

Simultaneous determination of Metformin and Sitagliptin in their tablet formulations using Derivative Spectrophotometric methods

Dr. Hala Barakat *
Ola Hassan Issa **

(Received 5 / 8 / 2023. Accepted 17 / 9 / 2023)

□ ABSTRACT □

Simple, specific, accurate and precise spectrophotometric methods were developed and validated for the simultaneous determination of the oral antidiabetic drugs; sitagliptin phosphate and metformin hydrochloride in combined pharmaceutical formulations. Mixtures and standard solutions were prepared, the derivative parameters were improved ($d\lambda$, scale factor). Four methods were developed based on derivative spectroscopy followed by mathematical manipulation steps namely; Zero-Crossing, Amplitude Factor (P-Factor), Amplitude Subtraction (As) and Modified Amplitude Subtraction (MAS). The techniques were applied on the mixtures, and commercial tablets (A, B, C) 850/50 mg, the selected methods were validated according to ICH guidelines. $d\lambda = 20$ was suitable for sitagliptin and metformin with scale factor (10,35,50) and (100,500,700) for metformin's and sitagliptin's first, second, and third derivatives respectively. The most appropriate techniques were chosen according to recovery and relative error values of metformin and sitagliptin in their mixtures. The results showed that three techniques (Zero Crossing, AS, MAS) can be applied to the first and second derivatives, but P-Factor technique was suitable for the second derivative only. The methods were successfully utilized for the simultaneous determination of metformin and sitagliptin in their tablet formulations.

Key words: derivative, simultaneous, zero-crossing, amplitude subtraction, scale factor, metformin, sitagliptin, $d\lambda$.

Copyright



:Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

* Assistant Professor, department of Pharmaceutical chemistry and Quality control, Faculty of Pharmacy, Al-Sham Private University (ASPU), Lattakia, Syria.

** Matser student at department of Pharmaceutical chemistry and Quality control, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria. ola.issa@tishreen.edu

التحديد المتزامن للمشاركة الدوائية بين الميتفورمين والسيتاغلبتين باستخدام تقنية الاشتقاق الطيفي

د. هلا بركات *

علا حسان عيسى **

(تاريخ الإيداع 5 / 8 / 2023. قبل للنشر في 17 / 9 / 2023)

□ ملخص □

يواجه التحديد المتزامن للأدوية المركبة دون فصل مسبق لمكوناتها باستخدام الطرق الطيفية التقليدية صعوبة كبيرة بسبب التداخل بين أطيف الامتصاص العادية (انتقائية منخفضة)، لذا تم تطوير العديد من التقنيات لحل هذه المشكلة نذكر منها تقنية الاشتقاق الطيفي، والتي تعد تقنية صديقة للبيئة، اقتصادية، سريعة، ودقيقة. هدفت هذه الدراسة إلى التحديد المتزامن للمشاركة الدوائية بين الميتفورمين والسيتاغلبتين باستخدام تقنية الاشتقاق الطيفي. بدايةً تم تحضير سلاسل عيارية ومزائج مخبرية لكلتا المادتين وتسجيل أطيف الامتصاص لها ثم اشتقاق هذه الأطيف لثلاث رتب (الأول، الثاني، الثالث)، ثم تم تحسين معاملات الاشتقاق (d_{λ} Scale Factor) واختيار القيم المناسبة لكل مشتق، بعدها تم استنتاج تقنيات القياس (Zero-Crossings, AS, MAS, PF) وتطبيق هذه التقنيات على العينات التجارية (A,B,C) للعيار 50/850 ملغ، تم التحقق من مصدوقية الطرق المختارة وفقاً لإرشادات ICH. كانت قيمة $d_{\lambda} = 20$ للميتفورمين والسيتاغلبتين وقيم scale factor للميتفورمين (10,35,50) وللسيتاغلبتين (100,500,700) للمشتقات الأول، الثاني، والثالث على التوالي. تم اختيار تقنيات القياس الأفضل تبعاً لقيم الاسترداد والخطأ النسبي للميتفورمين والسيتاغلبتين في المزائج المخبرية والعيينات التجارية، حيث تبين إمكانية تطبيق التقنيات الثلاث (Zero-Crossings, AS, MAS) على المشتقين الأول والثاني، وتقنية P-Factor على المشتق الثاني فقط. أبدت جميع الطرق المختارة مصدوقية جيدة للمشتقين الأول والثاني، وبالتالي فإنه من الممكن الاعتماد على تقنية الاشتقاق الطيفي للتحديد المتزامن للميتفورمين والسيتاغلبتين.

الكلمات المفتاحية: الأدوية المركبة، الاشتقاق الطيفي، Zero-Crossings, AS, MAS, PF، الميتفورمين، السيتاغلبتين، Scale Factor، d_{λ} .

حقوق النشر : مجلة جامعة تشرين- سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص



CC BY-NC-SA 04

* مدرّسة - قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة الشام الخاصة - اللاذقية - سورية
** طالبة ماجستير - قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

مقدمة

يعد تطوير الطرق التحليلية التي توفر الوقت والمحلّات الكيميائية وتعطي نتائج ذات دقة ومضبوطية للعينات التجارية موضوعاً مثيراً للاهتمام لدى الباحثين الكيميائيين الذين يعتمدون على استخدام الطرق الطيفية (UV – Visible) والتي تعتبر من أكثر الطرق شيوعاً وأقلها كلفةً [1].

تمتلك الطرق الطيفية التقليدية العديد من العيوب، مثل الانتقائية المنخفضة الناتجة عن الأطياف المتداخلة. وقد تمّ بذل جهود حثيثة بهدف حل هذه المشكلات من خلال تطوير طرق تحليلية لزيادة الانتقائية [1]. تم تطوير تقنية الأطياف المشتقة (Derivative Spectrophotometry) (DS) للتغلب على مشاكل طيف الامتصاص العادي كالأطياف المتداخلة العائدة لعدة متحللات أو لمتحللة هدف مع سواغات الشكل الصيدلاني، أو حتى للتغلب على مشكلة انزياح خط الأساس [2].

تعد طريقة DS من التقنيات التحليلية البديلة للعديد من التقنيات الأخرى مثل HPLC, GC-MS, LC-MS, LC-NMR التي تتطلب خطوات متعددة كالاستخلاص، وبعض العمليات التحليلية المكلفة والمستهلكة للوقت، وبالتالي فإن هذه التقنية اقتصادية وتتمتع بسهولة التطبيق وسرعة الإنجاز [3]. تم اعتماد تقنية DS بهدف تحليل مختلف الأدوية والمواد الغذائية والعيّنات البيولوجية ومستحضرات التجميل والعيّنات البيئية التي تحتوي على عدة متحللات دون حدوث أي تداخل فيما بينها [4-11]، حيث تعد دراسات الثباتية وتحديد المتحللة الهدف بوجود نواتج التخرب من أهم التطبيقات العملية لتقنية الأطياف المشتقة في المجال الصيدلاني، بالإضافة إلى التحديد المتزامن لعدة أدوية ضمن مستحضراتها مما يسمح باستخدامها في تحليل الأدوية المركبة ودراسة التكافؤ الحيوي في الزجاج لها [8، 12-16].

تعدّ الـ DS تقنية رياضية بحتة يتم فيها اشتقاق الأطياف لعدّة رتب، وتستخدم العديد من الطرق الحسابية لتحديد كل مكون ضمن المشاركة المدروسة دون حدوث تداخل فيما بينها، نذكر من هذه الطرق:

Zero-Crossings, Amplitude Factor (PF), Amplitude Subtraction (AS), Modified Amplitude Subtraction (MAS).

تُطبّق هذه التقنية على الأدوية المركبة، وبشكل خاص تلك التي تعاني من تداخل أطياف مكوناتها، وبالتالي عدم القدرة على تحديد كل مكون على حدة، من أشهر الأمثلة عن الأدوية المركبة المشاركات المستخدمة في علاج مرض السكري، كونه من أهم الأمراض المزمنة وأكثرها انتشاراً، وقد اخترنا لهذه الدراسة المشاركة بين الميتفورمين والسيتاغلبتين، حيث يُمتص كلا المكونين ضمن المنطقة الطيفية ذاتها، لذا كان الهدف من هذه الدراسة هو التحديد المتزامن لكل مكون في هذه المشاركة اعتماداً على تقنية الأطياف المشتقة ضمن مضغوطات ذات عيار (50/850 ملغ) والعائدة لثلاث شركات تجارية متوفرة في السوق السورية (A, B, C).

أهمية البحث وأهدافه

تأتي أهمية هذا البحث من ضرورة التحقق من قدرة تقنية الاشتقاق الطيفي على التحديد المتزامن للمشاركات الدوائية عموماً، وللميتفورمين والسيتاغلبتين خصوصاً، بحيث تكون بديلة عن التقنيات التحليلية المعقّدة، توفر الوقت والتكلفة والمحلّات، وتتمتع بحساسية ودقة عالية.

يهدف هذا البحث إلى التحديد المتزامن للمشاركة الدوائية بين الميتفورمين ومثبط أنزيم الدي ببتيديل ببتيداز (السيتاغلبتين) باستخدام تقنية الاشتقاق الطيفي، واستنتاج تقنيات القياس الأفضل من خلال المزائج المخبرية المحضرة

لكل مشتق مدروس، وتطبيقها على عينات تجارية عائدة لثلاث شركات دوائية متوفرة في السوق السورية (A, B, C) للعيار (50/850 ملغ)، ثم التحقق من مصدوقية هذه الطريقة.

طرائق البحث ومواده

المواد والأجهزة المستخدمة

تم استخدام الأجهزة المتوفرة في كلية الصيدلة في جامعة تشرين ومعمل زين فارما، والتي ورد ذكرها في الجدول (1)، كما تم استخدام بعض المواد التي ورد ذكرها في الجدول (2).

الجدول (1): الادوات والأجهزة المستخدمة في البحث

الطرز	الأجهزة والأدوات
-----	بوالين معايرة volumetric flasks سعة (1000/100/50/10)
-----	أسطوانة مدرجة Graduated Cylinder
-----	ماصات معايرة سعة (5/2/1) مل
-----	بياشر
-----	مراشح ميكرونية بلاستيكية وسيللوز
-----	ميكروبيبيت Micropipett
(Shimadzu – Japan)	ميزان حساس Sensitive Balance
(Spectrophotometer Shimadzu - Japan)	مقياس الطيف الضوئي
Jaken - China	جهاز الأمواج فوق الصوتية

الجدول (2): المواد المستخدمة في البحث

المادة	الشركة
الميتفورمين هيدروكلورايد	Unipharma
سيتاغلبتين أحادي فوسفات	Ultramedica
ماء مقطر حديثاً	-----

تم الحصول على العينات المدروسة من بعض الصيدليات المحلية العائدة لثلاث شركات مختلفة للعيار 50/850 ملغ. كانت العينات عبارة عن مضغوطات ملبسة بالفيلم لجميع الشركات المدروسة.

تحضير المحاليل

تحضير المحاليل العيارية لكل من الميتفورمين والسيتاغلبتين

تم تحضير سلسلة عيارية من الميتفورمين بتركيز (5, 10, 20, 30, 40) مكغ/مل، وسلسلة عيارية أخرى للسيتاغلبتين بتركيز (2, 6, 8, 12, 16) مكغ/مل انطلاقاً من محاليل أم منفصلة بتركيز 80 ملغ / 100 مل

للميتفورمين و 20 ملغ/100 مل للسيتاغلبتين، بإضافة 80 مل من الماء المقطر كمحل، ثم تم استخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية وإكمال الحجم لـ 100 مل. تم تحضير كل تركيز ثلاث مرات.

تحضير المزائج المخبرية

تم تحضير 6 مزائج مخبرية حاوية على نسب مختلفة من المادتين، حيث تم تثبيت تركيز السيتاغلبتين (12 مكغ/مل) في المزائج الثلاث الأولى وزيادة تركيز الميتفورمين فكانت التراكيز كالتالي: (12+10, 12+20, 12+30) مكغ/مل لكل من الميتفورمين والسيتاغلبتين على الترتيب، أما المزائج الثلاث الأخرى فقد تم تثبيت تركيز الميتفورمين (30 مكغ/مل) وزيادة السيتاغلبتين، فتم تحضيرها كما يلي: (30+16, 30+12, 30+8) ملغ لكل من السيتاغلبتين والميتفورمين على الترتيب، عن طريق أخذ حجوم مختلفة من الميتفورمين والسيتاغلبتين من محاليلها الأم المحضرة سابقاً بشكل منفصل إلى بوالين معايرة سعة 10 مل وتعديل الحجم بالماء المقطر.

تحضير العينات التجارية

تم وزن عشرة أقراص وسحقها ومن ثم تم أخذ متوسط وزنها وإذابته في 50 مل ماء مقطر وبعد الترشيح باستخدام مرشاح سيللوزية، تم نقله إلى بالون معايرة سعة 1000 مل (حاوي على 900 مل من الماء المقطر) ثم طبق عليه المزج الميكانيكي، وتم تعريضه لجهاز الأمواج فوق الصوتية مدة 5 دقائق بعد ذلك تم إكمال الحجم بالماء المقطر لـ 1000 مل. ثم تم ترشيح جزء من المحلول باستخدام مرشاح ميكرونية، وتمديد المحلول بنسبة (4:100 v/v).

تحسين معاملات الاشتقاق (d_r Scale Factor)

تمت دراسة d_r للأطياف المشتقة للميتفورمين والسيتاغلبتين عند الرتب الثلاث، حيث درست قيم d_r (10, 20, 40, 80)، كما تم دراسة الـ Scale Factor عند المجال (10 - 80) للميتفورمين وعند المجال (10 - 1000) للسيتاغلبتين، ثم تم اختيار قيم المعاملات التي تحقق أفضل فصل لكل مادة بوجود المادة الأخرى عند جميع رتب الأطياف المشتقة. تم استخدام هذه القيم عند دراسة المزائج المخبرية والعينات التجارية.

استنتاج تقنيات قياس الأطياف المشتقة الممكن استخدامها في التحديد المتزامن للدوائين

تم تثبيت قيم المعاملات المختارة، ثم تطبيقها على تراكب الأطياف المشتقة للميتفورمين مع السيتاغلبتين التي سيتم استخدامها لتحديد الأطوال الموجية المناسبة لكل تقنية مدروسة.

مع العلم أنه يتم التعبير عن الامتصاصية في تقنية الاشتقاق الطيفي بالمدى أو سعة المشتق.

تم تحديد تقنيات القياس الممكن استخدامها كالتالي:

تقنية العبور بالصفـر (Zero-Crossing)

سُجّلت أطياف الامتصاص للدوائين عند المجال (200 - 400 نانومتر)، حيث استُخدم الماء المقطر كمحلول Blank. تم الحصول على أطياف الرتبة الأولى والثانية والثالثة لجميع أطياف الامتصاص السابقة باستخدام برنامج (UV Probe - [Spectrum]).

تعتمد هذه التقنية على تحديد نقاط العبور بالصفـر (الأطوال الموجية) لكل مكّون والتي يكون للمكّون الآخر تأثير عندها.

تم في هذه الدراسة التحديد المتزامن للميتفورمين والسيتاغلبتين، حيث تم تحديد نقاط العبور بالصفـر للميتفورمين والتي يملك عندها السيتاغلبتين تأثيراً، وبالمثل للسيتاغلبتين.

تم عند كل طول موجة تم رسم المنحنيات التي تربط قيم المدى والتراكيز المقابلة لها، واستنتاج المعادلات الخطية باستخدام برنامج Excel لاستخدامها لاحقاً.

حُسبت قيم استرداد كلا المكونين والخطأ النسبي في المزائج المحضرة باستخدام المعادلات المستنتجة سابقاً، حيث تم اختيار النقاط التي حققت نسب استرداد مقبولة وضمن المجال (90-110) % عند جميع المزائج المحضرة، وبالتالي إثبات مضبوطة تقنية Zero-Crossing.

تقنيات الـ AS و MAS و P-Factor

تتشارك هذه التقنيات بتحديد:

- λ_1 وهي طول الموجة التي يتداخل عندها كل من السيتاغلبتين والميتفورمين.
- λ_2 والتي تمثل طول الموجة التي يلغى عندها تأثير أحد المكونين، حيث تم في هذه الدراسة اعتماد طول الموجة التي يلغى عندها تأثير السيتاغلبتين والمسؤولة عن تحديد الميتفورمين فقط.

➤ تقنية (Amplitude Subtraction AS)

تحتاج هذه التقنية لثلاث معادلات: (بواسطة برنامج Excel)

- يتم استنتاج المعادلة الأولى من معادلة الخطية التي تقابل قيم مدى الميتفورمين عند λ_1 وقيم مدى الميتفورمين عند λ_2 .
- بعد ذلك يتم تعويض مدى المزيج عند λ_2 الذي يعبر عن الميتفورمين فقط (بسبب عدم تأثير السيتاغلبتين عند λ_2) في المعادلة الأولى لنحصل على مدى الميتفورمين عند λ_1 .
- يتم بعدها طرح مدى الميتفورمين عند λ_1 من مدى المزيج عند λ_1 (العائد لتأثير السيتاغلبتين والميتفورمين)، فنحصل على مدى السيتاغلبتين عند λ_1 .
- ثم يتم استنتاج المعادلة الثانية بين قيم مدى الميتفورمين والتراكيز (تراكيز السلاسل العيارية المحضرة مسبقاً) عند λ_1 ، أما المعادلة الثالثة فهي بين قيم مدى وتراكيز السيتاغلبتين عند λ_1 .
- وتعويض مدى المواد عند λ_1 (التي حصلنا عليها سابقاً) في المعادلتين الثانية والثالثة يتم حساب تركيز كل مكون ضمن المزيج.

➤ تقنية (Modified Amplitude Subtraction MAS)

معادلات هذه التقنية:

- تكون المعادلة الأولى بين قيم مدى الميتفورمين والتراكيز عند λ_2 ، وتعويض قيمة مدى المزيج عند λ_2 (الذي يساوي مدى الميتفورمين عند λ_2) في المعادلة الأولى نحصل على تركيز الميتفورمين في المزيج.
- بعد ذلك يتم استنتاج المعادلة الثانية وهي معادلة الخطية المقابلة لقيم مدى الميتفورمين عند λ_1 مع التراكيز.
- نعوض التركيز الذي تم استنتاجه عبر المعادلة الأولى في المعادلة الثانية لنحصل على مدى الميتفورمين عند λ_1 .
- وبعملية طرح لمدى الميتفورمين عند λ_1 من مدى المزيج عند λ_1 نحصل على مدى السيتاغلبتين عند λ_1 .
- وللحصول على تركيز السيتاغلبتين نستنتج معادلة الخطية التي تقابل قيم مدى السيتاغلبتين عند λ_1 مع التراكيز.

➤ تقنية (Amplitude Factor PF)

- يتم حساب قيمة P-Factor بقسمة قيم مدى الميتفورمين عند λ_1 (المسجلة عند تحضير السلاسل) على قيم مدى الميتفورمين عند λ_2 .

- ثم يتم استخدام مدى المزائج: حيث أن مدى الميتفورمين في المزيج عند λ_1 يساوي جداء قيمة P-Factor بمدى المزيج عند λ_2 (هو ذاته مدى الميتفورمين عند λ_2).
- وللحصول على مدى السيتاغلبتين عند λ_1 يتم طرح مدى الميتفورمين عند λ_1 من مدى المزيج عند λ_1 .
- ثم يتم استنتاج معادلات الخطية للحصول على تركيز كل مكون:
- حيث تكون المعادلة الأولى بين قيم مدى الميتفورمين مع التراكيز عند λ_1 .
- بينما المعادلة الثانية بين قيم مدى السيتاغلبتين مع التراكيز عند λ_1 .

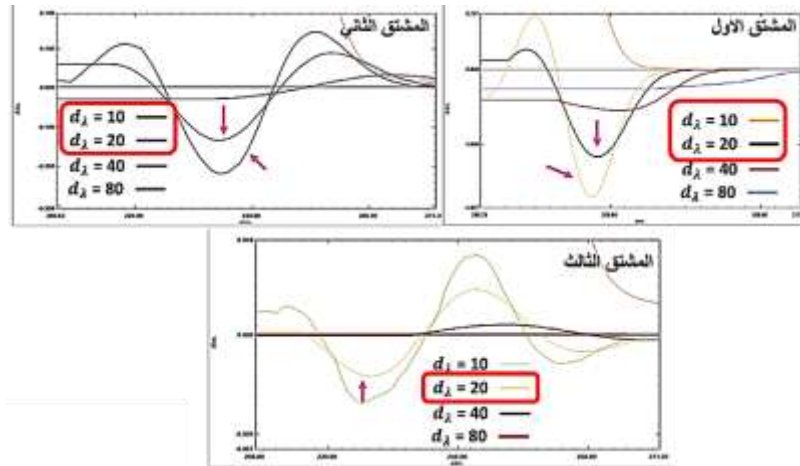
التحقق من مصدوقية الطرق التحليلية

تم التحقق من مصدوقية الطرق المدروسة باتباع الدلائل الإرشادية للمؤتمر الدولي للمواصفة الـ ICH حيث تم تحديد الخطية وحد الكشف وحد الكم والدقة والمضبوطية. تم استخدام المحاليل القياسية لدراسة الخطية وحدَي الكشف والكم. في حين تم التحقق من الدقة والمضبوطية (إمكانية التحديد المتزامن بدون حدوث تداخل) باستخدام المزائج المخبرية. كذلك تم تحضير محاليل تجارية من أجل دراسة الاسترداد بإضافة العياري، وذلك بهدف التحقق من مضبوطية الطريقة المقترحة وإلغاء تأثير السواغات على التحليل.

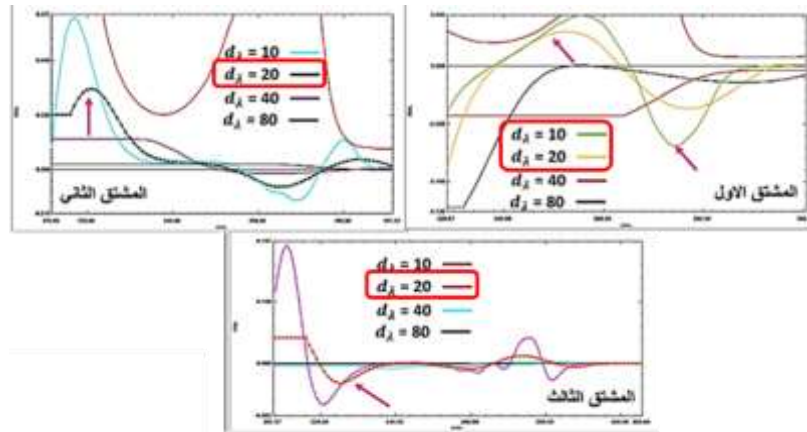
النتائج والمناقشة

تحسين معاملات الاشتقاق (d_r Scale Factor)

تم تحسين معاملات الاشتقاق لكلا المكونين. أولاً بالنسبة لـ d_r الذي يلعب دوراً رئيسياً في تحسين نسبة الإشارة إلى الضجّة، فهو يسمح بخفضها بشكل كبير دون التأثير على إشارة المشتق. يوجز الشكلان (1) و(2) قيم d_r المناسبة لكل مشتق من مشتقات الميتفورمين والسيتاغلبتين على الترتيب. حيث تم تثبيت $d_r = 20$ للمادتين عند جميع الرتب والتي أعطت أفضل شكل للطيف المشتق.

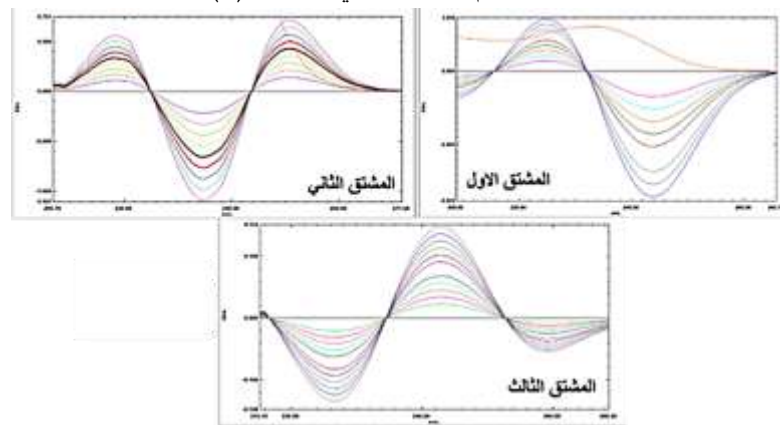


الشكل (1): قيم d_r الأفضل لمشتقات الميتفورمين الثلاثة

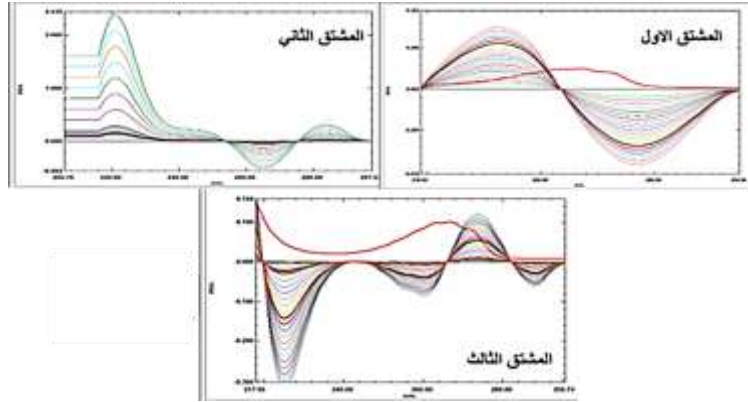


الشكل (2): قيم d_λ الأفضل لمشتقات السيتاغلبتين الثلاثة

ثانياً، معامل تضخيم الإشارة (Scale Factor) والذي يؤثر بشكل كبير على قيمة المدى أو سعة المشتق (الامتصاصية في تقنية الاشتقاق)، فهو يعزز الإشارات الضعيفة والتي يمكن أن تنتج عن مكون منخفض التركيز. يلعب هذا العامل دوراً هاماً في تحليل المضغوطات التجارية المدروسة، والحاوية على الميتفورمين والسيتاغلبتين بنسبة (17:1)، وهنا تظهر أهمية استخدام عامل التضخيم. درس هذا العامل للميتفورمين ضمن المجال (10-80)، كما تم دراسته للسيتاغلبتين ضمن المجال (10 - 1000)، حيث كانت الإشارة للسيتاغلبتين عند القيم المنخفضة غير واضحة، ومن الشكلين (3) و(4) يُلاحظ تأثير الـ Scale Factor على المشتقات الثلاثة للميتفورمين والسيتاغلبتين على الترتيب. ثم تم اختيار قيم الـ Scale Factor الأفضل لكل من المشتقات الثلاثة للميتفورمين والسيتاغلبتين والتي تعطي أفضل إشارة لكل مادة بوجود الأخرى حيث تم توضيحها في الجدول (3).



الشكل (3): قيم الـ Scale Factor للمشتقات الثلاثة للميتفورمين



الشكل (4): قيم الـ Scale Factor للمشتقات الثلاثة للسيتاغلبتين

الجدول (3): قيم الـ Scale Factor الأفضل للمشتقات الثلاثة للميتفورمين والسيتاغلبتين

السيتاغلبتين	الميتفورمين	رتبة المشتق
100	10	المشتق الأول
500	35	المشتق الثاني
700	50	المشتق الثالث

تقنية الـ Zero – Crossing

تمّ تحديد الأطوال الموجية لنقاط العبور بالصفير لكل من الميتفورمين والسيتاغلبتين في المشتقات الثلاثة والموضحة في الجدول (1- ملحق)، حُسبت قيم الاسترداد والخطأ النسبي باستخدام المعادلات المُستنتجة في الجدول (2- ملحق) لكل مكون في المزائج المحضرة، حيث أبدت معظم الأطوال الموجية نسب استرداد غير مقبولة لدى بعض المزائج كما هو موضح في الجدولين (3-4-ملحق). لذا تمّ اختيار نقاط العبور بالصفير الأفضل والتي تمّ توضيحها في الجدول (4)، حيث حققت أفضل استرداد وأقل خطأ نسبي عند جميع المزائج كما هو موضح في الجدولين (5-6-ملحق). تُلاحظ أنّ النتائج مقبولة لدى المشتقين الأول والثاني، حيث تمّ إيجاد طول موجة معين لتحديد كلّ مادة في المزيج أي من الممكن استخدام هذه التقنية، أما بالنسبة للمشتق الثالث فقد تمكنا من تحديد الميتفورمين، في حين لا يُمكن تحديد السيتاغلبتين بسبب قيم الاسترداد السيئة عند جميع الأطوال الموجية المحددة له.

الجدول (4): نقاط العبور بالصفير المختارة للميتفورمين والسيتاغلبتين

السيتاغلبتين	الميتفورمين	رتبة المشتق
240 نم	270 نم	المشتق الأول
254 نم	224 نم	المشتق الثاني
245 نم	-	المشتق الثالث

يمكن تفسير قلة الأطوال الموجية التي حققت استرداد عالي في تقنية Zero-Crossing إلى افتقاد هذه التقنية للدقة، كما أنّ حدوث الخطأ أثناء تحديد نقاط العبور بالصفير هو أمر شائع، وقد وُجد أنّ العمل على المتوسط الحسابي لقيم

الاسترداد عند جميع المزائج أعطى نتائج مقبولة، ولكن لزيادة الدقة في القياس تم الاعتماد على كل قيمة من قيم نسب الاسترداد.

قد يعود الأمر أيضاً إلى قيمة الـ Sampling Interval وهو العامل الذي يحدّد المسافة بين كل طول موجي في الطيف، حيث كانت قيمته 1 nm، أي أنّ الفرق بين كل طول موجي هو 1 nm (268-269)، في حين لو تم ضبطه على قيمة 0.1 nm، فإن ذلك سيعطي عدد أكبر من نقاط العبور بالصفير والتي قد تحقق قيم استرداد جيّدة.

تقنية Amplitude Subtraction (AS)

تم اختيار λ_1 و λ_2 للميتفورمين والسيتاغلبتين في المشتقات الثلاثة والموضحة في الجدول (5) حيث تم الاستفادة من نقاط العبور بالصفير عند تحديد λ_2 ، ووفقاً لمعادلات الخطية المستنتجة والموضحة في الجدول (7- ملحق) لكل مشتق، تم حساب نسب الاسترداد والخطأ النسبي لكل من الميتفورمين والسيتاغلبتين في المزائج المخبرية، حيث كانت جميع القيم ضمن المجال المقبول (90 - 110) % بالنسبة للمشتقين الأول والثاني والتي تم توضيحها في الجدول (8- ملحق)، في حين أبدى المشتق الثالث بعض القيم المرفوضة والموضحة في الجدول (6) وعليه تم استبعاده.

الجدول (5): قيم λ_1 و λ_2 للميتفورمين والسيتاغلبتين في المشتقات الثلاثة

رتبة المشتق	λ_1 نم	λ_2 نم
المشتق الأول	225	240
المشتق الثاني	231	254
المشتق الثالث	228	245

الجدول (6): قيم الاسترداد والخطأ النسبي للميتفورمين عند المشتق الثالث

رتبة المشتق	نسبة الميتفورمين في المزيج (مكغ/مل)	القيمة المقاسة	الاسترداد %	الخطأ النسبي %	نسبة السيتاغلبتين في المزيج (مكغ/مل)	القيمة المقاسة	الاسترداد %	الخطأ النسبي %
المشتق الثالث	30	29.23	97.45	-2.55	16	17.11	106.94	6.94
	30	29.14	97.12	-2.88	12	13.43	111.92	11.92
	30	29.23	97.45	-2.55	8	8.13	101.63	1.63
	10	9.40	93.97	-6.03	12	13.14	109.5	9.5
	20	19.45	97.24	-2.76	12	13.11	109.25	9.25
	30	29.21	97.35	-2.65	12	13.08	109	9

تقنية Modified Amplitude Subtraction (MAS)

تم الاستفادة من قيم λ_1 و λ_2 المحددة سابقاً في تقنية AS للميتفورمين والسيتاغلبتين، ووفقاً لمعادلات الخطية المستنتجة والموضحة في الجدول (9- ملحق) لكل مشتق، تم حساب نسب الاسترداد والخطأ النسبي لكل من الميتفورمين والسيتاغلبتين في المزائج المخبرية، حيث كانت جميع القيم ضمن المجال المقبول (90 - 110) % بالنسبة للمشتقين الأول والثاني وهذا موضح في الجدول (10- ملحق)، في حين أبدى المشتق الثالث بعض القيم المرفوضة والموضحة في الجدول (7) وعليه تم استبعاده.

الجدول (7): قيم الاسترداد والخطأ النسبي للسيتاغلبتين والميتفورمين عند المشتق الثالث

الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة السيتاغلبتين في المزيج (مكغ/مل)	الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة الميتفورمين في المزيج (مكغ/مل)	رتبة المشتق
5.85	105.85	16.94	16	-1.17	98.83	29.65	30	المشتق الثالث
10.47	110.47	13.26	12	-1.50	98.50	29.55	30	
-0.55	99.45	7.96	8	-1.17	98.83	29.65	30	
8.99	108.99	13.08	12	-4.56	95.44	9.54	10	
8.26	108.26	12.99	12	-1.34	98.66	19.73	20	
7.55	107.55	12.91	12	-1.26	98.74	29.62	30	

تقنية Amplitude Factor (PF)

حُسبت قيم الـ P-Factor عند λ_1 و λ_2 وتم توضيحها في الجدول (8)، ووفقاً لمعادلات الخطية المُستنتجة والموضحة في الجدول (11- ملحق) لكل مشتق، تم حساب نسب الاسترداد والخطأ النسبي لكل من الميتفورمين والسيتاغلبتين في المزائج المخبرية، حيث كانت جميع القيم ضمن المجال المقبول (90 - 110) % بالنسبة للمشتقين الأول والثاني بيئتها الجدول (12- ملحق)، في حين أبدى المشتق الثالث قيم مرفوضة وتم توضيحها في الجدول (9) وعليه تم استبعاده.

الجدول (8): قيم الـ P-Factor للميتفورمين والسيتاغلبتين

P- Factor	رتبة المشتق
0.47994	المشتق الأول
1.3655	المشتق الثاني
-1.0752	المشتق الثالث

الجدول (9): قيم الاسترداد والخطأ النسبي للسيتاغلبتين والميتفورمين عند المشتق الثالث

الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة السيتاغلبتين في المزيج (مكغ/مل)	الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة الميتفورمين في المزيج (مكغ/مل)	رتبة المشتق
-10.41	89.59	14.33	16	19.55	119.55	35.86	30	المشتق الثالث
-11.08	88.92	10.67	12	19.09	119.09	35.73	30	
-33.07	66.93	5.35	8	19.55	119.55	35.86	30	
13.53	113.53	13.62	12	-17.60	82.40	8.24	10	
-0.48	99.52	11.94	12	11.19	111.19	22.24	20	
-14.09	85.91	10.31	12	19.42	119.42	35.83	30	

نُلاحظ مما سبق تعذر استخدام التقنيات عند المشتق الثالث، وهذا يتوافق مع العدد القليل من الدراسات التي تعتمد عليه، قد يعود ذلك لزيادة الضجة بازدياد رتبة المشتق وحدوث ضعف في الإشارة، وبالتالي التأثير على سعة المشتق (المدى)، أو ربما كانت التراكيز المحضرة منخفضة جداً ويتوجب دراسته عند تراكيز أعلى منها.

نتائج تحليل العينات التجارية للتقنيات الأربعة (Zero-Crossings, AS, MAS, PF)

دُرست بدايةً المصدوقية بطريقة الاسترداد بإضافة عياري عند كل تقنية لإلغاء تأثير السواغات، وتم اعتبارها كمعامل تصحيح لاستخدامه عند تحليل العينات التجارية، حيث كانت النتائج موضحة في الجداول (10-11-12-13)، ثم تم تحليل العينات التجارية للمشاركة المدروسة، حُسبت قيم الاسترداد والخطأ النسبي لكلا المكونين بالاستفادة من المعادلات المذكورة سابقاً، وكانت النتائج جيدة ومقبولة عند كلا المشتقين في التقنيات الثلاثة (Zero-Crossings, AS, MAS). أما فيما يخص التقنية الرابعة P-Factor فقد أبدت قيم استرداد خارج المجال المقبول وخطأ نسبي عالي للسيتاغلبتين في المشتق الأول، على خلاف المشتق الثاني الذي أبدى قيمة جيدة. تم توضيح قيم الاسترداد والخطأ النسبي للميتفورمين والسيتاغلبتين في الجداول (14-15-16-17). تتوافق النتائج مع دراسة مرجعية أقامها Lotfy وزملائه عام 2015 حيث تمكّن من تطبيق التقنيات (AS, MAS, P-Factor) عند المشتق الثاني للتحديد المتزامن للميتفورمين والسيتاغلبتين في المضغوطات التجارية. وأيضاً دراسة أخرى في جامعة القاهرة عام 2013 من قبل العاملة Safaa Riad وزملائها حيث استطاعت تحديد السيتاغلبتين والميتفورمين معاً باستخدام تقنية (Zero-Crossing) عند المشتقين الأول والثاني. اختلفت الأطوال الموجية المستخدمة في الدراسة الحالية والدراسات المرجعية، قد يعود ذلك إلى اختلاف جهاز السيكتروفوتومتر المستخدم أو لاختلاف تراكيز المحاليل والمزائج المحضرة أو قيم معاملات الاشتقاق والتي تم اعتمادها منذ البداية.

الجدول (10) الاسترداد بإضافة عياري لتقنية Zero-Crossing عند المشتقين الأول والثاني

Zero-Crossing					
الاسترداد %	الكمية الموجودة (مكغ/مل)	الكمية الكلية (مكغ/مل)	الكمية المضافة (مكغ/مل)	العينة دون إضافة (مكغ/مل)	المشتق الأول
100.60	53.92	53.6	10	43.6 (Met)	
98.55	62.68	63.6	20		
98.72	72.66	73.6	30		
99.29%					
99.67	5.98	6	4	2 (Sita)	
99.14	6.94	7	5		
101.13	8.09	8	6		
99.98%					
101.53	54.42	53.6	10	43.6 (Met)	
100.53	63.94	63.6	20		
99.10	72.94	73.6	30		
100.39%					
97.83	5.87	6	4	2 (Sita)	
98.86	6.92	7	5		
98.38	7.87	8	6		
98.36%					
المشتق الثاني					

الجدول (11) الاسترداد بإضافة عياري لتقنية AS عند المشتقين الأول والثاني

Amplitude Subtraction					
الاسترداد %	الكمية الموجودة (مكغ/مل)	الكمية الكلية (مكغ/مل)	الكمية المضافة (مكغ/مل)	العينة دون إضافة (مكغ/مل)	المشتق الأول
100.69	53.97	53.6	10	43.6 (Met)	
98.64	62.73	63.6	20		
98.80	72.72	73.6	30		
99.38%					
98.02	5.881	6	4	2 (Sita)	
101.86	7.13	7	5		
99.04	7.923	8	6		
99.64%					

101.66	54.49	53.6	10	43.6 (Met)	المشتق الثاني
100.54	63.94	63.6	20		
99.01	72.87	73.6	30		
100.40%					
101.70	6.10	6	4	2 (Sita)	
99.20	6.94	7	5		
101.50	8.12	8	6		
100.80%					

الجدول (12) الاسترداد بإضافة عياري لتقنية MAS عند المشتقين الأول والثاني

Modified Amplitude Subtraction						
الاسترداد %	الكمية الموجودة (مكغ/مل)	الكمية الكلية (مكغ/مل)	الكمية المضافة (مكغ/مل)	العينة دون إضافة (مكغ/مل)		
100.60	53.92	53.6	10	43.6 (Met)	المشتق الأول	
98.55	62.68	63.6	20			
98.72	72.66	73.6	30			
99.29%						
97.84	5.87	6	4	2 (Sita)		
101.69	7.12	7	5			
98.88	7.91	8	6			
99.47%						
101.15	54.21	53.6	10	43.6 (Met)		المشتق الثاني
100.02	63.62	63.6	20			
98.51	72.50	73.6	30			
99.89%						
99.51	5.97	6	4	2 (Sita)		
97.00	6.79	7	5			
99.31	7.94	8	6			
98.60%						

الجدول (13) الاسترداد بإضافة عياري لتقنية P-Factor عند المشتقين الأول والثاني

P-Factor					
الاسترداد %	الكمية الموجودة (مكغ/مل)	الكمية الكلية (مكغ/مل)	الكمية المضافة (مكغ/مل)	العينة دون إضافة (مكغ/مل)	المشتق الأول
104.41	55.96	53.6	10	43.6 (Met)	
102.30	65.06	63.6	20		
102.48	75.43	73.6	30		
103.06%					
105.21	6.31	6	4	2 (Sita)	
109.06	7.63	7	5		
106.36	8.51	8	6		
106.88%					
100.77	54.01	53.6	10	43.6 (Met)	
99.61	63.35	63.6	20		
98.06	72.18	73.6	30		
99.48%					
97.92	5.87	6	4	2 (Sita)	
95.19	6.66	7	5		
97.36	7.79	8	6		
96.82%					

الجدول (14): نتائج تحليل العينات التجارية للميفورمين والسيئاغلبتين بتقنية Zero - crossings

Zero-Crossings				رتبة المشتق/ رمز الشركة
الخطأ النسبي (%)	الاسترداد (%)	الخطأ النسبي (%)	الاسترداد (%)	
Sita (270)		Met (240)		Der (1)
1.5	101.5	-0.21	99.79	A
3	103	-1.77	98.23	B
1.65	101.65	-1.22	98.78	C
Sita (224)		Met (254)		Der (2)
1.5	101.5	1.03	101.0321	A
4.5	104.5	-1.33	98.66972	B
2	102	2.13	102.133	C

الجدول (15): نتائج تحليل العينات التجارية للميتفورمين والسيتاغلبتين بتقنية AS

Amplitude Subtraction				رتبة المشتق/ رمز الشركة
الخطأ النسبي (%)	الاسترداد (%)	الخطأ النسبي (%)	الاسترداد (%)	
Sita (225)		Met (225)		Der (1)
3	103	-0.10	99.90	A
2.65	102.65	-1.66	98.34	B
2	102	-1.11	98.89	C
Sita (231)		Met (231)		Der (2)
5.35	105.35	0.023	100.02	A
5.45	105.45	-0.638	99.36	B
7.00	107.00	0.685	100.68	C

الجدول (16): نتائج تحليل العينات التجارية للميتفورمين والسيتاغلبتين بتقنية MAS

Modified Amplitude Subtraction				رتبة المشتق/ رمز الشركة
الخطأ النسبي (%)	الاسترداد (%)	الخطأ النسبي (%)	الاسترداد (%)	
Sita (225)		Met (225)		Der (1)
2.50	102.50	-0.21	99.79	A
2.16	102.16	-1.77	98.23	B
1.50	101.50	-1.22	98.78	C
Sita (231)		Met (231)		Der (2)
0.00	100.00	0.86	100.86	A
0.23	100.23	-1.47	98.53	B
1.60	101.60	1.95	101.95	C

الجدول (17): نتائج تحليل العينات التجارية للميتفورمين والسيتاغلبتين بتقنية P-Factor

P-Factor				رتبة المشتق/ رمز الشركة
الخطأ النسبي (%)	الاسترداد (%)	الخطأ النسبي (%)	الاسترداد (%)	
Sita (225)		Met (225)		Der (1)
20.29	120.29	3.56	103.56	A
19.66	119.66	1.94	101.94	B
19.11	119.11	2.52	102.52	C
Sita (231)		Met (231)		Der (2)
-3.09	96.91	0.56	100.56	A
-2.70	97.30	-1.76	98.24	B
-1.58	98.42	1.64	101.64	C

التحقق من مصدوقية الطرق التحليلية

- تم التحقق من مصدوقية التقنيات الأربعة (Zero - Crossings, AS, MAS, P- Factor)، عند المشتق الأول والثاني، باستثناء تقنية P-Factor حيث تم التحقق من المصدوقية عند المشتق الثاني فقط. درست كل من:
- الخطئية: حيث تراوحت القيم ضمن المجال (0.991-0.999)، أي أنّ التقنيات المدروسة ذات خطئية.
 - حدّ الكشف (LOD) وحدّ الكم (LOQ): تراوحت قيم LOD بين (0.11-0.31) مكغ/مل بينما قيم LOQ فكانت بين (0.34-0.95) مكغ/مل على الترتيب، وكونها قيم منخفضة فإنّ هذا يدلّ على قدرة الطرق على كشف وتحديد التراكيز الزهيدة لكلا المكوّنين.
 - الدقة: درست عند المزيج المحضّر بتركيز (30+12) مكغ/مل، كرر ثلاث مرات خلال اليوم الواحد، ثم أعيد ذلك على ثلاثة أيام. تبين النتائج أنّ جميع التقنيات أبدت قيم انحراف معياري نسبي (RSD) أقل من 10% وبالتالي فهي تتمتع بدقة عالية.
 - المضبوطة: أبدت الطرق مضبوطة جيدة بالنسبة للمزائج حيث كانت قيم الاسترداد ضمن المجال (90-110) %، وبالنسبة لطريقة الاسترداد بإضافة عياري كانت القيم أقرب ما يمكن لـ 100%.
- يوضّح الجدولين (18-19) نتائج دراسة المصدوقية عند جميع التقنيات.

الجدول (18): نتائج دراسة المصدوقية لتقنية الـ Zero – Crossings للمشتق الأول والثاني

حد الكم (مكغ/مل)		حد الكشف (مكغ/مل)		الدقة والتكرارية	الخطية	رتبة المشتق
Sita	Met	Sita	Met			
0.34	0.86	0.11	0.28	RSD < 10 %	أقرب ما يمكن لا 1	المشتق الأول
0.95	0.91	0.31	0.3	RSD < 10 %	أقرب ما يمكن لا 1	المشتق الثاني

الجدول (19): نتائج دراسة المصدوقية للتقنيات AS, MAS, P- Factor للمشتقين الأول والثاني

حد الكم (مكغ/مل)		حد الكشف (مكغ/مل)		الدقة والتكرارية	الخطية	رتبة المشتق
Sita	Met	Sita	Met			
0.45	0.75	0.14	0.25	RSD < 10 %	أقرب ما يمكن لا 1	المشتق الأول
0.62	0.78	0.20	0.25	RSD < 10 %	أقرب ما يمكن لا 1	المشتق الثاني

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

يمكن استخدام تقنية الاشتقاق الطيفي للتحديد المتزامن لكل مكون ضمن المشاركات وهذا ما تم تحقيقه في هذا البحث، حيث تم التحديد المتزامن للميتفورمين بمشاركته مع السيتاغلبتين واستنتاج التقنيات التي تناسب كل مشتق مدروس ووجد أنه:

- يمكن تطبيق تقنية الـ Zero – Crossings, AS, MAS للمشتقين الأول والثاني
- يمكن تطبيق تقنية الـ P- Factor للمشتق الثاني فقط
- تعذر تطبيق التقنيات الأربعة على المشتق الثالث بسبب نسب الاسترداد السيئة التي أبدتها هذه التقنيات عند هذا المشتق.

التوصيات

- ❖ مقارنة الطرق المستنتجة بالطرق المرجعية لاستخدامها بدلاً عنها في مخابر الرقابة الدوائية.
- ❖ اعتماد تقنية الأطياف المشتقة للتحديد المتزامن للأدوية المركبة.
- ❖ دراسة التكافؤ الحيوي والثباتية لهذه المشاركة الدوائية باستخدام الاشتقاق الطيفي.

Reference

- 1.Karpinska, J.J.M.t.n.s., book edited by Jamal Uddin, *Basic principles and analytical application of derivative spectrophotometry*. 2012: p. 253-256.
- 2.Rojas, F.S., C.B. Ojeda, and J.C.J.T. Pavon, *Derivative ultraviolet—visible region absorption spectrophotometry and its analytical applications*. 1988. **35**(10): p. 753-761.
- 3.Lotfy, H.M. and S.S. Saleh, *Recent development in ultraviolet spectrophotometry through the last decade (2006-2016): A review*. 2016.
- 4.Jones, K. and G.D.J.C.c. Sweeney, *Quantitation of urinary porphyrins by use of second-derivative spectroscopy*. 1979. **25**(1): p. 71-74.
- 5.Altunöz, S., S.J.J.o.f.c. Toptan, and analysis, *Determination of Tartrazine and Ponceau-4R in various food samples by Vierordt's method and ratio spectra first-order derivative UV spectrophotometry*. 2002. **15**(6): p. 667-683.
- 6.Rajyalakshmi, C., et al., *Development and validation of zero and first order derivative UV-spectrophotometric method for determination of Febuxostat in bulk and in formulation*. 2013. **6**(2): p.211-208 .
- 7.Dekhil, A.B., A. Ghorbel, and T. Boubacker, *Direct determination of nitrate in natural water by ultraviolet first derivative spectrophotometry*. 2014.
- 8.Mohammad, M., et al., *Development and Validation of Derivative UV Spectrophotometric method for Simultaneous Determination of Amoxicillin and Clavulanic acid in Tablets (Augmentin 1000mg)*. 2023. **16**(6): p. 2795-2800.
- 9.Rele, R.V.J.R.J.o.P. and Technology, *UV Derivative Spectrophotometric Methods for validation of Esomeprazole Magnesium tri-hydrate in Bulk and Pharmaceutical Dosage Form*. 2018. **11**(1): p. 135-138.
10. Annapurna, M.M., et al., *New first derivative spectrophotometric methods for the estimation of Bumetanide in tablet dosage forms*. 2019. **12**(10): p. 4790-4794.
11. Sushma, G., M.A.J.R.J.o.P. Mukthinuthalapati, and Technology, *New first derivative spectrophotometric methods for the determination of Sitagliptin-An antidiabetic agent*. 2020. **13**(6): p. 2838-2842.
12. Patil, V.D., et al., *Development and validation of ratio spectra derivative spectrophotometric method for determination of mefenamic acid and ethamsylate in combined formulation*. 2010. **3**(3): p. 921-923.
13. Chabukswar, A.R., et al., *Ratio derivative spectrophotometry method for simultaneous estimation of metoprolol and amlodipine in their combined dosage form*. 2012. **5**(7): p. 950-954.
14. Veeranna, V., et al., *Simultaneous second order derivative spectrophotometric determination of cadmium and cobalt using furfuraldehyde Thiosemicarbazone (FFTSC)*. 2013. **6**(5): p. 577-584.
15. Khayata, W., D.A.J.R.J.o.P. Zakri, and Technology, *Two simple spectrophotometric methods for the simultaneous determination of amoxicillin trihydrates and flucloxacillin sodium*. 2017. **10**(5): p. 1327-1332.
16. Rele, R.V.J.R.J.o.P. and Technology, *Derivative Spectrophotometric Estimation of Amoxicillin Trihydrate and Carbocisteine by Third Order Derivative Spectroscopy method in Combined Dosage Form*. 2017. **10**(6): p. 1758-1761.

3- الملحق

الجدول (1) نقاط العبور بالصفير للميتفورمين والسيتاغلبتين عند المشتقات الثلاثة

المادة	المشتق الأول	المشتق الثاني	المشتق الثالث
الميتفورمين	(268-272)	(224-226)	234,235
السيتاغلبتين	240,241	254,255	(243-245)

الجدول (2): معادلات الخطية لتقنية Zero-Crossing عند الأطوال الموجية المختارة

رتبة المشتق	طول الموجة (نم)	معادلة الخطية	R ²
المشتق الأول	270	$y = -0.0116x - 0.0712$	0.9993
	240	$y = -0.037x - 0.0479$	0.9919
المشتق الثاني	224	$y = 0.0548x + 0.002$	0.9996
	254	$y = 0.0079x + 0.0071$	0.9983
المشتق الثالث	235	$y = -0.0025x - 0.0111$	0.9962
	245	$y = 0.0046x - 0.0072$	0.9983

الجدول (3) نسب الاسترداد والخطأ النسبي للسيتاغلبتين غير المقبولة التي أبدتها نقاط العبور بالصفير ضمن المزائج

رتبة المشتق	طول الموجة	نسبة السيتاغلبتين في المزيج (مكغ/مل)	القيمة المقاسة	المدى	الاسترداد%	الخطأ النسبي%
الأول	268	12	10.35	-0.191	86.25	-13.75
	269	8	7.11	-0.154	88.88	-11.13
		12	10.45	-0.192	87.08	-12.92
	271	8	8.84	-0.174	110.5	10.5
	272	8	8.96	-0.175	112	12
الثاني	225	12	13.41	-0.227	111.75	11.75
	226	12	13.42	0.737	111.83	11.83
الثالث	234	12	13.64	0.749	113.67	13.67
	235	12	10.72	-0.040	89.33	-10.67
		16	17.72	-0.058	110.75	10.75

الجدول (4) نسب الاسترداد والخطأ النسبي للميتفورمين غير المقبولة التي أبدتها نقاط العبور بالصفير ضمن المزائج

الخطأ النسبي %	الاسترداد %	المدى	القيمة المقاسة	نسبة الميتفورمين في المزيج (مكغ/مل)	طول الموجة	رتبة المشتق
11.2	111.2	- 0.459	11.12	10	241	الأول
21.6	121.6	0.103	12.16	10	255	الثاني
-12.3	87.7	0.114	26.31	30	243	الثالث
-10.85	89.15	0.075	17.83	20	244	

الجدول (5) نسب الاسترداد والخطأ النسبي للسيتاغلبتين عند نقاط العبور بالصفير المختارة في جميع المشتقات

الخطأ النسبي %	الاسترداد %	المدى	القيمة المقاسة	نسبة السيتاغلبتين في المزيج (مكغ/مل)	طول الموجة	رتبة المشتق
2	102	-0.261	16.32	16	270	المشتق الأول
-0.67	99.33	-0.209	11.92	12		
-0.25	99.75	-0.164	7.98	8		
1.08	101.08	-0.212	12.13	12		
1.75	101.75	-0.213	12.21	12		
-0.92	99.08	-0.209	11.89	12		
2	102	0.896	16.32	16	224	المشتق الثاني
-1.25	98.75	0.651	11.85	12		
1.375	101.38	0.446	8.11	8		
-1.42	98.58	0.650	11.83	12		
-2.08	97.92	0.646	11.75	12		
-0.5	99.5	0.656	11.94	12		

الجدول (6) نسب الاسترداد والخطأ النسبي للميتفورمين عند نقاط العبور بالصفير المختارة في جميع المشتقات

الخطأ النسبي %	الاسترداد %	المدى	القيمة المقاسة	نسبة الميتفورمين في المزيج (مكغ/مل)	طول الموجة (نم)	رتبة المشتق
2.7	102.7	-1.188	30.81	30	240	المشتق الأول
-0.27	99.73	-1.155	29.92	30		
-0.07	99.93	-1.157	29.98	30		
1.3	101.3	-0.423	10.13	10		
1.55	101.55	-0.799	20.31	20		

3.07	103.07	-1.192	30.92	30	254	المشتق الثاني
-0.83	99.17	0.242	29.75	30		
-1.5	98.5	0.241	29.55	30		
-0.17	99.83	0.244	29.95	30		
-4.5	95.5	0.083	9.55	10		
-1.2	98.8	0.163	19.76	20		
-1.17	98.83	0.241	29.65	30		
-1.17	98.83	0.129	29.65	30	245	المشتق الثالث
-1.5	98.5	0.129	29.55	30		
-1.17	98.83	0.129	29.65	30		
-4.56	95.44	0.037	9.544	10		
-1.34	98.66	0.084	19.732	20		
-1.26	98.74	0.129	29.622	30		

الجدول (7): معادلات الخطية لتقنية AS عند الاطوال الموجية المختارة

معادلات تقنية AS		طول الموجة (نم)	رتبة المشتق
$R^2 = 0.9967$	$y = -2.1629x + 0.004$	Met (225,240)	المشتق الأول
$R^2 = 0.9978$	$y = 0.0171x + 0.0235$	Met 225	
$R^2 = 0.9982$	$y = -0.0794x - 0.4082$	Sita 225	
$R^2 = 0.9996$	$y = -0.7236x + 0.0014$	Met (231, 254)	المشتق الثاني
$R^2 = 0.9988$	$y = -0.011x - 0.0026$	Met 231	
$R^2 = 0.9994$	$y = 0.0232x + 0.1169$	Sita 231	
$R^2 = 0.9982$	$y = -1.2951x - 0.0198$	Met (228, 245)	المشتق الثالث
$R^2 = 0.9991$	$y = -0.0036x - 0.0098$	Met 228	
$R^2 = 0.999$	$y = -0.0086x - 0.0464$	Sita 228	

الجدول (8) نسب الاسترداد والخطأ النسبي المقبولة لكل من الميتفورمين والسيئاغلبتين عند المشتقين الأول والثاني باستخدام تقنية AS

الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة السيئاغلبتين في المزيج (مكغ/مل)	الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة الميتفورمين في المزيج (مكغ/مل)	رتبة المشتق
5.25	105.25	16.84	16	2.84	102.84	30.85	30	المشتق الأول
-0.48	99.52	11.94	12	-0.13	99.87	29.96	30	
0.25	100.25	8.02	8	0.07	100.07	30.02	30	
1.33	101.33	12.16	12	1.63	101.63	10.16	10	
7.83	107.83	12.94	12	1.73	101.73	20.35	20	
7.25	107.25	12.87	12	3.20	103.20	30.96	30	
5.625	105.63	16.9	16	0.02	100.02	30.01	30	المشتق الثاني
-0.06	99.94	11.993	12	-0.64	99.36	29.81	30	
1.1	101.1	8.088	8	0.68	100.68	30.21	30	
1.83	101.83	12.22	12	-0.42	99.58	9.96	10	
8.17	108.17	12.98	12	0.46	100.46	20.09	20	
8.08	108.08	12.97	12	-0.31	99.69	29.91	30	

الجدول (9): معادلات الخطية المستنتجة لتقنية MAS عند الأطوال الموجية المختارة

معادلات تقنية MAS		طول الموجة	رتبة المشتق
$R^2 = 0.9919$	$y = -0.037x - 0.0479$	Met 240	المشتق الأول
$R^2 = 0.9978$	$y = 0.0171x + 0.0235$	Met 225	
$R^2 = 0.9982$	$y = -0.0794x - 0.4082$	Sita 225	
$R^2 = 0.9982$	$y = 0.008x + 0.0033$	Met 254	المشتق الثاني
$R^2 = 0.9988$	$y = -0.011x - 0.0026$	Met 231	
$R^2 = 0.9994$	$y = 0.0232x + 0.1169$	Sita 231	
$R^2 = 0.9983$	$y = 0.0046x - 0.0072$	Met 245	المشتق الثالث
$R^2 = 0.9991$	$y = -0.0036x - 0.0098$	Met 228	
$R^2 = 0.999$	$y = -0.0086x - 0.0464$	Sita 228	

الجدول (10) نسب الاسترداد والخطأ النسبي المقبولة لكل من الميتفورمين والسي تاغلبتين عند المشتقين الأول والثاني باستخدام تقنية MAS

الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة السي تاغلبتين في المزيج (مكغ/مل)	الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة الميتفورمين في المزيج (مكغ/مل)	رتبة المشتق
5.19	105.19	16.83	16	2.70	102.70	30.81	30	المشتق الأول
-0.56	99.44	11.93	12	-0.27	99.73	29.92	30	
0.14	100.14	8.01	8	-0.07	99.93	29.98	30	
1.27	101.27	12.15	12	1.30	101.30	10.13	10	
7.77	107.77	12.93	12	1.55	101.55	20.31	20	
7.18	107.18	12.86	12	3.07	103.07	30.92	30	
5.17	105.17	16.83	16	-0.49	99.51	29.85	30	المشتق الثاني
-0.66	99.34	11.92	12	-1.15	98.85	29.66	30	
0.18	100.18	8.01	8	0.17	100.17	30.05	30	
1.63	101.63	12.20	12	-0.94	99.06	9.91	10	
7.76	107.76	12.93	12	-0.06	99.94	19.99	20	
7.48	107.48	12.90	12	-0.82	99.18	29.75	30	

الجدول (11): معادلات الخطية المستنتجة لتقنية P-Factor عند الأطوال الموجية المختارة

P-Factor		طول الموجة
$R^2 = 0.9978$	$y = 0.0171x + 0.0235$	Met 225
$R^2 = 0.9993$	$y = -0.079x - 0.4134$	Sita 225
$R^2 = 0.9988$	$y = -0.011x - 0.0026$	Met 231
$R^2 = 0.9994$	$y = 0.0232x + 0.1169$	Sita 231
$R^2 = 0.9991$	$y = -0.0036x - 0.0098$	Met 228
$R^2 = 0.999$	$y = -0.0086x - 0.0464$	Sita 228

الجدول (12) نسب الاسترداد والخطأ النسبي المقبولة لكل من الميتفورمين والسيتاغلبتين عند المشتقين الأول والثاني باستخدام تقنية P-Factor

الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة السيتاغلبتين في المزيج (مكغ/مل)	الخطأ النسبي %	الاسترداد %	القيمة المقاسة	نسبة الميتفورمين في المزيج (مكغ/مل)	رتبة المشتق
6.76	106.76	17.08	16	6.55	106.55	31.97	30	المشتق الأول
1.47	101.47	12.18	12	3.47	103.47	31.04	30	
3.18	103.18	8.25	8	3.68	103.68	31.10	30	
1.92	101.92	12.23	12	4.90	104.90	10.49	10	
9.12	109.12	13.09	12	5.31	105.31	21.06	20	
9.27	109.27	13.11	12	6.93	106.93	32.08	30	
5.07	105.07	16.81	16	-0.60	99.40	29.82	30	المشتق الثاني
-0.79	99.21	11.91	12	-1.25	98.75	29.62	30	
-0.02	99.98	8.00	8	0.05	100.05	30.02	30	
2.04	102.04	12.24	12	0.10	100.10	10.01	10	
7.90	107.90	12.95	12	0.12	100.12	20.02	20	
7.35	107.35	12.88	12	-0.93	99.07	29.72	30	

