

التقدير الطيفي للفيناسترايد باستخدام تفاعل الأزوتة والأقتران

معتز محمود جاسم*، خلف فارس عطية

قسم الكيمياء، كلية التربية للعلوم الصرفة، جامعة سامراء، العراق

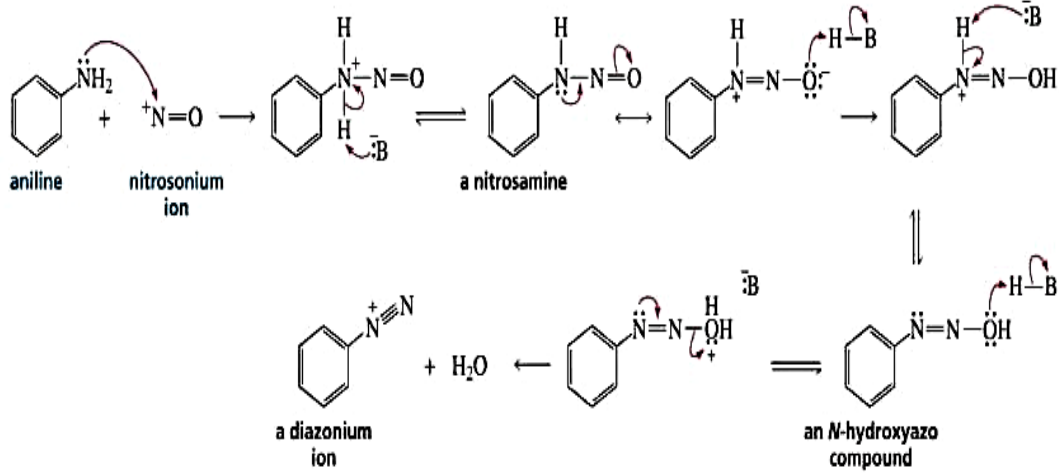
البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الأول

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)<https://doi.org/10.54153/sjpas.2026.v8i2.1414>

معلومات البحث:	الخلاصة:
تاريخ الاستلام: 2026/01/17	تم تطوير طريقة طيفية دقيقة وحساسة لتقدير الفيناسترايد (FIN)، وتعتمد على تفاعل الأزوتة والأقتران. حيث تم أزوتة 4-أمينو أسيتوفينون (AAP) باستخدام حمض النتروز الناتج من تفاعل نترتيت الصوديوم (NaNO ₂) مع حمض الهيدروكلوريك (HCl) لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك تم اقتران هذا الملح مع عقار الفيناسترايد (FIN) مع وجود قاعدة هيدروكسيد الصوديوم (NaOH)، ثم بعد ذلك تم تسخين المعقد عند درجة حرارة 50C° ليعطي صبغة صفراء اللون. تم قياس امتصاص المحلول مقابل المحلول الصوري بعد استقرار المعقد بعد مرور 15 دقيقة عند طول موجي 425 نانومتر. تم تحسين ظروف التفاعل لتحقيق أفضل تكوين للمعقد، بما في ذلك (حجم النترتيت، نوع وحجم الحامض، نوع وحجم الأمين، نوع وحجم القاعدة، زمن تكوين حمض النتروز، زمن تكوين ملح الديازونيوم، زمن التفاعل بين الدواء والملح، تأثير درجة الحرارة، وزمن استقرار الناتج النهائي). أظهرت النتائج أن طريقة القياس كانت خطية في نطاق 2.5 – 22.5 مكغم/مل مع معامل التقدير R ² = 0.9994. كما سجل معامل الامتصاص المولي 8829.4113 لتر/مول.سم، ودلالة ساندل 0.0421 مكغم/سم ² ، مع حد كشف LOD 0.1164 مكغم/مل، وحد كمي LOQ 0.3530 مكغم/مل. كانت نسبة الاسترجاع Rec% تتراوح بين 96.6244–101.8987%، بينما تراوحت قيم الانحراف المعياري النسبي RSD% بين 0.1111–0.5268%. أظهرت الطريقة دقة وحساسية عالية، وقد تم تطبيقها بنجاح لتقدير الفيناسترايد في مستحضراته الصيدلانية.
تاريخ التعديل: 2025/10/02	
تاريخ القبول: 2025/10/05	
تاريخ النشر: 2026/06/30	
الكلمات المفتاحية:	
الفيناسترايد (FIN)، الأزوتة والأقتران، التحليل الطيفي UV-Vis، المستحضر الصيدلاني.	
معلومات المؤلف	
الإيميل: eduhm230030@uosamarra.edu.iq الموبايل: +964 770 625 8164	

المقدمة:

تُعد أملاح أريل الديازونيوم من المركبات الوسيطة المهمة في الكيمياء العضوية، لما تتمتع به من قدرة عالية على الدخول في العديد من التفاعلات الكيميائية المفيدة في تحضير مركبات عضوية متنوعة. تُحضر هذه الأملاح عادةً من خلال عملية أزوتة الأمينات الأروماتية الأولية في وسط حامضي وعند درجات حرارة منخفضة، وهي شروط ضرورية لضمان تكوين ملح الديازونيوم والمحافظة على استقراره خلال مراحل التفاعل المختلفة^(1,2). وتُظهر أملاح الديازونيوم الأروماتية درجة ملحوظة من الاستقرار مقارنةً بنظيراتها الأليفاتية، ويُعزى ذلك إلى ظاهرة الرنين بين ذرة النتروجين والحلقة العطرية، مما يساهم في تثبيت البنية الإلكترونية للمركب وتقليل احتمالية تفككه. شكل 1 يوضح ميكانيكية تكوين أملاح الديازونيوم⁽³⁾.

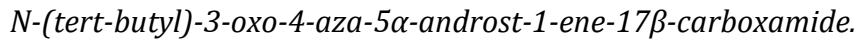


شكل 1: ميكانيكية تكوين أملاح أريل الديازونيوم

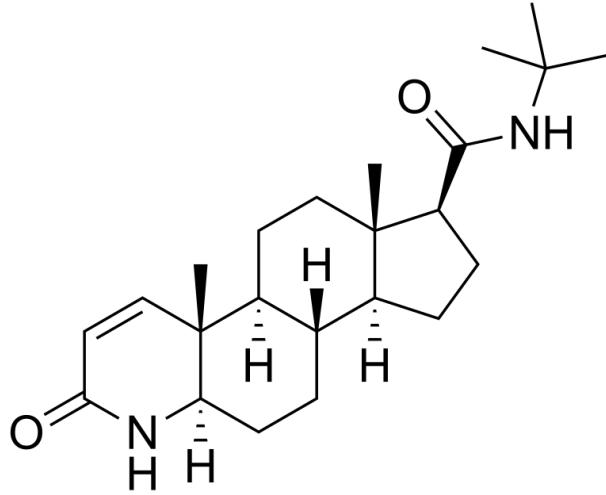
تسلك أملاح الديازونيوم نوعين رئيسيين من التفاعلات، هما تفاعلات الاستبدال وتفاعلات الاقتران الأزوي مع المركبات الفينولية أو الأمينات الأروماتية، وينتج عن هذه التفاعلات مركبات الأزو التي تمتلك الصيغة العامة (Ar-N=N-Ar)⁽⁴⁾. ويعمل ملح الديازونيوم في هذه التفاعلات بوصفه كاشفاً ألكتروفيلاً، إذ يتفاعل مع الحلقات الأروماتية الغنية بالإلكترونات، ويحدث الاقتران غالباً في الموقعين (2) أو (4) من حلقة البنزين عندما يكون الموقع (1) مشغولاً بمجموعة وظيفية مناسبة⁽⁵⁾. تُعد الدالة الحامضية (pH) من العوامل المهمة التي تؤثر في كفاءة تفاعلات الاقتران الأزوي، إذ يكون التفاعل أكثر فاعلية في الوسط القاعدي المعتدل، خاصة عند استخدام المركبات الفينولية التي تتحول في هذه الظروف إلى أيونات الفينوكسيد الأكثر نشاطاً وذوبانية في الوسط المائي. ومع ذلك، ينبغي تجنب القاعدية العالية لما لها من تأثير سلبي يتمثل في تفكك أملاح الديازونيوم وعدم استقرارها⁽⁶⁾. كما أن المحافظة على درجات حرارة منخفضة تتراوح بين (0-5 م°) تسهم في زيادة استقرار هذه الأملاح وتحسين كفاءة التفاعل⁽⁷⁾.

تتميز مركبات الأزو بامتلاكها نظاماً مترافقاً واسعاً يحتوي على رابطة الأزو المزدوجة ($-\text{N}=\text{N}-$) المرتبطة بحلقات أروماتية، الأمر الذي يمنحها القدرة على امتصاص الضوء في المنطقة المرئية من الطيف الكهرومغناطيسي. ويؤدي هذا الامتصاص إلى ظهور ألوان متعددة تتراوح من الأصفر والبرتقالي والأحمر إلى الأزرق والأخضر، ويقع مدى الامتصاص الطيفي لهذه المركبات عادة ضمن المجال (400-750) نانومتر، مما يجعلها مناسبة للاستخدام في التطبيقات الطيفية المختلفة⁽⁸⁾. وبسبب خصائصها الفيزيائية والكيميائية المميزة، فقد وجدت مركبات الأزو تطبيقات واسعة في العديد من المجالات، من بينها الصناعات الدوائية وصناعة الأصباغ والنسيج ومستحضرات التجميل، فضلاً عن استخدامها في التحليل الكيميائي بوصفها كواشف لونية في طرائق التحليل الطيفي⁽⁹⁾. كما أظهرت بعض مشتقات هذه المركبات فعاليات بايولوجية متعددة، مثل الخصائص المضادة للبكتيريا والفطريات ومضادات الأكسدة، إضافة إلى تطبيقاتها في مجالات طبية وصناعية مختلفة^(10,11).

يُعد الفيناسترايد (*Finasteride*) مركباً دوائياً يوجد على هيئة مسحوق بلوري أبيض، واسمه النظامي وفق *IUPAC* هو⁽¹²⁾:



ويبلغ وزنه الجزيئي 372.6 غ/مول، وصيغته الجزيئية⁽¹³⁾ ($\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2$)، وتُظهر صيغته التركيبية هيكلًا ستيرويدياً رباعي الحلقات مع ذرة نيتروجين في الحلقة A ومجموعة *tert*-butylcarbamoyl عند الموضع 17. الشكل (2) يوضح الشكل التركيبي للفيناسترايد⁽¹⁴⁾.



شكل 2: التركيب الذري لعقار الفيناستيراييد *Finasteride*

يُستخدم الفيناستيراييد أساساً لعلاج تضخم البروستاتا الحميد وتساقط الشعر من نمط الذكورة، وقد يُوصف في بعض الحالات لعلاج فرط نمو الشعر لدى النساء، وتكون آثاره الجانبية غالباً خفيفة مع احتمالية حدوث اضطرابات جنسية أو أعراض نفسية وتضخم نسيج الثدي لدى بعض الحالات (15,16). وقد تم تقدير هذا الدواء باستخدام طرائق تحليلية متعددة، من أبرزها الطرائق الطيفية (17,18,19) والطرائق الكروماتوغرافية (20,21) والطرائق الكهربية (22,23). وعلى الرغم من توفر طرائق تحليلية متعددة لتقدير الفيناستيراييد، إلا أن عدداً منها يعتمد على تقنيات متقدمة أو إجراءات معقدة قد تحد من تطبيقها الروتيني في مختبرات ضبط الجودة، مما يبرز الحاجة إلى تطوير طرائق طيفية بسيطة وفعالة. نظراً للأهمية العلاجية للفيناستيراييد والحاجة إلى طرائق بسيطة قابلة للتطبيق الروتيني، هدفت الدراسة الحالية إلى تطوير طريقة تحليلية بديلة تتميز بالبساطة وسهولة التطبيق وقلة التكلفة لتقدير الفيناستيراييد اعتماداً على تفاعل الأزوتة والاقتران.

الجزء العملي (Materials and Methods)

الأجهزة والمواد الكيميائية

تم استخدام المواد الكيميائية الخام والمذيبات كما هي بدون تنقية ، ويتم توفير جميع هذه المواد من قبل *Sigma-Aldrich* و *Fluka* و *Fisher* و *Merck*. أما الأجهزة فقد تم استخدام مطياف الأشعة فوق البنفسجية-المرئية ثنائي الحزمة- (*UV-Vis Spectrophotometer*) من نوع *UV-1900i* المزود من شركة *SHIMADZU* ، والذي يغطي مدى طيفي من 190 إلى 800 نانومتر، مع استخدام خلايا من نوع كوارتز ذات عرض 1 سم. اختيار المذيب

تم اختبار عدة مذيبات لإذابة الفيناستيراييد بما في ذلك الماء المقطر، والإيثانول، والميثانول. وُجد أن الدواء لا يذوب تماماً في الماء المقطر ، بينما لم يذوب في الإيثانول إلا بعد التسخين لفترة زمنية، في حين أظهر ذوبانية كاملة وفورية في الميثانول. ولغرض تحسين الذوبانية والاستقرار الطيفي مع تقليل كمية الميثانول المستخدمة، جرى اختبار مزيج من الميثانول والماء المقطر بنسب مختلفة. وأظهرت النتائج أن المذيب المكوّن من 20% ميثانول و80% ماء مقطر يوفّر ذوبانية تامة للفيناستيراييد ، مع استخدام الحد الأدنى من الميثانول. بناءً على ذلك، تم اعتماد هذا المذيب في التجارب اللاحقة.

تحضير المحاليل

محلول 4 -أمينو أسيتوفينون (*AAP*) بتركيز 0.01 مولاري:

تم تحضير المحلول بإذابة 0.1352 غرام من 4 -أمينو أسيتوفينون (*AAP*) في 5 مل الإيثانول، ثم نقل إلى قنينة حجمية سعة 100 مل، ثم اكمل الحجم إلى حد العلامة بالماء المقطر.

محلول نترات الصوديوم $NaNO_2$ بتركيز 0.01 مولاري

تم تحضير المحلول بإذابة 0.0690 غرام من $NaNO_2$ في كمية من الماء المقطر ثم نقل إلى قنينة حجمية سعة 100 مل، ثم اكمل الحجم إلى حد العلامة بالماء المقطر.

تحضير المحاليل المساعدة

حُضِرَ محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز تقريبي 1 مولاري بتخفيف 8.4 مل من الحامض المركز (11.86 مولاري) في قنينة حجمية سعة 100 مل بالماء المقطر. كما حُضِرَ محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز تقريبي 1 مولاري بإذابة 4 غم من $NaOH$ في قنينة حجمية سعة 100 مل بالماء المقطر.

المحلول القياسي الفيناستيرايد (FIN) بتركيز 1000 مايكرو غرام/مل

حضر المحلول بإذابة 0.1 غرام من الفيناستيرايد (FIN) في كمية مناسبة من المذيب الذي يتكون من خليط 20% ميثانول و80% ماء مقطر في قنينة حجمية سعة 100 مل، ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالمذيب نفسه ليصبح محلول خزن بتركيز 1000 مايكرو غرام/مل. ومن محلول الخزن تم تحضير محلول بتركيز 100 مايكرو غرام/مل بأخذ 10 مل منه ووضعها في قنينة حجمية سعة 100 مل، ثم إكمال الحجم حتى حد العلامة بنفس المذيب .

المحلول القياسي الفيناستيرايد (FIN) بتركيز 0.01 مولاري :

حضر المحلول بإذابة 0.373 غرام من FIN في كمية مناسبة من المذيب الذي يتكون من خليط 20% ميثانول و80% ماء مقطر في قنينة حجمية سعة 100 مل، ثم تم إكمال الحجم حتى حد العلامة بالمذيب نفسه .

محلول المستحضر الصيدلاني بروسترايد (Postride) بتركيز 5 ملغرام من عقار FIN بتركيز 1000 مايكرو غرام/مل

تم استخدام مستحضر بروسترايد (Postride) حبوب بتركيز 5 ملغرام (الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية SDI العراق)، كمصدر دوائي لعقار FIN .

حيث تم وزن عشرة حبات من مستحضر بروسترايد بشكل مفرد باستخدام ميزان تحليلي، حيث بلغ متوسط وزن الحبة الواحدة 0.1414 غرام. بعد ذلك طحنت الحبات العشرة معاً في هاون خزفي للحصول على مسحوق متجانس. وبالاعتماد على أن كل حبة تحتوي على 5 ملغرام من التادالافيل تم أخذ الكمية المكافئة لمعدل وزن حبة واحدة وإذابتها في كمية مناسبة من المذيب الذي يتكون من خليط 20% ميثانول و80% ماء مقطر في قنينة حجمية سعة 50 مل، ثم اكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب نفسه. ثم بعد ذلك رُشَّح المحلول المحضر بواسطة ورق ترشيح نوع Whatman No.42 للحصول على محلول صافٍ بتركيز 100 مايكرو غرام/مل.

النتائج والمناقشة

التجارب الأولية

تم تحضير ملح الدايازونيوم من خلال عملية أزوتة 4-أمينو أسيتوفينون (AAP) باستخدام نترتيت الصوديوم في وسط حامضي، إذ أخذ 1.5 مل من محلول نترتيت الصوديوم ($NaNO_2$) بتركيز 0.01 مولاري مع 0.5 مل من حامض الهيدروكلوريك HCl بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز في قنينة حجمية سعة 10 مل. بعد مرور دقيقة واحدة، أُضيف 1.5 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون (AAP) بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي عند درجة حرارة 0-5 °م ، وترك الخليط لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الدايازونيوم. بعد ذلك تم إجراء تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفيناستيرايد (FIN) بإضافة 1 مل من محلول FIN بتركيز 100 مايكرو غرام/مل ، يليه اضافة 0.5 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم $NaOH$ بتركيز 1 مولاري، ثم أكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب المستخدم المكوّن من 20% ميثانول و80% ماء مقطر، ثم سخن المحلول عند درجة حرارة 35 °م لمدة 5 دقائق. أدى هذا التفاعل إلى تكون صبغة ذات لون أصفر مميز، حيث قيس امتصاصها الضوئي مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 425 نانومتر، والذي تم اعتماده في جميع التجارب اللاحقة.

الظروف التجريبية الفضلى

تم دراسة تأثير مختلف الظروف المتوقع تأثيرها على ناتج الصبغة المتكونة من اقتران 4-أمينو أسيتوفينون (AAP) المؤزوت مع عقار الفيناستيرايد (FIN)، وقد تُبَيَّنَت هذه الظروف المثلى عند طول موجي مقداره 425 نانومتر لضمان أعلى حساسية ودقة في القياس.

اختيار أفضل امين

أجريت عدة تجارب لاختيار الامين الامثل لتكوين الناتج الملون. إذ استُخدم حجم 1.5 مل من محاليل عدد من الامينات بتركيز 0.01 مولاري شملت: 1-أمينو-2-نافثول-4-سلفونيك أسيد، و2-أمينو بنزوثيرازول، وحامض السلفانيليك، و4-أمينو بنزويك أسيد، إلا أنها جميعاً لم تُظهِر أي استجابة ملحوظة عند تفاعلها مع عقار الفيناستيرايد (FIN). في المقابل عند استخدام 1.5 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون (AAP) بتركيز 0.01 مولاري، فقد ظهر تفاعل واضح بعد إجراء عملية الأزوتة باستخدام

نترتيت الصوديوم في وسط حامضي. إذ تم خلط 1.5 مل من محلول نترتيت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري مع 0.5 مل من حامض *HCl* بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز في قنينة حجمية سعة 10 مل. بعد مرور دقيقة واحدة، أضيف 1.5 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة (0-5 °م)، وترك الخليط لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفيناسترايد من خلال إضافة 1 مل من محلول *FIN* بتركيز 100 مايكروغرام/مل، تلاه 0.5 مل من محلول *NaOH* بتركيز 1 مولاري، ثم أكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سُخّن المزيج عند 35°م لمدة 5 دقائق. أدى هذا التفاعل إلى تكوين صبغة صفراء قيس امتصاصها الضوئي عند الطول الموجي 425 نانومتر مقابل المحلول السوري، مما أكد أن 4-أمينو أسيتوفينون هو الأمين الأمثل. جدول 1 الأمينات التي تم اختبارها.

جدول 1: الأمينات المستخدمة

Optimal Amine	Abs
11-Amino-2-naphthol-4-sulfonic acid	-
2-Aminobenzothiazole	-
4-Aminoacetophenone	0.281
Sulfanilic acid	-
4-Aminobenzoic acid	-

تأثير حجم النترتيت

تمت دراسة تأثير حجم محلول نترتيت الصوديوم، بوصفه العامل المؤثر على شدة اللون المتكوّن، إذ استخدمت أحجام مختلفة من محلول نترتيت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري تراوحت بين 0.5-2.0 مل، ووضعت في قناني حجمية سعة 10 مل، ثم أضيف 0.5 مل من محلول حامض *HCl* بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز. بعد مرور دقيقة واحدة، أضيف 1.5 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0-5 °م، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفيناسترايد (*FIN*) بإضافة 1 مل من محلول العقار بتركيز 100 ميكروغرام/مل، يليه إضافة 0.5 مل من محلول *NaOH* بتركيز 1 مولاري، ثم أكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سُخّن المزيج عند 35 °م لمدة 5 دقائق، بعد ذلك تم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي 425 نانومتر. أظهرت النتائج أن حجم 1.5 مل من نترتيت الصوديوم المستخدم في التجارب التمهيديّة، أعطى أعلى امتصاصية، وعليه تم اعتماده في التجارب اللاحقة. جدول 2 تأثير حجم النترتيت.

جدول 2: تأثير حجم النترتيت على الامتصاص

V(ml) of NaNO2	Abs.
0.5	0.177
0.75	0.218
1	0.243
1.25	0.269
1.5	0.281
1.75	0.272
2	0.255

تأثير نوع وحجم الحامض

تم دراسة تأثير نوع وحجم الحامض المستخدم في عملية الازوته على شدة اللون المتكوّن، حيث تم اخذ 1.5 مل من محلول نترتيت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري ووضع في سلسلة من القناني حجمية سعة 10 مل، ثم أضيف أحجام مختلفة تتراوح بين 0.1 – 1 مل بتركيز 1 مولاري من أنواع عديدة من الحوامض كل حامض على حدا لتكوين حامض النتروز. بعد مرور دقيقة واحدة، أضيف 1.5 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0-5 °م، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار

الفيناسترايد (*FIN*) بإضافة 1 مل من محلول العقار بتركيز 100 ميكروغرام/مل، يليه إضافة 0.5 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري، ثم أكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سخّن المزيج عند 35 °م لمدة 5 دقائق، بعد ذلك تم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي 425 نانومتر. أظهرت النتائج أن حجم 0.5 مل من مل من حامض *HCl* بتركيز 1 مولاري المستخدم في التجارب التمهيدية أعطى أعلى امتصاصية، وعليه تم اعتماده في التجارب اللاحقة. جدول 3 تأثير نوع وحجم الحامض.

جدول 3: تأثير نوع وحجم الحامض

Addition	Volume in mL	Abs.
HCl (1M)	0.1	0.268
	0.3	0.277
	0.5	0.281
	0.8	0.263
	1	0.220
H ₂ SO ₄ (1M)	0.1	0.259
	0.3	0.271
	0.5	0.267
	0.8	-
	1	-
CH ₃ COOH (1M)	0.1	-
	0.3	-
	0.5	-
	0.8	-
	1	-

يُعزى اختلاف الامتصاصية باختلاف الوسط الحامضي إلى تفاوت قوة الحوامض وكفاءتها في توليد حامض النتروز (*HNO₂*) الضروري لعملية الأزوتة، إذ تعطي الحوامض القوية مثل *HCl* استجابة أعلى مقارنة بالحوامض الضعيفة مثل حامض الخليك. كما قد تؤثر طبيعة الأيونات المصاحبة في استقرارية أيون الديازونيوم وكفاءة التفاعل.

تأثير حجم 4-أمينو أسيتوفينون

تمت دراسة تأثير حجم 4-أمينو أسيتوفينون المستخدم في تكوين ملح الديازونيوم على شدة اللون المتكوّن ، إذ اخذ 1.5 مل من محلول نترت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري ووضع في سلسلة من القناني حجمية سعة 10 مل ، ثم أضيف 0.5 مل من محلول حامض *HCl* بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز. بعد مرور دقيقة واحدة، أضيف أحجام مختلفة من محلول 4-أمينو أسيتوفينون 1-3 مل بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0-5 °م ، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفيناسترايد (*FIN*) بإضافة 1 مل من محلول العقار بتركيز 100 ميكروغرام/مل، يليه إضافة 0.5 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري، ثم أكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سخّن المزيج عند 35 °م لمدة 5 دقائق، بعد ذلك تم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي 425 نانومتر. أظهرت النتائج أن حجم 2 مل أعطى أعلى امتصاصية، وعليه تم اعتماد في التجارب اللاحقة. جدول 4 تأثير حجم الامين المستخدم .

جدول 4: تأثير حجم 4-أمينو أسيتوفينون

Vol. of 4-aminoacetophenone V(ml)	Abs.
1	0.266
1.25	0.272
1.5	0.281
1.75	0.288
2	0.293
2.25	0.286
2.5	0.269
3	0.252

تأثير نوع وحجم القاعدة

تم دراسة تأثير نوع وحجم القاعدة المستخدمة في الازوته والاقتران على شدة اللون المتكوّن، اذ اخذ 1.5 مل من محلول نترتيت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري ووضع في سلسلة من القناني حجمية سعة 10 مل، ثم أضيف 0.5 مل من محلول حامض HCl بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز. بعد مرور دقيقة واحدة أضيف 2 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0-5 °م، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفيناسترايد (FIN) بإضافة 1 مل من محلول العقار بتركيز 100 ميكروغرام/مل، ثم أضيفت احجام مختلفة تراوحت بين 0.1 – 1 مل بتركيز 1 مولاري من محاليل قواعد مختلفة، كل قاعدة على حدا، ثم أكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سخّن المزيج عند 35 °م لمدة 5 دقائق، بعد ذلك تم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي 425 نانومتر. أظهرت النتائج أن حجم 0.3 من NaOH بتركيز 1 مولاري أعطى أعلى امتصاصية وعليه تم اعتماد في التجارب اللاحقة. يوضح جدول 5 تأثير نوع وحجم القاعدة.

جدول 5: تأثير القاعدة

Addition	Volume in mL	Abs.
NaOH (1M)	0.1	0.300
	0.3	0.307
	0.5	0.293
	0.8	0.281
	1	0.270
NH ₄ OH(1M)	0.1	0.243
	0.3	0.255
	0.5	0.269
	0.8	0.278
	1	0.264
Na ₂ CO ₃ (1M)	0.1	0.111
	0.3	0.132
	0.5	0.165
	0.8	0.178
	1	0.159

يُعزى اختلاف الاستجابة الطيفية باختلاف نوع القاعدة إلى تفاوت قوة القواعد وقدرتها على توفير الوسط القاعدي المناسب لتفاعل الاقتران، إذ تُعد القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم ($NaOH$) أكثر كفاءة في تعزيز التفاعل وإعطاء أعلى امتصاصية مقارنةً بالقواعد الأضعف مثل NH_4OH و Na_2CO_3 ، والتي تكون أقل قدرة على تهيئة الوسط التفاعلي المناسب.

تأثير زمن الاستقرار لتكوين حامض النتروز

تم دراسة استقرارية تكوين حامض النتروز على امتصاصية التفاعل من خلال التفاعل بين نترت الصوديوم وحامض HCl في فترات زمنية مختلفة تراوحت بين 0 – 10 دقيقة، من خلال اختيار الظروف المثلى التي تم الحصول عليها في التجارب السابقة، أظهرت النتائج أن أفضل زمن لتكوين حامض النتروز هو بعد مرور 3 دقائق لذا تم اعتماده في التجارب اللاحقة. يوضح جدول 6 تأثير زمن تكوين حامض النتروز.

جدول 6: تأثير زمن تكوين حامض النتروز

Time(min)	Abs.
0	0.303
1	0.307
3	0.316
5	0.312
8	0.309
10	0.301

تأثير زمن الاستقرار لتكوين ملح الدايازونيوم

تم دراسة استقرارية تكوين ملح الدايازونيوم وتأثيرها على امتصاصية التفاعل من خلال التفاعل بين 4-أمينو أسيتوفينون و حامض النتروز في فترات زمنية مختلفة تراوحت بين 0 – 10 دقيقة من خلال اختيار الظروف المثلى التي تم الحصول عليها في التجارب السابقة، أظهرت النتائج أن أفضل زمن لتكوين ملح الدايازونيوم هو نفسه الذي اعتمد سابقا 5 دقائق لذا تم اعتماده في التجارب اللاحقة. يوضح جدول (7) تأثير زمن تكوين الملح.

جدول 7: تأثير زمن تكوين ملح الدايازونيوم على الامتصاص

Time(min)	Abs.
0	0.303
1	0.308
3	0.312
5	0.316
6	0.311
8	0.307
10	0.300

تأثير الزمن على التفاعل بين العقار وملح الدايازونيوم

تم دراسة تأثير الزمن على التفاعل بين عقار الفينااسترايد (FIN) و ملح الدايازونيوم على امتصاصية التفاعل في فترات زمنية مختلفة تراوحت بين 0 – 10 دقيقة، من خلال اختيار الظروف المثلى التي تم الحصول عليها في التجارب السابقة، أظهرت النتائج أن أفضل زمن للتفاعل بين عقار الفينااسترايد (FIN) و ملح الدايازونيوم هو بعد مرور 5 دقائق لذا تم اعتماده في التجارب اللاحقة. يوضح جدول 8 تأثير زمن التفاعل بين العقار والملح.

جدول 8: تأثير زمن التفاعل بين العقار والملح على الامتصاص

Time(min)	Abs.
0	0.316
1	0.319
3	0.324
5	0.329
6	0.327
8	0.323
10	0.318

تأثير درجة الحرارة

إنّ درجة الحرارة تعد من الظروف المهمة في التفاعلات والتي يجب دراستها، ومن أجل اختيار درجة الحرارة الفضلى التي يعطي عندها المعقد الناتج أعلى امتصاص. فقد تم اخذ 1.5 مل من محلول نترتيت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري ، ثم أضيف 0.5 مل من محلول حامض *HCl* بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز، بعد مرور 3 دقائق أضيف 2 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0-5 م°، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفيناسترايد (*FIN*) بإضافة 1 مل من محلول العقار بتركيز 100 ميكروغرام/مل، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لاتمام عملية الاقتران ثم إضافة 0.3 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري، ثم أكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سخّن المزيج بدرجات حرارة مختلفة تراوحت بين 30-60 م°، وتم قياس الامتصاصية عند الطول الموجي 425 نانومتر أظهرت النتائج أن أفضل درجة حرارة هي عند 50 م° والتي اعطت أعلى امتصاصية والتي تم الاعتماد عليها في التجارب اللاحقة. جدول 9 تأثير درجة الحرارة.

جدول 9: تأثير درجة الحرارة على المعقد

Temperature (C°)	Abs.
30	0.319
35	0.324
40	0.328
45	0.331
50	0.338
55	0.327
60	0.320

يُعزى انخفاض الامتصاصية عند درجات الحرارة الأعلى من 50 م° إلى عدم استقرار ملح الديازونيوم عند درجات الحرارة المرتفعة، إذ يكون عرضة للتفكك الحراري، مما يؤدي إلى انخفاض كفاءة تفاعل الاقتران وتكوّن المعقد الملون. كما قد تسهم درجات الحرارة العالية في تحلل الناتج أو تغيير توازن التفاعل، الأمر الذي ينعكس سلباً على شدة الامتصاص.

دراسة استقرارية ناتج الازوتة والاقتران

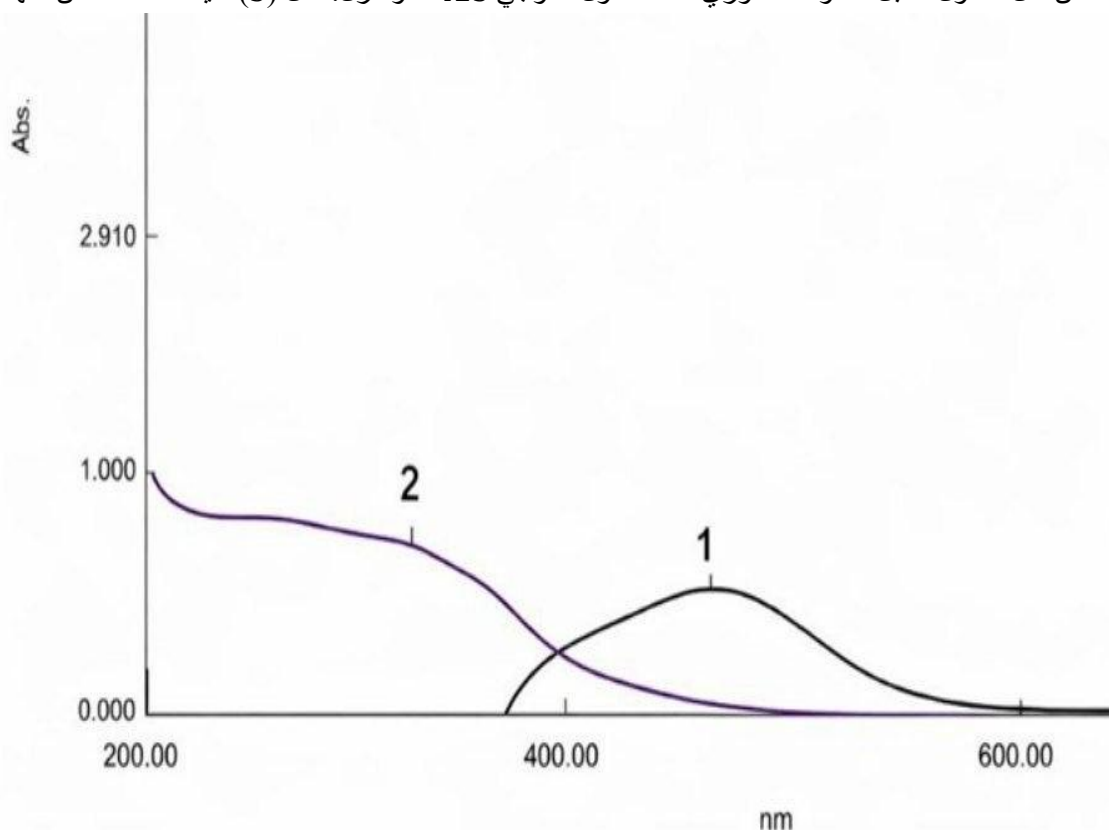
تم دراسة استقرارية الناتج المتكون من خلال قياس شدة الامتصاص الناتج مقابل المحلول الصوري لفترات زمنية مختلفة تراوحت بين 0 - 30 دقيقة ومن خلال اختيار الظروف المثلى التي تم الحصول عليها في التجارب السابقة، أظهرت النتائج أن أفضل زمن استقرار المعقد بعد مرور 15 دقيقة والذي تم الاعتماد عليه في طيف الامتصاص النهائي. يوضح جدول 10 تأثير استقرارية المعقد.

جدول 10: تأثير الزمن على امتصاص الناتج الملون

Time (min)	Abs.
0	0.332
1 min	0.335
5 min	0.341
10 min	0.346
15 min	0.350
20 min	0.347
25 min	0.343
30 min	0.348

طيف الامتصاص النهائي

بعد تحديد الظروف المثلى للحصول على الناتج الملون المتكون من تفاعل 1.5 مل من محلول نترتريت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري، ثم أضيف 0.5 مل من محلول حامض *HCl* بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز، بعد مرور 3 دقائق أضيف 2 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0-5 °م، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفيناسترايد بإضافة 1 مل من محلول العقار بتركيز 100 ميكروغرام/مل، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لاتمام عملية الاقتران تم إضافة 0.3 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري، ثم أكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سخّن المزيج عند 50 °م لمدة 5 دقائق، بعدها تم قياس المركب الناتج بعد مرور 15 دقيقة لاستقرار ناتج الاقتران، تم أخذ طيف الامتصاص لكل محلول مقابل محلوله الصوري عند الطول الموجي 425 نانومتر. شكل (3) طيف الامتصاص النهائي.

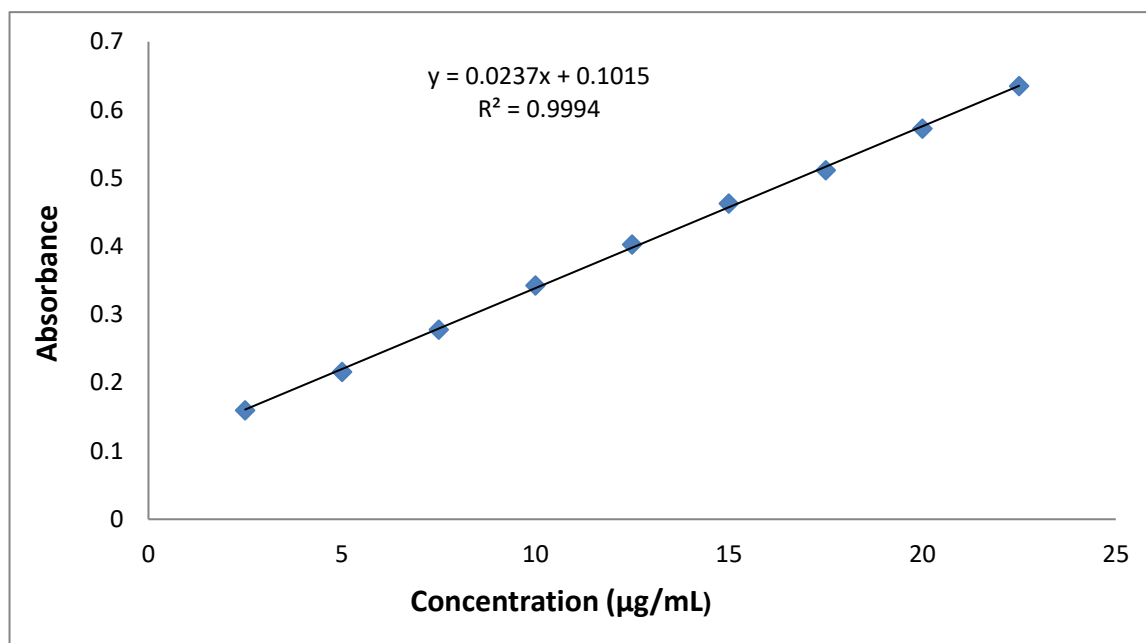


الشكل 3: طيف رقم 1 هو لاقتران الفيناسترايد مع ملح الديازونيوم و طيف رقم 2 هو للمحلول الصوري

منحني المعايرة للمعقد

بعد تثبيت الظروف الفضلى لتقدير عقار الفيناسترايد (*FIN*) تم تحضير المنحني القياسي له، إذ أخذ 1.5 مل من محلول نترتريت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري ووضع في سلسلة من القناني حجمية سعة 10 مل، ثم أضيف 0.5 مل من محلول حامض *HCl* بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز، بعد مرور 3 دقائق أضيف 2 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون بتركيز

0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0-5 °م، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفينااسترايد (FIN)، إذ أُضيفت أحجام مختلفة 0.25 - 2.25 مل من العقار وترك المزيج لمدة خمس دقائق لاتمام عملية الاقتران، ثم إضافة 0.3 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري ثم أُكمل الحجم إلى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سخّن المزيج عند 50 °م لمدة 5 دقائق، بعدها تم قياس المركب الناتج بعد مرور 15 دقيقة لاستقرار ناتج الازوتة والاقتران تم أخذ طيف الامتصاص لكل محلول مقابل محلوله الصوري عند الطول الموجي 425 نانومتر. شكل رقم (4) يبين منحنى المعايرة الخطي الذي يظهر أن قانون بير قد اتبع عند مدى من التراكيز تراوحت بين (2.5 - 22.5) مايكروغرام/مل من محلول عقار الفينااسترايد (FIN) تم حساب معامل الامتصاص المولاري للمركب الناتج ووجد انه يساوي 8829.4113 لتر/مول.سم ودلالة ساندل تساوي 0.0421 مايكروغرام/سم².



شكل 4: منحنى المعايرة للفينااسترايد بالطريقة المقترحة

الدقة والتوافق

أُجريت دراسة لحساب دقة وتوافق الطريقة المقترحة وذلك بواسطة حساب قيمة الاسترجاعية المئوية % Rec للتعبير عن دقة النتائج، ومعامل الانحراف القياسي النسبي % RSD للتعبير عن توافق النتائج ولجميع التراكيز من منحنى المعايرة، وبمعدل خمس قراءات لكل تركيز. كانت قيم % Rec بين 96.6244 - 101.8987 % وقيم % RSD ما بين 0.1111 - 0.5268 % مما يدل على أن الطريقة ذات دقة وتوافق جيدين. يبين جدول 11 قيم الانحراف القياسي والاسترجاعية.

جدول 11: قيم الانحراف القياسي النسبي والاسترجاعية المئوية

Conc.taken (µg/mL)	Abs.	Conc.found (µg/mL)	Rec. %	RSD% *
2.5	0.160	2.4683	98.7341	0.5268
5	0.216	4.8312	96.6244	0.3877
7.5	0.278	7.4472	99.2967	0.4095
10	0.343	10.1898	101.8987	0.2923
12.5	0.403	12.7215	101.7722	0.1357
15	0.463	15.2531	101.6878	0.1934
17.5	0.512	17.3206	98.9752	0.2540
20	0.573	19.8945	99.4725	0.1745
22.5	0.635	22.5105	100.0469	0.1111

* معدل خمس قراءات

حد الكشف والحد الكمي

أجريت دراسة لحساب حد الكشف LOD والحد الكمي LOQ (24) وذلك بقياس الامتصاص لادنى تركيز مأخوذ من منحنى المعايرة وهو 2.5 مايكروغرام/مل وبمعدل خمس قراءات. وكانت قيمة حد الكشف $LOD = 0.1164$ مايكروغرام/مل وقيمة الحد الكمي $LOQ = 0.3530$ مايكروغرام/مل، و كان الانحراف القياسي لقراءات التركيز المأخوذ هو 0.0008 و الميل هو 0.0237.

تطبيق الطريقة المقترحة Apply the proposed method الطريقة المباشرة

تم تطبيق الطريقة المباشرة لتقدير عقار الفيناسترايد (FIN) في المستحضر الصيدلاني بروسترايد (Postride) حبوب بتركيز 5 ملغرام من عقار FIN. جرى تحضير التفاعل بإضافة 1.5 مل من محلول نترتيت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري الى ثلاث قناني حجمية سعة 10 مل ثم أضيف 0.5 مل من محلول حامض HCl بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز، بعد مرور 3 دقائق أضيف 2 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0-5 °م، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفيناسترايد (FIN) من خلال إضافة أحجام مختلفة 1 ، 1.5 ، 2 مل من المستحضر الصيدلاني مستحضر بروسترايد (Postride) ذو التركيز 100 مايكروغرام/مل المحضر مسبقا وترك المزيج لمدة خمس دقائق لاتمام عملية الاقتران تم إضافة 0.3 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري ثم أكمل الحجم الى العلامة بالمذيب المستخدم، لنحصل على التراكيز 10 ، 15 ، 20 مايكروغرام/مل على التوالي، ثم سخن المزيج عند 50 °م لمدة 5 دقائق، وبعد مرور 15 دقيقة لضمان استقرار ناتج التفاعل، تم قياس الامتصاصية مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 425 نانومتر. أُجريت خمس قراءات لكل قياس، وأظهرت النتائج أن نسبة الاسترجاعية دقة النتائج (%Rec) تراوحت بين 97.6793 – 100.9494 %، في حين تراوحت قيمة الانحراف المعياري النسبي نتائج (%RSD) بين 0.1440 – 0.4762%. يبين جدول 12 قيم الانحراف المعياري والاسترجاعية المؤية للطريقة المباشرة.

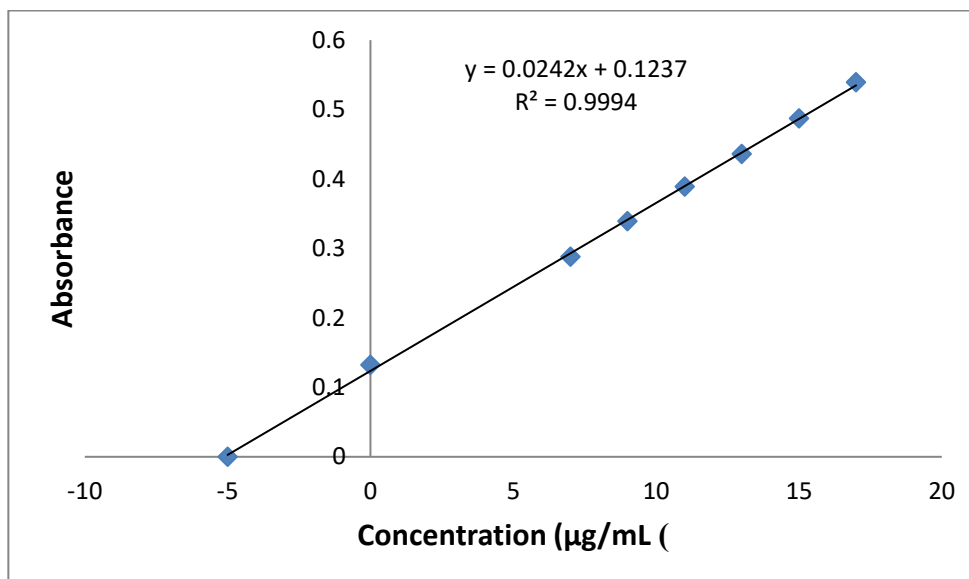
جدول 12: قيم الانحراف المعياري النسبي والاسترجاعية المؤية للمستحضر الدوائي بروسترايد 5 ملغرام

Conc.taken in (µg/mL)	Abs.	Conc.founded in (µg/mL)	Rec.%	RSD%*
10	0.333	9.7679	97.6793	0.4762
15	0.455	14.9156	99.4374	0.2202
20	0.580	20.1898	100.9494	0.1440

*معدل خمس قراءات

طريقة الإضافات القياسية المتعددة

تم تطبيق طريقة الإضافات القياسية المتعددة لتقدير عقار الفيناسترايد (FIN) في المستحضر الصيدلاني بروسترايد (Postride) حبوب بتركيز 5 ملغرام من عقار FIN. جرى تحضير التفاعل بإضافة 1.5 مل من محلول نترتيت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري الى سبع قناني حجمية سعة 10مل، ثم أضيف 0.5 مل من محلول حامض HCl بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز، بعد مرور 3 دقائق أضيف 2 مل من محلول 4-أمينو أسيتوفينون بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0-5 °م، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفيناسترايد (FIN). حيث تم إضافة 0.5 مل من محلول المستحضر الصيدلاني بروسترايد (Postride) المحضر مسبقا ذو التركيز 100 مايكروغرام/مل إلى 7 قناني حجمية ومن ثم إضافة حجوم متزايدة من المحلول القياسي لعقار الفيناسترايد (FIN) ذو التركيز 100 مايكروغرام/مل بين 0.2 - 1.2 مل وتركت القنينة السابعة بدون إضافة وترك المزيج لمدة خمس دقائق لاتمام عملية الاقتران تم إضافة 0.3 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري، ثم أكمل الحجم الى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سخن المزيج عند 50 °م لمدة 5 دقائق، وبعد مرور 15 دقيقة لضمان استقرار ناتج التفاعل، تم قياس الامتصاصية مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 425 نانومتر، بعد ذلك رسم تركيز المحلول المضاف ضد الامتصاص. شكل (5) منحنى الإضافات القياسية المتعددة.



شكل 5: منحني الاضافات القياسية المتعددة

تم حساب التركيز المدروس من معادلة الخط المستقيم الموضحة في الشكل اعلاه، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من تطبيق طريقة الاضافات القياسية المتعددة على المستحضر الصيدلاني بروسترايد (Postride) والموضحة في الجدول (13) كفاءة الطريقة المتبعة في التقدير إذ تم الحصول على $Rec\% 102.2314$ و $RSD\% 0.8547$ لا مما يدل على أن طريقة التقدير المقترحة خالية من التداخلات.

جدول 13: نتائج طريقة الاضافات القياسية لمعقد FIN

Conc.taken in (µg/mL)	Conc.founded in (µg/mL)	% Rec	% RSD
5	5.1115	102.2314	0.8547

*معدل خمس قراءات

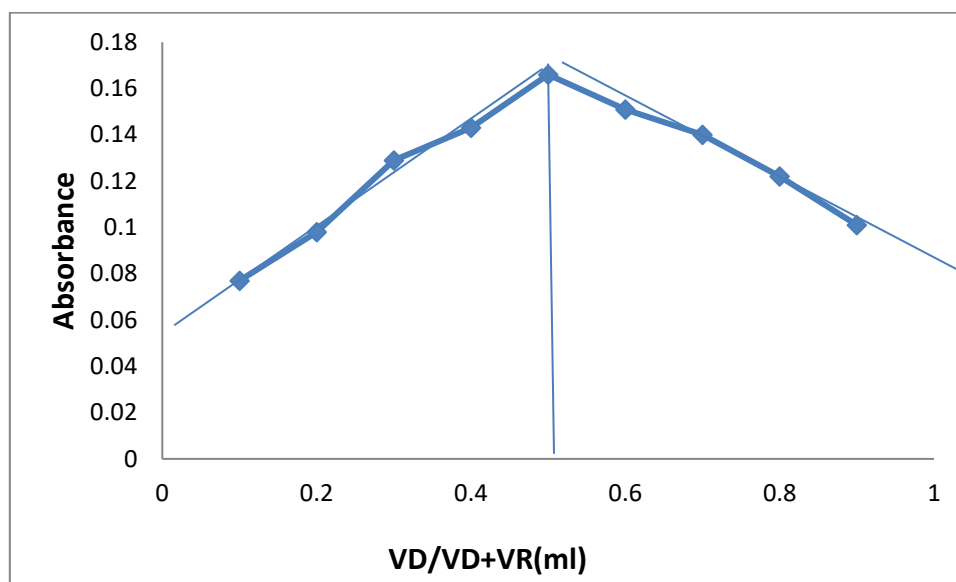
نسبة الارتباط للمعقد

تم دراسة تعيين نسبة ارتباط عقار الفينااسترايد (FIN) مع 4-أمينو أسيتوفينون في معقد الازوتيه والاقتران وبحسب طريقة جوب للتغيرات المستمرة. إذ استعملت محاليل ذوات تراكيز متساوية من عقار الفينااسترايد (FIN) و4-أمينو أسيتوفينون بتركيز 0.01 مولاري. حيث جرى تحضير التفاعل بإضافة 1.5 مل من محلول نترتيت الصوديوم بتركيز 0.01 مولاري الى تسع قناني حجمية سعة 10 مل، ثم أضيف 0.5 مل من محلول حامض HCl بتركيز 1 مولاري لتكوين حامض النتروز، بعد مرور 3 دقائق تم اضافة حجوم متزايدة 0.1 – 0.9 من محلول 4-أمينو أسيتوفينون بتركيز 0.01 مولاري مع التحريك في حمام ثلجي بدرجة حرارة تتراوح بين 0–5 °م، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لتكوين ملح الديازونيوم. بعد ذلك، أُجري تفاعل الاقتران الأزوي مع عقار الفينااسترايد (FIN)، حيث تم اضافة حجوم معاكسة 0.9 – 0.1 من محلول عقار الفينااسترايد (FIN) بتركيز 0.01 مولاري، وترك المزيج لمدة خمس دقائق لاتمام عملية الاقتران تم إضافة 0.3 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1 مولاري، ثم أكمل الحجم الى العلامة بالمذيب المستخدم، ثم سخّن المزيج عند 50 °م لمدة 5 دقائق، وبعد مرور 15 دقيقة لضمان استقرار ناتج التفاعل، تم قياس الامتصاصية مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 425 نانومتر. يوضح جدول 14 قيم الامتصاص لنسبة ارتباط المعقد المتكون.

جدول 14: امتصاص نسبة ارتباط المعقد المتكون لمعقد الفنيسترايد

V _D	V _R	Absorbance	V _D /V _D +V _R
0.1	0.9	0.077	0.1
0.2	0.8	0.098	0.2
0.3	0.7	0.129	0.3
0.4	0.6	0.143	0.4
0.5	0.5	0.166	0.5
0.6	0.4	0.151	0.6
0.7	0.3	0.136	0.7
0.8	0.2	0.122	0.8
0.9	0.1	0.101	0.9

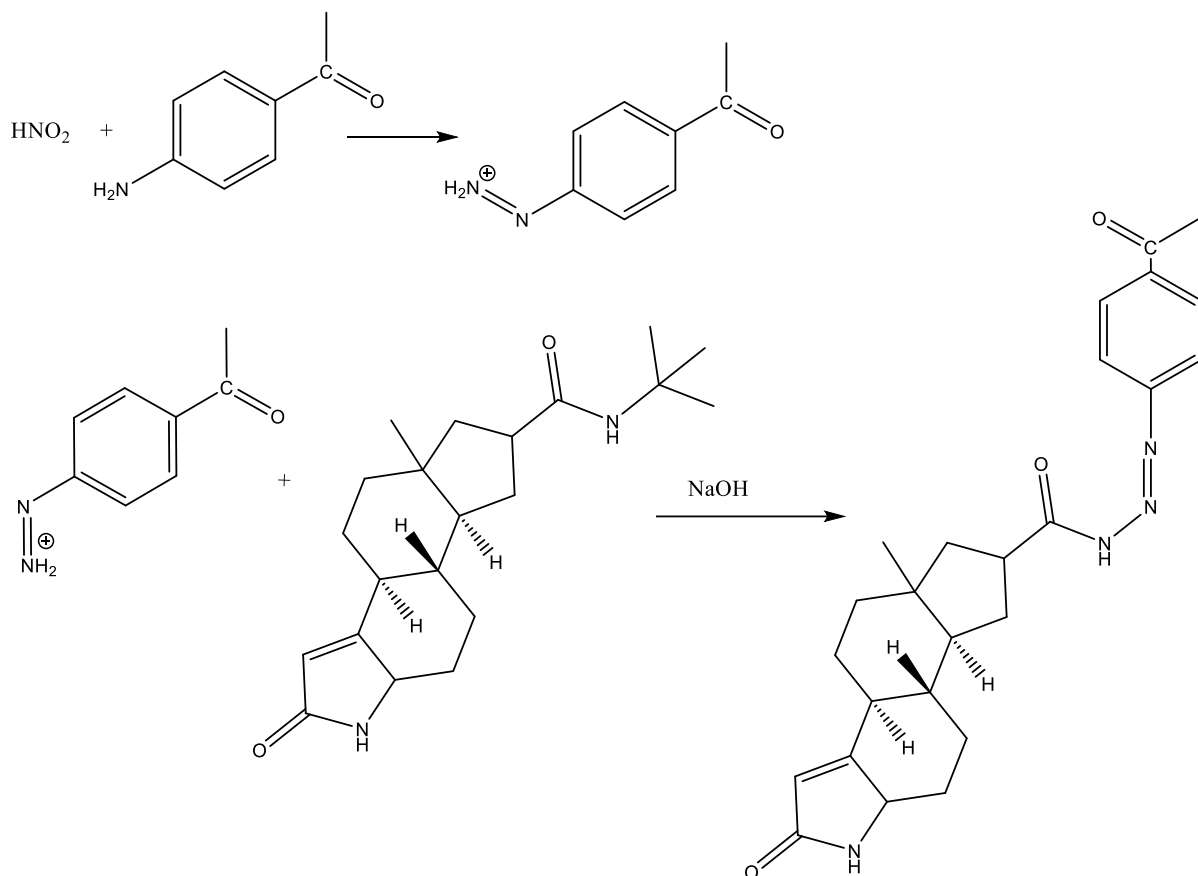
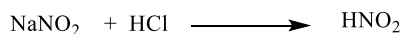
من خلال النتائج التي تم الحصول عليها، تبين أن نسبة الإرتباط بين العقار والامين هي 1:1 على التوالي وهو موضح في الشكل 6.



الشكل 6: نسبة الإرتباط لمعقد الفنيسترايد

ميكانيكية التفاعل

يعتمد التقدير الكمي للفنيسترايد في هذه الدراسة على تكوين مشتق ملون عبر تفاعل الازوته والاقتران وبما ان الفنيسترايد يفتقر للحلقات الاروماتية الغنية بالالكترونات فان التفاعل يسلك مسار الاقتران عبر ذرة النايتروجين N-coupling كما هو موضح في الميكانيكية المقترحة (الخطوة 3) حيث يعمل هيدروكسيد الصديوم NaOH على نزع البروتون من مجموعة الاميد الثانوية في حلقة اللاكتام مما يعزز من قدرتها النيوكليوفيلية في مهاجمة ايون الديازونيوم الموجب المشتق من 4- Aminoacetophenone يؤدي هذا الارتباط إلى تكوين مشتق الترايزين (Triazine derivative) ذو اللون الأصفر المستقر نسبياً تحت الظروف القياسية⁽²⁵⁾، والذي أظهر أقصى امتصاص طيفي عند الطول الموجي 425 نانومتر. شكل 7 ميكانيكية تفاعل اقتران الفنيسترايد مع ملح الديازانيوم .



شكل (7) ميكانيكية التفاعل

تقييم الطريقة المقترحة وفق مبادئ الكيمياء التحليلية الخضراء (GAPI)

تماشياً مع مبادئ الكيمياء التحليلية الخضراء، تم تصميم الطريقة المقترحة بحيث تكون أكثر صداقة للبيئة وأقل استهلاكاً للمواد الكيميائية. إذ استُخدم الماء المقطر كمذيب أساسي بنسبة تصل إلى 80% لتحضير محلول العقار و95% لتحضير الكاشف الأميني، مع استخدام كميات محدودة فقط من الميثانول والإيثانول. كما تعتمد الطريقة على القياس الطيفي باستخدام جهاز UV-Vis، وهو جهاز يتميز بانخفاض استهلاك الطاقة ولا يتطلب خطوات فصل معقدة كما في التقنيات الكروماتوغرافية. ويسهم هذا النهج في تقليل استهلاك المذيبات العضوية والحد من المخلفات الكيميائية الناتجة عن العملية التحليلية مقارنة بالطرق الكروماتوغرافية التي تعتمد على كميات كبيرة من المذيبات العضوية. وبناءً على ذلك، يمكن اعتبار الطريقة المقترحة متوافقة بدرجة جيدة مع مبادئ الكيمياء التحليلية الخضراء، كما تحقق تقييماً إيجابياً وفق مؤشر GAPI (Green Analytical Procedure Index).

مقارنة الخصائص التحليلية للطريقة المقترحة

تمت مقارنة الطريقة الحالية مع طريقة HPLC منشورة. أظهرت النتائج أن الطريقة الحالية تمتلك خطية ممتازة بمعامل ارتباط 0.9994 ضمن مدى 2.5-22.5 مايكروغرام/مل. كما سجلت قيم أقل لكل من LOD مايكروغرام/مل 0.1164 و LOQ مايكروغرام/مل 0.3530 مقارنة بالطريقة الأخرى، مما يدل على حساسية تحليلية أعلى. كذلك أظهرت الطريقة الحالية قيماً مقبولة للاسترجاع (96.6244-101.8987%) مع تكرارية جيدة حيث لم تتجاوز قيمة (0.5268%) RSD، مما يؤكد كفاءة الطريقة في تقدير عقار الفينااسترايد في المستحضرات الصيدلانية. جدول 15 مقارنة الخصائص التحليلية للطريقة المقترحة.

جدول 15: مقارنة الخصائص التحليلية للطريقة المقترحة

Parameters	Current method	Other method ⁽²⁶⁾
Beer's law range (µg/mL)	2.5-22.5	5-50
Correlation coefficient (R ²)	0.9994	0.9991
LOD(µg/mL)	0.1164	0.21
LOQ(µg/mL)	0.3530	0.65
Rec%	96.6244-101.8987%	98.2 % - 100.8%
RSD%	≤0.5268%	1.15% - 1.62 %

الاستنتاجات

تم تطوير طريقة قياس لونية بسيطة ومعتمدة على تفاعل الأزوتة والاقتران لتقدير الفيناستيراييد طيفياً. حيث تم أزوتة 4-أمينوأسيئوفينون (AAP) باستخدام نترت الصوديوم (NaNO₂) بوجود حمض الهيدروكلوريك لتكوين ملح الديازونيوم، ثم تم إقران هذا الملح مع الفيناستيراييد في وسط قاعدي لتكوين صبغة صفراء مستقرة عند الطول الموجي 425 نانومتر. أظهرت الطريقة المقترحة خطية ممتازة ($R^2 = 0.9994$) وحساسية جيدة؛ إذ بلغت حدود الكشف والكم على التوالي 0.1164 و0.3530 مكغم/مل. كما كانت الطريقة دقيقة وموثوقة، إذ تراوحت نسب الاسترجاع بين 96.6244% – 101.8987% مع انخفاض في قيم الانحراف المعياري النسبي (RSD%) بين 0.1111 – 0.5268%. تؤكد هذه النتائج أن الطريقة المقترحة بسيطة ودقيقة وقابلة للتطبيق، وقد أثبتت نجاحها في تقدير الفيناستيراييد في مستحضراته الصيدلانية.

المصادر

- 1- Chen J, Xie X, Liu J, Yu Z, Su W. Revisiting aromatic diazotization and aryl diazonium salts in continuous flow: highlighted research during 2001–2021. *React Chem Eng.* 2022;7:1247–1275.
- 2- Mo F, Qiu D, Zhang L, Wang J. Recent development of aryl diazonium chemistry for the derivatization of aromatic compounds. *Chem Rev.* 2021;121(10):5741–5829.
- 3- Smith J. *Organic Chemistry: Mechanisms and Synthesis.* 7th ed. McGraw Hill; 2024.
- 4- Roberts P, Lewis M. *Modern Derivatization Techniques and Diazotization Methods in UV-Visible Spectrophotometry.* 2nd ed. Amsterdam: Elsevier; 2025.
- 5- Turner R. Optimization of Azo-Coupling Reactions in Modern Microreactors. *Journal of Flow Chemistry.* 2025;15(1):22–35.
- 6- Vashistha VK, Bala R, Sharma K, et al. Derivatizing agents for spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of pharmaceuticals: a review. *J Taibah Univ Sci.* 2023.
- 7- Eltaboni F, Bader N, El-Kailany R, et al. Chemistry and applications of azo dyes: a comprehensive review. *J Chem Rev.* 2022;4(4):313–330.
- 8- Fu J, Wang L, Chen X, et al. Diazotization-driven synthesis of functional dyes and related applications (review). *Dyes Pigments.* 2025.
- 9- Dembitsky VM, Terent'ev AO, Savidov S, et al. Azo dyes and the microbial world: synthesis, breakdown, and bioactivity. *Microbiology Research.* 2025;16(5):100.

- 10-10-Aljamali NM, Hassen HS. Review on Azo-Compounds and Their Applications. *Journal of Catalyst & Catalysis*. 2021;8(2):8–16.
- 11-11-Mohammed H. Synthesis, Identification, and Biological Study for Some Complexes of Azo Dye Having Theophylline. *The Scientific World Journal*. 2021.
- 12-Bhatia S, Gupta R, Singh R. Finasteride: chemistry, synthesis, and pharmacological profile. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2022;12(4):523–535.
- 13-13-British Pharmacopoeia Commission. *British Pharmacopoeia 2023*. London: TSO; 2023.
- 14-Sweetman SC, Blake PS, McGlashan JM, editors. *Martindale: The Complete Drug Reference*. 41st ed. London: Pharmaceutical Press; 2022.
- 15-Irwig MS, Goldberg J, Harris S, et al. Finasteride and dutasteride for the treatment of androgenetic alopecia: a review. *Expert Opinion on Drug Safety*. 2021;20(4):403–415.
- 16-Traish AM, Melcangi RC, Bortolato M, et al. Post-finasteride syndrome: clinical manifestation and pathophysiology. *Journal of Sexual Medicine*. 2022;19(6):849–861.
- 17-El-Sherif ZA, Mohamed AO. Green spectrophotometric determination of finasteride in pharmaceutical dosage forms. *Spectrochimica Acta Part A*. 2023;292:122421.
- 18-18-Srivastava RK, Chauhan AS, Lohumi MK. Enhanced spectrophotometric determination of Finasteride in pharmaceutical formulations using cloud point extraction and Eosin Y as a chromogenic probe. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2025; 15(1): 112-125.
- 19-Vijaya Lakshmi N, Rao GK, Rani BR, Manasa K, Bhavani V. Development and validation of UV spectrophotometric method for the estimation of finasteride in tablets. *Int J Pharma Sci*. 2013;3(1):123–125.
- 20-Abdel-Khalek MM, Hegazy MA. Stability-indicating HPLC method for determination of finasteride in pharmaceutical formulations. *Journal of Chromatographic Science*. 2022;60(7):632–639.
- 21-21-. Rao M, et al. A stability-indicating UPLC method for finasteride and its related impurities. *Chromatographia*. 2024; 123-128.
- 22-Hassan SS, Mahmoud WH. Electrochemical determination of finasteride using modified carbon paste electrode. *Electroanalysis*. 2021;33(10):2405–2413.
- 23-Álvarez-Lueje A, Brain-Isasi S, Núñez-Vergara LJ, Squella JA. Voltammetric reduction of finasteride at mercury electrode and its determination in tablets. *Talanta*. 2008;75(3):691-696.
- 24-International Council for Harmonisation (ICH). *ICH Q2(R1): Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*. Geneva: ICH; 2005.
- 25-Zollinger H. *Diazo Chemistry I: Aromatic and Heteroaromatic Compounds*. Weinheim: VCH; 1994. Section 7.4, Formation of Triazenes; p. 143-156.
- 26-Basavaiah K, Zenita O. Validated HPLC method for the determination of Finasteride in pharmaceutical formulations. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2009;32(10):1452-1465.

Spectrophotometric Determination of Finasteride Using Diazotization and Coupling

Moataz Mahmood Jasim*, Khalaf Fares Atiya

Department of Chemistry, College of Education for Pure Science, University of Samarra, Iraq

Article Information

Received:

Accepted:

Keywords:

*Finasteride (FIN),
nitrogenization and
conjugation,,*

Spectrophotometry,

Pharmaceutical analysis,

Corresponding Author

E-mail:

Mobile:

Abstract

An accurate and sensitive spectroscopic method was developed for the determination of finasteride based on the azo-coupling reaction. 4-Aminoacetophenone was diazotized to form the corresponding diazonium salt, which was subsequently coupled with FIN in the presence of sodium hydroxide. The resulting complex was then heated to 50 °C to produce a yellow-colored azo dye. The absorbance of the product was measured at a wavelength of 425 nm. The reaction conditions were optimized to achieve maximum complex formation. The results indicated that the method exhibited good linearity over the concentration range of 2.5–22.5 µg/mL, with a determination coefficient ($R^2 = 0.9994$). The method showed good sensitivity, with a molar absorptivity of 8829 L·mol⁻¹·cm⁻¹, Sandell's sensitivity of 0.04219 µg/cm², a limit of detection (LOD) of 0.1164 µg/mL, and a limit of quantification (LOQ) of 0.3530 µg/mL. The accuracy and precision of the method were evaluated, and the recovery percentage (Rec%) ranged from 96.6244 to 101.8987%, while the relative standard deviation (RSD%) was less than 0.1111-0.5268%. The proposed method demonstrated high accuracy and sensitivity and was successfully applied to the determination of FIN in pharmaceutical formulations.
