



جامعة الموصل
كلية التربية للعلوم الصرفة

تطوير طرائق طيفية وفلورومترية وتقييم إضرارها لتقدير عدد من
المركبات الدوائية باستخدام بعض من الصبغات القاعدية والحامضية

رواء عبدالعليم أحمد يونس زكريا

أطروحة دكتوراه

الكيمياء

بإشراف

الأستاذ

الدكتورة إلهام سعدالله صالح الطالببي

الخلاصة

أشتملت الأطروحة على ثمانية فصول:

تضمن **الفصل الأول** مراجعة للطرائق التحليلية المتبعة في تقدير المركبات الدوائية المدروسة المتمثلة بالإينوكسابارين صوديوم والدايفنهيدرامين هيدروكلوريد واللوراميد هيدروكلوريد وبيسيلات الأملوديبين والترابفلوبيرازين هيدروكلوريد والبروميثازين هيدروكلوريد وماليت الدايميدين والكارفيديلول والأولانزابين وماليت الدومبيريدون.

وأشتمل **الفصل الثاني** على مبحثين تضمن المبحث A تطوير طريقتين طيفيتين اتصفتا بالسهولة والحساسية لتقدير الإينوكسابارين صوديوم بهيئته النقية وفي مستحضره الدوائي (حقن) وذلك بالاعتماد على تكوين معقد التجمع الأيوني فائق الجزيئية بين الإينوكسابارين صوديوم وكل من الصبغتين القاعدية البايرونيين G في المحلول المائي واليانوس الخضراء B في وسط حامض الهيدروكلوريك (0.1 مولاري) مؤدياً إلى حدوث انخفاضٍ كميٍّ في إمتصاص صبغتي البايرونيين G عند الطول الموجي 546 نانومتر واليانوس الخضراء B عند الطول الموجي 613 نانومتر بدون ظهور حزمة امتصاص جديدة للمعقدين. اتبعت الطريقتين قانون بير ضمن مدى التراكيز 0.5-10 و 0.5-12 مايكروغرام/ملتر من الإينوكسابارين صوديوم بامتصاصية مولارية 10×6.02 و 10×4.38 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ وحدي كشف 0.0323 و 0.0679 مايكروغرام/ملتر وتقدير كمي 0.1079 و 0.2264 مايكروغرام/ملتر وبمعدل نسبتي استرجاع 99.95 و 100.80% وانحراف قياسي نسبي أقل من 0.75 و 3.0% باستعمال صبغتي البايرونيين G واليانوس الخضراء B على التوالي.

وتناول **المبحث B** تطوير طريقة فلورومترية يسيرة وحساسة وانتقائية لتقدير الإينوكسابارين صوديوم، أعمدت الطريقة على إخماد تفلور صبغة البايرونيين G نتيجة تكوين معقد التجمع الأيوني فائق الجزيئية غير المتفلور بين الإينوكسابارين صوديوم وصبغة البايرونيين G في المحلول المائي، إذ وجد أن النقصان في شدة تفلور صبغة البايرونيين G عند الطول الموجي 572 نانومتر بطول موجة إثارة 471 نانومتر يعطي دالة خطية ضمن مدى التراكيز 0.5-9.0 مايكروغرام/ملتر من الإينوكسابارين صوديوم بحدي كشف وتقدير كمي 0.014 و 0.046 مايكروغرام/ملتر على التوالي وبدقة وتوافق جيدين، إذ بلغ معدل نسبة الإسترجاع 99.71% وانحراف قياسي نسبي أقل من 1.0%.

طبقت الطريقتان الطيفية والفلورومترية بنجاح في تقدير الإينوكسابارين صوديوم في الحقن الدوائية ووجد أن نتائج الطريقتين متوافقة مع المحتوى الأصلي للحقن الدوائية ومع نتائج طريقة الإضافة القياسية عند تقدير الإينوكسابارين صوديوم، مما يدل على أن الطريقة ذات دقة وصلاحية تطبيق تحليلي جيدة.

وتناول **الفصل الثالث** استحداث طريقة طيفية مباشرة سريعة وحساسة لتقدير المركبات الدوائية الترابفلوبيرازين هيدروكلوريد والبروميثازين هيدروكلوريد وماليت الدايميدين، تقوم الطريقة على استعمال

صبغة الفلوكسين B بوصفها كاشفاً كروموجينياً لتكوين معقدات التجمع الأيوني مع المركبات الدوائية المدروسة في وسط محلول الخلايا المنظم (pH3.0) وقياس امتصاص المعقدات المتكونة عند الطول الموجي 563 نانوميتر. اتبعت الطريقة قانون بير ضمن مدى التراكيز 1.0-15 و 1.0-18 و 1.0-20 مايكروغرام/ملتر بإمتصاصية مولارية قدرها 4×10^4 و 1.74×10^4 و 4.01×10^4 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ لكل من الترايفلوبيرازين هيدروكلوريد والبروميثازين هيدروكلوريد وماليت الدايميتدين على التوالي، وكانت الطريقة ذات دقة وتوافق جيدين، إذ تراوح معدل نسبة الإسترجاع بين 98.71 و 99.45% وبانحراف قياسي نسبي أقل من 1.50% عند تقدير المركبات الدوائية المدروسة.

تم تطبيق الطريقة المقترحة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبات الدوائية المدروسة، إذ وجد أن نتائج الطريقة تتفق مع المحتوى الأصيل للمستحضرات الصيدلانية ومع طريقة الإضافة القياسية لتقدير الترايفلوبيرازين هيدروكلوريد والبروميثازين هيدروكلوريد وماليت الدايميتدين. وتم تقييم نتائج الطريقة المطورة إحصائياً بالمقارنة مع نتائج مستحصلة من الطريقة القياسية المتبعة في الشركة العامة لصناعة الادوية- سامراء (S.D.I) عند تقدير الترايفلوبيرازين هيدروكلوريد في أقراص Iralzine وماليت الدايميتدين في شراب Fenistil وذلك من خلال حساب قيم اختباري t و F والتي كانت أقل من القيم الجدولية عند مستوى ثقة 95% مما يدل على دقة وصلاحيه تطبيق تحليلي جيدة.

وإشتمل **الفصل الرابع** على وصف طريقة فلورومتريه يسيرة وسريعة وحساسة لتقدير المركبات الدوائية الترايفلوبيرازين هيدروكلوريد والبروميثازين هيدروكلوريد وماليت الدايميتدين بأشكالها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية، أتمدت الطريقة على إخماد تفلور صبغة الفلوكسين B نتيجة تكوين معقدات التجمع الأيوني غير المتفلورة بين المركبات الدوائية المدروسة وصبغة الفلوكسين B في وسط الخلايا المنظم (pH4.0) للترايفلوبيرازين هيدروكلوريد أو السترات المنظم (pH3.5) للبروميثازين هيدروكلوريد أو الفثالات المنظم (pH4.0) لماليت الدايميتدين، إذ وجد أن النقصان في شدة تفلور صبغة الفلوكسين B عند الطول الموجي 558 نانوميتر بطول موجة إثارة 471 نانوميتر يعطي دالة خطية ضمن مدى التراكيز يتراوح بين 1.0-10 و 0.5-14 و 0.5-10 مايكروغرام/ملتر ويحدد كشف 0.112 و 0.109 و 0.073 مايكروغرام/ملتر وتقدير كمي 0.374 و 0.362 و 0.243 مايكروغرام/ملتر للترايفلوبيرازين هيدروكلوريد والبروميثازين هيدروكلوريد وماليت الدايميتدين على التوالي. كانت الطريقة ذات دقة وتوافق جيدين، إذ تراوح معدل نسبة الإسترجاع بين 98.81 و 100.03% وبانحراف قياسي نسبي أقل من 0.82%.

تم تطبيق الطريقة المقترحة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبات الدوائية المدروسة ، إذ وجد أن نتائج الطريقة تتفق مع المحتوى الأصيل لمستحضراتها الصيدلانية ومع نتائج طريقة الإضافة القياسية وإحصائياً كانت الطريقة المطورة دقيقة وذات صلاحية تطبيق تحليلي جيدة بالمقارنة مع النتائج

المستحصلة من الطريقة القياسية المتبعة في SDI لتقدير الترايفلوبيرازين هيدروكلوريد وماليت الدايميتدين في مستحضراتهما الصيدلانية إذ كانت قيم t و F التجريبية أقل من القيم الجدولية عند مستوى ثقة 95%. وتناول **الفصل الخامس** إستحداث طريقة طيفية مباشرة وحساسة وانتقائية لتقدير المركبات الدوائية الدايفنهيدرامين هيدروكلوريد واللوبراميد هيدروكلوريد وبيسيلات الأملوديبين، اعتمدت الطريقة على استعمال صبغة الإريثروسين B بوصفها كاشفاً كروموجينياً لتكوين معقدات التجمع الأيوني مع المركبات الدوائية المدروسة في وسط محلول الخلات المنظم (pH4.0) ويقاس إمتصاصها عند 555 نانوميتر عند تقدير الدايفنهيدرامين هيدروكلوريد واللوبراميد هيدروكلوريد و 562 نانوميتر في وسط محلول الخلات المنظم (pH4.5) عند تقدير بيبيلات الأملوديبين. أتبعنا الطريقة قانون بير ضمن مدى التراكيز 0.5-20 و 0.5-13 و 1.0-30 مايكروغرام/مللتر بامتصاصية مولارية قدرها 4.59×10^4 و 3.09×10^4 و 3.62×10^4 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ للدايفنهيدرامين هيدروكلوريد واللوبراميد هيدروكلوريد وبيبيلات الأملوديبين على التوالي، وكانت الطريقة ذات دقة وتوافق جيدين، إذ ترواح معدل نسب الإسترجاع بين 99.76 و 99.93% وانحراف قياسي نسبي أقل من 1.35%.

طبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبات الدوائية قيد الدراسة، إذ وجد أن نتائج الطريقة تتفق مع طريقة الإضافة القياسية لتقدير الدايفنهيدرامين هيدروكلوريد، واللوبراميد هيدروكلوريد وبيبيلات الأملوديبين، والطريقة القياسية المعتمدة في دستور الأدوية البريطاني لتقدير الدايفنهيدرامين هيدروكلوريد في أقراص Alleramine، فضلا عن اتفاتها مع المحتوى الأصلي للمستحضرات الصيدلانية. وتم تقييم نتائج الطريقة المقترحة إحصائياً لمستحضرات أقراص الدايفنهيدرامين هيدروكلوريد بالمقارنة مع الطريقة القياسية من خلال احتساب قيم t و F التي كانت أقل من القيم الجدولية مما يدل على أن الطريقة ذات دقة وصلاحية تطبيق تحليلي جيدة.

فيما تناول **الفصل السادس** استخدام طريقة بنهج جديد في التقدير الفلورومتري المباشر للمركبات الدوائية الدايفنهيدرامين هيدروكلوريد واللوبراميد هيدروكلوريد وبيبيلات الأملوديبين من خلال فلورة رنين الطاقة المنتقلة من جزيئة صبغة الإريثروسين B بشكل لاكتون المانحة إلى جزيئات المركبات الدوائية المدروسة في معقد التجمع الأيوني المتكونة في وسط الخلات المنظم (pH4.5) أو توريل-ستينهاجن المنظم بدالة حامضية 4.5 و 4.0 على التوالي، وقياس شدة الفلورة الرنينية للطاقة المنتقلة عند 572 نانوميتر بطول موجة إثارة 285 نانوميتر، وكانت العلاقة خطية ضمن مدى التراكيز 0.5-15 مايكروغرام/مللتر للدايفنهيدرامين هيدروكلوريد وبيبيلات الأملوديبين و 0.5-12 مايكروغرام/مللتر للوبراميد هيدروكلوريد بحدود كشف 0.022 و 0.067 و 0.086 مايكروغرام / مللتر بمعدل نسب استرجاع 99.60 و 100.18 و 100.12% لكل من الدايفنهيدرامين هيدروكلوريد واللوبراميد هيدروكلوريد وبيبيلات الأملوديبين على التوالي وانحراف قياسي نسبي أقل من 1.70%.

طبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبات الدوائية قيد الدراسة، إذ وجد أن نتائج الطريقة تتفق مع المحتوى الأصلي للمستحضرات الصيدلانية مع طريقة الإضافة القياسية لتقدير الدايفنهيدرامين هيدروكلوريد، واللوبراميد هيدروكلوريد وبيسيلات الأملوديين ، والطريقة القياسية المعتمدة في دستور الادوية البريطاني لتقدير الدايفنهيدرامين هيدروكلوريد في مستحضر أقراص Alleramine مما يدل إحصائياً على أن الطريقة ذات دقة وصلاحيّة تطبيق تحليلي جيدة.

وتضمن **الفصل السابع** تطوير طريقة طيفية غير مباشرة يسيرة وحساسة لتقدير الكارفيديلول والأولانزابين وماليت الدوميريديون بهيئتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية، أعمدت الطريقة على مبدأ أكسدة المركبات الدوائية بزيادة محسوبة من العامل المؤكسد برمكانات البوتاسيوم في وسط حامض الهيدروكلوريك ثم تقدير المتبقي من العامل المؤكسد من خلال قصر لون صبغة القلوية الزرقاء 4B المضافة بكمية ثابتة وقياس امتصاص المتبقي من الصبغة عند الطول الموجي 594 نانوميتر، إذ وجد أن إمتصاص الصبغة المتبقية يزداد خطياً مع زيادة تركيز المركبات الدوائية ضمن المدى 1.0-12 و 1.0-16 و 1.0-16 مايكروغرام/مللتر بامتصاصية مولارية 4.04×10^4 و 2.13×10^4 و 3.81×10^4 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ وبمعدل نسبة استرجاع بين 99.77 و 100.34% لكل من الكارفيديلول والأولانزابين وماليت الدوميريديون على التوالي، وبانحراف قياسي نسبي أقل من 0.75%. لاتعاني الطريقة من تداخل مواد السّواغ والمضافات المتواجدة في المستحضرات الصيدلانية، طبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبات الدوائية، وكانت نتائجها متوافقة مع المحتوى الأصلي للمستحضرات الدوائية وطريقة الإضافة القياسية والطريقة القياسية المعتمدة في دستور الأدوية البريطاني، مما يدل على أن الطريقة المطورة ذات دقة وصلاحيّة تطبيق تحليلي جيدة.

كما تناول **الفصل الثامن** تقييم إضرار الطرائق الطيفية والفلورومتريّة المطورة لتقدير المركبات الدوائية قيد الدراسة، وذلك من خلال تطبيق مقياسين هما: مقياس إضرار التحليل (AGREE) إذ تراوحت القيم العددية للمقياس بين 0.71-0.79 للطرائق المطورة، ومعامل طريقة التحليل الأخضر (GAPI) الذي تبين من خلاله أن الرسومات التخطيطية قد أظهرت أن الطرائق المطورة تمتلك أكثر عدد من المناطق الخضراء وأقل عدد من المناطق الحمراء، وعليه يمكن الإستنتاج بأن نتائج تقييم مقياسي AGREE و GAPI أثبتت أن الطرائق المطورة ذات تحليل أخضر عالي وأنها صديقة للبيئة.

Summary

The thesis consisted of eight chapters.

The **first chapter** comprises a review of analytical methods used for the determination of the studied drug compounds including; enoxaparin sodium, trifluoperazine hydrochloride, promethazine hydrochloride, dimetindene maleate, diphenhydramine hydrochloride, loperamide hydrochloride, amlodipine besylate, carvedilol, olanzapine, domperidone maleate.

The second chapter consisted of two sections:

Section A demonstrated two simple and sensitive spectrophotometric methods for the determination of enoxaparin sodium in bulk and dosage forms (injection). The two methods based on the formation of supramolecular ion association complexes between studied drug and two basic dyes, pyronin G in aqueous solution and Janus green B in acidic medium (0.1M HCl) leading to quantitative decrease in the absorbance of pyronin G at 546 nm and Janus green B at 613 nm without appearance of a new absorbance peak for the complexes. The two methods obeyed Beer's law over the concentration ranges 0.5-10 and 0.5-12 $\mu\text{g/ml}$ of enoxaparin sodium with a molar absorptivity 6.02×10^5 and 4.38×10^5 $\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, with good accuracy (average recovery) between 99.95 and 100.80% and precision (RSD) was less than 0.75 and 3.0% by using pyronin G and Janus green B dyes respectively.

Section B involved simple, sensitive and selective spectrofluorometric method for the determination of enoxaparin sodium in aqueous solution. The method based on the quantitative quenching effect of enoxaparin sodium on the native fluorescence of pyronin G due to the formation of nonfluorescent supramolecular ion-association complex between the studied drug and pyronin G dye in aqueous solution. A decrease of pyronin G fluorescence was observed at 572 nm after excitation at 471 nm. The relationship between quenching fluorescence intensity (ΔF) and concentration of enoxaparin sodium was linear in the range 0.5-9.0 $\mu\text{g/ml}$ with LOD and LOQ 0.014 and 0.046 $\mu\text{g/ml}$ respectively. The average recovery was 99.71% and RSD is less than 1.0%.

The two proposed methods were applied successfully for the determination of enoxaparin sodium in injectable formulation and the results were in a good agreement with certified value and standard addition procedure.

The **third chapter** demonstrated the development of a spectrophotometric determination of trifluoperazine hydrochloride (TFPH), promethazine hydrochloride (PRO) and dimetindene maleate (DIM). The method based on the formation of ion association between the studied drugs and phloxine B which show maximum absorbance at

563 nm in the acetate buffer (pH3.0). The method obeyed Beer's law in the concentration ranges of 1.0-20, 1.0-18 and 1.0-15 µg/ml with a molar absorptivity 2.82×10^4 , 1.74×10^4 and 4.01×10^4 l. mol⁻¹.cm⁻¹ and overall percentage recoveries ranged from 98.71 to 99.45% respectively and RSD was less than 1.50% .

The proposed method was successfully applied for the determination of studied drugs in pharmaceutical preparations. The results were in a good agreement with certified values of pharmaceutical preparations and also with the standard addition procedure and statistically with SDI pharmacopoeia for trifluoperazine hydrochloride in Iralzin tablets and dimetindene maleate in Fenistill syrup, by calculating the t and F test values, which were less than the tabulated values at 95% confidence level, indicating that the method is reliable and has good validity.

The **fourth chapter** described a simple, rapid and sensitive spectrofluorometric method for the determination of trifluoperazine hydrochloride (TFPH), promethazine hydrochloride (PRO), and dimetindene maleate (DIM) in pure and dosage forms. The method based on the fluorescence quenching of phloxine B at 558 nm with excitation wavelength at 471 nm by formation of nonfluorescent ion-association complexes between the studied drugs and phloxine B dye in acetate buffer solution (pH4.0) for TFPH or in citrate buffer (pH3.5) for PRO or phthalate buffer (pH4.0) for DIM. The fluorescence concentration plots were rectilinear over the ranges 1.0-10, 0.5-14 and 0.5-10 µg/ml with detection limits of 0.112, 0.109, 0.073 µg/ml and quantitative limits of 0.374, 0.362, 0.243 µg/ml for TFPH, PRO and DIM respectively. The accuracy (average recovery) ranged between 98.81 and 100.03% and precision (RSD%) is less than 0.82%.

The method has been successfully applied for the determination of studied drugs. The results were in a good agreement with certified values of pharmaceutical formations and statistically with SDI pharmacopoeia for trifluoperazine hydrochloride and dimetindene maleate and standard addition procedure.

The **fifth chapter** described a new, sensitive and selective spectrophotometric method for the estimation of diphenhydramine hydrochloride (DPH), loperamide hydrochloride (LOP) and amlodipine besylate (AML) in pure and pharmaceutical preparations. The method based on the formation of ion association complexes between the studied drugs and erythrosine B dye in acetate buffer solution (pH4.0), which show maximum absorbance at 555 nm for DPH and LOP and at 562 nm in acetate buffer solution (pH4.5) for AML. The method obeyed Beer's law in the concentration ranges 0.5-20, 0.5-13 and 1.0-30 µg/ml with molar absorptivity 3.09×10^4 , 4.59×10^4 and 3.62×10^4 l. mol⁻¹.cm⁻¹ for DPH, LOP and DIM respectively. The accuracy (average recovery)

ranged between 99.76 and 99.93% and precision (RSD%) was less than 1.35%. The method has been successfully applied for the determination of studied compounds in their pharmaceutical dosages. The results were in a good agreement with certified values of pharmaceutical preparations and also with the standard addition procedure for determination of DPH (syrup), LOP and AML preparations and statistically with British pharmacopoeia method for DPH in Alleramine tablets.

In the **sixth chapter** a new approach was used for spectrofluorimetric determination of diphenhydramine hydrochloride (DPH), loperamide hydrochloride (LOP) and amlodipine besylate (AML) via the fluorescence resonance energy transfer (FRET) from erythrosine B dye (Lactone form) as a donor molecule to studied drugs as an acceptor molecule through formation ion association complexes in acetate buffer (pH4.5) for DPH and Teorell-Stenhagen buffer solution with pH4.5 for LOP or with pH4.0 for AML and measured FRET at 572 nm after excitation at 285 nm. The method showed a linear relation between FRET and concentration in the ranges 0.5-15 µg/ml for DPH, AML and 0.5-12 µg/ml for LOP with LOD 0.022, 0.067 and 0.086 µg/ml and with a good accuracy (average recovery) 99.60, 100.18 and 100.12% respectively and RSD% was less than 1.70%. The method has been successfully applied for the determination of studied compounds in their pharmaceutical dosages. The results were in agreement with certified values of pharmaceutical preparations and also with the standard addition procedure and statistically with British pharmacopoeia method for determination of DPH in Alleramine tablets.

The **seventh chapter** demonstrated the development of indirect simple and sensitive spectrophotometric method for the determination of carvedilol (CAR), olanzapine (OLP) and domperidone maleate (DOP) in pure and pharmaceutical preparations. The method is based on the oxidation of studied drug, with known excess of potassium permanganate in hydrochloric acid and subsequent estimation of unreacted oxidant in through decolorization of alkali blue 4B dye and measurement the absorbance of residual dye at 594 nm. Calibration curves of residual alkali blue 4B dye in the presence of CAR or OLP and DOP were rectilinear over the ranges 1-12, 1-16 and 1-16 µg ml⁻¹ with molar absorptivity of 4.04×10^4 , 2.13×10^4 and 3.81×10^4 l.mol⁻¹.cm⁻¹ for CAR, OLP and DOP respectively. The accuracy (average recovery) ranged between 99.77 and 100.34% and precision (RSD%) is less than 0.75%. The common excipients and additives didn't show the interference in their determination. The suggested method was successfully applied for determination of the studied drugs in their dosage forms resulted in a good agreement with certified value, British pharmacopoeia method and standard addition procedure.

The eighth chapter demonstrates the greenness evaluation of the proposed spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for the determination of the studied drug compounds by application of two assessment tools including:

AGREE tool which provides greenness profiles as a numerical values (scores) between 0.71 to 0.79 for the proposed methods, and the green analytical procedure index (GAPI) in which pentagrams showed the proposed methods possessed the highest number of green zones and lowest number of red zones. In conclusion, the obtained results from the AGREE and GAPI tools indicated that the highest greenness and environmental friendliness of the proposed methods.

**University of Mosul
College of Education
For Pure Science**



**Development of Spectrophotometric
and Fluorimetric Methods with the Greenness
Evaluation for Determination of Some Drug
Compounds Using Some Basic and Acidic dyes**

Rawaa Abdulaleem Ahmed Younis Zakaria

Ph.D. Thesis

Chemistry

Supervised by

Prof.

Dr. Elham Sadullah Salih Al-Talibi

(A. D.) 2023

(A. H.) 1444