

تطوير واعتماد طريقة طيفية ضوئية لتحديد الأملوديبين في المادة الخام وفي المضغوطات باستخدام برمنغنات البوتاسيوم

د. محمد خطيب *

(تاريخ الإيداع ٢٠٢٣/٣/١٥ . قُبل للنشر في ٢٠٢٣/١٠/٢٢)
□ ملخّص □

تم تطوير طريقة طيفية ضوئية مباشرة لتحديد الأملوديبين بيسيلات (Amlodipine Besylate) في المادة الخام وفي المضغوطات. تعتمد الطريقة على تفاعل أكسدة AML باستخدام برمنغنات البوتاسيوم بنسبة تفاعل 1:1 في وسط قلوي pH 12.3 عند درجة حرارة الغرفة $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ، حيث تُرجع شاردة البرمنغنات وتعطي شاردة المنغنات ذات اللون الأخضر والتي تمتص عند طول موجة 610nm. حُدثت العلاقة الخطية وذلك اعتماداً على قياس قيمة الامتصاصية عند طول موجة 610nm بعد 15 دقيقة. تم تطبيق الطريقة ضمن مجال خطي من تركيز AML يتراوح ما بين $5.0-100.0\mu\text{g mL}^{-1}$ ، كانت قيمة معامل الارتباط (r) 0.9984 بالنسبة للطريقة المقترحة، كانت قيمة حد الكشف وحد التحديد الكمي $0.206\mu\text{g mL}^{-1}$ و $5.00\mu\text{g mL}^{-1}$ على الترتيب. تم اعتماد النتائج التحليلية بعد معالجتها إحصائياً. تم تطبيق الطريقة المقترحة بنجاح من أجل تحديد AML في المستحضرات الصيدلانية دون حصول إعاقة من السواغات المضافة.
الكلمات المفتاحية: أملوديبين بيسيلات، التحليل الطيفي الضوئي، برمنغنات البوتاسيوم.

Development and validation of the spectrophotometric method for determination of amlodipine in raw material and in tablets using potassium permanganate

Mouhammed Khateeb *

(Received 15/3/2023 . Accepted 22/10/2023)

□ ABSTRACT

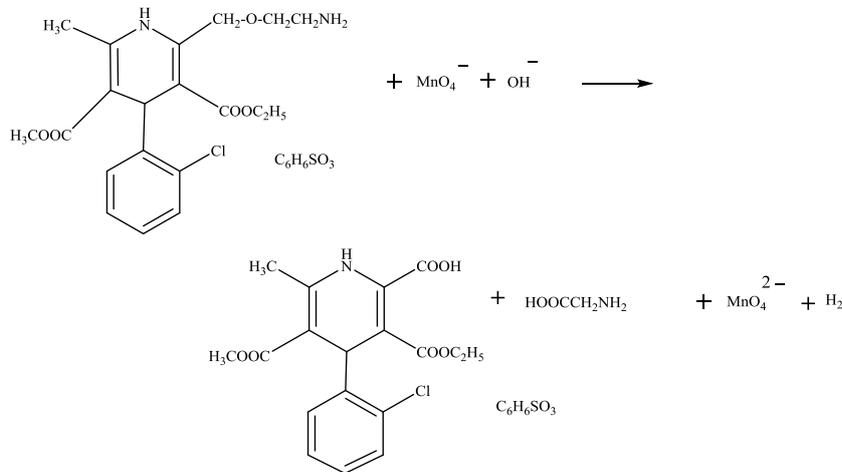
Simple, accurate and reliable spectrophotometric method for the quantitative determination of Amlodipine Besylate (AML) in raw material and pharmaceutical formulations (tablets) has been developed. The method is based on the oxidation reaction of the drug with alkaline potassium permanganate (pH=12.3) at room temperature $25\pm 0.5^{\circ}\text{C}$. The absorbance of the colored manganate ion was measured at 610 nm after 15 min. The linearity range was found to be 5.0-100.0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The correlation coefficient for developed method is 0.9984. The detection limit and limit of quantification are 0.206 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 5.00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ respectively. The proposed method has been successfully applied to the determination of Amlodipine Besylate in pharmaceutical dosage forms with no interference from the excipients.

Keywords: Amlodipine Besylate, spectrophotometric analysis, potassium permanganate.

أولاً: مقدمة

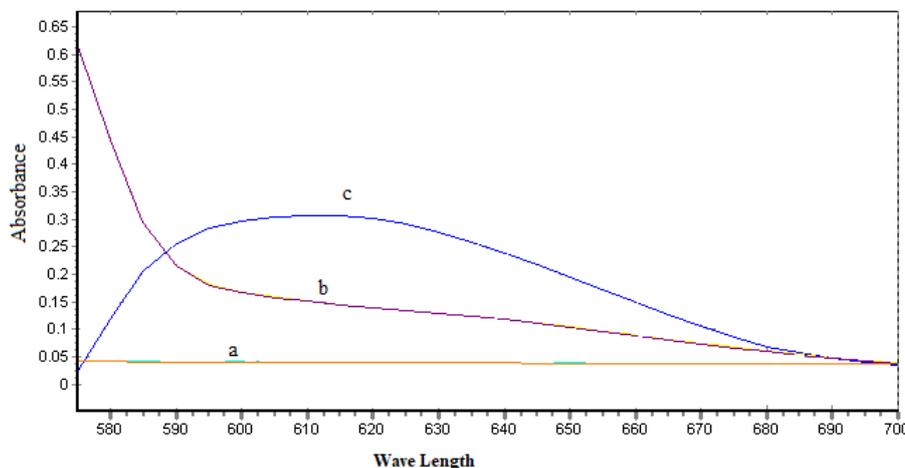
الأملوديين بيسيلات هو عبارة عن مسحوق أبيض اللون، يذوب في الميثانول والإيثانول والماء. يُستخدم لخفض ضغط الدم ولعلاج الذبحة الصدرية. ينتمي هذا الدواء إلى فئة الأدوية المعروفة باسم محصرات قنوات الكالسيوم من نوع ثنائي هيدرو البيريدين [1,2]. تم نشر العديد من المقالات حول التحديد الكمي للأملوديين. فقد تم تحديد AML بالتحليل الطيفي الحركي في المادة الخام والمضغوطات. باستخدام كاشف (NBD-Cl) 7-Chloro-4-nitro-2,1,3-benzoxadiazole [3]، وحدد أيضاً الأملوديين و نيفيديين بالطريقة الطيفية الحركية باستخدام الحديد الثلاثي وفري سيانيد البوتاسيوم [4]. وقد AML بالتحليل الطيفي المباشر باستخدام كاشف الكريزول الأحمر [5]، وكاشف 4-Dimethyleaminobenzaldehyde [6]، وكاشف برومو فينول الأزرق [7]، وكاشف النينهيدرين [8]، وكاشف sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate [9]، استخدم مسرى الكربون الزجاجي المعدل لتحديد AML في عينات البول وفي المستحضرات [10]. كما حدد الأملوديين بشكل متزامن مع كانديسارتان في المستحضرات بالتحليل الطيفي الضوئي المعتمد على طريقة أصغر المربعات الكلاسيكية والعكسية [11]، عين AML في المستحضرات بالتحليل الطيفي الضوئي المعتمد على أكسدته باستخدام برمنغنات البوتاسيوم في وسط حمضي ثم قياس الكمية غير متفاعلة من المادة المؤكسدة بالاعتماد على قياس التناقص في الامتصاصية لعدد ما الصبغات المختلفة [12]، حدد الأملوديين ولوسارتان البوتاسيوم بالاعتماد على مطيافية ما فوق البنفسجي UV باستخدام الميثانول كمذيب [13]، استخدمت طرائق طيفية لتحديد المتزامن لكل من الأملوديين وأولميسارتان ميدوكسوميل في المضغوطات المحتوية عليهما [14]، طبقت تقنية الامتصاص الجزيئي وتقنية الفلورة لتحديد AML ودوكسازوسين ميسيلات [15]، حدد المركبان الأملوديين وأتورفاساتين في المضغوطات الدوائية بتقنية الفلورة [16] استخدم الكاشف 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride monohydrate لتحديد AML في المستحضرات [17].

- تؤدي إضافة فائض من $KMnO_4$ إلى كمية محددة من AML في وسط قلوي إلى أكسدة AML ، وإرجاع كمية مكافئة من شاردة البرمنغنات إلى شاردة المنغنات ذات اللون الأخضر، وفق الآلية المقترحة والموضحة في الشكل رقم (1):



الشكل رقم (1): الآلية المقترحة لأكسدة AML باستخدام برمنغنات البوتاسيوم

تبدى شاردة المنغنات قمة امتصاص عند 610nm، كما هو مبين في الشكل رقم (2). حيث أنه تم إضافة 0.5mL من البرمنغنات تركيزه 0.01M و 0.5mL من NaOH بتركيز 1M هو الحجم الأمثل و حجم المحلول النهائي 10mL والقياس بعد 15 دقيقة وتركيز AML هو $50\mu\text{g mL}^{-1}$.



الشكل رقم (2): طيف امتصاص (a) محلول AML (b) طيف امتصاص المحلول الشاهد مقابل الماء المقطر، و (c) طيف امتصاص محلول المنغنات مقابل المحلول الشاهد،

ثانياً: هدف وأهمية البحث

يهدف هذا البحث إلى تطوير طريقة جديدة من أجل تحديد أمولدين بيسلات باستخدام التحليل الطيفي الضوئي ومن ثم اختبار صلاحية هذه الطريقة لاستخدامها في الرقابة الدوائية اليومية. تأتي أهمية طريقة التحليل الطيفي الضوئي المطورة، نظراً لما تتميز به من السهولة في إجراء التحليل، والسرعة في إعطاء النتائج، والدقة والصحة والحساسية العالية في التحديد. كما أنها لا تتطلب كمية كبيرة من العينة المدروسة بالإضافة إلى بساطة الأجهزة المستخدمة وانخفاض تكلفتها، بالمقارنة مع الطرائق التحليلية الأخرى المستخدمة في تحديد الأمولدين.

ثالثاً: القسم العملي

I- مواد البحث وطرائقه:

أ- مواد البحث:

1- الأجهزة المستخدمة

-جهاز طيفي ضوئي مرئي وما فوق بنفسجي Optima ياباني الصنع طراز SP-3000 plus مزود بخلايا كوارتز 1cm . يسمح الطيف آلياً بوساطة برمجيات خاصة بالجهاز، تم اختيار المجال 550-700nm لإجراء المسح الطيفي.

- مقياس pH CONSORT بلجيكي الصنع طراز C830 مع مسرى زجاجي.

2- المواد الكيميائية المستخدمة

جميع المواد الكيميائية المستخدمة هي من النوع النقي تحليلياً. والماء المستخدم ثنائي التقطير. KMnO_4 انتاج

شركة (Avonchem). هيدروكسيد الصوديوم انتاج شركة (EKA). استُخدم المركب الدوائي أملوديبين بيسيلات إنتاج شركة Kunshan Chemical الهندية كمادة عيارية 100.48% هي $C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6SO_3 = 567.05 \text{ g mol}^{-1}$ ، نقاوته هي 100.48% .

– المحاليل المحضّرة

محلول $KMnO_4$ انتاج شركة (Avonchem) بتركيز $0.01M$ في الماء المقطر.
محلول هيدروكسيد الصوديوم انتاج شركة (EKA) بتركيز $1.0M$ في الماء المقطر.
محلول عياري من AML بتركيز 0.5 mg mL^{-1} بحل الكمية المناسبة في الماء المقطر.

٣- عينات الدراسة

مستحضرات صيدلانية تحوي AML من السوق المحلية وهي :
– مضغوطات أملوديبين عيار 5 mg/tab من انتاج شركة ميديكو للصناعات الدوائية
– مضغوطات أملوديبين أوبري 5 mg/tab من انتاج شركة أوبري للصناعات الدوائية
– مضغوطات أملوديبين التراميديكا 10 mg/tab من انتاج شركة التراميديكا.

ب- طرائق البحث

١- العمل على العينات العيارية

وضعت في سلسلة دوارق حجمية سعة 10 mL حجوماً مناسبة من محلول AML العياري 0.5 mg mL^{-1} و 0.5 mL من محلول $KMnO_4$ و 0.5 mL من محلول هيدروكسيد الصوديوم، أكمل الحجم حتى الإشارة بالماء المقطر، مزجت المحاليل جيداً. بعد 15 دقيقة قيست امتصاصية شاردة المنغناات الناتجة عند 610 nm مقابل محلول شاهد محضر بالطريقة نفسها بدون المركب الدوائي. رُسمت بيانياً العلاقة الخطية الممتلئة لتغيرات الامتصاصية بدلالة تركيز AML.

٢- العمل على عينات الدراسة

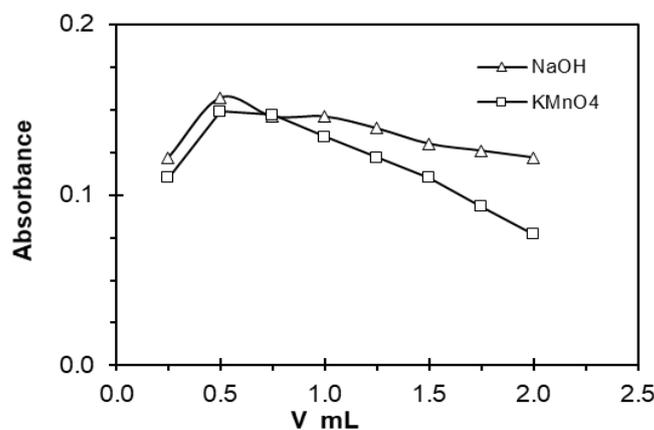
تم وزن بدقة عشرة مضغوطات من كل مستحضر، ثم تم حساب الوزن الوسطي للمضغوظة الواحدة . طحنت المضغوطات الموزونة بشكل ناعم، أخذ من كل مسحوق كمية موزونة بدقة تكافىء حوالي 50 mg من AML وأضيف إليها 50 mL من الميثانول، مزجت المحاليل لمدة 15 دقيقة. رُشح المحلول وغُسل الراسب بقليل من الميثانول، تم تبخير الميثانول حتى الجفاف، تم حل المادة الصلبة المتبقية بالماء ثنائي التقطير في دورق حجمي سعة 100 mL ، وبذلك يكون تركيز المحلول الناتج الذي استخدم في التطبيق هو 0.5 mg mL^{-1} تقريباً. تم أخذ حجوماً مناسبة من هذا المحلول لتحديد AML كما ورد سابقاً.

رابعاً: النتائج والمناقشة

١- ضبط الشروط المثلى للطريقة

تم اجراء عدداً من الدراسات التمهيدية للوصول إلى الشروط المثلى، لإجراء التفاعل السريع والكمّي بين AML والبرمنغنات بحساسية قصوى، وذلك بتغيير أحد القرائن في كلّ مرة بينما نبقي القرائن الأخرى ثابتة ونلاحظ تأثيره في الامتصاصية عند طول موجة الامتصاص الأعظمي (610 nm). دُرس تأثير تركيز $KMnO_4$ في تشكيل ناتج التفاعل. وُجد أن إضافة 0.5 mL من البرمنغنات تركيزه $0.01M$ هو الحجم

الأمثل لتشكيل ناتج التفاعل. كذلك دُرِس تأثير حجم NaOH في تشكيل ناتج التفاعل. وُجِد أن إضافة 0.5mL من NaOH بتركيز 1M هو الحجم الأمثل لتشكيل ناتج التفاعل، حجم المحلول النهائي 10mL والقياس بعد 15 دقيقة وتركيز AML هو $25\mu\text{g mL}^{-1}$ ، الشكل رقم (3). حيث أن هذه الحجم المأخوذة تؤدي إلى إرجاع كل كمية شاردة البرمنغنات إلى شاردة المنغنات .



الشكل رقم (3): تأثير تغير حجم كل من NaOH و KMnO₄ المتفاعلة مع AML في الامتصاصية

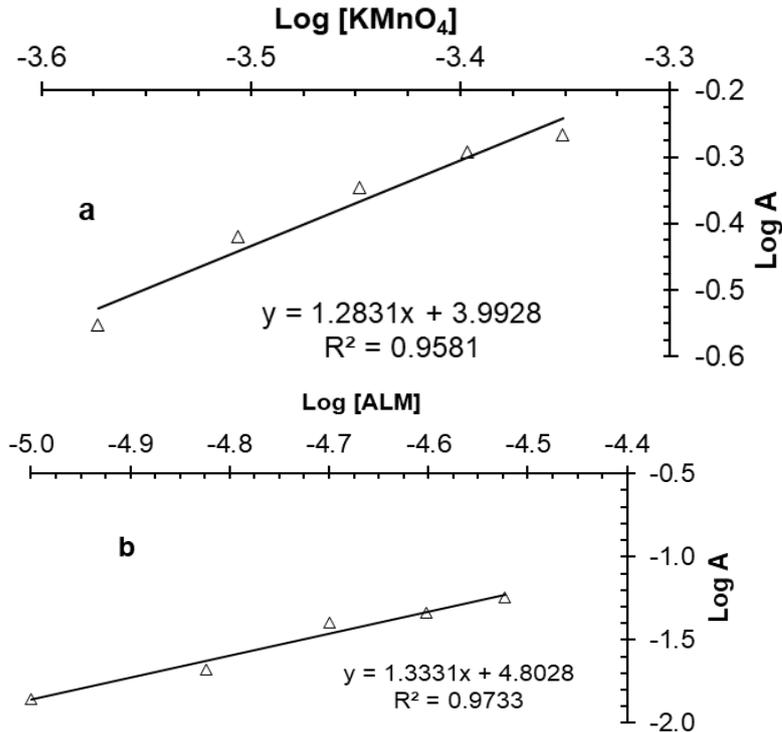
2- العلاقة الخطية Linearity

بعد أن تم دراسة العوامل المؤثرة في تفاعل أكسدة أملوديين بواسطة البرمنغنات، طبقت الشروط المثلى التي تم التوصل إليها لإجراء التحديد الطيفي الضوئي للأملوديين من أجل إيجاد المجال التحليلي من تركيز أملوديين الذي يخضع إلى قانون بير.

تم تحضير سلسلة عيارية من محاليل AML - برمنغنات، يتغير فيها تركيز AML بينما تحوي تركيزاً ثابتاً من برمنغنات البوتاسيوم وهيدروكسيد الصوديوم. سُجِل طيف الامتصاص الضوئي لكل محلول من تلك المحاليل مقابل محلول شاهد محضر بالطريقة نفسها عدا وجود AML. حُددت بيانياً العلاقة الخطية لتغيرات امتصاصية المحاليل العيارية بدلالة تركيز AML ، عند طول موجة الامتصاص الأعظمي 610nm، كان هناك ارتباط خطي بين الامتصاصية وتركيز AML في المجال من التركيز يتراوح ما بين $100.0 - 0.0 \mu\text{g mL}^{-1}$.

3- تحديد نسبة التفاعل The reaction ratio

تم تحديد نسبة التفاعل بين AML و KMnO₄ بطريقة الحد اللوغاريتمي للمجال الخطي [18]، ثُبِت تركيز AML وتمت إضافة تركيزاً متزايداً من KMnO₄. رُسم بيانياً الخط البياني لتغيرات لوغاريتم الامتصاصية بدلالة لوغاريتم تركيز KMnO₄، الشكل [4,a]، ثم ثُبِت تركيز KMnO₄ وتمت غضافة تركيزاً متزايداً من AML. رُسم بيانياً الخط البياني لتغيرات لوغاريتم الامتصاصية بدلالة لوغاريتم تركيز AML، الشكل [4,b].



الشكل رقم (4): حساب نسبة التفاعل بطريقة الحد اللوغاريتمي للمجال الخطي
[AML]= 2×10^{-4} M, [KMnO₄]= 3.0×10^{-4} - 5.0×10^{-4} M (a)
[KMnO₄]= 1×10^{-3} M, [AML]= 1.0×10^{-5} - 3.0×10^{-5} M (b)

نُسب ميل الخط الأول 1.2831 إلى ميل الخط الثاني 1.3331، وبالتالي فإن نسبة التفاعل بين KMnO₄ و AML هي 1:1.

4- حساب بعض القرائن التحليلية

- حُسبت من المعطيات العيارية قيم معامل الامتصاص الجزيئي الأعظمي Molar Absorptivity لنواتج التفاعل المتشكل.

- تم حساب حساسية ساندل (Sandell Sensitivity) SS من العلاقة التالية:

$$SS (\mu g \cdot cm^{-2}) = C_{min} (mol \cdot L^{-1}) \times MW (g \cdot mol^{-1}) \times l (cm) \times 10^6 (\mu g / g) \times 10^{-3} (L \cdot mL^{-1})$$

وتم حساب C_{min} من العلاقة التالية:

$$C_{min} = \frac{A_{min}}{\varepsilon (L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}) \times l (cm)}$$

حيث أن A_{min} هي قيمة أصغر امتصاصية يتمكن جهاز التحليل الطيفي الضوئي المستخدم من قياسها وتساوي 0.001.

- تم حساب حد الكشف (Detection Limit) من العلاقة التالية [19]:

$$\text{Detection Limit} = \sqrt{S_o^2 \frac{n-2}{n-1} \frac{t}{b}}$$

حيث أن n عدد النقاط المختارة من الخط البياني العياري و b هو ميل الخط البياني العياري و t معامل إحصائي يساوي 2.776 عند n-1=4 وسوية ثقة مقدارها 95%، و S_o² معامل التغير [20]، ويحسب من

العلاقة:

$$S_o^2 = \sum (A_{exp.} - A_{calc.})^2 / n - 2$$

حيث أن A_{exp} هي الامتصاصية العملية و A_{calc} هي الامتصاصية المحسوبة من العلاقة الخطية. أما حد التحديد الكمي $limit\ of\ quantification$ فهو أصغر تركيز من السلسلة العيارية.

- حددت معطيات العلاقة الخطية للطريقة، مثل معامل الارتباط ونقطة التقاطع مع محور الامتصاصية والميل، تم تقدير مجال التركيز الخطي الأمثل للمركب AML بطريقة Ringbom [21]. وذلك برسم العلاقة بين تغيرات النفوذية بدلالة لوغاريتم تركيز المركب الدوائي مقدراً بوحدة $\mu g/mL$ ، $T\% = f(\log C)$ ، والجدول رقم (1) يبين قيم هذه القرائن التحليلية.

الجدول رقم (1) الخصائص الطيفية لتفاعل AML مع $KMnO_4$ في وسط قلوي.

القرائن	(t=15min)
المجال الخطي، $\mu g mL^{-1}$	5.0-100.0
مجال Ringbom، $\mu g mL^{-1}$	25.0-75.0
نسبة التفاعل، AML- $KMnO_4$	1 : 1
ϵ ، $L mol^{-1} cm^{-1}$	0.34×10^4
حد الكشف، $\mu g mL^{-1}$	0.206
حد التحديد الكمي، $\mu g mL^{-1}$	5.00
حساسية ساندل (SS)، $\mu g cm^{-2}$	0.337
معطيات العلاقة الخطية	$*(A = m C + b)$
	m= 0.0053, b=0.0135
معامل الارتباط (r)	0.9984

*فيما يتعلق بالمعادلة $A = m C + b$ ، حيث أن A الامتصاصية و C التركيز $\mu g mL^{-1}$ و m ميل الخط العياري و b نقطة تقاطع الخط العياري مع محور الامتصاصية.

5- دقة وصحة الطريقة Precision and Accuracy

لتحديد دقة وصحة الطريقة المقترحة من أجل تحديد المركب AML بالاعتماد على تفاعل أكسدته بوساطة $KMnO_4$. حضرت خمسة محاليل عيارية من AML تركيزها يقع ضمن المجال الخطي المحدد للطريقة. خللت خمسة مكررات من كل واحد منها بتطبيق طريقة العمل المقترحة. أجريت بعض الحسابات الاحصائية، مثل الانحراف العياري والانحراف العياري النسبي المئوي والاسترجاعية النسبية وحد الثقة عند سوية ثقة مقدارها 95%، لتراكيز مختلفة محددة من الخط البياني العياري، كما هو وارد في الجدول رقم (2). تميزت نتائج الطريقة الطيفية بدقة عالية من خلال قيم الانحراف العياري النسبي المئوي (أقل من 5%) وبصحة ممتازة من خلال قيم الاسترجاعية الجيدة (بين 95 و 100%).

6- التطبيق العملي ومناقشة النتائج:

طبقت الطريقة المطورة من أجل تحديد امولدين في المضغوطات. حيث امتازت الطريقة بالدقة العالية والتكرارية الجيدة من خلال قيم الانحراف العياري النسبي المئوي المنخفضة (أقل من 5%) ، وبالصحة الممتازة من خلال قيم

الاسترجاعية الجيدة (بين 95 و ١٠٥%). كما تميزت الطريقة بعدم استهلاكها لكواشف ومذيبات مرتفعة الثمن. أُجريت مقارنة إحصائية بين نتائج الطريقة ونتائج الطريقة المرجعية رقم [17] ، وذلك عن طريق حساب الاختبار - t والاختبار -F. إن قيم الاختبارين الحاصلة عند سوية ثقة 95% وأربع درجات حرية لم تزد عن القيمة النظرية المجدولة في المراجع مما يدل على عدم وجود فرق يذكر بين الطريقتين عند سوية الثقة 95% كما هو موضح في الجدول رقم (3).

الجدول رقم (2) تقدير دقة وصحة الطريقة المقترحة من أجل تحديد AML

الاسترجاعية %	حد الثقة	RSD%	$\mu\text{g mL}^{-1}$, AML		
			S.D.	المحدد*	المأخوذ
100.8٠	5.04±0.14	2.69	0.14	5.04	5.00
101.30	10.13±0.14	1.43	0.14	10.13	١٠.00
100.50	30.15±0.29	0.95	0.29	30.15	٣٠.00
100.42	50.21±0.36	0.36	0.18	50.21	50.00
100.16	100.16±0.18	0.18	0.18	100.16	100.00

*متوسط خمس تجارب.

الجدول رقم (3) تحديد AML في المستحضرات بالطريقتين المقترحة والمرجعية

الاسترجاعية% ± S.D.		المستحضر
الطريقة المرجعية [17]	الطريقة المقترحة	
99.87±0.33 **t=1.32	100.19 ± 0.19 **t=1.65 **F=3.02	املوديين 5mg/Tab
100.42±1.22 **t=1.88	99.57±1.58 **t=1.77 **F=1.68	املوديين أويري 5mg/Tab
98.94±1.16 **t=1.46	100.33±1.01 **t=1.99 **F=1.32	املوديين التراميديكا 10mg/Tab

*متوسط خمس تجارب.

** من أجل أربع درجات حرية وحد ثقة 95% قيمة t المجدولة هي 2.776 وقيمة F المجدولة هي

6.26.

إن الطريقة المطورة لا تحتاج إلى كواشف ومذيبات مرتفعة الثمن ويمكن أن تتم بوقت قصير وهذا ما يميزها عن الطريقة المرجعية.

خامساً: الاستنتاجات

تم في هذا البحث إيجاد طريقة تحليلية لتحديد AML في المادة الخام وفي المضغوطات، امتازت الطريقة بالدقة والصحة الجيدتين، وبسهولة التطبيق وانخفاض تكلفتها بالمقارنة مع الطرائق التحليلية الأخرى لتحديد الأملوديين. وبالتالي يكون بذلك قد تحقق هدف البحث.

References

- [1] R. Burges, D. Gardiner, M. Gwilt, A. Higgins, K. Blackburn, S. Campbell, 1987- Calcium Channel Blocking Properties of Amlodipine in Vascular Smooth Muscle and Cardiac Muscle in Vitro: Evidence for Voltage Modulation of Vascular Dihydropyridine Receptors, *Journal of Cardiovascular Pharmacology.*, 9, 110-117.
- [2] De Portu S., Menditto E., Scalone L., Bustacchini S., Cricelli C., 2006- Mantovani L.G., The Pharmacoeconomic Impact of Amlodipine Use on Coronary Artery Disease, *Pharmacological Research*, 54, 158-163.
- [3] A. M. Mahmoud, H. M. Abdel-Wadood, M. A. Niveen, 2012- Kinetic Spectrophotometric Method for Determination of Amlodipine Besylate in Its Pharmaceutical Tablets, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2(5),334–341.
- [4] B. Hemmateenejada,b., R. Mirib and R. Kamalib,2009- A Kinetic Spectrophotometric Method for Determination of Amlodipine and Nifedipine in Pharmaceutical Preparations, *Journal of the Iranian Chemical Society*,6(1),113-120.
- [5] B. Rozana, M. J. Al-khateeb,2015- A Spectrophotometric determination of Amlodipine Besylate (AMB) in Pharmaceutical Preparations using Gresol Red (GR) Reagent. *International Journal of ChemTech Research*, 8(11), 229-236.
- [6] A. G. Memon1, A. A. Memon, F. M. Ali. Rind, et all,2020- Development of Colorimetric Method for the Quantitative Analysis of Amlodipine Besylate in Dosage Form Using 4- Dimethyleaminobenzaldehyde as Derivatizing Reagent. *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*,21(1), 27-33.
- [7] A. Ali, K. Pasha, S.A. Raju, A. Ahmed, 2010- Visible spectrophotometric determination of amlodipine in pharmaceutical formulation and bulk drug by using bromophenol blue, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(2), 128-129.
- [8] N. Rahman, S.N.Z. Azmi,2001- Spectrophotometric method for the determination of amlodipine besylate with ninhydrin in drug formulations, *IL Farmaco*, 56(10), 731-735.
- [9] M. Sulyma, S. Vasyuk, Y. Zhuk, D. Kaminsky, O. Chupashko, V. Ogurtsov,2018- New Spectrophotometric Method of Amlodipine Besylate Determination and Its Validation, *Chemistry and Chemical Technology* ,12(4), 429–433.
- [10] K. Sudha, A. Elangovan, A. Jeevika, C. Sharmila, G. Arivazhagan , P. Kalimuthu,2021- Electroanalytical Detection Of Amlodipine in Urine and Pharmaceutical Samples Using Ag-Ce₂(WO₄)₃@CNF Nanocomposite-Modified Glassy Carbon Electrode, *Microchemical Journal* 165
- [11] M. A. Hinge, D. Patel, M. Shah,2022- Simultaneous Evaluation Of Amlodipine Besylate And Candesartan Cilexetil By Applying Chemometric Assisted Spectrophotometric Method, *Pharmacophore*, 13(1), 1-9.
- [12] S. A. Shama, A. S. Amin, El Sayed M. Mabrouk and H. A. Omara,2009- Utility Of Oxidation-Reduction Reaction For The Spectrophotometric Determination Of Amlodipine Besylate, *Arabian Journal of Chemistry*,2(1),95-102.
- [13] R. Gavini, S. B. Puranik, G. V. S. Kumar, K. A. Sridhar, R. Gavini, 2012- Simultaneous Estimation of Amlodipine and Losartan by UV-Method In Bulk Drug and

Tablet Dosage Formulation, *Archives of Applied Science Research*, 4 (5), 2206-2212.

[14] N. D. Pandurang., R. B. Sunita., 2011- Simultaneous UV Spectrophotometric Methods for Estimation of Amlodipine Besylate and Olmesartan Medoxomil in Tablet Dosage Form, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(2), 650-656.

[15] M.M. Ayad., H.E. Abdellatef., M.M. Hosny., Y.A. Sharaf, 2012- Spectrophotometric and Spectrofluorimetric Determination of Amlodipine Besilate and Doxazosin Mesilate in Bulk and in Dosage Forms Via Hantzsch Reaction, *International Journal of Pharmaceutical and Biomedical Research*, 3(2), 111-116.

[16] B. A. Moussa, A. A. El-Zaher, M. A. Mahrouse, M. S. Ahmed, 2013- Simultaneous Determination of Amlodipine Besylate and Atorvastatin Calcium in Binary Detection, *Analytical Chemistry Insights*, 8, 107-115.

[17] Shahama Adi, 2018, The Use of Spectral Analysis (UV and Fluorescence Spectrometries) in Quantitative Determination of some Pharmaceutical Compounds. Ph D thesis, Albaath University. P69.

[18] J. ROSE, 1964- Advanced Physico-chemical Experiments, *Pittman, London.*, P 67.

[19] MORELLI B., 1983- Determination of Iron(III) and Copper(II) by Zero-th, First- and Second-Derivative Spectrophotometry with 2-Thiobarbituric Acid (2-Mercaptopyrimidine-4,6-Diol) as Reagent, *Analyst (London)*, 108(1288), 870-879.

[20] NALIMOV V. V., 1963- The Application of Mathematical Statistics to Chemical, Pergamon Press, Oxford, P 189.

[21] RINGBOM A., 1939- *Z. Anal. Chem.*, 115-332.