



جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

التقدير الكمي المايكروغراممي لعدد من المركبات الدوائية باستخدام طرائق تحليلية مختلفة

ريم عبد أحمد خلف الهبيبي

اطروحة دكتوراه

الكيمياء

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور صبحي محسن جاراالله المتيوتي

الخلاصة

اشتملت الاطروحة على ستة فصول:

تضمن الفصل الأول مقدمة عامة عن الأهمية الطبية للمركبات الدوائية المدروسة والتي تشمل (الكابتوبريل، الكلوبيدوغريل ثنائي الكبريتات، السيفكسيم ثلاثي الماء، السيفوتاكسيم صوديوم، السيفترياكسون صوديوم، الداكليفيناك صوديوم، البيروكسيكام، البرومهيكسين هيدروكلوريد والإندوميثاسين) بالإضافة إلى استعراض ومراجعة لبعض الطرائق التحليلية المختلفة (الطيفية والكروماتوغرافية والفلورومتريّة والكهربائية)، التي استخدمت لتقدير المركبات الدوائية أعلاه.

تناول الفصل الثاني تطوير طريقة فلورومتريّة غير مباشرة حساسة ويسيرة لتقدير المركبين الدوائيين الكابتوبريل والكلوبيدوغريل ثنائي الكبريتات بصورتها النقية وفي مستحضراتهما الصيدلانية بالاعتماد على مفاعلهما مع صبغة 4،5-ثنائي برومو فلورسين بوصفها صبغة تفلورية لتكوين معقدي المزدوج الأيوني وقياس النقصان في شدة تفلور الصبغة عند طول موجي 540 نانوميتر وبطول موجة اشارة 330 نانوميتر، كانت الطريقة خطية ضمن مدى التراكيز $0.4 - 14$ و $0.4 - 8$ مايكروغرام/مللتر بحدود كشف 0.263 و 0.061 مايكروغرام/مللتر وتقدير كمي 0.796 و 0.185 مايكروغرام/مللتر لكلا الدوائين على التوالي، بلغت نسبة الاسترجاع 99.58% و 99.68% وبانحراف قياسي نسبي أقل من 4.2% لكل من الكابتوبريل والكلوبيدوغريل ثنائي الكبريتات على التوالي، وطبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبين الدوائيين قيد الدراسة، ووجد أن نتائج الطريقة المقترحة تتفق مع طريقة الإضافة القياسية لتقدير الكابتوبريل والكلوبيدوغريل ثنائي الكبريتات فضلاً عن اتفاقها مع المحتوى الأصلي للمركبات الصيدلانية.

وفي الفصل الثالث طورت طريقة طيفية غير مباشرة يسيرة وحساسة لتقدير المركبات الدوائية السيفكسيم ثلاثي الماء، السيفوتاكسيم صوديوم والسيفترياكسون صوديوم بأشكالها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية، إذ اعتمدت الطريقة على أكسدة المركبات الدوائية بزيادة محسوبة من العامل المؤكسد N- بروموسكسينميد في وسط من حامض الهيدروكلوريك وتقدير غير المتفاعل من العامل المؤكسد من خلال قصر لون صبغة السودان III المضافة بكمية ثابتة، وقياس امتصاص المتبقي من الصبغة عند الطول الموجي 506 نانوميتر، إذ اعطت امتصاصات الصبغة زيادة خطية

ضمن مدى التراكيز 8.0-0.5 و 10-0.5 و 13-0.5 مايكروغرام/ملتر بامتصاصية مولارية 10×6.871 و 10×5.681 و 10×6.712 لتر/مول. سم وبحد كشف 0.05 و 0.058 و 0.043 مايكروغرام/ملتر وحد تقدير كمي 0.15 و 0.175 و 0.132 مايكروغرام/ملتر لكل من السيفكسيم ثلاثي الماء، السيفوتاكسيم صوديوم والسيفترياكسون صوديوم على التوالي، تراوحت معدلات نسب الاسترجاع بين 98.07% و 100.83% والانحراف القياسي النسبي اقل من 3.7% لجميع المركبات الدوائية قيد الدراسة. طُبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبات الدوائية قيد الدراسة المأخوذة من مناشئ مختلفة، إذ كانت نتائجها متفقة على نحو جيد مع المحتوى الأصلي للمستحضرات الدوائية ومع طريقة الإضافة القياسية والتي أثبتت عدم وجود تداخل من قبل مواد السواغ المضافة.

اما الفصل الرابع فتضمن تطوير طريقة فلورومتريّة غير مباشرة بسيطة وحساسة لتقدير الدايكولوفيناك صوديوم والبيروكسيكام بصورتها النقية وفي المستحضرات الصيدلانية بالاعتماد على إخماد شدة تفلور كاشف كبريتات الكوينين ثنائية الماء من خلال تفاعله مع ايون الكلوريد، وتقاس شدة تفلور الكاشف عند طول موجة انبعاث 446 نانومتر وبطول موجة اشارة 360 نانومتر، ومن حساب الفرق في شدة التفلور (ΔF) وجد ان العلاقة خطية ضمن مدى التراكيز 1-15 و 2-28 مايكروغرام/ملتر بمعدل نسب استرجاع بلغت 100.95% و 102.57% وبانحراف قياسي نسبي أقل من 1.8% لكل من الدايكولوفيناك صوديوم والبيروكسيكام على التوالي. وطُبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبين الدوائيين قيد الدراسة، ووجد أن نتائج الطريقة المقترحة تتفق مع طريقة الإضافة القياسية لتقدير الدايكولوفيناك صوديوم والبيروكسيكام فضلاً عن اتفاقها مع المحتوى الأصلي للمركبات الصيدلانية.

وتضمن الفصل الخامس تطوير طريقة طيفية حساسة وانتقائية لتقدير البرومهيكسين هيدروكلوريد تعتمد على اقتران البرومهيكسين المؤزوت مع كاشفين مختلفين (الأورسينول و 4،2-ثنائي هيدروكسي بنزالديهايد) في الوسط القاعدي، لغرض تكوين صبغة آزوية ملونة ذائبة في الماء المقطر ومستقرة وتعطي أقصى شدة امتصاص عند الطولين الموجيين 386 و 435 نانومتر، وتتبع الطريقة قانون بير ضمن مدى التراكيز 0.5-20 و 1.0-24 مايكروغرام/ملتر وبامتصاصية مولارية 10×2.2363 و 10×1.2667 لتر/مول. سم وبمعدل نسبة استرجاع 98.91 و

100.37% وانحراف قياسي نسبي أقل من 3.1 % باستخدام كلا الكاشفين الأورسينول و 4،2-ثنائي هيدروكسي بنزالديهايد على التوالي، كما درست طبيعة الصبغة المتكونة، ووجد أن النسبة التركيبية (1:1) من (المركب الدوائي المؤزوت: الكاشف) وبقيمة ثابت استقرار 10×2.20 و 10×2.85 لتر/مول للبرومهيكسين باستخدام كل من كاشف الأورسينول وكاشف 4،2-ثنائي هيدروكسي بنزالديهايد على التوالي، وطبقت الطريقة بنجاح عند تقدير البرومهيكسين هيدروكلوريد في مستحضراته الصيدلانية، فكانت النتائج متفقة على نحو جيد مع المحتوى الأصلي للمستحضرات الصيدلانية كما درست صلاحية التطبيق التحليلي للطريقة على المستحضرات الصيدلانية من خلال دراسة طريقة الإضافة القياسية التي تدل على أن الطريقة المطورة ذات صلاحية تطبيق تحليلي جيدة.

أما الفصل السادس فتضمن تطوير طريقة طيفية مباشرة يسيرة وحساسة لتقدير المركب الدوائي الإندوميثاسين بصورته النقية وفي مستحضراته الصيدلانية، إذ استندت الطريقة على استعمال صبغتي التولودين الزرقاء والأزور-A بوصفهما كاشفين كروموجينيين لتكوين معقدي التجمع الأيوني مع الإندوميثاسين في الوسط القاعدي، وقيس امتصاص المعقدين الناتجين عند 530 و 534 نانوميتر لكلا الصبغتين على التوالي، وأمكن تقدير تراكيز بحدود 1-20 و 1-30 مايكروغرام/مللتر وبامتصاصية مولارية 10×6.1897 و 10×5.4742 لتر/مول.سم باستخدام كل من صبغتي التولودين الزرقاء والأزور-A على التوالي وكانت الطريقة ذات دقة وتوافق جيدين، إذ تراوح معدل نسبة الاسترجاع بين 97.20 و 101.27% بانحراف قياسي نسبي أقل من 2.42%. وطبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للإندوميثاسين (بشكل كبسول من مناشئ مختلفة)، إذ كانت نتائجها متفقة على نحو جيد مع المحتوى الأصلي للمستحضرات الصيدلانية ومع طريقة الإضافة القياسية التي اثبتت عدم حصول تداخل من قبل مواد السواغ.

Abstract

This thesis consists six chapters:

The *first chapter* included a general introduction to the medical importance of the studied pharmaceutical compounds, which included (captopril, clopidogrel bisulfate, cefixime trihydrate, cefotaxime sodium, ceftriaxone sodium, diclofenac sodium, piroxicam, bromhexine hydrochloride and indomethacin), in addition to a review of some of the different analytical methods (spectroscopic, chromatographic, fluorometric and electrochemical) that were used to estimate the above pharmaceutical compounds.

The *second chapter* involved the development of a sensitive and simple indirect fluorometric method for the determination of the pharmaceutical compounds captopril and clopidogrel bisulfate in their pure forms and pharmaceutical preparations. This method relied on their reaction with 4,5-dibromofluorescein as a fluorescent dye to form the ion-association complex and measuring the decrease in dye fluorescence intensity at a wavelength of 540 nm and an excitation wavelength of 330 nm. The method was linear within the concentration ranges of 0.4–14 and 0.4–8 µg/mL, with detection limits of 0.263 and 0.061 µg/mL and quantification limits of 0.796 and 0.185 µg/mL for the two drugs, respectively. The average recovery reached 99.58% and 99.68%, with a relative standard deviation of less than 4.2% for both captopril and clopidogrel bisulfate, respectively. The method was successfully applied to the pharmaceutical preparations of the two drug compounds under study, and the results of the proposed method were found to be consistent with the standard addition method for the estimation of captopril and clopidogrel bisulfate, as well as consistent with the original content of the pharmaceutical compounds.

The *third chapter* included the development of a simple and sensitive indirect spectroscopic method for the estimation of the pharmaceutical compounds cefixime trihydrate, cefotaxime sodium and ceftriaxone sodium in their pure forms and pharmaceutical preparations. The method was based on the oxidation of the pharmaceutical compounds by a calculated increase of the oxidizing agent N-bromosuccinimide in a medium of hydrochloric acid and the estimation of the unreacted oxidizing agent by bleaching the color of Sudan III dye added in a fixed amount, and measuring the absorption of the remaining dye at a wavelength of 506 nm. The dye

absorptions showed a linear increase within the concentration ranges of 0.5-8.0, 0.5-10 and 0.5-13 $\mu\text{g/mL}$ with molar absorptivity of 6.871×10^4 , 5.681×10^4 and 6.712×10^4 L/mol.cm and limits of detection of 0.05, 0.058 and 0.043 $\mu\text{g/mL}$ and limits of quantification of 0.15, 0.175 and 0.132 $\mu\text{g/mL}$ for cefixime trihydrate, cefotaxime sodium and ceftriaxone sodium, respectively. The average recovery ranged from 98.07% to 100.83%, with a relative standard deviation of less than 3.7% for all pharmaceutical compounds under study. The method was successfully applied to pharmaceutical preparations of the compounds under study from different origins, with results showing good agreement with the original content of the pharmaceutical preparations and with the standard addition method, demonstrating no interference from the added excipients.

The *fourth chapter* included the development of a simple and sensitive indirect fluorometric method for the determination of diclofenac sodium and piroxicam in their pure form and in pharmaceutical preparations, based on the quenching of the fluorescence intensity of quinine sulfate dihydrate through its reaction with chloride ion. The fluorescence intensity of the reagent is measured at an emission wavelength of 446 nm and an excitation wavelength of 360 nm. From the calculation of the difference in the fluorescence intensity of the dye ΔF , it was found that the relationship is linear within the concentration range of 1-15 and 2-28 $\mu\text{g/mL}$ with average recovery rates of 100.95% and 102.57% and an average relative standard deviation of less than 1.8% for both diclofenac sodium and piroxicam, respectively. The method was successfully applied to the pharmaceutical preparations of the two drug compounds under study, and the results of the proposed method were found to be consistent with the standard addition method for the estimation of diclofenac sodium and piroxicam, as well as consistent with the authentic content of the pharmaceutical compounds.

The *fifth chapter* included the development of a sensitive and selective spectroscopic method for the determination of bromhexine hydrochloride based on the coupling of diazotized bromhexine with two different reagents (orcinol and 2,4-dihydroxybenzaldehyde) in a basic medium in order to form a colored azo dye that is soluble in distilled water and stable and gives maximum absorption intensity at wavelengths of 386 and 435 nm. The method follows Beer's law within the concentration range of 0.5-20 and 1.0-24 $\mu\text{g/mL}$ and with molar absorptivity of 2.2363×10^4 and 1.2667×10^4

L/mol.cm and with average recovery 98.91 and 100.37% and a relative standard deviation of less than 3.1% using both reagents, orcinol and 2,4-dihydroxybenzaldehyde, respectively. The nature of the dye formed was also studied, and it was found that the compositional ratio (1:1) of (the drug compound: the reagent) had a stability constant value of 2.20×10^6 and 2.85×10^5 L/mol for bromhexine using both the orcinol reagent and the 2,4-dihydroxybenzaldehyde reagent respectively. The method was successfully applied to estimate bromhexine hydrochloride in its pharmaceutical preparations, and the results were in good agreement with the original content of the pharmaceutical preparations. The validity of the analytical application of the method to pharmaceutical preparations was also studied through the study of the standard addition method, which indicates that the developed method has good analytical application validity.

The *sixth chapter* included the development of a simple and sensitive direct spectrophotometric method for the determination of the pharmaceutical compound indomethacin in its pure form and in its pharmaceutical preparations. The method was based on the use of the dyes toluidine blue and azur-A as chromogenin reagents to form the two ion-association complexes with indomethacin in the alkaline medium. The absorbance of the two resulting complexes was measured at 534 and 530 nm for both dyes respectively. Concentrations of approximately 1-20 and 1-30 $\mu\text{g/mL}$ and molar absorptivity of 6.1897×10^3 and 5.4742×10^3 L/mol.cm were determined using the dyes toluidine blue and azur-A respectively. The method had good accuracy and agreement. The average recovery ranged between 97.20 and 101.27% with a relative standard deviation of less than 2.42%. The method was successfully applied to indomethacin pharmaceutical preparations (capsule form from different origins), as its results were in good agreement with the original content of the pharmaceutical preparations and with the standard addition method, which proved the absence of interference by excipients.

التقدير الكمي المايكروغرامي لعدد من المركبات الدوائية باستخدام طرائق تحليلية مختلفة
 المؤلف : ريم عبد أحمد خلف بأشراف : أ.م.د. صبحي محسن جارا الله المتيتوي الناشر : جامعة الموصل

HIGHLIGHTS	GRAPHICAL ABSTRACT
<p>تطوير وتوصيف طرائق تحليلية مختلفة تمتاز بالدقة والانتقائية وانخفاض التكلفة بالوقت ذاته لتقدير تسع مركبات دوائية. استندت الطرائق التحليلية المطورة على القياسات الفلورية المباشرة وغير المباشرة والقياسات الطيفية لتقدير المركبات الدوائية المدروسة في صورها النقية ومستحضراتها الصيدلانية.</p>	
<p>الكلمات المفتاحية :: طرائق طيفية / طرائق فلورومترية / معقدات التجمع الايوني / تفاعلات الازوتة والاقتران</p>	<p align="right">الخلاصة</p> <p>تضمنت الدراسة تطوير طرائق تحليلية طيفية وفلورومترية بسيطة وحساسة لتقدير عدد من المركبات الدوائية بصورتها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية. اعتمدت إحدى الطرائق على قياس إخماد تفلور صبغة 4،5-ثنائي برومو فلورسين بعد تكوين معقدات التجمع الايوني مع الكابتوبريل والكلوبيدوغريل ثنائي الكبريتات، وأظهرت الطريقة خطية جيدة ودقة واسترجاعاً مرتفعاً، كما طورت طريقة طيفية غير مباشرة لتقدير السيفتاكسيم ثلاثي الماء والسيفتاكسيم صوديوم والسيفترياكسون صوديوم، بالاعتماد على أكسدة المركبات الدوائية ب-N-بروموسكسينميد والمتبقي من العامل المؤكسد يعمل على قصر صبغة السودان III، وأظهرت الطريقة حساسية ودقة جيدة، مع نجاح تطبيقها على المستحضرات الصيدلانية. وطُورت كذلك طريقة فلورومترية غير مباشرة لتقدير الدايفينيك صوديوم والبيروكسيكام اعتماداً على إخماد تفلور كبريتات الكوينين ثنائية الماء بواسطة أيون الكلوريد، وأظهرت نتائج جيدة من حيث الخطية والاسترجاع والدقة، كما تم تطوير طريقتين طيفيتين لتقدير البرومهيكسين هيدروكلوريد بالاعتماد على تكوين أصباغ آزوية ملونة باستخدام الأورسينول و4،2-ثنائي هيدروكسي بنزالديهايد، وأظهرتا خطية ودقة واسترجاعاً جيداً، مع دراسة طبيعة المعقدات المتكونة وثوابت استقرارها، ونجاح تطبيقهما على المستحضرات الصيدلانية. وأخيراً، طُورت طريقة طيفية مباشرة لتقدير الإندوميثاسين باستخدام صبغتي التلودين الزرقاء والأزور-A لتكوين معقدات تجمع أيوني في الوسط القاعدي، وأظهرت الطريقة دقة وتوافقاً جيدين، مع نجاح تطبيقها على المستحضرات الصيدلانية وعدم وجود تداخل من مواد السواغ</p> <p align="right">reem.23esp52@student.uomosul.edu.iq</p>

<https://uomosul.edu.iq/libcentral>

E-Mail : central_library@uomosul.edu.iq

University of Mosul

College of Education

For Pure Science



Microgramic Quantitative Determination of a Number of Pharmaceutical Compounds Using Different Analytical Methods

Reem Abed Ahmed Khalaf Al-Luhaiby

Ph.D. Thesis

Chemistry

Supervised by

Assist. Prof.

Dr. Subhi Mohsin Jarullah Al-Mtwaiti