



College of Basic Education Research Journal

<https://berj.uomosul.edu.iq/>



Indirect Spectrofluorimetric Method for Determination of Amlodipine besylate and Atenolol Using Acridine Orange Dye

Anfal A. Mohammed¹

Zeena Z. Al Abdali²

¹ Nineveh Education Directorate, Al-Rihaniyah Al-Jadeeda Intermediate School, Mosul, Iraq.

² University of Mosul, College of Education of Pure Science, Department of Chemistry, Mosul, Iraq.

Article Information

Article history:

Received: June 22, 2025

Reviewer: August 5, 2025

Accepted: August 24, 2025

Available online: June, 2026

Keywords:

Spectrofluorometric,

Amlodipine besylate,

Atenolol,

Acridine orange dye,

N-bromosuccinimide.

Correspondence:

Anfal A. Mohammed

Email:

anf.al.23esp44@student.uomosul.edu.iq

Abstract

A simple and highly sensitive fluorometric method was developed for the indirect determination of the two pharmaceutical compounds, amlodipine besylate and atenolol in pure form and in pharmaceutical tablets. The method was based on the principle of oxidation of the two drug compounds by adding a known excess of the oxidizing agent N-bromosuccinimide (NBS) in hydrochloric acid medium and reacting the remaining amount of the oxidizing agent with acridine orange dye, which was added in a fixed amount, and measuring the fluorescence intensity of the remaining dye at 530 nm with an excitation wavelength of 450 nm. It was found that the fluorescence intensity of the dye increased with increasing concentrations of the amlodipine besylate and atenolol within the range of 0.03-1.2 and 0.05-1.2 $\mu\text{g/ml}$ for each of the two pharmaceutical compounds, respectively. The developed method gave good agreement and accuracy, as the average recovery percentage ranged between 101.06 and 100.15% with a relative standard deviation of less than 2.3 and 3.5% for amlodipine besylate and atenolol, respectively.

التقدير الفلورومتري غير المباشر لببسيلات الأملوديبين والأتينولول باستخدام صبغة الأكريدين البرتقالية

انفال عبد الكريم محمد¹ زينة زهير العبدلي²

¹ مديرية تربية نينوى، متوسطة الريحانية الجديدة، الموصل، العراق.

² جامعة الموصل، كلية التربية للعلوم الصرفة، قسم الكيمياء، الموصل، العراق

المستخلص

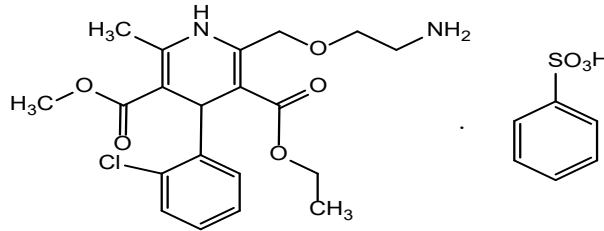
استحدثت طريقة فلورومترية بسيطة وذات حساسية عالية للتقدير غير المباشر للمركبين الدوائيين ببسيلات الأملوديبين والأتينولول بالهيئة النقية وفي الأقرص الدوائية. إعتمدت الطريقة على مبدأ أكسدة المركبين الدوائيين بإضافة زيادة معلومة من العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد (NBS) في وسط حامض الهيدروكلوريك ومفاعلة الكمية المتبقية من العامل المؤكسد مع صبغة الأكريدين البرتقالية والتي تضاف بكمية ثابتة وقياس شدة تفلور ما تبقى من الصبغة عند الطول الموجي 530 نانومتر بطول موجة إثارة 450 نانومتر. وجد أن شدة تفلور الصبغة يزداد بشكل خطي مع زيادة تراكيز ببسيلات الأملوديبين والأتينولول ضمن المدى 0.03-1.2 و 0.05-1.2 مايكروغرام/مللتر لكل من المركبين الدوائيين على التوالي. أعطت الطريقة المطورة توافق ودقة جيدين، إذ تراوح معدل نسبة الاسترجاع بين 101.06 و 100.15% بانحراف قياسي نسبي أقل من 2.3 و 3.5% لببسيلات الأملوديبين والأتينولول على التوالي.

الكلمات المفتاحية: التقدير الفلورومتري، ببسيلات الأملوديبين، الأتينولول، N-بروموسكسينميد، صبغة الأكريدين البرتقالية.

المقدمة

بيسيلات الأملوديبين (Amlodipine besylate)

بيسيلات الأملوديبين هو مشتق أساسي من ثنائي هيدروبيريدين تشير التجارب السريرية قصيرة ومتوسطة المدى إلى فعالية بيسيلات الأملوديبين كعامل مضاد للذبحة الصدرية لدى مرضى الذبحة الصدرية المستقرة، وكعامل خافض لضغط الدم لدى مرضى ارتفاع ضغط الدم الخفيف إلى المتوسط (Burgess and Moisey, 1994). ينتمي بيسيلات الأملوديبين إلى فئة حاصرات قنوات الكالسيوم فهو مضاد قوي للكالسيوم إذ يعمل على تثبيط دخول الكالسيوم إلى خلايا عضلة القلب والأوعية الدموية مما يؤدي إلى توسيع الأوعية الدموية وانخفاض ضغط الدم كما يحسن من تدفق الدم ويقلل الحمل على القلب وقد أثبتت الدراسات أن بيسيلات الأملوديبين موسع للأوعية التاجية والظرفية ذو بداية بطيئة ومدة طويلة التأثير، حتى عند إعطائه عن طريق الحقن الوريدي (Abernethy, 1989) يخفف بيسيلات الأملوديبين من مرض الكبد الدهني غير الكحولي وارتفاع ضغط الدم من خلال تعديل ميكروبات الأمعاء، وقد يمثل عامل علاجي واعد لعلاج هذه الأمراض (Li, et al., 2022). يمتلك بيسيلات الأملوديبين التركيب الكيميائي التالي (British pharmacopeia 2013):



Amlodipine besylate (C₂₀H₂₅ClN₂O₅, C₆H₆O₃S)

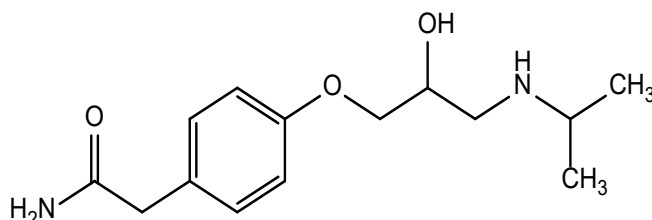
3-ethyl 5-methyl 2-[(2-aminoethoxy) methyl]-4-(2-chlorophenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate benzenesulfonate.

Molar mass=567.1 gm/mole

الأتينولول (Atenolol)

الأتينولول هو دواء من الحاصرات الانتقائية لمستقبلات بيتا 1 يستخدم في المقام الأول لعلاج ارتفاع ضغط الدم وآلام الصدر المرتبطة بالقلب (Gruetter, 2007) والذي يتعارض مع تأثير الأدرينالين على الشرايين والقلب مما يؤدي إلى التقليل من ضربات القلب وانقباض عضلة القلب فيعمل على إنخفاض ضغط الدم وتحسين تروية القلب. لذلك يستخدم في علاج الذبحة الصدرية وارتفاع ضغط الدم

واحتشاء عضلة القلب وعدم إنتظام ضربات القلب (Tomiya and Yamashina, 2014)، إضافة لذلك استخدم في علاج أعراض القلق النفسي (Armstrong and Kapolowicz, 2020)، وعلاج الأورام الوعائية عند الاطفال (Seebauer et al., 2022)، للأتينولول التركيب الكيميائي التالي (British) pharmacopoeia, 2013:



Atenolol (C₁₄H₂₂N₂O₃)

2-[4-[(2RS)-2-Hydroxy-3-[(1-methylethyle) amino] propoxy] phenyl] acetamide

Molar mass=266.3 gm/mole

فُدر المركبين الدوائيين قيد الدراسة باستخدام طرائق تحليلية مختلفة منشورة في الأدبيات العلمية وفيما يلي مراجعة مختصرة لبعض من هذه الطرائق:

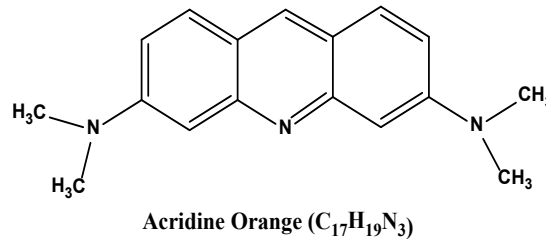
طورت طرائق طيفية لتقدير الأملوديبين وذلك بتفاعله مع حامض السلفانيليك المؤزوت لتكوين صبغة آزوية ملونة في وسط قاعدي (Abdullah, et al., 2024)، كما قدر الاملوديبين بأكسدته بالعامل المؤكسد (برومات البوتاسيوم-بروميدي البوتاسيوم) ومن ثم مفاعلة المتبقي من العامل المؤكسد مع صبغة الكريستال البنفسجي او بتفاعل المركب الدوائي مع كاشف بارا-نايتروانيلين المؤزوت لتكوين صبغة ملونة (Khdadad, et al., 2022)، كذلك قدر باستخدام مطيافية UV وذلك بقياسه بعد إذابته بمزيج من الايثانول-اسيتونتريل عند 360 نانوميتر (Öztürk and Kadioğlu, 2021)، فضلاً عن تقديره فلورومترياً بتكوين معقد التجمع الأيوني وذلك بتفاعله مع صبغة الايوسين Y في وسط محلول الخلات المنظم (Salem, et al., 2023)، وكذلك فُدر كروماتوغرافياً باستخدام تقنية HPLC المقترنة بمطيافية التفلور (Saputri, et al., 2022)، واستخدمت تقنيتي الفولتامترية الحلقية والفولتامترية النبضي التفاضلي في تقدير الأملوديبين (Firouzi, et al., 2021).

وقُدرت كميات مايكروغرامية من الاتينولول بطرائق طيفية منها أكسدته بالسيريوم (IV) ومن ثم مفاعلة المتبقي من العامل المؤكسد مع كاشف البروموبايروكالول الأحمر لتكوين معقد احمر (Saleem, et al., 2022)، او بأكسدته بزيادة معلومة من N-بروموسكسينيد ومفاعلة المتبقي من العامل المؤكسد مع

صبغة المثل الحمراء (Zakaria,et al.,2021) أو الصبغة المتعادلة الحمراء (Khalil and Al) (Abdali, 2024) وقدر الاتينولول ايضاً بتفاعله مع كاشف بروموكريسول الأرجواني لتكوين معقد التجمع الأيوني (Jassim and Khaleel,2022)، كما فُدر فلورومترياً بعد إذابته بهيدروكسيد الصوديوم (El-Waey,et al.,2024)، واستخدمت تقنية RP-HPLC في تقديره (Eswarudu,et al.,2021)، بالإضافة الى تقنيتي فولتامتري الموجة المربعة والفولتامتري الحلقي (Brol,et al.,2021).

صبغة الأكردين البرتقالية وتطبيقاتها

تعد صبغة الأكردين البرتقالية أحد الصبغات المتفلورة والتي استخرجت لأول مرة في نهاية القرن التاسع عشر من قطران الفحم. استخدمت هذه الصبغة لتلوين الأقمشة في صناعة النسيج لفترة من الزمن بالإضافة الى تطبيقاتها البيولوجية وتعتبر صبغة ذات قاعدية ضعيفة ووزن جزيئي منخفض (Byvaltsev, et al.,2019). تتميز الأكردين البرتقالية بنفاذيتها العالية للخلية لذلك تم استخدامها في تحديد الاحماض النووية، اذ تصدر تفلوراً أخضر عند ارتباطها بالحامض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين (DNA) او تفلوراً برتقالياً عند ارتباطها بالحامض النووي الريبوزي (RNA) ومع ذلك يختلف هذا السلوك اختلافاً كبيراً في الخلايا الحية والخلايا الميتة (Darzynkiewicz, 1990)، كما أن تراكم الصبغة بشكل جسيمات الأكردين البرتقالية تتوافق مع حيوية الخلايا في حين أن ظهور الإحمرار السيتوبلازمي يرتبط بموت الخلايا (Robbins and Marcus,1963). تمتلك صبغة الأكردين البرتقالية التركيب الكيميائي التالي (Putnin,et al.,2025) :



3-N,3-N,6-N,6-N-Tetramethylacridine-3,6-diamine

Molar mass= 265.360 gm/mole

استعملت صبغة الأكردين البرتقالية في تلوين خلايا الدم الحمراء إذ تكون محاطة بالصبغة مما يعطيها لمعان أخضر، و تبقى الأجزاء الحاوية على تركيز عالي من الهيموكلوبين ذات لون داكن بينما يتألق مركز الخلية بسبب احتوائه على كمية منخفضة من الهيموكلوبين وبالتالي يمكن معرفة عدد كريات الدم الحمراء وتفاوت عددها ودرجة نقص تصبغ الدم وبالتالي يمكن الكشف عن طفيليات الملاريا في

كريات الدم الحمراء حيث انها تظهر بشكل حلقات أو شوائب غير منتظمة الشكل ذات لون أخضر والتميز بينها وبين المادة الشبكية في كريات الدم الحمراء والتي تظهر تفلوراً أحمر (Jahanmehr,et al.,1987). ونظراً لخصائصها التفلورية العالية فقد استخدمت في التشخيص العلاجي للسرطانات والتصوير الجراحي الموجه بالفلورة (Byvaltsev et al., 2019).

كما استخدمت صبغة الأكردين في تقدير عدد من المركبات بطرائق تحليلية مختلفة ومنها استخدامها في تقدير المادة الخافضة للشد السطحي sodium dodecyl sulphate (SDS) في مياه الصرف الصحي وذلك بتكوينه معقد التجمع الأيوني مع الصبغة والذي يقاس أقصى امتصاص له بعد استخلاصه بالتولوين عند 467 نانوميتر. كانت الطريقة خطية ضمن المدى 0-6 مايكروغرام/ملتر من SDS (Adak, et al., 2005).

واستخدمت أيضاً في تقدير كاربوكسي مثيل سليلوز الصوديوم (NaCMC) الذي يتفكك في أوساط متعادلة الى قاعدية ضعيفة مكوناً أنيون بوليميراً كبيراً والذي يتفاعل مع الصبغة لتكوين معقد التجمع الأيوني غير المتفلور مما يؤدي إلى إخماد تفلور الصبغة والذي يتناسب مع تركيز NaCMC المقاس عند 530 نانوميتر بطول موجة إثارة 493 نانوميتر. تم تقدير المركب ضمن المدى الخطي 20-7000 مايكروغرام/لتر بحد كشف 157.2 مايكروغرام/لتر (Liu, et al.,2005).

الأجهزة العلمية المستخدمة

استخدم جهاز التفلور من نوع Shimadzu RF-5301 PC- Spectrofluorophotometer المجهر بمصباح زينون (Xenon lamp) واستخدمت خلية من الكوارتز شفافة من الجهات الأربعة ذات سمك 1.0 سم، وميزان حساس نوع KERN ABS- Germany، ولإتمام الإذابة تم استخدام جهاز Ultrasonic Cleaner للرج بالموجات فوق الصوتية نوع Power Sonic من شركة Lab Tech-Korea، كما تم استخدام حمام مائي للتسخين نوع BS-11 من شركة Lab Companion - Korea.

الكواشف والمواد الكيميائية المستخدمة

استخدمت كواشف و مواد كيميائية عالية النقاوة.

محلول بيسيلات الأملوديين (10 مايكروغرام/ملتر)

تم أولاً تحضير محلول بتركيز 100 مايكروغرام/ ملتر بإذابة 0.01 غرام من المركب الدوائي بصيغته النقية في 2 ملتر من الإيثانول المطلق ثم نقل الى قنينة حجمية سعة 100 ملتر وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة ووضعت القنينة الحجمية في جهاز الرج بالموجات فوق الصوتية لمدة 5 دقائق لضمان الإذابة التامة ثم حُضِر منه محلول بتركيز 10 مايكروغرام/ ملتر وذلك بأخذ 10 ملتر من المحلول الأول وتخفيفه بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 ملتر لاستخدامه في التجارب اللاحقة.

محلول الأئينولول (10 مايكروغرام/ملتر)

حُضِر المحلول بوزن 0.01 غرام من المركب الدوائي بهيئته النقية وذلك بإذابته في 2 ملتر من الإيثانول المطلق في بيكر ثم نقل الى قنينة حجمية سعة 100 ملتر وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة ولضمان الإذابة التامة للمحلول تم وضعه بجهاز الرج بالموجات فوق الصوتية لمدة 5 دقائق وحُضِر منه بالتخفيف 10 مايكروغرام/ملتر والذي تم إعماده في التجارب اللاحقة.

محلول صبغة الأكريدين البرتقالية (50 مايكروغرام/ملتر)

حُضِر هذا المحلول بإذابة 0.01 غرام من الصبغة في الماء المقطر في قنينة حجمية سعة 200 ملتر وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة ثم وضع في جهاز الرج بالموجات فوق الصوتية لمدة 5 دقائق لضمان الإذابة التامة، ونقل المحلول الى قنينة معتمة وتم حفظه في الثلاجة.

محلول N-بروموسكسينيميد (50 مايكروغرام/ملتر)

حُضِر هذا المحلول بوزن 0.01 غرام من العامل المؤكسد وإذابته في قليل من الماء المقطر ثم نقل الى قنينة حجمية سعة 200 ملتر وأكمل الحجم الى حد العلامة باستخدام نفس المذيب ثم وضع في جهاز الرج بالموجات فوق الصوتية لمدة 5 دقائق للتأكد من الإذابة التامة.

محلول حامض الهيدروكلوريك (0.1 و 0.5 مولاري)

حُضِر أولاً محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1.0 مولاري وذلك بتخفيف 8.3 ملتر من الحامض المركز (12.06 مولاري) الى 100 ملتر في قنينة حجمية، ثم حُضِر منه بالتخفيف محلولين بتراكيز 0.1 و 0.5 مولاري واللذان تم استخدامهما في التجارب اللاحقة.

تحليل أقراص بيسيلات الأملوديبين

وزن 10 أقراص بدقة من كل مستحضر دوائي لبيسيلات الأملوديبين (يحتوي القرص الواحد على 5 ملغرام) ثم طُحنت ومزجت جيداً ووزن منها ما يكافئ 10 ملغرام وأُذيبت بإضافة 2 ملتر من الإيثانول المطلق في بيكر ثم نقلت الى قنينة حجمية سعة 100 ملتر وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة كما وضع المحلول في جهاز الرج بالموجات فوق الصوتية لمدة 5 دقائق لإتمام الإذابة ثم رُشح المحلول (100 مايكروغرام/ملتر) وحُضر منه محلول بتركيز 10 مايكروغرام/ملتر بالتخفيف وأُخذ من المحلول الأخير حجوم مختلفة للحصول على التراكيز (0.4 و 0.6 و 1.0 و 1.1 مايكروغرام/ملتر) وعوملت وفق الطريقة الموصوفة و تم إيجاد تركيز بيسيلات الأملوديبين في القرص الواحد في المستحضر الدوائي باستخدام المنحنى القياسي وثُبتت النتائج في الجدول (8).

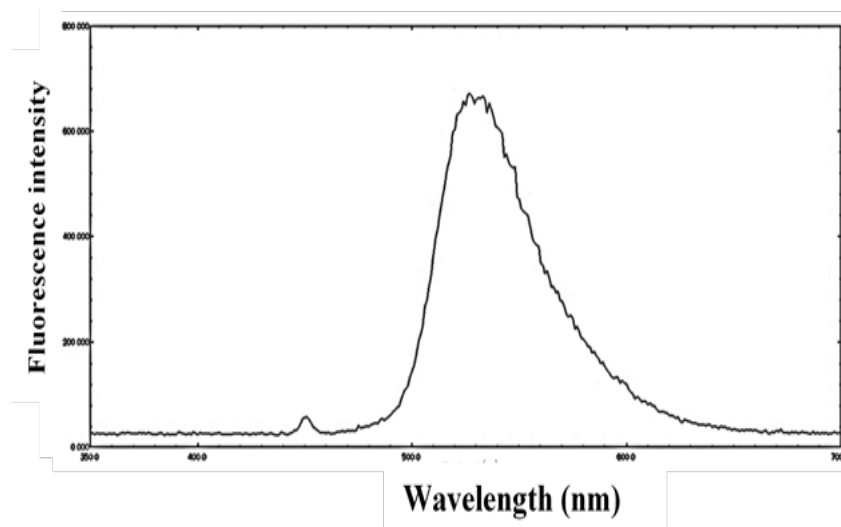
تحليل أقراص الأتينولول

وزن بدقة 10 أقراص من كل مستحضر دوائي للاتينولول (يحتوي القرص الواحد على 100ملغرام) أُخذت هذه الأقراص وطُحنت ومُزجت بشكل جيد ووزن من هذا المسحوق ما يكافئ 10 ملغرام، وأُذيب باستخدام 2 ملتر من الإيثانول المطلق وبعد إكمال الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 ملتر وضع المحلول في جهاز الرج بالموجات فوق الصوتية لمدة 5 دقائق لإتمام الإذابة ثم رُشح المحلول والذي كان بتركيز 100 مايكروغرام/ملتر وحُضر منه محلول بتركيز 10 مايكروغرام/ملتر بالتخفيف ثم أُخذ منه حجوم مختلفة والتي كانت بتركيز (0.4 و 0.6 و 1.0 و 1.1 مايكروغرام/ملتر) وعوملت وفق طريقة العمل التي تم إتمامها ووجد تركيز الأتينولول في القرص الواحد من المستحضر الدوائي باستخدام المنحنى القياسي بالهيئة النقية وثُبتت النتائج في الجدول (8).

الدراسة التمهيدية وطيف امتصاص صبغة الأكريدين البرتقالي

لتطوير طريقة فلورومترية غير مباشرة حساسة وبسيطة لتقدير بيسيلات الأملوديبين والأتينولول أُجريت تجارب أولية لبيان إمكانية استخدام صبغة الأكريدين في التقدير الفلورومتري غير المباشر لهذين المركبين الدوائيين حيث تم أولاً دراسة أطيف الإثارة والإنبعاث التفلوري للصبغة في وسط حامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.5 مولاري عند أطوال موجية ضمن المدى (350-700 نانوميتر)، ووجد أن

الصبغة تعطي أقصى شدة إنبعاث عند 530 نانومتر بطول موجة إثارة عند 450 نانومتر وكما موضح في الشكل (1).



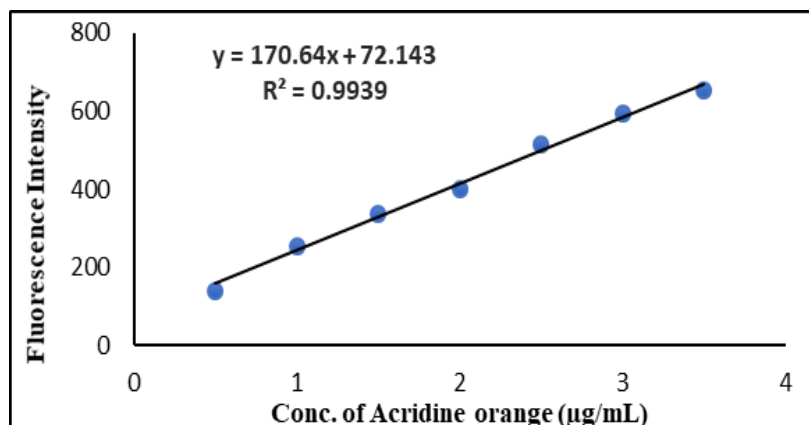
الشكل (1) طيفي الإثارة والإنبعاث لصبغة الأكريدين

كما وجد تجريبياً حدوث أكسدة كمية وإخماد لتفلور صبغة الأكريدين عند إضافة كميات مايكروغرامية من محلول العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد في وسط حامض الهيدروكلوريك و بالإعتماد على هذه الخاصية تُرس إمكانية التقدير الفلورومتري غير المباشر للمركبين الدوائيين بيسيلات الأملوديبين و الأتينولول، حيث تم مفاعلة كميات مايكروغرامية من كل مركب دوائي آنف الذكر في قناني حجمية سعة 10 ملتر مع الكمية المحسوبة من العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد وفي وسط حامض الهيدروكلوريك اتبعها إضافة الكمية الثابتة من صبغة الأكريدين و أكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة ، وقيست شدة تفلور الصبغة عند طول موجة 530 نانومتر بطول موجة إثارة 450 نانومتر، وبينت النتائج حدوث زيادة خطية في شدة تفلور صبغة الأكريدين بزيادة تركيز المركب الدوائي، وهذا يشير الى إمكانية استخدام صبغة الأكريدين في تقدير المركبين الدوائيين قيد الدراسة.

ضبط الظروف المثلى لتقدير المركبين الدوائيين

دراسة كمية صبغة الأكريدين البرتقالية

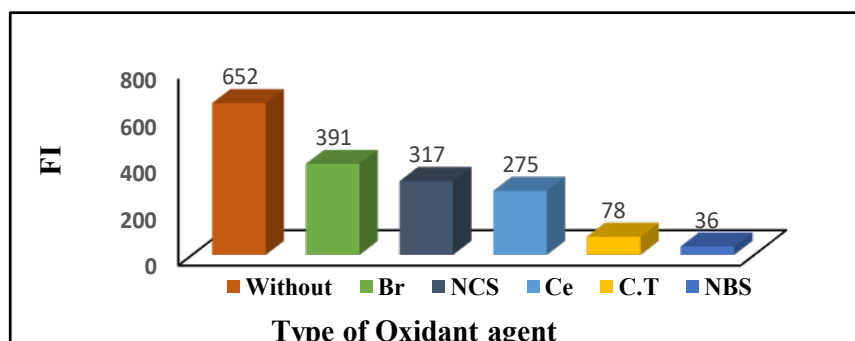
لغرض إيجاد الكمية المثلى من صبغة الأكريدين البرتقالية التي يمكن استعمالها في تقدير المركبين الدوائيين، تم إضافة حجوم متزايدة (ملترات) من محلول الصبغة بتركيز 50 مايكروغرام/ملتر اتبعها إضافة 1.0 ملتر من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.5 مولاري في قنارٍ حجمية سعة 10 ملتر وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة، وبعد قياس شدة التفلور للمحاليل وإدراجها في الشكل (2) تبين أن مدى التركيز الخطي لصبغة الأكريدين البرتقالية هو 0.5-3.5 مايكروغرام/ملتر ولذلك ثبت التركيز 3.5 مايكروغرام/ملتر (0.7 ملتر) لاعتماده في الدراسات اللاحقة.



الشكل (2) المنحنى القياسي لصبغة الأكريدين البرتقالية

إختيار العامل المؤكسد المناسب لقصر صبغة الأكريدين البرتقالية

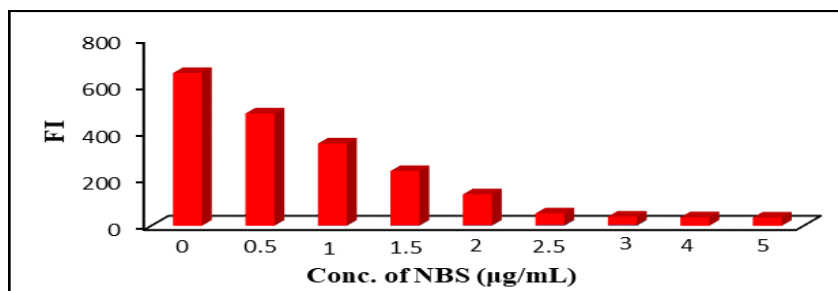
أُجريت هذه الدراسة لإختيار العامل المؤكسد المناسب لقصر صبغة الأكريدين البرتقالية إذ تم إضافة 1.0 ملتر من كل عامل مؤكسد بتركيز 50 مايكروغرام/ملتر والموضحة في الشكل (3) الى الكمية المثلى من صبغة الأكريدين البرتقالية (3.5 مايكروغرام/ملتر) في وسط حامض الهيدروكلوريك ثم تركت المحاليل لمدة 10 دقائق وبعد التخفيف بالماء المقطر الى حد العلامة وقياس شدة تفلور المحاليل تبين أن العامل المؤكسد N-بروموسكسينيميد كان الأفضل في قصر الصبغة لذلك تم إعماده في الدراسات اللاحقة.



الشكل (3) إختيار العامل المؤكسد المناسب لقصر صبغة الأكردين البرتقالية

تأثير كمية العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد في قصر صبغة الأكردين البرتقالية

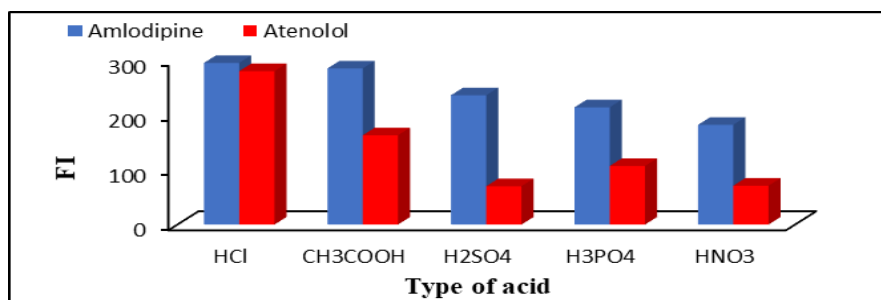
لتحديد الكمية اللازمة من العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد لقصر (3.5 مايكروغرام/ملتر) من صبغة الأكردين البرتقالية، تم مفاعلة حجوم متزايدة من العامل المؤكسد بتركيز 50 مايكروغرام/ملتر مع الصبغة في وسط حامض الهيدروكلوريك (0.5 مولاري) وتركت المحاليل لمدة 10 دقائق ثم خففت بالماء المقطر الى حد العلامة وبعد قياس شدة التفلور وإدراجها في الشكل (4) تبين أن الحجم 0.6 ملتر (3 مايكروغرام/ملتر) هي الكمية اللازمة لقصر الصبغة وإخماد تفلورها إلى أقل ما يمكن، لذلك تم إعتقاد هذه الكمية في التجارب اللاحقة.



الشكل (4) إختيار الكمية المثلى من العامل المؤكسد

إختيار الحامض

دُرس تأثير حوامض مختلفة على أكسدة صبغة الأكردين البرتقالية والمركبين الدوائيين قيد الدراسة بواسطة العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد، إذ تم إضافة 1.0 ملتر من كل حامض بتركيز 0.5 مولاري الى 1.0 ملتر من المركبين الدوائيين ببسيلات الأملوديبين والأتينولول كلاً على جِدة اتبعها إضافة الكمية المثلى من العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد وبعد ترك المحاليل لمدة 10 دقائق في درجة حرارة المختبر تم إضافة 0.7 ملتر من الصبغة وقياس التفلور وأدرجت النتائج في الشكل (5) والذي يوضح أن حامض الهيدروكلوريك كان الأفضل لإعطائه أعلى شدة تفلور.



الشكل (5) اختيار الحامض المناسب في تقدير المركبين الدوائيين

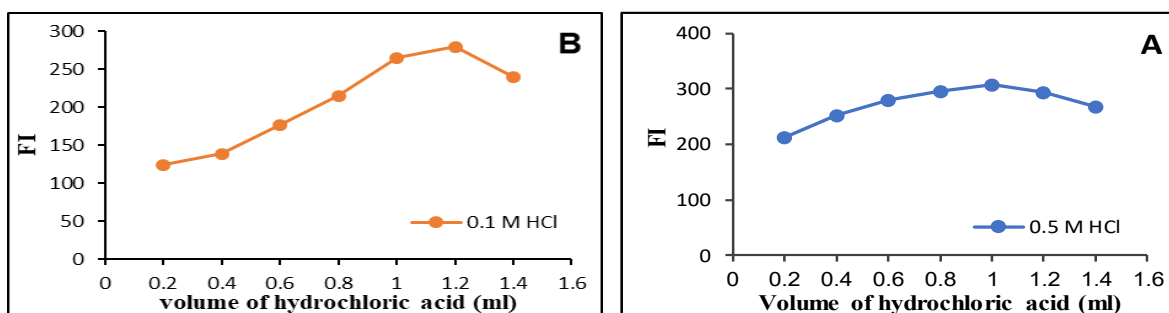
تأثير كمية حامض الهيدروكلوريك

لإيجاد أفضل تركيز من حامض الهيدروكلوريك، أُضيف 1.0 ملتر من الحامض بتركيز تراوحت بين (0.05-5.0 مولاري) وثبتت النتائج العملية المستحصل عليها في الجدول (1) والذي يوضح أن التراكيز المثلى من الحامض هي 0.5 مولاري لبسيلات الأملوديبيين و 0.1 مولاري للأتينولول.

الجدول (1) تأثير تركيز حامض الهيدروكلوريك في تقدير المركبين الدوائيين

Drug	Flourocene intensity / Conc. of Hydrochloric acid (M)							
	0.05	0.1	0.5	1	2	3	4	5
Amlodipine besylate	190	235	295	211	194	109	69	41
Atenolol	268	298	270	171	98	45	65	26

كما دُرِس تأثير حجوم متزايدة من كل تركيز من حامض الهيدروكلوريك (0.2-1.4 ملتر) على حساسية الطريقة وبينت النتائج الموثقة في الشكل (6) أن 1.0 ملتر بتركيز 0.5 و 1.2 ملتر بتركيز 0.1 مولاري من حامض الهيدروكلوريك هما الحجمان الأمثلان في تقدير بيسيلات الأملوديبيين والأتينولول على التوالي.



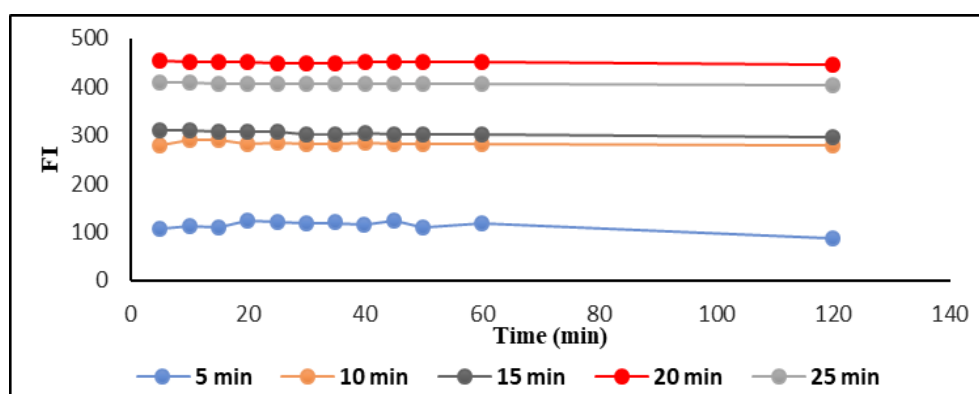
الشكل (6) تأثير حجم حامض الهيدروكلوريك عند تقدير (A) بيسيلات الأملوديبيين (B) الأتينولول

تأثير الزمن في أكسدة المركبين الدوائيين قيد الدراسة

لتحديد الفترة الزمنية المناسبة لأكسدة بيسيلات الأملوديبين والأتينولول ودراسة أكسدة صبغة الأكريدين البرتقالية، تم مفاعلة 1.0 مايكروغرام/ملتر من كل مركب دوائي مع الكمية المثلثة من العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد (3 مايكروغرام/ملتر) في وسط حامض الهيدروكلوريك بأزمنة مختلفة مع الرج اتباعها إضافة صبغة الأكريدين البرتقالية (3.5 مايكروغرام/ملتر) وبعد التخفيف بالماء المقطر قيست الإنبعاثات بأزمنة مختلفة وأشارت النتائج المدرجة في الجدول (2) والشكل (7) أن بيسيلات الأملوديبين احتاج 25 دقيقة لأكسدته و أن 20 دقيقة كانت كافية لأكسدة الأتينولول قبل إضافة الصبغة و 5 دقائق كافية لأكسدة الصبغة ويبقى التفاعل مستقرًا لمدة 24 ساعة.

الجدول (2) تأثير الزمن في أكسدة المركب الدوائي بيسيلات الأملوديبين

Standing time before adding Acridine orange & dilution (min)	FI /Standing time after adding Acridine orange & dilution (min)											
	5	10	15	20	25	30	35	40	50	60	120	Over Night
5	175	175	176	174	173	175	175	175	172	170	166	158
10	285	285	285	283	287	285	284	283	281	280	278	272
15	303	324	328	330	328	326	329	329	325	322	318	310
20	348	350	352	353	350	353	353	352	350	351	348	335
25	422	423	424	424	425	425	425	426	424	424	421	415
30	363	356	358	358	356	357	355	355	357	357	350	347



الشكل (7) تأثير الزمن في أكسدة المركب الدوائي الأتينولول

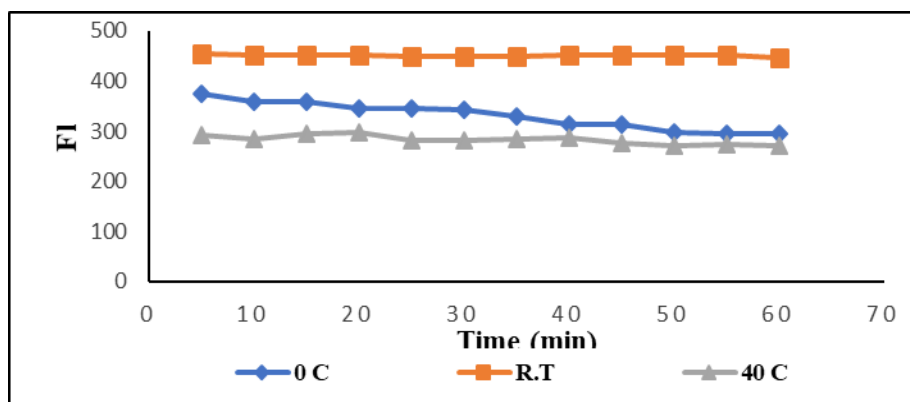
تأثير درجة الحرارة على أكسدة المركبين الدوائيين قيد الدراسة

تم دراسة تأثير درجات حرارية مختلفة (0-40 م) على تفاعل تقدير المركبين الدوائيين قيد الدراسة وبعد تثبيت الظروف المثلى المستحصل عليها في التجارب السابقة بينت النتائج المُدرجة في الجدول (3) والشكل (8) أن درجة حرارة المختبر (27 ± 2 م) هي الدرجة الحرارية المثلى للتقدير إذ تم الحصول على أعلى شدة تفلور لكلا المركبين الدوائيين قيد الدراسة.

الجدول (3) تأثير درجة الحرارة في استقرارية صبغة الأكريدين البرتقالية عند تقدير 1.0 مايكروغرام/ملتر من بيسيلات الأملوديبين

Temp. (°C)	Fluorescence Intensity / Min standing time											
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
0 °C	281	340	351	347	354	358	350	361	361	360	364	362
R.T*	422	423	424	424	425	425	425	426	425	424	424	424
40 °C	368	366	363	360	363	360	362	361	347	350	347	350

R.T*= 27 ± 2



الشكل (8) تأثير درجة الحرارة في استقرارية صبغة الأكريدين البرتقالية عند تقدير 1.0 مايكروغرام/ملتر من الأتينولول

تسلسل الإضافة

أُجريت هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير التغير في تسلسل إضافة المركبات الداخلة في تفاعل تقدير بيسيلات الأملوديبين والأتينولول على شدة تفلور الصبغة وأظهرت النتائج المُدرجة في الجدول (4) أن التسلسل I هو الأمثل إذ أعطى أعلى شدة تفلور وان أي تغيير في هذا التسلسل له تأثير سلبي على التفاعل.

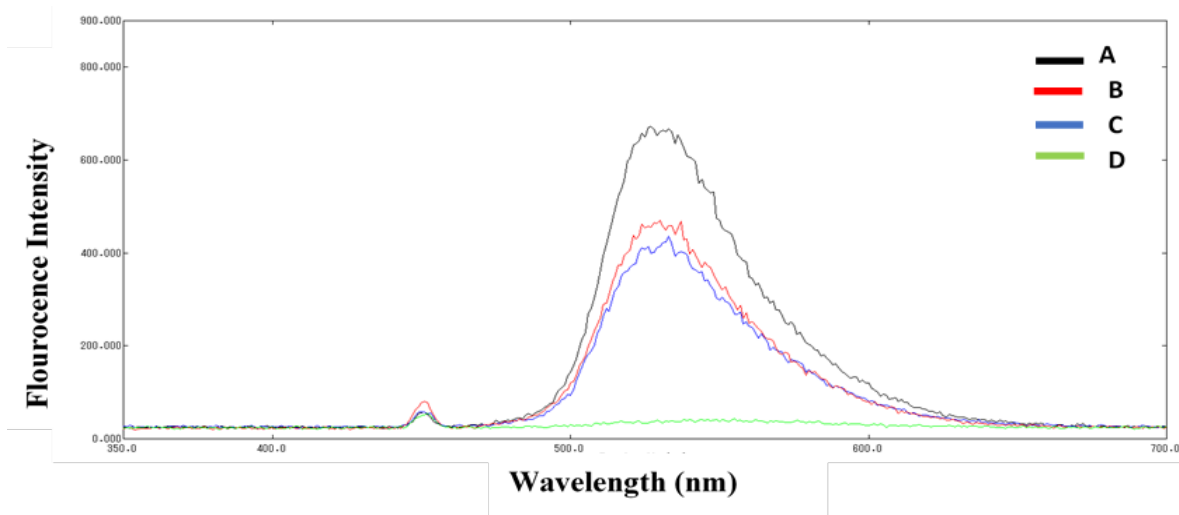
المركب الدوائي (S) + حامض الهيدروكلوريك (A) + العامل المؤكسد (NBS) + صبغة الأكردين البرتقالية (A.O).

الجدول (4) تأثير تسلسل الإضافة عند تقدير بيسيلات الأملوديبين والأتينولول

Order number	Reaction components	FI	
		Amlodipine	Atenolol
I	S+A+NBS+A.O	422	488
II	A+S+NBS+A.O	336	342
III	NBS+A+S+A.O	337	328
IV	S+NBS+A+A.O	359	360
V	S+NBS+A.O+A	366	160

طيفي الإثارة والانبعاث النهائي

تم رسم أطيف الإثارة والانبعاث لصبغة الأكردين البرتقالية في وسط حامض الهيدروكلوريك وبوجود المركبين الدوائيين قيد الدراسة والعامل المؤكسد N-بروموسكسينميد بعد تثبيت الظروف المثلى للتفاعل، إذ يوضح الشكل (9) أن الصبغة أعطت أعلى شدة تفلور عند 530 نانومتر بطول موجة إثارة 450 نانومتر وأن المحلول الصوري أعطى تفلوراً ضعيفاً في منطقة انبعاث الصبغة.



الشكل (9) أطيف الإثارة والانبعاث النهائية: (A) صبغة الأكردين البرتقالية في وسط حامض الهيدروكلوريك. (B) وجود 1.0 مايكروغرام/ملتر من الأتينولول. (C) وجود 1.0 مايكروغرام/ملتر من بيسيلات الأملوديبين. (D) المحلول الصوري.

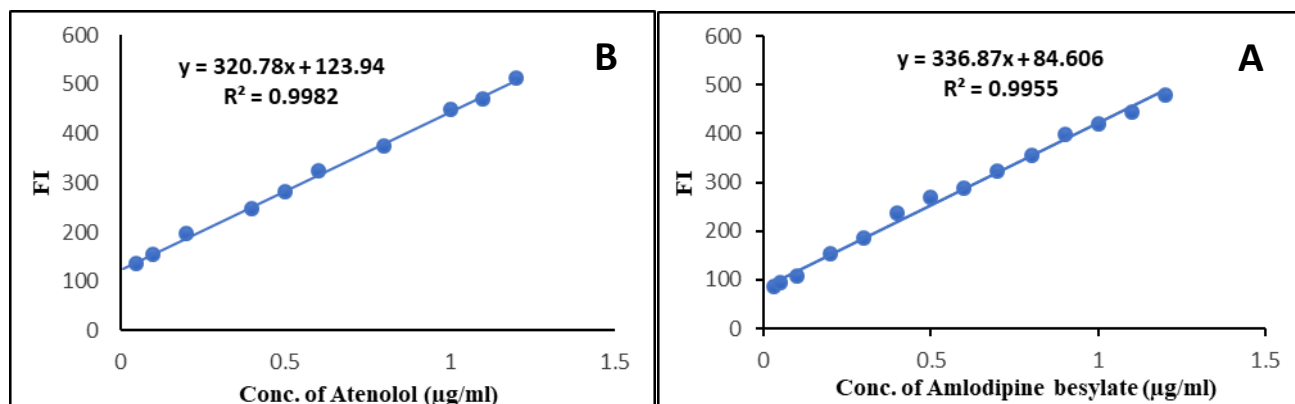
طريقة العمل والمنحنيان القياسيان لتقدير بيسيلات الأملوديبين والأتينولول

حُضر المنحنيين القياسيين للمركبين الدوائيين قيد الدراسة بعد إتباع الظروف المثلى على وفق الطريقة الآتية:

أضيفت حجوم متزايدة (ملترات) من المحاليل القياسية بتركيز 10 مايكروغرام/ملتر لكل من بيسيلات الأملوديبين والأتينولول لتغطية مدى التراكيز الموضحة في الجدول (5) اتبعها إضافة حامض الهيدروكلوريك (1.0 ملتر بتركيز 0.5 مولاري) عند تقدير بيسيلات الأملوديبين و(1.2 ملتر بتركيز 0.1 مولاري) عند تقدير الأتينولول يليه إضافة كمية ثابتة (0.6 ملتر بتركيز 50 مايكروغرام/ملتر) من محلول العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد ثم تركت المحاليل لمدة 25 دقيقة لبيسيلات الأملوديبين و 20 دقيقة للأتينولول مع الرج بدرجة حرارة المختبر في قنّانٍ حجمية سعة 10 ملتر ثم أُضيف 0.7 ملتر من محلول صبغة الأكردين البرتقالية بتركيز 50 مايكروغرام/ملتر وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة وقيست شدة التفلور عند 530 نانوميتر بطول موجة إثارة 450 نانوميتر بعد 5 دقائق من التخفيف.

ومن خلال رسم شدة تفلور المحاليل مقابل التركيز تم الحصول على المنحنيين القياسيين للمركبين الدوائيين وكما موضح في الشكل (10) والتي تشير إلى أن العلاقة بين شدة التفلور والتراكيز كانت خطية ضمن المديات الموضحة في الجدول (5)، كما تدل قيم معامل التقدير إحصائياً والتي كانت 0.9955 و 0.9982 للمركبين الدوائيين على التوالي أن المنحنيين القياسيين يمتلكان مواصفات خطية ممتازة. وتم احتساب قيم LOD و LOQ بتطبيق القانونين أدناه لعشرة مكررات من المحلول الصوري.

$$LOD = \frac{3\sigma B}{s}, \quad LOQ = \frac{10\sigma B}{s}$$



الشكل (10) المنحنيان القياسيان للمركبين الدوائيين: (A) بيسيلات الأملوديبين، (B) الأتينولول

الجدول (5) القيم التحليلية للمعالجات الإحصائية وحدود الكشف والتقدير الكمي للمركبين الدوائيين قيد الدراسة

Parameters	Drug	
	Amlodipine besylate	Atenolol
Linearity range ($\mu\text{g/ml}$)	0.03-1.2	0.05-1.2
Slope	336.87	320.78
Intercept	84.606	123.94
Coefficient of determination (R^2)	0.9955	0.9982
LOD ($\mu\text{g/ml}$)	0.0103	0.0088
LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	0.034	0.0295

دقة وتوافق الطريقة المقترحة

لمعرفة مدى دقة الطريقة وتوافقها حُسبت نسبة الاسترجاع والانحراف القياسي النسبي لثلاث تراكيز مختلفة باستخدام خمس مكررات لكل تركيز ولكل مركب دوائي، إذ استدل من النتائج المثبتة في الجدول (6) أن الطريقة المقترحة جيدة من حيث الدقة والتوافق.

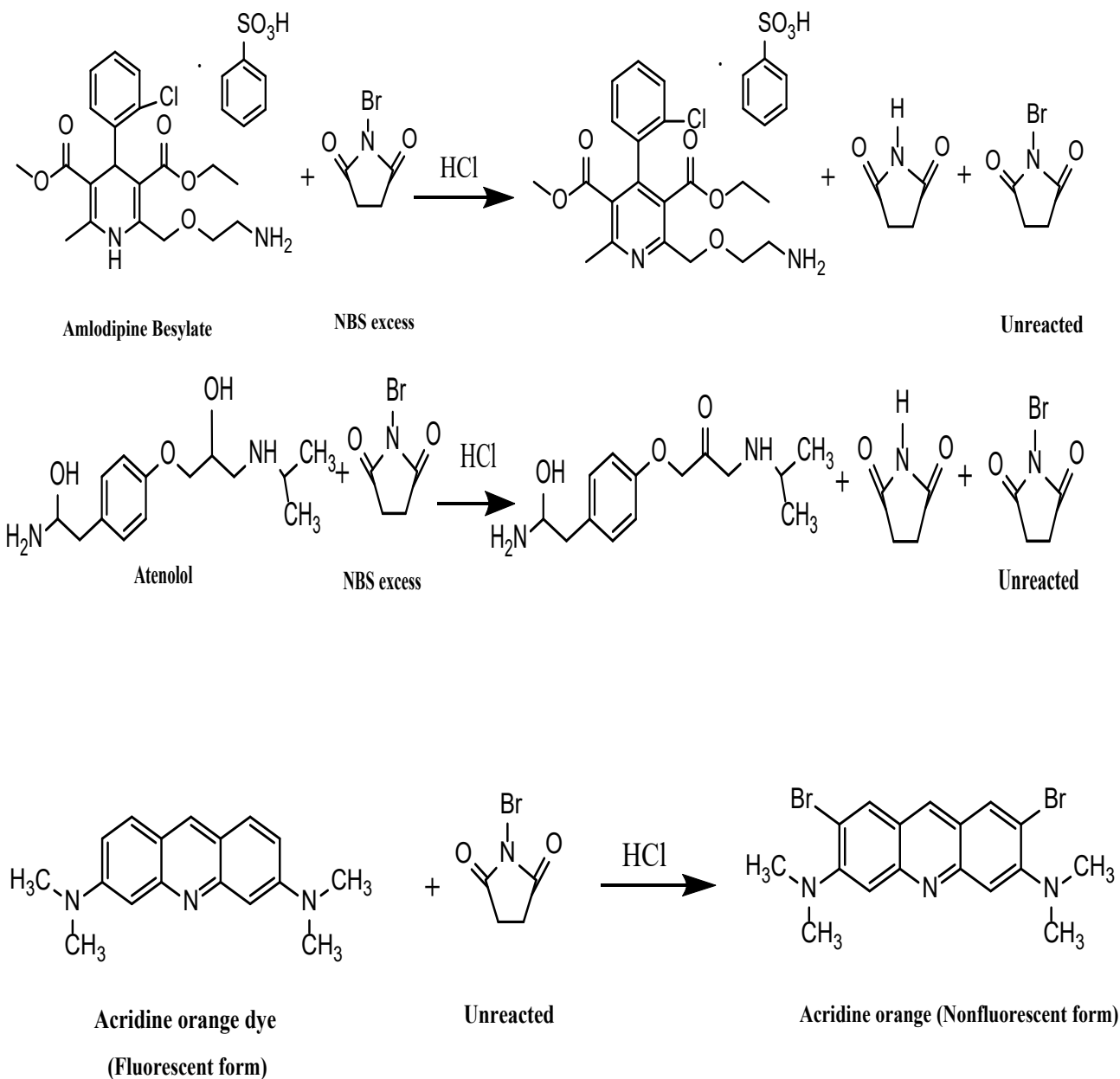
الجدول (6) دقة الطريقة وتوافقها لتقدير المركبين الدوائيين

Drug	Conc. of drug ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (%)	Recovery average (%)	RSD (%)
Amlodipine besylate	0.4	101.36	101.06	1.708
	0.6	102.29		2.221
	1.0	99.52		0.913
Atenolol	0.4	99.91	100.15	3.509
	0.6	102.09		1.992
	1.0	98.44		1.466

التفاعل الكيميائي المقترح

يعد N- بروموسكسينميد عاملاً مؤكسداً وكاشف برومة للمركبات العضوية الأروماتية (Altaee, 2023; and Al-Hammoodi, 2021; Zakaria, et al., 2021) لذلك تم افتراض حدوث تفاعل أكسدة لبيسيلات الأملوديبين والأتينولول في وسط حامض الهيدروكلوريك عند إضافة الكمية المتلى من العامل المؤكسد N- بروموسكسينميد وحدث تفاعل برومة لصبغة الأكريدين البرتقالية بالكمية المتبقية من العامل

المؤكسد مؤدياً الى إخماد تفلورها وقياس شدة الإنبعاث عند 530 نانوميتر، وميكانيكية التفاعل الكيميائي المقترحة موضحة في المخطط (1).



المخطط (1) ميكانيكية التفاعل الكيميائي المقترح

تطبيق الطريقة المقترحة على المستحضرات الصيدلانية

تم تطبيق الطريقة المقترحة لتقدير المركبين الدوائيين بيسيلات الأملوديبين والأتينولول في مستحضراتهما الصيدلانية والتي كانت بشكل أقراص والمصنعة من مناشئ مختلفة كما موضحة في الجدول (7).

الجدول (7) المستحضرات الصيدلانية ومناشئها

Pharmaceutical preparation	Declared composition	Company
Amlodipine besylate		
Lofral	Per tablet: 5mg Amlodipine	Acino Switzerland
accord	Per tablet: 5mg Amlodipine	Accord UK
Atenolol		
NOVATEN-100 Ajanta-India	Per tablet: 100mg Atenolol	Ajanta India
Atenolol-Bristol Nevada-USA	Per tablet: 100mg Atenolol	Bristol USA

تقييم نتائج الطريقة المقترحة بتطبيق اختبار t- (Skoog,et al., 2004)

استخدم اختبار t- لفحص دقة الطريقة المقترحة إذ تم إيجاد قيم t_{exp} لبيسيلات الأملوديبين والأتينولول في مستحضراتهما الصيدلانية باستخدام المعادلة المذكورة أدناه، وأدرجت النتائج في الجدول (8).

$$t_{exp} = |\mu - \bar{X}| \frac{\sqrt{n}}{s}$$

الجدول (8) تقدير المركبات الدوائية قيد الدراسة في مستحضراتها الصيدلانية باستخدام الطريقة المقترحة

Drug	Pharmaceutical preparation	Certified value (mg)	Amount present ($\mu\text{g/ml}$)	Drug content found (mg)	Recovery* (%)	Recovery average (%)	t-test**
Amlodipine besylate	Lofral	5	0.4	5	100	102	2.34
			0.6	5.10	102		
			1.0	5.16	103.2		
			1.1	5.14	102.8		
	accord	5	0.4	4.93	98.6	99.60	0.57
			0.6	4.93	98.65		
			1.0	4.98	99.6		
			1.1	5.08	101.6		
Atenolol	Novaten-100	100	0.4	101	101	100.55	1.74
			0.6	100.28	100.28		
			1.0	101.81	101.81		
			1.1	99.12	99.12		
	Atenolol-Bristol	100	0.4	97.29	97.29	101.95	1.53
			0.6	102.29	102.29		
			1.0	104.54	104.54		
			1.1	103.7	103.7		

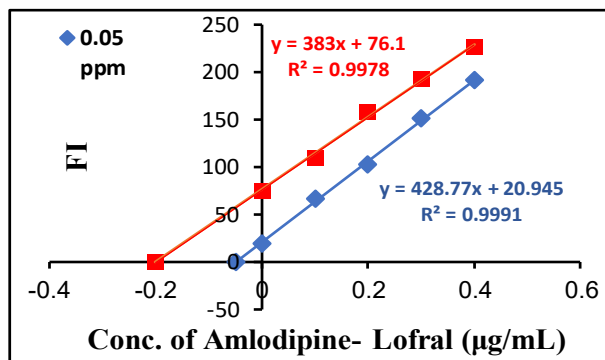
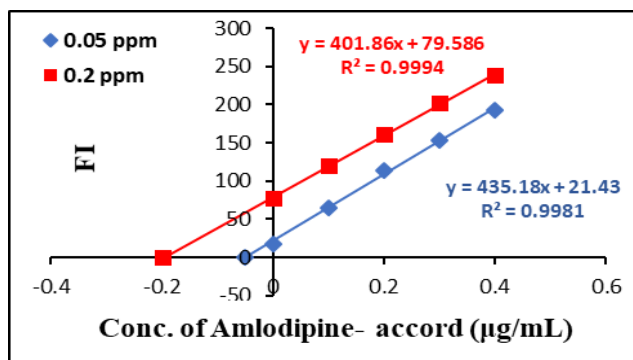
*Average of four determination

** Average of five determination

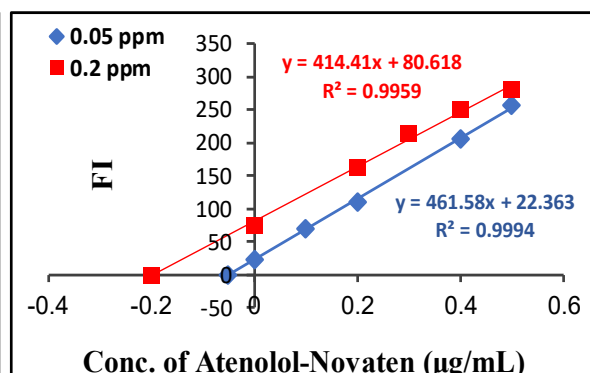
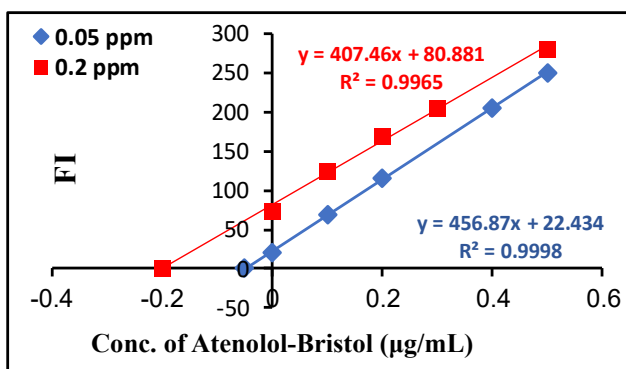
تبين من النتائج المُدرجة في الجدول (8) الدقة العالية للطريقة المقترحة وإنها متفقة بشكل جيد مع المحتوى الأصلي للمستحضرات الصيدلانية إذ بلغ معدل نسب الاسترجاع بين 99.60 و 102 %، كما ان قيم t_{exp} العملية لخمسة مكررات كانت أقل من قيمتها الجدولية (2.77) عند مستوى ثقة 95% وهذا يدل على عدم وجود فرق معنوي بين القيمة الحقيقية والقيمة المقاسة للمركبين الدوائيين قيد الدراسة.

تطبيق طريقة الإضافة القياسية

لإثبات كفاءة الطريقة المطورة ومدى نجاحها في تقدير المركبين الدوائيين قيد الدراسة وخلوهما من تداخلات مواد السواغ في مستحضراتهما الصيدلانية، طُبقت طريقة الإضافة القياسية على المستحضرات الصيدلانية لكلاً من بيسيلات الأملودييين (الشكل 11) والأتينولول (الشكل 12) أشارت النتائج المستحصل عليها في الجدول (9) أن الطريقة الحالية متفقة بشكل جيد مع طريقة الإضافة القياسية ضمن المدى المقبول للخطأ كما انها خالية من تداخلات المضافات الدوائية ومواد السواغ.



الشكل (11) منحنيات الإضافة القياسية لبيسيلات الأملودييين في مستحضراته الصيدلانية



الشكل (12) منحنيات الإضافة القياسية لأتينولول في مستحضراته الصيدلانية

الجدول (9) طريقة الإضافة القياسية في تقدير المركبين الدوائيين قيد الدراسة

Pharmaceutical preparation		Certified value	Amount present (µg/mL)	Drug content found (mg)		Recovery (%) of standard addition procedure
				Present method	Standard addition method	
Amlodipine	Lofral	5	0.05	5.20	4.88	97.60
	Acino		0.2	5.21	4.97	99.35
	Accord	5	0.05	5.19	5.06	101.17
			0.2	5.22	4.92	98.49
Atenolol	Novaten-100	100	0.05	104.51	99.04	99.04
			0.2	103.83	97.27	97.27
	Bristol	100	0.05	104.56	98.21	98.21
			0.2	103.97	99.25	99.25

الاستنتاج

استحدثت طريقة فلورومتريّة بسيطة وذات حساسية عالية للتقدير غير المباشر للمركبين الدوائيين بيسيلات الأملوديبين والأتينولول بالهيئة النقية وفي الأقراص الدوائية. إتمدت الطريقة على مبدأ أكسدة المركبين الدوائيين بإضافة زيادة معلومة من العامل المؤكسد N-بروموسكسينميد (NBS) في وسط حامض الهيدروكلوريك وتقدير الكمية المتبقية من العامل المؤكسد من خلال إخماد تفلور صبغة الأكرديين البرتقالية والتي تضاف بكمية ثابتة (3.5 مايكروغرام/ملتر) وقياس شدة تفلور ما تبقى من الصبغة عند الطول الموجي 530 نانوميتر بطول موجة إثارة 450 نانوميتر. وجد أن شدة تفلور الصبغة يزداد بشكل خطي مع زيادة تراكيز المركبين الدوائيين ضمن المدى 0.03-1.2 و 0.05-1.2 مايكروغرام/ملتر لكل من بيسيلات الأملوديبين والأتينولول على التوالي، كانت الطريقة المطورة ذات توافق ودقة جيدين، وتراوح معدل نسبة الاسترجاع بين 101.06 و 100.15% بانحراف قياسي نسبي أقل من 2.3 و 3.5% لبيسيلات الأملوديبين والأتينولول على التوالي. ثم طُبقت الطريقة المطورة بنجاح على الأقراص الدوائية للمركبين الدوائيين قيد الدراسة وكانت نتائجها متفقة بشكل جيد مع المحتوى الأصلي للأقراص ومع طريقة الإضافة القياسية والتي أثبتت عدم وجود تداخل من قبل مواد السواغ والمضافات الأخرى.

المصادر

- Abdullah, S. A. B., Jihad, R. M., & Alsamarrai, K. F. (2024). Determination of amlodipine by spectrophotometric analysis involving diazotization and coupling with sulfanilic acid. **Samarra J. App. Sci.**, 6(3 (2)), 98-107.
- Abernethy, D. R. (1989). The pharmacokinetic profile of amlodipine. **American heart J.**, 118(5), 1100-1103.
- Adak, A., Pal, A., & Bandyopadhyay, M. (2005). Spectrophotometric determination of anionic surfactants in wastewater using acridine orange. **Indian J. Chim.Tech.**, 12: 145-148.
- Altaee, Z. M., and Al-Hammoodi, I. A. (2023). Indirect spectrophotometric determination of pyridoxine hydrochloride using eriochrome black-T. **College of Basic Edu. Res. J.**, 19(2): 827-845.

- Armstrong, C. and Kapolowicz, M. R. (2020). A Preliminary investigation on the effects of atenolol for treating symptoms of anxiety. **Military Med.**, 185(11-12): 1954-1960.
- British Pharmacopoeia (2013) CD-ROM, system Simulation, **The Stationery Office Ltd., London.**
- Broli, N., Vasjari, M., Vallja, L., Duka, S., Shehu, A., & Cenolli, S. (2021). Electrochemical determination of atenolol and propranolol using a carbon paste sensor modified with natural ilmenite. **Open Chemistry**, 19(1), 875-883.
- Burges, R., & Moisey, D. (1994). Unique pharmacologic properties of amlodipine. **The American J. card.**, 73(3), A2-A9. Elsevier Inc Oxford, 1-6.
- Byvaltsev, V. A., Bardanova, L. A., Onaka, N. R., Polkin, R. A., Ochkal, S. V., Shepelev, V. V., ... & Potapov, A. A. (2019). Acridine orange: a review of novel applications for surgical cancer imaging and therapy. **Frontiers in oncology**, 9, 925.
- Darzynkiewicz, Z. (1990). Differential staining of DNA and RNA in intact cells and isolated cell nuclei with acridine orange. **Methods in cell biology**, 33: 285-298.
- El-waey, A. A., Abdel Salam, R., Hadad, G., & El-Gendy, A. (2024). Green spectrofluorimetric method for determination of atenolol in pharmaceutical tablets and human urine. **Records of Pharm. Biom. Sci.**, 8(1), 80-91.
- Eswarudu, M. M., Sakheena, P., Lahari, K., Babu, P. S., & Eswaraiah, M. C. (2021). Validated RP-HPLC method for simultaneous estimation of atenolol, hydrochlorothiazide and losartan potassium in bulk and pharmaceutical dosage form. **Asian J. Pharm. Res. Develop.**, 9(1), 60-66.
- Firouzi, M., Giahi, M., Najafi, M., Homami, S. S., & Mousavi, S. H. H. (2021). Electrochemical determination of amlodipine using a CuO-NiO nanocomposite/ionic liquid modified carbon paste electrode as an electrochemical sensor. **J. Nanoparticle Res.**, 23, 1-12.

- Gruetter, C. A. (2007). x Pharm: The Comprehensive Pharmacology Reference, Elsevier Inc Oxford, 1-6.
- Jahanmehr, S. A., Hyde, K., Geary, C. G., Cinkotai, K. I., & Maciver, J. E. (1987). Simple technique for fluorescence staining of blood cells with acridine orange. **J. clinical pathology**, 40(8), 926.
- Jassim, B. A., and Khaleel, A. I. (2022). Determination of atenolol in bulk and pharmaceutical normotic by derivative spectroscopy method for ion-pair complex. **In AIP Conference Proceedings**, 2394(1): 040039. AIP Publishing LLC.
- Khalil, M. N. and Al Abdali, Z. Z. (2024). Indirect spectrophotometric determination of atenolol, isoniazid, and pyridoxine hydrochloride using N-bromosuccinimide and neutral red dye. **College of Basic Edu. Res. J.**, 20(4):723-753.
- Khdadad, A. M., Abd, Z., Khaleel, A. I., & Rashid, Q. N. (2022). Spectrophotometric methods for estimation of amlodipine besylate in pure form and in IT's pharmaceutical formulations. **Int. J. Health Sci.**, (I), 7726-7741.
- Li, Y., Zhao, D., Qian, M., Liu, J., Pan, C., Zhang, X. & Wang, L. (2022). Amlodipine, an anti-hypertensive drug, alleviates non-alcoholic fatty liver disease by modulating gut microbiota. **British J. Pharm.**, 179(9), 2054-2077.
- Liu, S. P., Sa, C., li Hu, X., & Kong, L. (2006). Fluorescence quenching method for the determination of sodium carboxymethyl cellulose with acridine yellow or acridine orange. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 64(4), 817-822.
- Öztürk, M., & Kadioğlu, Y. (2021). Quantitative determination of amlodipine besylate without derivatized in pure form and tablet dosage forms with UV spectrophotometric method. **Int. J. PharmATA**, 1(1), 1-10.
- Putnin, I. O., Sysoeva, A. A., Kovalenko, A. V., Il'in, M. V., & Bolotin, D. S. (2025). Acridine orange as a highly sensitive probe to study the stability of onium salts. **New J. Chem.**, 49: 9408-9415.

- Robbins, E., & Marcus, P. I. (1963). Dynamics of acridine orange-cell interaction: I. Interrelationships of acridine orange particles and cytoplasmic reddening. **J. cell biology**, 18(2), 237-250.
- Saleem, B. A., Yonus, A. M., & Shekho, N. H. (2022, November). Visible spectrophotometric method for quantitative estimation of atenolol drug using cerium (III and IV). **In AIP Conference Proceedings** (Vol. 2660, No. 1). AIP Publishing.
- Salem, H., Abdelaziz, A., Derayea, S., Nagy, D. M., & El-Din, K. M. B. (2023). Spectrofluorimetric assay of amlodipine and perindopril in their raw materials, pharmaceutical formulations and spiked human plasma through the formation of complexes with Eosin Y. **Chemical Papers**, 77(5), 2817-2825.
- Saputri, F. A., Hasanah, A. N., Rusdiana, T., Surono, I. S., & Abdulah, R. (2022). A sensitive bioanalytical method for the simultaneous determination of amlodipine and glibenclamide. **Pharm. Sci. Asia**, 49(4).
- Seebauer, C. T., Graus, M. S., Huang, L., McCann, A., Wylie-Sears, J., Fontaine, F. and Francois, M. (2022). Non-beta blocker enantiomers of propranolol and atenolol inhibit vasculogenesis in infantile hemangioma. **J. Clin. Invest.**, 132(3).
- Tomiyama, H. and Yamashina, A. (2014). Beta-Blockers in the management of hypertension and/or chronic kidney disease. **Int. J. Hyper.**, 2014.
- Zakaria, S. A., Zakaria, R. A., & Othman, N. S. (2021, November). Spectrophotometric determination of atenolol via oxidation and bleaching color reaction for methyl red dye. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 2063, No. 1, p. 012008). IOP Publishing.