جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية العلوم - قسم الكيمياء

تطوير طرائق تحليلية لتقدير المركبات الدوائية و دراسة بعض العوامل الفيزيائية

اطروحة مقدمة الى
مجلس كلية العلوم في جامعة الموصل
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة دكتوراه
فلسفة في
الكيمياء التحليلية

من قبل
شلير حسين حسن الراوندوزي

بكالوريوس علوم كيمياء-جامعة صلاح الدين 1991م
ماجستير علوم كيمياء- جامعة صلاح الدين 2000م

بإشراف

الأستاذ الدكتور نبيل صبيح عثمان
الأستاذة الدكتورة كافية مولود شريف

1436هـ
2015م

الخلاصة

تشتمل هذه الأطروحة على أربعة فصول رئيسية وهي :

الفصل الأول :

يحتوي الفصل الأول على مقدمة عامة عن اهمية التحليلات الصيدلانية ومقدمة عن المركبات الدوائية: حامض الفولك والميلوكسيكام والفينايل فرين هيدروكلورايد, صفاتهم وأهميتهما العلاجية واستخداماتهم ومراجعة للطرائق التحليلية المستخدمة في تقديرهما والهدف من البحث .

الفصل الثاني : تحليلات حامض الفولك

الجزء الأول :

يتضمن هذا الجزء تطوير طريقة طيفية جديدة و حساسة غير مباشرة لتقدير حامض الفولك بصورته النقية وبالمستحضرات الصيدلانية. تعتمد الطريقة على أكسدة حامض الفولك بواسطة أيون الحديد الثلاثي في الوسط الحامضي ثم مفاعلة الحديد الثنائي الناتج مع الكاشف 1،10- فينانثرولين او الكاشف2,2'- ثنائي البريديل لتكوين معقد احمر الملون والذائب في الماء والذي يعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي 510 نانوميتر و520 نانوميتر على التوالي مقابل محلول البلانك وبامتصاصية مولارية مقدارها$10^5 \times 0.4087$ و $10^5 \times 0.3460$ لتر.مول$^{-1}$.سم$^{-1}$. كانت حدود قانون بير في مدى التراكيز من 0.5-14 مايكروغرام لكل مللتر من حامض الفولك مع الكاشف 1،10- فينانثرولين بينما باستخدام الكاشف 2,2'- ثنائي البريديل كانت حدود قانون بير في مدى التراكيز 0.5 - 18 مايكروغرام/ مل من حامض الفولك. وتم حساب قيم بعض العوامل الثرموداينميكية مثل متغير الطاقة الحرة ΔG° ومتغير الانثالبية ΔH° ومتغير الانتروبيΔS° من قيم ثابت الاستقرارية K عند درجات حرارية مختلفة. ووجد بأن الناتج الملون المتكون هو تلقائي و باعث للحرارة ومصحوب بزيادة العشوائية. الطريقة الحالية طبقت بنجاح لتقدير حامض الفولك بمختلف المستحضرات الصيدلانية.

الجزء الثاني :

يتضمن هذا الجزء تطوير طريقة طيفية بسيطة وحساسة ومضبوطة لتقدير حامض الفولك بالمستحضرات الصيدلانية. الطريقة المطورة تعتمد على اضافة زيادة مقاسة من ن–بروموسكسيناميد في الوسط الحامضي ويتبعه تقدير كمية ال ن–بروموسكسيناميد غير المتفاعل بتفاعله مع كمية محددة من المثيل البرتقالي وقياس الامتصاصية عند 509 نانومتر. وكانت مدى الخطية في حدود 0.5–6.0 مايكروغرام/مل من حامض الفولك وذو قيمة الامتصاصية المولارية 0.7283×10^5 لتر.مول$^{-1}$.سم$^{-1}$ وقيمة دلالة ساندل 0.06 مايكروغرام.سم$^{-2}$ وكان معدل الاستعادية 99.75 % في حين تراوح الانحراف القياسي النسبي 0.15%.

الجزء الثالث:

يتضمن هذا الجزء تطوير طريقة سريعة وحساسة باستخدام طريقة الحقن الجرياني مع مكشاف للطيف المرئي لتقدير حامض الفولك بصورته النقية وبالمستحضرات الصيدلانية. الطريقة المطورة تعتمد على اضافة زيادة مقاسة من ن–بروموسكسيناميد في الوسط الحامضي ويتبعه تقدير كمية ال ن–بروموسكسيناميد غير المتفاعل بتفاعله مع كمية محددة من المثيل البرتقالي وقياس الامتصاصية عند 509 نانومتر. وقد تمت الدراسة لايجاد ظروف التفاعل المثلى لهذه الطريقة. وكانت مدى الخطية في حدود 0.1–8.0 مايكروغرام/ مل من حامض الفولك وذو قيمة الامتصاصية المولارية 0.3266×10^5 لتر.مول$^{-1}$.سم$^{-1}$ وقيمة دلالة ساندل 0.013 مايكروغرام.سم$^{-2}$ و كان معدل الاستعادية 98.45% للطريقة في حين تراوح الانحراف القياسي النسبي 0.78%. وأن الطريقة الحالية لا تحتاج الى ضبط درجة الحرارة او استخلاص المذيب ولا يستغرق وقت طويل لاتمام التفاعل لانه سرعة النمذجة تصل لحوالي20 نموذج لكل ساعة.

الفصل الثالث : تحليلات الميلوكسيكام

الجزء الأول :

يتضمن هذا الجزء تطوير طريقة طيفية بسيطة وحساسة لتقدير الميلوكسيكام بصورته النقية وبالمستحضرات الصيدلانية. تعتمد الطريقة على اضافة زيادة مقاسة من ن–بروموسكسيناميد في

الوسط الحامضي ويتبعه تقدير كمية ال ن–بروموسكسيناميد غير المتفاعل بتفاعله مع كمية محددة من الانديكوكارمن وقياس الامتصاصية عند 610 نانومتر. وكانت مدى الخطية 0.02–5.0 مايكروغرام/ مل من الميلوكسيكام وذو معامل الارتباط 0.9977 و كان حد الكشف وحد التقدير الكمي يساوي 0.0126 و 0.042 مايكروغرام/ مل على التوالي.

الجزء الثاني :

يتضمن تطوير طريقة كروماتوغرافية سريعة لتقدير الميلوكسيكام بصورته النقية وبالأقراص الدوائية و سيرم الانسان. و كان زمن الاحتجاز 2.35 دقيقة باستخدام العمود C_{18} (150 x 3.0 mm) وباستخدام طور ناقل يتكون من الاسيتونايتريل و0.2% حامض الفورميك بنسبة (حجم: حجم ,30:70) و بسرعة جريان 1.0 مل/دقيقة ومع استخدام مكشاف UV ضبط عند 355 نانوميتر وبمدى خطي للتراكيز 0.05– 50 مايكروغرام / مل و ذو معامل التقدير R^2= 0.9956 وكان الانحراف القياسي النسبي بقيمة 0.056% اما معدل الاستعادية للطريقة فكانت 99.65%).

الجزء الثالث :

يصف الجزء الثالث طريقة دقيقة وسريعة ورخيصة الثمن باستخدام طيف الاشعة فوق البنفسجية لتقديرالميلوكسيكام والذي اعطى أعلى امتصاص في المذيب المتكون من 0.1 مولاري حامض الهيدروكلوريك الميثانولي عند الطول الموجي 346.0 نانوميتر. وكانت مدى الخطية 0.5–15 مايكروغرام/ مل من الميلوكسيكام وذو معامل التقدير R^2= 0.9990 و كان حد الكشف وحد التقدير الكمي للميلوكسيكام يساوي 0.13 و 0.411 مايكروغرام/ مل على التوالي. و يمكن تطبيق الطريقة الحالية بنجاح قي تحليلات مراقبة الجودة لتقدير الميلوكسيكام بصورته النقية وبمستحضرات السوق.

الفصل الرابع : تحليلات الفينايل فرين هيدروكلوريد

الجزء الأول :

يتضمن تطوير طريقة طيفية لتقدير الفينايل فرين هيدروكلوريد. تعتمد الطريقة المقترحة على ازدواج المركب الدوائي مع الكاشف المؤزوت 4,2–ثنائي نايتروانيلين في الوسط القاعدي ليعطي صبغة آزوية ملونة ذات أمتصاصية مولارية 1.915×10^4 لتر.مول$^{-1}$.سم$^{-1}$ عند الطول ألموجي

455 نانوميتر وكانت حدود قانون بير للطريقة المقترحة في مدى التراكيز 1.0–20 مايكروغرام/مللتر من الفينايل فرين هيدروكلوريد. وكانت الصبغة المتكونة مستقرة ولم يظهر اي تغيير ملحوظ بالامتصاص له الى اكثر من 60 دقيقة ومع انحراف قياسي نسبي 0.024% وذو معدل استعادية بلغت 99.97%. وقد تم تطبيق الطريقة بنجاح لتقدير الفينايل فرين هيدروكلوريد في مستحضراته الصيدلانية(قطرات الانف و الشراب).

الجزء الثاني :

يتناول هذا الجزء طريقة طيفية جديدة وبسيطة لتقدير الفينايل فرين هيدروكلوريد حيث تعتمد الطريقة المقترحة على تكوين معقد ايوني ثنائي بين المركب الدوائي وبين معقد لاعضوي وهو بزموث رباعي اليود ويتم التفاعل في الوسط الحامضي وتم التقديرعند الطول ألموجي 455 نانوميتر. كانت حدود قانون بير في مدى التراكيز 0.5–6.0 مايكروغرام/مللتر من الفينايل فرين هيدروكلوريد. وقد تم تطبيق الطريقة بنجاح لتقدير الفينايل فرين هيدروكلوريد في الأقراص الدوائية و كانت خالية نسبياً من متداخلات المواد المضافة الشائعة للأدوية.

الجزء الثالث :

يصف هذا الجزء طريقة بسيطة وسريعة ودقيقة بأستخدام التوصيل الكهربائي لتقدير الفينايل فرين هيدروكلوريد بصورته النقية و في مستحضراته الصيدلانية من خلال ترسيبه بواسطة بزموث رباعي اليود لتكوين راسب برتقالي– احمر. تم دراسة مختلف العوامل التي تؤثر على التفاعل مثل تركيز بزموث رباعي اليود و نوع المذيب المستخدم و تاثير درجة الحرارة. تسمح الطريقة الحالية بتقدير الفينايل فرين هيدروكلوريد في المدى 8.0–50 مايكروغرام / مللتر وذو انحراف قياسي نسبي يبلغ 0.388%.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education & Scientific Research
University of Mosul
College of Science
Department of Chemistry

Development of Analytical Methods for Determination of Drug Compounds and Study Some Physical Parameters

A Thesis Submitted to the Council of the College of Science University of Mosul
In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy
in

Analytical Chemistry

By

Shlear Hussein Hasan Al-Rawandozy
B.Sc. Chemistry, Salahaddin University-1991
M.Sc. Chemistry, Salahaddin University-2000

Supervised by

Prof. Dr. Nabeel S. Othman **Prof .Dr. Kafia M. Shareef**

---

20 15A.C. **1436 A.H.**

SUMMARY

The present thesis consists of four chapters:

Chapter one

It contains a general introduction about the importance of pharmaceutical analysis, introduction about the drugs studied such as: folic acid, meloxicam and phenylephrine hydrochloride, their properties, importance, uses, and review of the analytical methods used for their, in addition to the thesis aims and objective.

Chapter two

Analysis of folic acid

Part one

This part contains the development of a new sensitive and reproducible indirect spectrophotometric assay for the determination of folic acid (FA) in pure form and in its pharmaceutical formulations. The method was based on the oxidation of folic acid by iron (III) in acidic medium, and then reaction of liberated iron (II) with 1, 10-phenathroline or with 2, 2'-bipyridyl to produce a red complex which is water-soluble, stable, and has a maximum absorption at 510 nm and 520 nm, respectively against the reagent blank with a molar absorptivity of 0.4087×10^5 and 0.34601×10^5 L. mol^{-1} .cm^{-1}. Beer's law was valid over the concentration range of 0.5-14.0 µg/ml of folic acid for 1, 10-phenathroline reagent, while for using 2, 2'-bipyridyl, the Beer's law was in the concentration range of 0.5-18 µg/ml of folic acid. The values of some thermodynamic parameters [free energy change (ΔG°), enthalpy change (ΔH°), and entropy change (ΔS°)] were estimated from the

values of stability constants (K) at different temperatures. It was found that the formation of colored product was spontaneous, exothermic and increasing of random. The proposed method has been applied successfully to determine folic acid in different pharmaceutical preparations.

Part two :

This part deals with the development of a simple, accurate and sensitive spectrophotometric method for the determination of folic acid in pharmaceutical preparations. The developed procedure was based on the addition of a measured excess of N-bromosuccinimide (NBS) in acid medium followed by determination of unreacted NBS by reacting with a fixed amount of methyl orange and measuring the absorbance at 509 nm. Linearity was observed from 0.5-6.0 µg/ml folic acid with a molar absorptivity of 0.7283×10^5 L. $mol^{-1}.cm^{-1}$ and Sandell's sensitivity of 0.06 $\mu g.cm^{-2}$, a recovery% of 99.75 % and a relative standard deviation of 0.15%.

Part three :

This part contains the development of a rapid and sensitive flow injection spectrophotometric method for the determination of folic acid in pure form and in its pharmaceutical preparations. The proposed method involved the addition of a measured excess of N-bromosuccinimide (NBS) in acid medium followed by determination of unreacted NBS by reacting with a fixed amount of methyl orange (MO) at 509 nm. The optimum reaction conditions and other analytical parameters have been evaluated. Linearity was observed from 0.1-8.0 µg/ml of folic acid with a molar absorptivity of 0.3266×10^5 L. $mol^{-1}.cm^{-1}$ and Sandell's sensitivity of 0.013 $\mu g.cm^{-2}$, a recovery% of 98.45% and a relative standard deviation of 0.78%. The proposed method does not require temperature control, solvent extraction.

The reaction does not require long time to complete, so it has a high analytical frequency (20 samples / h).

Chapter three

Analysis of meloxicam

Part one

This part deals with the development of a simple and sensitive spectrophotometric method for the determination of meloxicam in pure drug and in its pharmaceutical preparations. The proposed method involved the addition of a measured excess of N-bromosuccinimide (NBS) in acid medium followed by determination of unreacted NBS by reacting with indigo carmine (IC) and measuring the absorbance at 610 nm. Linearity was observed from 0.02-5.0 μg/ml meloxicam with coefficients of determination R^2 = 0.9977. The detection limit and quantitation limit were calculated (0.0126 and 0.042 μg/ml, respectively).

Part two :

This part includes the development of a rapid isocratic RP- HPLC method for the determination of meloxicam in pure drug, tablet formulation and human serum. The retention time observed for meloxicam was 2.35 minutes using C_{18} column (150 x 3.0 mm) with a mobile phase consisting of acetonitrile: 0.2% formic acid (70:30, v:v) at a flow rate of 1 ml/min with UV detector set at 355 nm. Linearity in concentration was 0.05 – 50 μg/ml, with coefficient of determination, R^2 = 0.9956. A relative standard deviation (RSD) was 0.056 % and recovery was 99.65%.

Part three :

This part describes an accurate, precise and rapid UV-spectrophotometric method for the determination of meloxicam in pure drug and tablet formulation. Meloxicam exhibited absorption maximum in 0.1 M methanolic hydrochloric acid at 346.0 nm, and the calibration curve was linear for a range of (0.5-15) μg/ml with a coefficient of determination, R^2 = 0.9990. The limit of detection and limit of quantification for meloxicam was found to be 0.13 and 0.411 μg/ml, respectively. The proposed method can be successfully used for routine quality control analysis of meloxicam in bulk and in marketed formulations.

Chapter four

Analysis of phenylephrine-HCl

Part one

This part deals with the development of a spectrophotometric method for the determination of phenylephrine-HCl (PHE) in pure drug and tablet formulation. The method was based on coupling of PHE with diazotized 2,4-dinitroaniline in alkaline medium. The molar absorptivity of the formed azo dye was 1.915×10^4 L. mol^{-1}. cm^{-1} at λ_{max} 455 nm and Beer's law obeyed within the range of 1.0-20 μg/ml of PHE. The color of the product was highly stable and did not show a significant change in absorbance up to 60 min. with a recovery of 99.97% and a RSD% of 0.024%. The method has been applied successfully to determine PHE in pharmaceutical preparations (nose drop and syrup).

Part two :

This part represents a simple spectrophotometric method for the determination of PHE in pure drug and tablet formulation based on formation of orange-red ion-pair associates between drug and inorganic complex, bismuth (III) tetraiodide and the reaction occurs in acidic medium which determined spectrophotometrically at 455 nm. Beer's law was valid over the concentration range of 0.5-6.0 μg/ml PHE. The proposed method was successfully applied to determine PHE in its tablet formulations without any evidence for interference from pharmaceutical additives.

Part three :

This part describes a simple, rapid and accurate conductometric method for the determination of PHE in pure drug and tablet formulation through precipitation with bismuth tetraiodide to form an orange red precipitate. Different factors affected the reaction as concentration of bismuth tetraiodide; type of solvents used and also effect of temperature were studied. The described procedure allows the determination of PHE in the range of 8.0-50 μg/ml with a relative standard deviation of 0.388%.