chemometric models—A critical review," *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol. 179, p. 112965, 2020/02/05/ 2020, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.112965>.
- [9] V. Singh, S. Daharwal, and P. Suresh, "A Review of Instrumental Analytical Methods to Assay Active Ingredients in Multicomponent Pharmaceutical Formulations," 05/18 2014.
- [10] K. G. Kumar and R. Letha, "Determination of paracetamol in pure form and in dosage forms using N,N-dibromo dimethylhydantoin," (in eng), *J Pharm Biomed Anal*, vol. 15, no. 11, pp. 1725-8, Jul 1997, doi: 10.1016/s0731-7085(96)01976-0.
- [11] M. K. Srivastava, S. Ahmad, D. Singh, and I. C .Shukla, "Titrimetric determination of dipyrone and paracetamol with potassium hexacyanoferrate(III) in an acidic medium," (in eng), *Analyst*, vol. 110, no. 6, pp. 735-7, Jun 1985, doi: 10.1039/an9851000735.
- [12] A. Ashour, M. A. Hegazy, A. A. Moustafa, K .O. Kelani, and L. E. Fattah, "Validated stability-indicating TLC method for the determination of noscapine," (in eng), *Drug Test Anal*, vol. 1, no. 7, pp. 327-38, Jul 2009, doi: 10.1002/dta.46.
- [13] H. Kalász and M. Báthori, "Pharmaceutical Applications of TLC," *LC GC Europe*, vol. 14, pp. 311-321, 01/01 2001.
- [14] A. D'Avolio *et al.*, "HPLC-MS method for the quantification of nine anti-HIV drugs from dry plasma spot on glass filter and their long term stability in different conditions," (in eng), *J Pharm Biomed Anal*, vol. 52, no. 5, pp. 774-80, Sep 5 2010, doi: 10.1016/j.jpba.2010.02.026.
- [15] J. D. Berset, R. Brenneisen, and C. Mathieu, "Analysis of llicit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography--electrospray tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS)," (in eng), *Chemosphere*, vol. 81, no. 7, pp. 859-66, Nov 2010, doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.08.011.
- [16] Y. Zuo, L. Zhang, J. Wu, J. W. Fritz, S. Medeiros, and C. Rego, "Ultrasonic extraction and capillary gas chromatography determination of nicotine in pharmaceutical formulations," *Analytica Chimica Acta*, vol. 526, no. 1, pp. 35-39, 2004/11/15/ 2004, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.09.035>.
- [17] M. Saraji, T .Khayamian, Z. Hassanzadeh Siahpoosh, and B. Farajmand, "Determination of volatile residual solvents in pharmaceutical products by static and dynamic headspace liquid-phase microextraction combined with gas chromatography-flame ionization detection," *Anal . Methods*, vol. 4, pp. 1552-1559, 05/31 2012, doi: 10.1039/C1AY05439B.
- [18] E. Deconinck, M. Canfyn, P. Y. Sacré, S. Baudewyns, P. Courselle, and J. O. De Beer, "A validated GC-MS method for the determination and quantification of residual solvents in counterfeit tablets and capsules," (in eng), *J Pharm Biomed Anal*, vol. 70, pp. 64-70, Nov 2012, doi: 10.1016/j.jpba.2012.05.022.

- [19] A. De, S. Dey, P. K. Pradhan, F. U. Chaudhari, and M. Patel, "ESTIMATION OF DAPSONE IN BULK & DOSAGE FORM BY UV SPECTROSCOPIC METHOD," *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 4, pp. 312-319, 2014.
- [20] V. Lakshmi, "Spectrophotometric determination of amiloride in bulk and pharmaceutical formulations," *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 5, pp. 298-302, 01/01 2013.
- [21] G. Lalitha, P. Salomi, and K. Reddy, "Development of an analytical method and its validation for the analysis of Atenolol in tablet dosage form by UV- spectrophotometry," *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 5, pp. 197-199, 01/01 2013.
- [22] S. B. Wankhede, A. Prakash, B. Kumari, and S. S. Chitlange, "Simultaneous spectrophotometric estimation of norfloxacin and ornidazole in tablet dosage form," (in eng), *Indian J Pharm Sci*, vol. 71, no. 3, pp. 325-8, May 2009, doi: 10.4103/0250-474x.56026.
- [23] R. Kakde, S. N. Gedam, N. Chaudhary, A. G. Barsagade, D. Kale, and A. V. Kasture, "Three-wavelength spectrophotometric method for simultaneous estimation of pantoprazole and domperidone in pharmaceutical preparations," *International Journal of PharmTech Research*, vol. 1, pp. 386-389, 01/01 2009.
- [24] S. Chitlange, R. Soni, S. Wankhede, and A. Kulkarni, "Spectrophotometric Methods for Simultaneous Estimation of Dexibuprofen and Paracetamol," *Asian J Res Chem*, vol. 2, 01/01 2009.
- [25] P. Kumar, M. Matta, P. Prakash, B. Kumar, and P. Madhusudhan, "Derivative Spectrophotometric Estimation of Ondansetron and Paracetamol," *Journal of Chemistry*, vol. 3, 01/01 2006, doi: 10.1155/2006/245321.
- [26] I. M .Palabiyik, E. Dinç, and F. Onur, "Simultaneous spectrophotometric determination of pseudoephedrine hydrochloride and ibuprofen in a pharmaceutical preparation using ratio spectra derivative spectrophotometry and multivariate calibration techniques," (in eng), *J Pharm Biomed Anal*, vol. 34, no. 3, pp. 473-83, Feb 18 2004, doi: 10.1016/s0731-7085(03)00578-8.
- [27] E. Nalewajko, Á. Gálvez, C. Benito, and J. Calatayud, "FIA and batch simultaneous determination of sulphamethoxazole and trimethoprim in pharmaceutical formulations by derivative spectrophotometry," 06/01 2003.
- [28] A. D. Nikam, S. S. Pawar, and S. V. Gandhi, "Estimation of paracetamol and aceclofenac in tablet formulation by ratio spectra derivative spectroscopy," (in eng), *Indian J Pharm Sci*, vol. 70, no. 5, pp. 635-7, Sep 2008, doi: 10.4103/0250-474x.45403.
- [29] S. Gondane, M. M. Deshpande, M. P. Mahajan, and S. Sawant, "Spectrophotometric method development and validation for estimation of tizanidine and aceclofenac in bulk drug & tablet formulation," *International Journal of ChemTech Research*, vol. 3, pp. 620-624, 04/01 2011.
- [30] M. Toral, J. Rivas, M. Sadías, C. Soto, and S. Orellana, "Simultaneous determination of acetaminophen and tramadol by second derivative spectrophotometry," *Journal of the Chilean Chemical Society*, vol. 53, 06/01 2008, doi: 10.4067/S0717-97072008000200022.
- [31] H. Tavallali and M. Salami, "Simultaneous Determination of Caffeine and Paracetamol by Zero-Crossing Second Derivative Spectrophotometry in Pharmaceutical Preparations," *Asian Journal of Chemistry*, vol. 21, pp. 1949-1956, 03/01 2009.
- [32] H. Khajehsharifi, Z. Eskandari, and A. Asadipour, "Application of some chemometric methods in conventional and derivative spectrophotometric analysis of acetaminophen and ascorbic acid," (in eng), *Drug Test Anal*, vol. 2, no. 4, pp. 162-7, Apr 2010, doi: 10.1002/dta.118.
- [33] C. Soto, D. Contreras, S. Orellana, J. Yañez, and M. I. Toral, "Simultaneous determination of albendazole and praziquantel by second derivative spectrophotometry and multivariate calibration methods in veterinary pharmaceutical formulation," (in eng), *Anal Sci*, vol. 26, no. 8, pp. 891-6, 2010, doi: 10.2116/analsci.26.891.
- [34] S. Patel and N. J. Patel, "Spectrophotometric and chromatographic simultaneous estimation of amitriptyline hydrochloride and chlordiazepoxide in tablet dosage forms," (in eng), *Indian J Pharm Sci*, vol. 71, no. 4, pp. 472-6, Jul 2009, doi: 10.4103/0250-474x.57305.
- [35] B. O. Silva, "First derivative spectrophotometric and high performance liquid chromatographic simultaneous determination of benzoic and salicylic acids in pharmaceutical preparations," (in eng), *Nig Q J Hosp Med*, vol. 18, no. 2, pp. 92-5, Apr-Jun 2008, doi: 10.4314/nqjhm.v18i2.44994.

- [36] M. Blanco, J. Coello, H. Iturriaga, S. Maspoch, and C. de la Pezuela, "Quantitation of the active compound and major excipients in a pharmaceutical formulation by near infrared diffuse reflectance spectroscopy with fibre optical probe," *Analytica Chimica Acta*, vol. 333, no. 1, pp. 147-1, 1996 /30/10/1996, 56doi: [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(96\)00250-4](https://doi.org/10.1016/0003-2670(96)00250-4).
- [37] S. B. Shuker, P. J. Hajduk, R. P. Meadows, and S. W. Fesik, "Discovering high-affinity ligands for proteins: SAR by NMR," (in eng), *Science*, vol. 274, no. 5292, pp. 1531-4, Nov, 1996 29 doi: 10.1126/science.274.5292.1531.
- [38] C. F. de Souza, R. K. Martins, A. R. da Silva, A. L. da Cunha, and R. Q. Aucélio, "Determination of enrofloxacin by room-temperature phosphorimetry after solid phase extraction on an acrylic polymer sorbent," (in eng), *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, vol. 100, pp. 51-8, Jan 1 2013, doi: 10.1016/j.saa.2012.01.043.
- [39] B. Sanghavi and A. Srivastava, "Adsorptive stripping voltammetric determination of imipramine, trimipramine and desipramine employing titanium dioxide nanoparticles and an Amberlite XAD-2 modified glassy carbon paste electrode," *The Analyst*, vol. 138, p. 1395, 03/07 2013, doi: 10.1039/c2an36330e.
- [40] N. S. Gadhari, B. J. Sanghavi, and A. K. Srivastava, "Potentiometric stripping analysis of antimony based on carbon paste electrode modified with hexathia crown ether and rice husk," (in eng), *Anal Chim Acta*, vol. 703, no. 1, pp. 31-40, Oct 3 2011, doi: 10.1016/j.aca.2011.07.017.
- [41] S. Adiraju, "Analysis of different brands of paracetamol 500mg tablets used in Hyderabad, using ultraviolet spectrophotometric and high performance liquid chromatographic methods," *International Journal of Scientific Research*, vol. 5, pp. 951-955, 01/01 2014.
- [42] J. Cartwright, *Defining the Role of Neutrophils in Paracetamol-induced Liver Injury and Regeneration*. University of Edinburgh, 2023.
- [43] G. G. Graham and K. F. Scott, "Mechanism of action of paracetamol," *Am J Ther*, vol. 12, no. 1, pp. 46-55, 2005.
- [44] B. Hinz, O. Cheremina, and K. Brune, "Acetaminophen (paracetamol) is a selective cyclooxygenase-2 inhibitor in man," *The FASEB Journal*, vol. 22, no. 2, pp. 383-390, 2008/02/01 2008, doi: <https://doi.org/10.1096/fj.07-8506com>.
- [45] S. Abed, "Determination of Micro Amount of Paracetamol in Pharmaceutical Preparations by Molecular Spectrophotometric Method," *Journal of Al-Nahrain University Science*, vol. 12, pp. 46-53, 06/01 2009, doi: 10.22401/JNUS.12.2.05.
- [46] E. S. Thanoon, "Spectrophotometric Determination of Paracetamol Using Diazotization Coupling Reaction," *Rafidain Journal of Science*, vol. 28, no. 2, pp. 76-83, 2019, doi: 10.33899/rjs.2019.159979.
- [47] D. Pasha, "Determination of paracetamol in pharmaceutical samples by spectrophotometric method," *Eclética Química Journal*, vol. 45, pp. 37, 2020 01/07, 46-doi: 10.26850/1678-4618eqj.v45.3.2020.p37-46.
- [48] M. Attimarad, "Simultaneous determination of paracetamol and lornoxicam by RP-HPLC in bulk and tablet formulation," (in eng), *Pharm Methods*, vol. 2, no. 1, pp. 61-6, Jan 2011, doi: 10.4103.4708.81084-2229/
- [49] A. Acheampong, W. O. Gyasi, G. Darko, J. Apau, and S. Addai-Arhin, "Validated RP-HPLC method for simultaneous determination and quantification of chlorpheniramine maleate, paracetamol and caffeine in tablet formulation," (in eng), *Springerplus*, vol. 5, p. 625, 2016, doi: 10.1186/s40064-016-2241-2.
- [50] H. Chen, Z. J. Zhang, and Z. F. Fu, "Determination of paracetamol by flow injection chemiluminescence analysis," *Fenxi Huaxue*, vol. 30, pp. 1344-1347, 11/01 2002.
- [51] W. Ruengsitagoon, S. Liawruangrath, and A. Townshend, "Flow injection chemiluminescence determination of paracetamol," (in eng), *Talanta*, vol. 69, no. 4, pp. 976-83, Jun 15 2006, doi: 10.1016/j.talanta.2005.11.050.
- [52] S. Emdadi, M. H. Sorouraddin, and L. Denanny, "Enhanced chemiluminescence determination of paracetamol," (in eng), *Analyst*, vol. 146, no. 4, pp. 1326-1333, Feb 21 2021, doi: 10.1039/d0an01557a.
- [53] S. Zakaria, A. Zakaria, and N. Othman, "Spectrophotometric Assay of Paracetamol in Pharmaceutical Preparations," *JOURNAL OF EDUCATION AND SCIENCE*, vol. 19, pp. 21-32, 12/24 2018, doi: 10.33899/edusj.2007.51321.

- [54] N. Othman and S. Zakaria, "Spectrophotometric Assay of Paracetamol in Pharmaceutical Preparations," *The Education and science journal*, vol. 19, pp. 21-32, 01/09 2007.
- [55] H. Montaseri and P. B. C. Forbes, "Analytical techniques for the determination of acetaminophen: A review," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 108, pp. 122-134, 2018/11/01/ 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.023>.
- [56] G. W. C. S. Perera, M. D. P. de Costa, and K. R. R. Mahanama, "Development of a fluorimetric method for assessing paracetamol in pharmaceuticals tablets," *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, vol. 368, pp. 248-253, 2019/01 ,2019 /01/doi: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2018.09.039>.
- [57] A. Kassa and M. Amare, "Electrochemical determination of paracetamol, rutin and sulfonamide in pharmaceutical formulations by using glassy carbon electrode – A Review," *Cogent Chemistry* ,vol. 5, no. 1, p. 1681607, 2019/01/01 2019, doi: 10.1080/23312009.2019.1681607.
- [58] Ramki, S.-M. Chen, and A. Periyalagan, "Amperometric Determination of Acetaminophen (paracetamol) Using Graphene Oxide Modified Glassy Carbon Electrode," *International Journal of Electrochemical Science*, vol. 13, pp. 7930-7938, 2018, doi: 10.20964/2018.08.01.
- [59] K. D. Altria, M. A. Kelly, and B. J. Clark, "Current applications in the analysis of pharmaceuticals by capillary electrophoresis. II," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 17, no. 4, pp. 214-226, 1998/04/01/ 1998, doi: [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(98\)00008-9](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(98)00008-9).
- [60] L. Suntornsuk, "Recent advances of capillary electrophoresis in pharmaceutical analysis," (in eng), *Anal Bioanal Chem*, vol. 398, no. 1 ,pp. 29-52, Sep 2010, doi: 10.1007/s00216-010-3741-5.
- [61] M. Sánchez, Gómez, "Quality control of anti-flu medicines containing paracetamol and other active ingredients through High Performance Liquid," Bachelor Chemistry, UNIVERSITY OF OVIEDO, Spain, 2023
- [62] M. Walash, F. Belal, M. Tolba, and M. Halawa, "Kinetic and Conventional Spectrophotometric Determination of Bumadizone in its Tablets via Oxidative Coupling with 3-Methyl-2-Benzothiazolinone Hydrazone," *Journal of advances in chemistry*, vol. 5, pp 13/12 ,854-839 . ,2013doi: 10.24297/jac.v5i3.2680.
- [63] S. M. Sultan, I. Z. Alzamil, A. M. Alrahman, S. A. Altamrah, and Y. Asha, "Use of cerium(IV) sulphate in the spectrophotometric determination of paracetamol in pharmaceutical preparations," (in eng ,(Analyst, vol. 111, no. 8, pp. 919-21, Aug 1986, doi: 10.1039/an9861100919.
- [64] L. Davey and D. Naidoo, "Urinary screen for acetaminophen (paracetamol) in the presence of N-acetylcysteine," (in eng), *Clin Chem*, vol. 39, no. 11 Pt 1, pp. 2348-9, Nov 1993.
- [65] P. Nagaraja, K. C. Murthy, and K. S. Rangappa, "Spectrophotometric method for the determination of paracetamol and phenacetin," (in eng), *J Pharm Biomed Anal*, vol. 17, no. 3, pp. 501-6, Jul 1998, doi: 10.1016/s0731-7085(97)00237-9.
- [66] F. A. Mohamed, M. A. Abdallah, and S. M. Shammatt, "Selective spectrophotometric determination of p-aminophenol and acetaminophen," (in eng), *Talanta*, vol. 44, no. 1, pp. 61-8, Jan 1997, doi: 10.1016/s0039-9140(96)02013-9.
- [67] A. S. Amin, "Pyrocatechol violet in pharmaceutical analysis. Part I. A spectrophotometric method for the determination of some beta-lactam antibiotics in pure and in pharmaceutical dosage forms," (in eng), *Farmaco*, vol. 56, no. 3, pp. 211-8, Mar 2001, doi: 10.1016/s0014-827x(01)01078-3.
- [68] G .López-Cueto, M. Ostra, and C. Ubide, "New way of application of the bromate–bromide mixture in kinetic analysis," *Analytica Chimica Acta*, vol. 445, pp. 117-126, 10/01 2001, doi: 10.1016/S0003-2670(01)01250-8.
- [69] C. Xu and B. Li, "Spectrophotometric determination of paracetamol with microwave assisted alkaline hydrolysis," (in eng), *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, vol. 60, no. 8-9, pp. 1861-4, Jul 2004, doi: 10.1016/j.saa.2003.10.003.
- [70] B. Morelli, "Spectrophotometric determination of paracetamol in pure form and in tablets," (in eng), *J Pharm Biomed Anal*, vol. 7, no. 5, pp. 577-84, 1989, doi: 10.1016/0731-7085(89)80223-7.
- [71] P. B. Issopoulos, "Spectrophotometric Determination of Acetaminophen by Reduction of Molybdenum (VI)," *Analytical Letters*, vol. 23, no. 6, pp. 1057-1068, 1990/06/01 1990, doi: 10.1080/00032719008053445.

- [72] M. A. Korany, D. Heber, and J. Schnekenburger, "Colorimetric determination of p-aminophenol in the presence of paracetamol with 3-cyano-N-methoxyppyridinium perchlorate," (in eng), *Talanta*, vol. 29, no. 4, pp. 332-4, Apr 1982, doi: 10.1016/0039-9140(82)80121-5.
- [73] T. V. Y, D. S. Agarwal, A. Sarmah, Yukti, R. Sakhuja, and D. D. Pant, "Design and synthesis of amino acid appended azo dye hybrid: Characterization, solvatochromic and quantum-chemical calculations using experimental and theoretical approach," *Journal of Molecular Liquids*, vol. 221, pp. 1022-1028, 2016/09/01/ 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.06.045>.
- [74] F. Eltaboni, N. Bader, R. El-Kailany, N. Elsharif, and A. Ahmida, "Chemistry and Applications of Azo Dyes: A Comprehensive Review," (in en), *Journal of Chemical Reviews*, vol. 4, no. 4, pp. 313-330, 2022, doi: 10.22034/jcr.2022.349827.1177.
- [75] D. Giovanni, B. Giuseppe, and F. Andrea, "Quantitative determination of 26 aromatic amines derived from banned azo dyes in textiles through the use of LC, tandem MS, and identification of some structural isomers," ed: Agilent Technologies, 2014.
- [76] A. Gürses, M. Açıkyıldız, K. Güneş, and M. S. Gürses, "Dyes and Pigments: Their Structure and Properties," in *Dyes and Pigments*, A. Gürses, M. Açıkyıldız, K. Güneş, and M. S. Gürses Eds. Cham: Springer International Publishing, 2016, pp. 13-29.
- [77] O. Baffa, A. Kinoshita, F. Chen Abrego, and N. A. Silva, "ESR and NMR dosimetry," in *EPR in the 21st Century*, A. Kawamori, J. Yamauchi, and H. Ohta Eds. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 2002, pp. 614-623.
- [78] E. Baldwin, *The Nature of Biochemistry*. CUP Archive, 1962.
- [79] R. Iorhemen, M. Iorhemba, R. Sambo, and W. Nande, "Spectrophotometric determination of paracetamol in drug formulations with 1 – naphthol," *International Journal of Advanced Chemistry*, vol. 5, p. 86, 10/11 2017, doi: 10.14419/ijac.v5i2.8313.