جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل/ كليةالعلوم
قسم الكيمياء

تطوير طرائق طيفية في تقدير التتراسايكلين هيدروكلوريد وتطبيقاتها على مستحضراته الصيدلانية

رانيه إبراهيم شيت أحمد الملقي

رسالة ماجستير

علوم الكيمياء/ الكيمياء التحليلية

بإشراف

الأستاذ الدكتور سالم علي محمد الطائي

1445هـ 2023 م

الخلاصة

تتضمن الرسالة أربعة فصول :

الفصل الأوَل

يتضمن الفصل الاول مقدمة عامة عن التتراسايكلين هيدروكلوريد و اهميته واستخداماته العلاجية للعديد من الأمراض المختلفة و كذلك يتضمن وصفاً للعديد من الطرائق التحليلية المستخدمة في تقدير التتراسايكلين هيدروكلوريد، فضلا عن الهدف من البحث.

الفصل الثاني

يتضمن هذا الفصل تطوير طريقة طيفية حساسة وبسيطة لتقدير التتراسايكلين هيدروكلوريد بهيئته النقية وفي مستحضراته الصيدلانية ، إذ اعتمدت الطريقة على أزوتة الكاشف 4-أمينو حامض البنزويك بواسطة نتريت الصوديوم بوجود حامض الهيدروكلوريك لينتج عن التفاعل ملح الديازونيوم المقابل ثم اقترانهُ مع التتراسايكلين هيدروكلوريد في وسط قاعدي من هيدروكسيد الأمونيوم لتكوين صبغة أزوية ذائبة في الماء ومستقرة ذات لون أصفر والتي أعطت أعلى امتصاص عند الطول الموجي 422 نانوميتر مقابل المحلول الصوري. كانت الخطية للمنحني القياسي تتوافق مع قانون بير في مدى التركيز 0.25 – 17.5 مايكروغرام/مللتر بمعامل تقدير (R^2=0.9993) و معامل امتصاص مولاري 1.6688×10^4 لتر/ مول.سم، و بلغت قيم حد الكشف(LOD) و الحد الكمي (LOQ) 0.0120 و0.040 مايكروغرام/مللتر على التوالي، و الانحراف القياسي النسبي أقل من 2.345% وكانت قيم الخطأ النسبي تتراوح بين 0.04% إلى 1.62% والنسبة المولية لارتباط الكاشف إلى التتراسايكلين هيدروكلوريد هي 1:1. طبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الدوائية (الكبسول ومرهم) و من مناشئ مختلفة و احتُسبت قيمة t التجريبية عند مستوى ثقة 95% وكانت النتائج أقل من القيمة الجدولية.

الفصل الثالث

يتضمن هذا الفصل تطوير طريقة طيفية حساسة ودقيقة لتقدير التتراسايكلين هيدروكلوريد في حالته النقية وفي مستحضراته الصيدلانية من خلال تفاعل الاقتران التأكسدي بين التتراسايكلين هيدروكلوريد و الكاشف 4_أمينو أنتي بايرين في وسط قاعدي من محلول هيدروكسيد الصوديوم و باستعمال الكاشف N- بروموسكسينميد عامِلاً مؤكسِداً ليعطي ناتجاً ذي لون أصفر ذائباً في الماء يعطي أعلى قمة امتصاص عند الطول الموجي 387 نانوميتر. كان الناتج الأصفر مستقرا لمدة ساعة واحدة على الأقل ويتبع قانون بير في مدى التركيز 0.5-18.75 مايكروغرام/ مللتر بمعامل تقدير (R^2= 0.9994) و قيمة امتصاص مولاري مساوية إلى 1.0628×10^4 لتر/ مول. تم حساب قيمتا (LOD) و(LOQ) فكانت مساوية إلى 0.0442 و0.1475 مايكروغرام/مللتر على التوالي. أما قيمة الانحراف القياسي النسبي فكانت أفضل من 0.2614% و نسبة الاسترجاع فكانت في مدى القيم 100.74% إلى 101.36%. كذلك دُرست النسبة المولية للناتج الملون المتكون فكانت 1:1 تتراسايكلين هيدروكلوريد : 4- أمينو أنتي بايرين، كما طُبق اختبار t و F عند مستوى ثقة 95% لمعرفة دقة و صحة نتائج الطريقة المقترحة على تقدير التتراسايكلين هيدروكلوريد في مستحضراته الدوائية (الكبسول والمرهم).

الفصل الرابع: الجزء الأول (A)

تضمن الجزء تطوير طريقة طيفية غير مباشرة حساسة و دقيقة لتقدير التتراسايكلين هيدروكلوريد بشكله النقي و في مستحضراته الدوائية. إذ اعتمدت هذه الطريقة على أكسدة التتراسايكلين هيدروكلوريد مع زيادة معلومة من العامل المؤكسد N- بروموسكسينميد في وسط حامضي ثم يتم مفاعلة الفائض منه مع كمية ثابتة من صبغة الأنديكوكارمين وتحويلها إلى ناتج عديم اللون و يقاس الامتصاص للصبغة المتبقية عند الطول الموجي 610 نانوميتر. وكان المنحني القياسي يتطابق مع قانون بير في مدى التركيز 0.1-4.5 مايكروغرام/مللتر مع معامل تقدير (R^2) مساويا إلى0.9985 و امتصاص مولاري 7.7190×10^4 لتر/مول. سم. كانت قيم حد الكشف والحد الكمي 0.0039 و0.0130 مايكروغرام/مللتر على التوالي و قيم نسبة الخطأ للطريقة تتراوح بين 0.10% و 0.19% و نسبة الاسترجاع تتراوح بين 99.90% و 100.19% بينما كانت قيمة الانحراف القياسي النسبي أقل من 0.0808%. طُبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الدوائية التي تحتوي على التتراسايكلين هيدروكلوريد و لمناشئ مختلفة (الكبسول و المرهم) كما احتُسبت قيمة t التجريبية وأعطت نتائج أقل من القيم الجدولية المثبتة للطريقة عند مستوى ثقة 95 %.

الفصل الرابع: الجزء الثاني (B)

يتضمن هذا الجزء تطوير طريقة طيفية بسيطة وحساسة لتقدير التتراسايكلين هيدروكلوريد بحالته النقية وفي مستحضراته الصيدلانية من خلال تكوين معقد مع الزركونيوم (IV) بوجود محلول الخلات المنظم عند الدالة الحامضية 3.6 ليعطي ناتج التفاعل النهائي معقد أصفر اللون مستقر وذائب في الماء يمكن قياسه عند الطول الموجي398 نانوميتر. كانت خطية المنحني القياسي متفقة مع قانون بير بتركيز مداه 0.5-12.5 مايكروغرام/مللتر بمعامل تقدير (R^2=0.9989) و امتصاص مولاري مساوي إلى2.7789×10^4 لتر/ مول.سم ومعامل ساندل للحساسية 0.0173 مايكروغرام/سم^2 . بلغت قيم حد الكشف والحد الكمي 0.0039 و 0.0130 مايكروغرام/مللتر على التوالي وقيمة الانحراف القياسي النسبي أفضل من 0.0808%، بينما تراوحت قيم نسبة الاسترجاع للطريقة بين 99.90% و 100.19% و الخطأ النسبي بين 0.10% و0.19% ، واستخدمت الطريقة بنجاح في تحليل بعض المستحضرات الصيدلانية الحاوية على التتراسايكلين (الكبسولات والمرهم) و تم تطبيق اختبار t و F عند مستوى الثقة 95% لمعرفة مدى دقة و صحة نتائج الطريقة المقترحة على تقدير المضاد الحيوي قيد الدراسة.

Abstract

The thesis includes four chapters:

Chapter one

Includes a general introduction about the tetracycline hydrochloride, its importance and its therapeutic uses for the several different diseases and a review of the analytical methods used for the estimation of tetracycline hydrochloride, as well as the objective of the present research.

Chapter two

The second chapter comprises development of a sensitive and precise spectrophotometric method to estimate tetracycline hydrochloride in the bulk and in the pharmaceutical forms. In this method, p-aminobenzoic acid reagent is diazotized with an equimolar of $NaNO_2$ (sodium nitrite) solution in the existence of hydrochloric acid to produce the corresponding diazonium salt, which is subsequently coupled with tetracycline hydrochloride in a basic solution of NH_4OH to produce a water-soluble and stable yellow azo dye witch exhibits maximum absorption peak at wavelength of 422 nm versus a reagent blank solution. Under optimal conditions, the linearity of Beer's law is estimated to cover the concentration range of 0.25-17.5 µg/ml with an exceptional determination coefficient (R^2= 0.9993) and molar absorptivity of 1.6688×10^4 l/mol.cm. The values of detection limit (LOD) and quantitation limit (LOQ) are calculated and found to be 0.012 and 0.040 µg/ml, respectively. The range values of error percentage are from 0.04% to 1.62%, and the precision (RSD%) is less than 2.345%. The stoichiometry of the product is set up to be 1:1 tetracycline hydrochloride : diazotized p-aminobenzoic acid. The mentioned procedure has been utilized successfully to the evaluation of tetracycline hydrochloride in capsules and ointment. A t-test has been carried out and the results reveal that the values of t-experimental were under the artificial value at 95% confidence level

Chapter three

This chapter includes the development of a sensitive, accurate spectrophotometric method to analyze tetracycline hydrochloride in its pharmaceutical formulations through the oxidative coupling reaction of tetracycline hydrochloride with p-aminoantipyrine reagent in presence of N-bromosuccinimide as oxidant in the alkaline medium of NaOH to produce a yellow product, which is soluble in water and exhibits maximum absorption peak at 387 nm. The yellow color of the resulting product is stable for more than 1hr and obayed Beer's law in the concentration range of 0.5-18.75 µg/ml with an excellent determination coefficient (R^2= 0.9994) and molar absorptivity $1.0628x10^4$ l/mol.cm. The (LOD) and (LOQ) are estimated and found to be 0.0442 and 0.1475 µg/ml, respectively. The precision (RSD) is calculated to be better than 0.2614%, whereas the values of recovery percent are in the range of 100.74% to 101.36% . The nature of the resulting yellow product has been studied between tetracycline hydrochloride and p-aminoantipyrine reagent and it is found to be 1:1 ratio. The proposed approach was applied to assay tetracycline hydrochloride in ointment and capsules and no interferences were observed from the common additives found in the drugs. The statistic factors t-test and F-test values have also been investigated and the experimental results are less than the tabulated values at the 95% confidence level.

Chapter four: part one (A)

The fourth chapter deals with the development of a sensitive and accurate indirect spectrophotometric method for assaying tetracycline hydrochloride in the bulk and in its pharmaceutical dosage forms. In this approach a tetracycline hydrochloride is oxidized with a known excess of an oxidant reagent of N-bromosucinimide in an acidic medium, and the excess of an oxidant is then reduced by using indigo carmine dye. The absorbance of the residual indigo carmine dye is measured at wavelength of 610 nm. The standard calibration curve is linear in the variety of concentrations from 0.1 to 4.5 µg/ml of tetracycline hydrochloride with a good determination coefficient (R^2) 0.9985

and molar absorptivity of 7.7190×10^4 l/mol.cm. The LOD and LOQ values are evaluated and instituted to be 0.0039 and 0.0130 µg/ml, respectively. The suggested approach was successfully used to assay tetracycline hydrochloride in the available dosage forms, such as capsules and skin ointment. The precision (RSD) is calculated and found to be better than 0.0808%, whereas the values of recovery percent and relative errors are in the range of 99.90% to 100.19% and -0.10 % to 0.19 % respectively, without interfering from any common excipients. The values of t-experimental are also evaluated at 95% confidence level.

Chapter four : part two (B)

This part includes development of a sensitive , accurate and precise direct spectrophotometric method to estimate tetracycline hydrochloride in the bulk solution and in its pharmaceutical preparations. The method depends on complexation reaction of tetracycline hydrochloride with zirconium (IV) in presence of acetate buffer solution at pH3.6 to produce a soluble yellow complex exhibits maximum absorption peak at 398nm. The method adheres to Beer's low over the concentration range 0.5–12.5 µg/ml of tetracycline hydrochloride with coefficient determination (R^2= 0.9989), molar absorptivity of 2.7798×10^4 l/mol.cm and sandell's sensitivity of 0.0173µg/cm^2. The Limits of detection and quantitation are equal to 0.019 and 0.063µg/ml, respectively. The precision (RSD) is calculated and found to be better than 1.32 %, whereas the values of recovery percent are in the range of 99.67% to 101.01%. the method is successfully applied to the analysis of tetracycline hydrochloride in capsules and ointment. The statistic factors t-test and F-test values have also been investigated and the experimental results are less than the tabulated values at the 95% confidence level.

The Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Mosul / College of Science
Department of Chemistry

Development of spectrophotometric methods for determination of tetracycline hydrochloride and their applications to its pharmaceutical formulations

M.Sc. Thesis Submitted by

Rania Ibrahim Sheet Ahmed Al-Mulki

To

Council of the College of Science University of Mosul in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master

In

Chemistry Science / Analytical Chemistry

Supervised by

Prof. Dr. Salim Ali Mohammed Al-Taei

2023 م **1445هـ**