لجان الدفعات

PHARMACEUTICAL ANALYSIS

MORPHINE ACADEMY

By: Dana AlHroub

محاضرة الأحد 23/8/2026 & خر شابتر

بهاد الشابتر رح نحكي عن الـ Chromatography = separation technique "طريقة فصل"

Two phases عنا

mobile phase ← moving phase

stationary phase ← fixed phase

وعنا الـ sample

مو بشرط تكون مادة وحدة ممكن تكون mixture مثلاً A+B+C

أنا بدي اتعلم من بعض

كيف؟

كيف الـ Affinity بتعمل فصل؟

MP

A●

B●

C● ← تركيت اقل ← SP

A●

B● ← تركيت اكثر

A+B+C

MP بتمشي

1: اذا الـ A بحب الـ MP رح يمشي معها بسرعة

2: اذا الـ B بحب الـ SP رح يفضل ماسك فيها وبالتالي بتحرك ابطأ

و C بتكون بالنص

stationary phase

بتخيل الشكل

[A B C] ← sample مكونات الـ

متحرك ← Mobile phase

طيب بس افصل الـ mixture كيف اعرف شو المواد؟

رح اعطي جنب الـ mixture مادة معروفة مثل A standard

mixture ● standard A ● starting line

وبس الـ stand اي هو MP بيصعد

mixture ● standard ● starting line

mixture [A● ● B● C●] standard

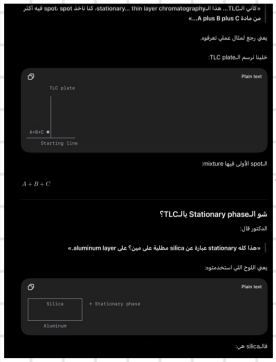
A● ● B● C●

A● ● B● C●

جايبين بنفس الارتفاع اذا نفس المادة

وطبعاً بصرف كتير standards علشان اعرف المواد

*زي ما عملنا بالعملي بالـ TLC

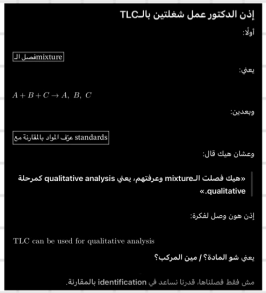


مخترع الـ Chromatography

Mikhail Tswett سنة 1903

هل بنقدر نعرف الـquantitative؟

نعم بجهاز الـ HPLC بعدين بنرجعلها



خلاصة اللي

{Chromatography = Separation}
وعندي:
{Mobile phase = moving}
{Stationary phase = fixed}
والعينة فيها مثلًا:
A+B+C
وكل مركب عنده:
{Different affinity}
لذلك يتحركوا بسرعات/مسافات مختلفة:
{Separation} ← {Different affinity}
ومثال الدكتور الأساسي:
{TLC}
وفيه:
{Silica = stationary}
{Solvent = mobile}
ومقارنة الـmixture مع standards تساعدك تعمل:
{Qualitative identification}

طيب كيف اولّيح اكتشفنا هاي الطريقة؟

علشان مشكلة كتاب: لون بناخذ مستخلص ألوان من الزهور كانوا بيحضروا في تلاوين الملابس

اللون كان mixture، يعني مش مادة واحدة.ومع الوقت أو مع الشمس كان يصير فيه مشكلة:
«كان أكثر شيء شو بصير مع الشمس؟ مع مرور الوقت يبدأ يتغير اللون.»
وفسر:
«قسم منها تتأكسد، مش stable، وقسم منها يبدأ يعطيني أكثر من لون.»
يعني الخليط فيه أكثر من مركب، وبعضهم:
* غير ثابت.* يتأكسد.* يغير اللون مع الوقت.
فقالوا لـTswett تقريبًا:
بدنا نفصل مكونات اللون، عشان نعرف مين منهم stable ونستخدمه بالصباغة.يعني الهدف:
{Separate the color mixture}
وبعدين نحدد:{Which component is stable}

بعدين بدأ يضيف Solventوقال:
«وبلش يضيف solvent، trial and error، يستخدم different solvent لحتى يقدر يفصله.»
يعني ما كانت من أول محاولة.
كان يغيّر نوع الـsolvent:
{Trial and error}
إلى أن يحصل على فصل جيد.

شو القوة اللي كانت بتحرك المواد؟

يعني هذا العمود القديم ما كان فيه pumps مثل HPLC الحديثة.
الحركة كانت أساسًا بفعل:
{Gravity}

شو بصير مع الزمن؟

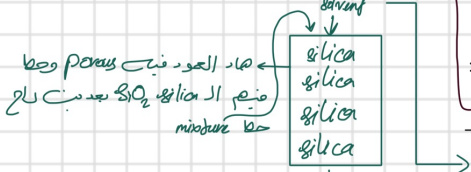
يبدأ الفصل بالبداية جكدوا ← A B C بعد مرور الوقت

ليه اسمها chromatography؟

كلمة Chromatography مرتبطة تاريخيًا بـالألوان لأن أول فصل كان لمخاليط ملونة من مستخلصات النباتات/الزهور.
يعني لما Tswett مرّر خليط الألوان خلال العمود، المواد ما نزلت كلها مع بعض؛ انفصلت وصارت تظهر كـbands ملونة بمواقع مختلفة داخل العمود فصار عنده ألوان منفصلة بسبب عملية الفصل.
ومن هون جاءت تسمية chromatography المرتبطة باللون/الكتابة بالألوان

وهي أداة

خود Tswett راح ما لقى column وعشان هيك



بس دخلنا كلي جوا العمود شو صار؟
كل جزء جوا الـmixture رح يتحرك بسرعة مختلفة
ليه السرعة تختلف؟
علشان الـpolarity
عشان الـsilica ← polar، والـsolvent كان ← nonpolar

* normal phase هاد الوضع اسمه

وحدة الـpolarity إلها عالية تمشي بطيء، الـpolarity الواطية راح تمشي أسرع وتحب الـsolvent.

شرح الدكتورة هالة الملايحة

الـChromatography مش بس موضوع نظري، بل موجودة تقريبًا بكل مكان عملي مهم للصيدلة والجودة. أول تطبيق ركز عليه هو Pharmaceutical Company / Quality Control. الدكتور قال تقريبًا: «الـpharmacy company وين ما راح تروح لأي معمل، أول ما يسألك يسألك تعرف إشي عن الـchromatography». وبعدين ربطها حتى بامتحان الكفاءة وقال إنه لما تتخرجوا إن شاء الله وتعملوا امتحان الكفاءة حتى تحصلوا على الموافقة، من ضمنه تقريبًا خمس أو ست أسئلة عن الـChromatography، وإذا قدمت لأي معمل خاص خصوصًا QC ممكن يسألك: شو هو HPLC؟ شو هي Chromatography؟ وقال إنها أسئلة ثابتة، لذلك الـChromatography استخدامها في QC أساسي وهي unit أساسية موجودة بأي معمل، وحتى الغذاء والدواء نفس الشيء، واللي بده يشتغل على هاي الأجهزة على رأسها HPLC. والـHPLC كجهاز ممكن يعمل Qualitative وQuantitative analysis. بعدين انتقل للمستشفيات وقال: «Hospital نفس الشي، عندي نفس الموجود بالـunit تاعت المختبرات»، وأكيد في Chromatography مثل HPLC أو TLC، ونفس المبدأ، وممكن تستخدم في تحليل دم المريض. بعدها انتقل للـLaw Enforcement وقال تقريبًا: «جماعة الـcrimes، الجرائم، بس الجماعات أكثر شيء المدمنين والمخدرات، بتكون نسبة مثلًا شارب alcohol عالي أو شارب مادة مخدرة عالية، كيف بدي أعرفها؟ بسحب عينة دم أو urine وأحللها بالـquantitative». وذكر كمان الجرائم والـDNA وعملية فصله حتى نعرف إن هذا الـDNA يعود لهذا الشخص. بعدين انتقل للـEnvironmental Agencies، اللي هي Quality Control للبيئة، وقال إنه إذا صار عندي تلوث أو عندي مادة في بحيرة أو مادة في مي أو بئر أو مواد سامة تدخل، أو موجودة بالـfruits، مين اللي يحللها؟ الـChromatography. وآخر شيء الـManufacturing Plants، ونفس الشيء احتمال استخدام Pesticides، وقال: «Pesticides هذول المبيدات الحشرية، مبيدات الديدان...» وإذا المزارع يستخدم نسبة مبيدات عالية، كيف نكتشفها؟ بالـfruit راح تكون نسبة هاي المادة موجودة عالية، ومين اللي يحللها ويفصلها؟ الـChromatography. يعني التطبيقات اللي حكاها الدكتور تشمل Pharmaceutical companies وQuality Control وHospitals وLaw Enforcement والجرائم والمخدرات والـDNA وEnvironmental Agencies وتحليل التلوث والمياه والمواد السامة وManufacturing Plants وتحليل Pesticides الموجودة في المنتجات الزراعية.

Uses for Chromatography

Real-life examples of uses for chromatography:

- Pharmaceutical Company – determine amount of each chemical found in new product
- Hospital – detect blood or alcohol levels in a patient's blood stream
- Law Enforcement – to compare a sample found at a crime scene to samples from suspects
- Environmental Agency – determine the level of pollutants in the water supply
- Manufacturing Plant – to purify a chemical needed to make a product

8

1 الـCarrier Gas

الدكتور قال:

«هذا الجهاز مبسط، الـcarrier الحامل... نفتح فقط gas شغال، gas ويروح للـdetector ويصفر عليه وما بشوف شيء، بس مرّ gas.»

يعني بالبداية نشغّل:

{Carrier gas}

قبل إدخال العينة.

الغاز يمشي خلال الجهاز إلى الـdetector، والجهاز يعمل baseline/zero

---

2 بعدين ندخل الـSample

قال:«إذا كانت المادة سهلة التطاير ما في مشكلة، وإذا كانت شوي قليلة مش سهلة التطاير نسخنها، فتتحول المادة معي، الـsample، لغاز.»

يعني العينة في GC لازم تكون قادرة تدخل كـgas/vapor.

إذا كانت سهلة التطاير:

{تدخل بسهولة}{Volatile}

وإذا احتاجت:

{vapor تحويلها إلى}{Heating}

وبعدين:

«هذا الغاز يدخل مع هذا الغاز ويمزجوا ويبدؤوا يدخلوا مع بعض للـcolumn.»

Sample vapor + Carrier gas → Column يعني

Gas chromatography الـ

Carrier gas

↓

| Gas tank |

↓

Injector / Auto-sampler

↓

Column

↓

Detector

↓

Chromatogram

انواع الـchromatography

Liquid chromatography — Gas chromatography

الاختلاف فيهم MP و SP

لكن الاسم يعتمد على نوع الـMobile phase:

Mobile phase = Gas ⇒ *Gas Chromatography (GC)*

Mobile phase = Liquid ⇒ *Liquid Chromatography (LC)*

والدكتور قال:

«إذا كان الـmobile gas فهو Gas Chromatography، وإذا كان liquid فهو Liquid Chromatography، LC وGC مختصر، معتمدة على مين؟ على الـmobile، type of mobile.»

يعني أهم قاعدة هون:

GC vs LC classification depends on the mobile phase

3

الـColumn في GC
الدكتور قال:
«الـcapillary column، أبسط شيء فهو capillary tube، column.»
ورسمها كأنها أنبوب رفيع
Sample + Carrier gas
↓
Capillary tube
↓
Detector

liquid chromatography

الـ MP يكون liquid ← الـ column هون يكون عبارة عن cylinder مصنوع من مادة خاصة ذي الـ stainless steel

شو موجود داخل الـ lc column؟

يعني الـcolumn مش فاضية مثل الصورة المبسطة

lc column

packed particles

وفي المثال:
{Packing = Silica}
وقال إن العينة مع الـmobile phase تدخل وتمشي بين الـpores/الفراغات الموجودة بين الحبيبات.
وذكر إن حجم هذه الحبيبات صار صغير جدًا مع الـsilica فيها:
{Polar stationary phase}
والـmobile phase أقل قطبية/nonpolar حسب المثال.
وهذا رح يسميه بعد شوي:
{Normal phase}

مادة الـ polar رح تفضل أكثر بالـ silica أبطأ ← بميل بالـ silica

مادة الـ nonpolar أسرع ← بميل للـ MP ← nonpolar analyte

nonpolar analyte

يعني لو عنا مركب polar مثل methanol مع hydrocarbon nonpolar مثل hexane/hexene أو cyclohexane أثناء شرحه.
فقال إن الأسرع يكون المركب الـnonpolar، بينما:
«الـmethanol راح يبقى شابك بالـsilica.»

Plain text

```
Methane
  +
Propane
  +
Heptane
  +
Carrier gas (Ar / He)
      ↓
   Column
      ↓
  Detector
```

مين يوصل أول؟

الدكتور قال:

> «مين اللي راح يصل أسرع؟ راح يكون الـmethane... ليش؟ لأنه هو أصغر وأخف وزن.»

وبعدين:

> «اللي بعده راح يجي propane، واللي بعده راح يجي heptane.»

حسب المثال وطريقة الدكتور في الشرح، الترتيب:

Methane → Propane → Heptane

وربطها بالوزن وقال:

> «بسبب الـmolar mass، كل ما يصغر كل ما الجاذبية عليه أقل، كل ما يتحرك أسرع، كل ما يصل للـdetector أسرع.»

يعني حسب شرح الدكتور لهذا المثال:

Smaller/lighter → reaches detector earlier

مثال الدكتور: فصل Hydrocarbons ⭐

هون الدكتور أعطى المثال المهم وقال إن GC كثير تُستخدم مع:

Hydrocarbons

وذكر مشتقات النفط والـpetrochemicals، وبالأخص وقود الطائرات والكيروسين.

قال تقريبًا:

> «أكثر شيء استخدامه بالـhydrocarbons، عندي مشتقات النفط والـquality تاعت النفط، خاصة عندنا وقود الطائرات، الكيروسين، هذا لازم نعمل له Quality Control كـcheck.»

ليش؟

لأنه قال إذا كانت نسبة المواد الثقيلة في وقود الطائرات عالية:

> «راح تأثر لي على أداء محركات الطائرات.»

المثال اللي رسمه الدكتور

أخذ خليط Hydrocarbons بأحجام مختلفة، وذكر مثل:

Methane
Propane

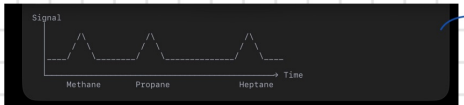
ومركب أثقل مثل:

Heptane

وخلطهم مع carrier gas خامل، وذكر أمثلة:

Argon أو Helium

سبيكة/مجموعة عناصر
أدهم تكون Inert



هيك بظهر على الـ chromatogram

وقال:

> «هذا وصل أبكر... هذا الـretention time... اللي جاني أسرع time، أسرع وصل للـdetector هو الـmethane.»

يعني:

Methane = shortest retention time in his example

ثم Propane، ثم المركب الأثقل.

Gas-Liquid / Bonded phase ☆

بعدها الدكتور قال إنه ممكن بدل ما يكون الـcapillary مجرد tube، يكون عليه coating من الداخل:

> «مرات نعمل coating هون... ومرات تستخدم bonded... بس يبقى هذا الـhole بالـGC مفتوح.»

يعني تقريبًا:

Plain text

```
Cross section of capillary:

      ┌──────┐  ← coating
      │ OPEN │  ← open passage
      └──────┘
```

فأكد إن في GC يبقى عندك open central path داخل الـcapillary.

هسا عنا بالـ 4 خمس انواع للفصل "الدكتور حكى هيول جدًا مهمين لازم نفهم فكره كل طريقة لنعرف عذاب بالامتحان ، الصفحات اي قدام هاي معها يعني بس تمشوا بالعمود انزلوا لتحت ، الخاصة بصفحات حالها"

Adsorption

Separation by adsorption on solid stationary phase

liquid اكيد الـ MP طبعًا

وحضا انواع الـ SP ← Silica SiO_2

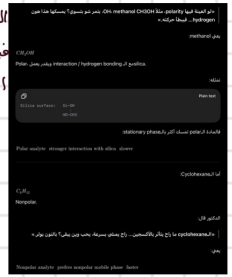
ذي الـ TLC ← شرايح الطبقات ← Aluminium support ← Silica layer ← SP صوب بصير الفصل

* اهم فكره normal phase بكون فيها SP ، polar و MP ، non polar

لـ Silica ليش polar؟

على سطح الـ SiO_2 في O ← $Si-O-Si-O-Si$ ← OH

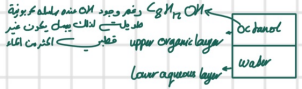
سطحها polar والمادة الـ polar بضل فيها خصير ابطأ



إذا حطينا الاثنين بنفس الـ TLC

Partition

معنا الكلمة اخاطة تتوزع بين ثابتين ما بمتزجوا هوا يعني الـ SP والـ MP الـ liquid ذي مثلاً Octanol و water ما بمتزجوا بعلوا طبقتين



طيب شو نعمل بالعينة؟

الدكتور قال:

«نأخذ العينة، sample، عبارة عن مادة أو مادتين أو أكثر، وحدة polar ووحدة nonpolar، ونضيفهم هون ونرج.» يعني نضيف mixture فيها مثلًا:

{A{polar}} + B{nonpolar}

إلى:

{Octanol + Water}

وبعدين نرج الأنبوب.

شو بصير بعد الرج؟

المادة الـpolar تحب الماء أكثر:

{Polar analyte} ⟶ Water

أما المادة الـnonpolar تحب octanol أكثر:

{Nonpolar analyte}. Octanol ⟶

وبعدين:

«نسحب كل layer ونحلل.»

الدكتور ربطها بالـAdsorption

قال تقريبًا:

«إذا عندي mixture فيه polar وnonpolar، كيف أفصلهم؟ يا أروح للـTLC السابقة اللي هي Adsorption، يا أجي للـPartition.»

يعني عنده طريقتين ممكن تساعد في فصل مواد مختلفة بالـpolarity:

{Partition}:أو{Adsorption}

لكن مبدأ الفصل مختلف.

Adsorption:

المادة تمسك على surface solid.

Partition:

المادة تتوزع بين liquid phases

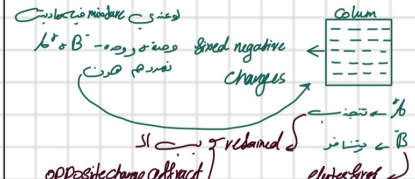
Ion exchange

هسا من اي قبل منفصل الـpolar من الـnon هسا المواد الـpolar نفصلهم بدي افصلهم منهوا وهون الفصل بكون based on charge

الدكتور أول شيء وضح ليش الـAdsorption أو TLC العادي ممكن ما يكون كافي هون. قال تقريبًا: > «بالـTLC لا... رح يمسكوا اثنينهم، يمشوا أو يخرجوا بسرعات كثير قريبين لبعض... ما بقدر exactly أفصلهم 100% لأنه قريبين.» يعني لو المادتين الاثنين polar وقريبين كثير بالخواص، ممكن يتحركوا تقريبًا بنفس الطريقة، فالفصل ما يكون واضح. هون نحتاج نفصلهم حسب الشحنة بدل الـpolarity فقط.

بعدها قال إنه نستخدم column مع stationary phase فيها شحنات مثبتة.

وشرحها كأنه عندنا حشوة داخل العمود ممكن نخلي سطحها موجب أو سالب حسب الـpH. مثّل الفكرة تقريبًا بهذا الشكل:



وبعد ما يطلع الـnegative analyte، الدكتور قال نغير الظروف حتى نفك المادة الموجبة اللي كانت ماسكة. قال تقريبًا: > «شو بسوي؟ الخطوة الثانية أوقف وأضيف water اللي هو around seven... هاي تتحول neutral، بيفك ويطلع مين؟ البوزيتيف.»

يعني حسب شرح الدكتور، تغيير الـpH يخلي المجموعة المشحونة على الـstationary phase تصير neutral، وبالتالي المادة الموجبة ما عاد تقدر تمسك فيها

Size Exclusion

الفصل بصير تبعًا على الـ molecular size الـ SP عبارة عن ● ● ● ● beads او particles فيها فتحات وهمامات ○ ○ ○ ○ ← pore هي الـ particle كل "porous تكون column" اذكره هوا الـ

لو عندي A° و B° الـ 2 نفس الفتحات لكن كبيره A° وصغيره B°

كبيره A° ← تضرم هوا داخل الـ column

صغيره B° ← ما تضرم

العينة الكبيرة تمر بينهم وتخرج ليش؟لأن حجمها أكبر من الـpores فيمر من المسار الخارجي بين الحبيبات فقط.

يعني:{Large molecules cannot enter pores}

فتكون حركتها مباشرة وأسرع

إذن:{Large = elutes first}

شو بصير للجزيء الصغير؟

الدكتور قال:

«بس الصغيرة راح تيجي stuck هون بالpores...»

يعني الصغيرة تقدر تدخل داخل المسامات فتضيع وقت وهي تدخل وتطلع من الـpores.

يعني:

{Small molecules enter pores}

وبالتالي:{Small = retained longer}

Mixture:

Large A + Small B

↓

Size-exclusion column

↓

First: A (large)

Later: B (small)

زيادة الضغط تساعد في إخراج المادة الصغيرة من الـpores:

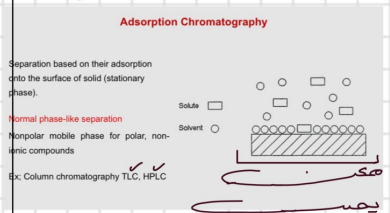
{small molecule comes out} ⟵ {Increase pressure}

ذي الـ Hamptons أو الي جزيئاتها صغيرة فتضل جوا المسامات بس اضغط الـ Hamptons بزيد الي بتطلع

Molecule size > pore size ⇒ cannot enter

أما:

Molecule size small enough ⇒ enters pores



لنا بكل هيك ويطلب نعرف طبيعة العينة

مثلاً إذا الشكل بيبيّن إن أغلب analyte موجودة بالـmobile phase
وحكى أنت بـNormal phase:
{Mobile = nonpolar}
فإذا analyte قضت وقت أكثر بالـmobile:

يعني كيف احل شكل زي هيك؟
أول سؤال:
{Normal or Reverse phase?}
إذا قال:
{Normal}
إذن فورًا:
{Stationary polar}
{Mobile nonpolar}
بعدها شوفي وين العينة موجودة أكثر.
إذا أغلبها بالموبايل:
{Nonpolar analyte}
إذا أغلبها ماسكة بالstationary:
{Polar analyte}

«TLC tool أداة استخدمتوها بالorganic، استخدمتوها بالbiochemistry، فصلتوا فيها شغلات كثير.»
يعني TLC مش جهاز كبير مثل HPLC، لكنها وسيلة فصل بسيطة
عندي مادتين، واحدة polar ووحدة nonpolar، وأقدر أفصلهم بالAdsorption

فالتسلسل حسب شرحه:

$$A^+ + B^- \rightarrow \text{column}$$

ثم:

يخرج أولًا B^-

ثم نغير الpH:

يفك ويخرج A^+

وهيهاي الطريقة فصلنا:

Positive from Negative

الدكتور بعدها صار يناقش كيف المادة الموجودة على الcolumn ممكن تتأين حسب الpH، وصار في سؤال من الطلب نظريًا عن الH₂O والكحول، فرد الدكتور إنه الفكرة مش إنه أي كحول دائمًا يتأين بسهولة، لكنه كان يسحّ الفكرة بالمثال: acid/base chemistry. وذكر phenol كمثال وقال نظريًا: > «تذكروا إذا بالأورجانك... في عندي phenol... الفينول أكثر acidity من aliphatic...»

ومثّل إنه لو عندك phenol:

$$Ar-OH$$

ومع base ممكن تنقد البروتون:

$$Ar-OH \rightarrow Ar-O^- + H^+$$

فصار عندك surface أو group عليها:

Negative charge

وقال يعني الكلام إن الacid هو المركب اللي يقدر يعطي proton، وإنه يقدر يتغب بالpH حتى يحول المجموعة من neutral إلى charged أو العكس.

وبعدين رجع للفكرة الأساسية مرة ثانية وقال نظريًا: > «أنا قاعد بس أبسط الفكرة... عندي جوا base أضيف له acid... أو العكس... بس تغب على أساس charge و media acid و base.»

يعني المطلوب مني تحفظ المثال الكيميائي بالحرف بقدر ما تقيض.

Change pH ⇒ Change ionization

و

Change ionization ⇒ Change attraction to stationary phase

وبالتالي تتحكم بوقت خروج المادة.

بعدها الدكتور دخل على Log P ⭐⭐⭐

وهون الجزء المهم جدًا.

قال نظريًا:

> «إذا سامعين المصطلح... تسمية Log P، partition coefficient...»

القانون اللي شرحه:

$$P = \frac{\text{Concentration of analyte in octanol}}{\text{Concentration of analyte in water}}$$

وبعدين:

$$\log P = \log\left(\frac{C_{\text{octanol}}}{C_{\text{water}}}\right)$$

يعني ببساطة:

فوق = Octanol
تحت = Water

كيف أعرف المادة Nonpolar من Log P؟

الدكتور قال:

> «إذا كانت كمية المادة بالupper layer عالية... البسط أعلى من المقام... كل ما تزيد قيمة الـlog P معناته المادة nonpolar.»

يعني لو:

$$C_{\text{octanol}} > C_{\text{water}}$$

إذن:

$$P > 1$$

وبالتالي:

$$\log P > 0$$

فالمادة تميل للoctanol:

Higher log P → More lipophilic / nonpolar

وإذا المادة Polar؟

قال:

> «كل ما يقل من دون الواحد... معناته بالمقام أعلى من البسط، فالمادة تكون highly polar، وصرات حق تطلع negative.»

يعني إذا:

$$C_{\text{water}} > C_{\text{octanol}}$$

إذن:

$$P < 1$$

وبالتالي ممكن:

$$\log P < 0$$

فتقول العادة:

More polar / hydrophilic

مثال رقمي بسيط على نفس فكرة الدكتور

لو المادة تزوجت:

$$C_{\text{octanol}} = 80$$

و

$$C_{\text{water}} = 20$$

إذن:

$$P = \frac{80}{20} = 4$$

فالoctanol فيه أكثر يعني المادة تميل تكون:

Nonpolar / lipophilic

أما لو:

$$C_{\text{octanol}} = 10$$

و

$$C_{\text{water}} = 90$$

إذن:

$$P = \frac{10}{90} < 1$$

فهون المادة تميل تكون:

Polar

كيف بنعمل Log P عمليًا حسب الدكتور؟

قال نظريًا:

> «نضيف المادة، إن كانت liquid نترتها وإن كانت solid نضيفها ونرج... نسحب بالدروبر الطبقة الأولى والطبقة الثانية، فصناحبر ونروح نحلل.»

يعني الخطوات:

```
Sample
+
Add to octanol + water
+
Shake
+
Allow layers to separate
+
Take octanol layer
Take water layer
+
Analyze concentration in each
+
Calculate P / log P
```

بعدها الدكتور دخل على السمية وLog P

وقال:

> «كل ما تكون Log P لها عالية كل ما تكون nonpolar... وفوق الأربعة أو 3.7 وصاعد تصير toxic...»

هاي الجملة حسب شرح الدكتور بالمحاضرة. فإحنا نحفظها كشرح المحاضرة بدون ما نعمهما كقانون شامل لكل المواد.

وبما يلبس ليش المادة ذات الـLog P العالي ممكن تعمل مشكلة بالجسم.

كيف شرح دخول المادة إلى الجسم؟

قال إن المادة السامة لما تدخل الجسم:

> «بتحملها الدم، تروح لل cells.»

وبعدين ركز على cell membrane، وقال إن المادة اللي lipophilicity تبعها عالية تقدر تنفذ عبر الغشاء.

نظريًا:

```
Blood
+
lipophilic molecule
+
Cell membrane
|||||||||||
+
Cell
```

وقال:

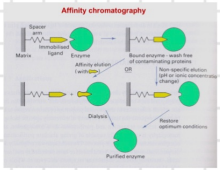
> «المادة اللي Log P تبعها عالي تنفذ من الporesالأغشية وتفوت جوا.»

ويحسب شرحه، المشكلة إنها ممكن تتجمع داخل الأنسجةالخلايا إذا كانت شديدة الlipophilicity وما تخرج بسهولة لنوسط الحمالي.

يعني الفكرة اللي بده يوصلها:

Very high lipophilicity → accumulation tendency

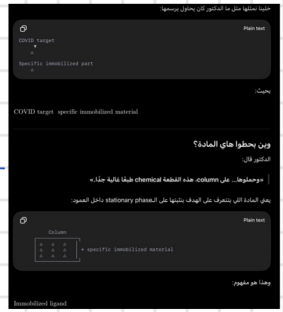
مثال الدكتور: Diclofenac ⭐ بعدها قال: «مثلاً Diclofenac... له 4.1...» يعني ذكر إن الDiclofenac عنده Log P عالي نظريًا حسب كلامه، وقال إنه رغم إنه عنده Biological activity، وهو: Anti-inflammatory، لكن لازم نقدر نخليه مناسب أكثر للاستخدام. فسأل: «شو سووا له حتى يستفيدوا منه؟ حولوه لملح.» يعني: Diclofenac → Diclofenac sodium. وقال إن تحويله إلى sodium salt يخفض الlipophilicity حسب شرحه. ليش تحولوه Salt؟ حسب شرح الدكتور/ الفكرة: Salt form → more water-compatible / more polar. فقال نظريًا إنه يدخل، يؤدي وظيفته البيولوجية، وبعدها الجسم يحوله إلى: More polar metabolites، حتى يخرج بسهولة. وقال: «يدخل يؤدي واجبه وفعاليته البيولوجية ويخرج بدون مشاكل، يفعل له excretion، أغلبه يطلع بال urine لأن نسبة المي عالية.» يعني التسلسل اللي شرحه: Drug → Absorption → Blood → Cells → Biological effect → More polar metabolite → Excretion → Urine. وبعدين رجع لل Partition Chromatography، الدكتور قال إن نفس فكرة التوزيع بين polar/nonpolar phases موجودة في: HPLC، وكمان ممكن نربط بمبادئ شبيهة في TLC حسب نوع النظام. والسلايد نفسها تفرق في Partition بين: Normal: Stationary phase more polar than mobile/Reverse: Stationary phase less polar than mobile. وتذكر HPLC كمثال شائع لل reverse phase.



Affinity chromatography

الي أنقذ العالم، اللي هو الـAffinity. هذا أنقذ، استخدم بالـCOVID.»
يعني هاي الطريقة مختلفة شوي عن الطرق السابقة. هون الفصل قائم على إن عندي مادة تحب وترتبط بشكل محدد جدًا بمادة ثانية.
الفكرة الأساسية:
{Affinity Chromatography = Specific interaction}

هو دخل covid؟
كل فيروس عنده genetic sequence خاص فيه «شو سووا؟ راحوا أخذوا قطعة من هذا الـviral، والتسلسل الجيني...»يعني ركزوا على جزء/تسلسل معين مميز للفيروس.بعدها قال إنهم حضّروا مادة



قبل تغير الـPH
بعد التغير
بطل مناسب للارتباط

هلأ سؤال ع

Which chromatography is based on a specific interaction between an analyte and an immobilized ligand?
فورًا:
{Affinity Chromatography}

- إذن شو الفرق الجوهري بينها وبين الأربع اللي قبلها؟ ⭐
شوفي كيف الدكتور بناهم وحدة وراء وحدة:
Adsorption:
فصل حسب اختلاف الـpolarity والـadsorption.
{Polar vs Nonpolar}
Partition: فصل حسب توزيع المادة بين طورين.
{Distribution between phases}
Ion Exchange: فصل حسب:
{Charge}
Size Exclusion: فصل حسب:
{Size}
أما Affinity:
{Specific affinity / specific interaction}
يعني كأن المادة المستهدفة إلها شريك معين فقط تمسك فيه.

معادلات بربط لعمليات الـsupport

الـ LC ← الـ column تكون عادة packed column يعني محشية بمادة مثل الـsilica

الـ GC ← ممكن يكون عنده capillary يعني tube رفيعة ومفتوحة من الوسط وممكن يكون عليها coating من الداخل

الـ TLC ← عبارة عن aluminum عليه coat الـsilica هي الـ SP والـaluminum مجرد supporting medium

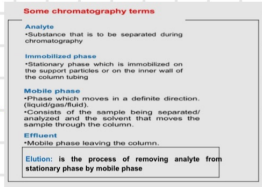
يعني الـstationary phase ممكن تكون coated على الجدار الداخلي، لكن يبقى المسار الداخلي مفتوح للغاز.

وبالتالي الدكتور كان بده يوصلكم إن شكل الـsupport ممكن يختلف، لكن مبدأ الفصل نفسه ثابت.

وهذا موجود بالسلايدات كتصنيف حسب نوع الـsupport إلى:

- Packed bed / column
- Open tubular / capillary
- Open bed / planar chromatography

مصطلحات مهمة لازم تتبنى عليها



1. Analyte:
قال: «الـsample اللي بدي أحلله اسمه الـanalyte... الـsubstance اللي أنا بدي أفصله بالـchromatography المصطلح عليه الـanalyte.» يعني:
Analyte = المادة اللي بدي أحللها أو أفصلها. مثلاً لو عندي mixture: A+B+C، والمادة اللي مهتم فيها هي A، فهي Analyte.

2. Immobilized phase:
الدكتور قال: «Immobilized phase اللي هو الـstationary، يا أقول immobilized يا أقول stationary، نفس المعنى.» يعني:
Immobilized phase = Stationary phase = Fixed phase.
كلمة immobilized نفسها معناها إنها غير متحركة. فلو بالسؤال بدل ما يكتب Stationary phase كتب Immobilized phase ما تتلخبطي، هو نفسه.

3. Mobile phase:
قال: «Mobile اللي هو المتحرك، ممكن أقول solvent وممكن أقول mobile، نفس المعنى.» يعني: Mobile phase = moving phase. وفي LC ممكن تكون Solvent، وفي GC تكون Carrier gas حسب نوع الكروماتوغرافي.

4. Effluent:
هون الدكتور وقف وشرحها بالتفصيل لأنها ممكن تتلخبط مع Elution.هون مثلاً بالـLC نمثل الجهاز: Mobile phase → Injector → Column → Detector. وبالبداية قبل ما نحقن العينة، الـmobile phase شغالة لحالها. قال: «أول ما أشغل الجهاز بشغل mobile بدون أي فصل، ما في فصل لسه ما حقنت شيء.» يعني قبل حقن العينة: Mobile phase → Column → Detector. ما في analyte أصلًا. بعدين نحقن العينة. قال: «بعد ما أحقن العينتي هون، يدخلوا ويمزجوا الـmobile مع الـsample ويدخلوا للـcolumn.» يعني: Sample + Mobile phase → Column. لكن العينة ما تطلع فورًا، لأنها تتفاعل مع الـstationary phase. أما الـmobile نفسها تكمل طريقها بسرعة. فقال: «أول شيء راح يخرج فقط mobile، لأنه المادة ظلت لساتها ماشية ببطء جوا، بس الـmobile ماشي بسرعة.» وهون سماها: Effluent. حسب استخدامه للمصطلح في الشرح. يعني أول شيء خارج من العمود يكون الـmobile phase قبل ظهور analyte. تمثيلها: Column → Mobile only → Detector. وقال تقريبًا: «اللي خرج mobile من أول ما حقنا... أول شيء راح يخرج من الـcolumn هو فقط mobile، نسميه effluent.»

5. Elution:
بعدها قال: «بعد هيك بعد شوي، دقيقة دقيقتين، تبدأ تخرج العينة مع الـmobile.» يعني صار: Column → Mobile + Analyte → Detector.
وهون قال: «يبدي الموبايل... حمل العينة ووصلت هون، العينة تبدي تفك من الـcolumn وتروح للـmobile وتخرج، هاي عملية فك العينة من المادة اللي جوا، من الـstationary، وروحتها للموبايل وخروجها نسميها elution.» إذن: Elution = إزالة/فك الـanalyte من stationary phase بواسطة mobile phase. وهذا نفس تعريف السلايد:
Elution: is the process of removing analyte from stationary phase by mobile phase
. الفرق بين Effluent وElution: هاي لازم تكون واضحة جدًا. Effluent حسب شرح الدكتور: هو السائل/الـmobile اللي خارج من العمود، خصوصًا

Effluent	analyte still inside, mobile coming out
Elution	analyte starts coming out with mobile

عنا مصطلح يخص الـmobile

Gradient ← لو النسب تتغير مع الوقت بغي

Time	A	B	C
0 min	10%	40%	50%
3 min	20%	30%	50%

هون C ظل ثابت، لكن:

$A: 10\% \rightarrow 20\%$

و

$B: 40\% \rightarrow 30\%$

فصار:

Gradient

الدكتور أكد:

> «مش ضروري الكل يتغير المهم واحد at least... إذا أي واحد منهم تغير مع الـtime نسميه Gradient.»

يعني:

At least one mobile – phase component changes with time Gradient

Isocratic ← يعني A,B,C بـ 3MP والنسب تضلّ نفسها من بداية لنهاية

Time	A	B	C
0 min	20%	30%	50%
3 min	20%	30%	50%
6 min	20%	30%	50%
10 min	20%	30%	50%

فهذا:{Isocratic}

والدكتور شدد على نقطة مهمة جدًا: مش شرط يكون عندي mobile phase واحدة عشان أسميه Isocratic.

ممكن يكون عندي:

A+B+C

ثلاثة mobile phases، ومع ذلك Isocratic، طالما النسب ثابتة مع الوقت.

وقال:

«بقى ثابتين من بداية الـrun لنهايته، هذا نسميه Isocratic... على الرغم إنه أنا بستخدم أكثر من mobile phase.»

إذن:{composition/ratio =I socratic ثابتة مع الوقت}

ليش أصلًا أستخدم Gradient؟ ⭐⭐⭐ هون الدكتور أعطى مثال مهم. قال افترضي عندي analytes قريبين من بعض، وخصوصًا عندي مواد Hydrophobic / Nonpolar. وقال تقريبًا: «عندي analyte... داخلين قريبين كثير بالـpolarity، كثير قريبين، اثنينهم hydrophobic يعني اثنينهم nonpolar.» وعندي mobile phases مثل Water، وذكر Acetonitrile وكتب تركيبه $CH_3–C\equiv N$، وكان يشرح فكرة تغيير نسب الـmobile phase حتى نقدر نطلع المركبات المحتجزة أسرع. لو خليت الـMobile phase ثابتة، قال: «لو أبقيهم ثابتين ودخلوا، راح يمشون ببطء جدًا جدًا...» يعني ممكن الفصل يأخذ 20 دقيقة أو أكثر حسب المثال اللي أعطاه. فالمشكلة: Long analysis time، وكمان طول الوقت يعني استهلاك mobile phase أكثر → More chemicals. شو يعمل بالـGradient؟ الدكتور قال إنه يغير نسب الـmobile phases أثناء الفصل. مثلاً بالبداية يكون عنده نسبة مناسبة حتى يطلع المركب اللي يخرج بسهولة، وبعدها يغير النسب حتى يطلع المركب الـnonpolar المحتجز بشكل أسرع. وقال بمعنى الكلام: «حتى أمشيه أسرع أخفض الـpolar وأزيد... حتى أقدر أختصر وقت.» يعني بدل ما يستنى المركب المحتجز وقت طويل، يغير قوة الـmobile phase حتى تحمله وتخرجه. مثلًا حسب المثال اللي كان يشرحه، بالبداية ممكن تكون النسب 50:50، وبعدين يغيرها بحيث يزيد الجزء اللي يساعد على إخراج الـnonpolar analyte، وقال مثلًا 20:80. النتيجة؟ قال: «بدل ما أفصل بـ20 دقيقة... بقدر أفصله بخمس دقائق.» يعني 20 min → 5 min، وبالتالي Gradient → Faster separation. وكمان: «حتى الـchemicals ما راح أصرف كثير... فما راح تصير عندي cost عالية.» إذن حسب كلام الدكتور، الفوائد: Shorter analysis time + Less solvent/chemicals consumption + Lower cost.

الطالب سأله عن الـRatio

صار نقاش تقريبًا:

> «يعني لو الـratio ثابت برضه؟»

والدكتور وضح إنه المقصود إن النسب نفسها تظل ثابتة

مثلًا:

$A = 20\%, \quad B = 30\%, \quad C = 50\%$

من البداية للنهاية:

Isocratic

أما لو كانت بالبداية:

$A = 20\%, \quad B = 30\%, \quad C = 50\%$

وبعدين صارت مثلًا:

$A = 40\%, \quad B = 30\%, \quad C = 30\%$

فواحد أو أكثر تغير:

Gradient

وقال الدكتور:

> «أي واحد تغير مع الـtime فهو Gradient... أما إذا كان 20 من بدايته لنهايته، وهذاك 30 من بدايته لنهايته، وهذاك 50 من بدايته لنهايته، ما تغير، على الرغم إنه الـratios بس بقوا ثابتين، هذا نسميه Isocratic.»

آخر قاعدة بده إياكم تعرفوها

Isocratic:

ثابتة مع الوقت Mobile-phase composition

حتى لو كانت مكوّنة من أكثر من solvent.

Gradient:

متغير مع الوقت Mobile-phase composition

وما لازم كل المكونات تتغير.

Gradient = تغير واحد على الأقل

والسبب اللي ركّز عليه الدكتور لاستخدام Gradient:

تسريع الفصل + تقليل الوقت + تقليل استهلاك المواد + تقليل التكلفة

Detector وتبعها الـ

الدكتور قال إن الـmobile phase ممكن الـdetector يشوفها أو ما يشوفها حسب نوع detector والمادة.

قال تقريبًا:

> «الـeffluent مش دائمًا يكون ما بينشاف، بتشاف بالبداية وبتصفر عليه.»

مثلًا لو الـdetector:

UV detector

وكان الـmobile phase تمتص UV، الجهاز بشوفها.

لكن يعمل عليها zero/baseline حتى ما يعتبرها analyte.

قال:

> «إذا كان الـUV detector، شافه وصفر عليه... هو ما بيهمه الـmobile، يهمه العينة.»

يعني كأن الجهاز يقول:

Mobile phase signal = baseline

وبعدين أي زيادة بسبب analyte تظهر كـpeak.

رسم الفكرة اللي كان يقصدها

في البداية:

Plain text

```
Signal
  |
  |
  |_____________ time
mobile phase only
```

هذا baseline.

بعدين لما تبدأ العينة تخرج:

Plain text

```
Signal
  |        /\
  |       /  \
  |______/    \_____ time
         ^
      analyte
```

الدكتور قال:

> «يبقى صفر، اللي قاعد يخرج من الـcolumn، mobile، mobile، mobile فقط، إلى أن بالـelution بلش يخرج mobile مع العينة.»

بعدين دخل على Retention Time و Void Time

قال:

> «هون عندي هذا نسميه injection تاني، بلش من صفر، هون الـtime void اللي يخرج فيه الـmobile، وبعدين هون الـtime retention تاعت العينة.»

يعني عندنا chromatogram:

Plain text

```
Signal
  |
  |
  |_____|\_____ time
        tM   tR
```

Void time / t_M

هو الوقت المرتبط بخروج شيء غير محتجز، الـmobile phase.

t_M = Void time

Retention time / t_R

هو الوقت اللي تحتاجه العينة حتى توصل لـdetector:

t_R = Retention time