جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

تطوير طرائق طيفية مختلفة لتقدير عدد من المركبات الصيدلانية وبعض امزجتها الثنائية

أسماء حمزة عباس حسين الهاشمي

أطروحة دكتوراه

الكيمياء

بإشراف

الأستاذ	الأستاذ المساعد
الدكتور ضياء نجم الصبحة	الدكتور صبحي محسن جارالله

1446هـ 2024م

الخلاصة

اشتملت الأطروحة على ستة فصول:

تضّمن **الفصل الأول** استعراضاً ومراجعة لبعض الطرائق التحليلية المختلفة(الطيفية والفلورومترية والكهربائية والكروماتوغرافية)، التي استخدمت لتقدير المركبات الدوائية الأدرينالين، وهيدروكلوريد الدوبامين، والمثيل دوبا، والليفو دوبا، وهيدروكلوريد الفينيل فرين، والباراسيتامول، ومالييت الدومبيريدون، وكبريتات التربيوتالين.

تضّمن **الفصل الثاني** تطوير طريقة طيفية غير مباشرة يسيرة وحساسة لتقدير المركبات الدوائية الأدرينالين، وهيدروكلوريد الدوبامين، والمثيل دوبا بأشكالها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية، اعتمدت الطريقة على أكسدة المركبات الدوائية بزيادة محسوبة من العامل المؤكسد N- بروموسكسينميد في وسط من محلول الفثالات المنظم (pH 2.5) وتقدير غير المتفاعل من العامل المؤكسد من خلال قصر لون صبغة البونسو 4R المضافة بكمية ثابتة، وقياس امتصاص المتبقي من الصبغة عند الطول الموجي 507 نانوميتر، إذ اعطت امتصاصات الصبغة زيادة خطية ضمن مدى التراكيز 3.5-10 و4-15 و5-20 مايكروغرام/مللتر بامتصاصية مولارية 8.01×10^4 و5.32×10^4 و4.93×10^4 لتر. مول$^{-1}$. سم$^{-1}$ وبحد كشف 0.121 و0.234 و0.118 مايكروغرام/مللتر وحد تقدير كمي 0.372 و0.712 و0.357 مايكروغرام/مللتر لكل من الأدرينالين، وهيدروكلوريد الدوبامين، والمثيل دوبا على التوالي، تراوحت معدلات نسب الاسترجاع بين 99.15% و100.61% والانحراف القياسي النسبي ليس أكثر من 1.42% لجميع المركبات الدوائية قيد الدراسة. طبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبات الدوائية قيد الدراسة من مناشئ مختلفة، إذ كانت نتائجها متفقة على نحو جيد مع المحتوى الفعّال للمستحضرات الدوائية ومع طريقة الإضافة القياسية والتي أثبتت عدم وجود تداخل من قبل مواد السواغ المضافة. كما تم مقارنة الطريقة المقترحة مع الطريقة المعتمدة في دستور الأدوية البريطاني والتي اظهرت نتائجها دقة وتوافقاً جيدين مما يدل على عدم وجود فرق معنوي بين الطريقتين.

وتضّمن **الفصل الثالث** تطوير طريقة طيفية مباشرة يسيرة وحساسة لتقدير مركبات الأدرينالين، وهيدروكلوريد الفينيل فرين، وكبريتات التربيوتالين بأشكالها النقية وفي مستحضراتها

الصيدلانية، استندت الطريقة على تكوين نواتج ملونة بين المركبات الدوائية والكاشف 2،6- ثنائي كلوروكوينون-4- كلوراميد (DCQ)، وقيس امتصاص النواتج المكونة عند 475 و651 و546.5 نانوميتر، إذ أمكن تقدير تراكيز بحدود 0.3-9.5 و0.5-17 و0.5-55 مايكروغرام/مللتر وبامتصاصية مولارية 1.46×10^4 و1.89×10^4 و1.57×10^4 لتر. مول$^{-1}$.سم$^{-1}$ وبحد كشف 0.07 و0.11 و0.18 مايكروغرام/مللتر وبحد تقدير كمي 0.22 و0.33 و0.55 مايكروغرام/مللتر لكل من الأدرينالين، وهيدروكلوريد الفينيل فرين، وكبريتات التربيوتالين على التوالي. تراوح معدل نسب الاسترجاع بين 99.34% و101.10% وبإنحراف قياسي نسبي ليس أكثر من 3.31% لجميع المركبات الدوائية، ووجد من خلال دراسة طبيعة الناتج الملون أن المعقد يتكون بنسبة 1:1 للأدرينالين وهيدروكلوريد الفينيل فرين والتربيوتالين(دواء: كاشف). طبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبات الدوائية وكانت النتائج متفقة على نحوٍ جيد مع المحتوى الأصيل للمستحضرات الدوائية ومع طريقة الإضافة القياسية والتي اثبتت عدم وجود تداخل للمواد السواغ. كما تم مقارنة الطريقة المقترحة مع الطريقة المعتمدة في دستور الأدوية البريطاني والتي أظهرت نتائجها دقة وتوافقاً جيدين مما يدل على عدم وجود فرق معنوي بين الطريقتين.

في حين تضّمن **الفصل الرابع** تطوير طريقة طيفية بسيطة وحساسة واقتصادية للتقدير الآني للباراسيتامول، ومماليت الدومبيريدون في الخليط بنجاح وذلك بتطبيق طريقة الإضافة القياسية- النقطة المشتركة H- Point Standard Addition Method(HPSAM)، إذ أمكن تقدير الباراسيتامول بوصفهِ المادة المحللة (Analyte) ومماليت الدومبيريدون بوصفهِ المادة المتداخلة(Interferent) في الخليط عند الطولين الموجيين271 و292 نانوميتر، بلغت الاستجابة الخطية للطريقة 0-30 و1-27 مايكروغرام/مللتر ونسب استرجاع تراوحت بين 99.12-105.00% و97.66-104.87% للباراسيتامول ومماليت الدومبيريدون على التوالي، وبانحراف قياسي نسبي ليس أكثر من 2.82%.طبقت الطريقة المقترحة بنجاح في تقدير الباراسيتامول، ومماليت الدومبيريدون في مستحضراتهما الصيدلانية بشكل أقراص بنسب استرجاع تراوحت بين 96.40-102.40% و97.38-103.26% على التوالي. إن ما يميز هذه الطريقة هو تفوقها على الطرائق الطيفية الأخرى بالدقة والبساطة والكلفة الأقل، فضلاً عن استخدام مواد صديقة للبيئة كما أنها لا تحتاج لعمليات فصل واستخلاص.

وتضّـمن **الفصــل الخــامس** تطـوير طـريقتين طيفيتـين حساسـتين فـي تقـدير كميـات مايكروغرامية من كبريتات التربيوتالين، اعتمدت **الطريقـة الأولـى** علـى تطبيـق تقنيـة استخلاص النقطـة السحابية بوجود عامل الشد السطحي الترايتون X- 114 بالاعتمـاد علـى تطبيـق تفاعل الأزوتة والاقتران وتكوين صبغة آزوية ذات لون برتقالي محمر بين كبريتات التربيوتالين والكاشف المؤزوت 4,2- ثنائي نترو انيلين في الوسط القاعدي والذي تم استخلاصه بواسطة عامل الشد السطحي غير الأيوني الترايتون X-114، قيس أقصـى امتصـاص للنـاتج عِند 448 نـانوميتر. اتبعت الطريقـة قـانون بيـر ضـمن مـدى التراكيـز 0.1-13 مـايكروغرام/مللتر بامتصاصـية مولاريـة 1.6×10^{5} لتـر. مـول$^{-1}$. سـم$^{-1}$ وبحـد كشـف وحـد تقـدير كمـي 0.04 و0.14 مـايكروغرام/مللتر على التوالي مما يؤكد حساسية الطريقة، وتميزت الطريقة بدقة وتوافق جيدين، إذ بلـغ معدل نسبة الاسترجاع 98.91% والانحراف القياسي النسبي ليس أكثر من 1.6% .

فيما اعتمدت **الطريقة الثانية** على تطبيق تفاعلات الاقتران التأكسدي التي اعتمدت على مفاعلة كبريتات التربيوتالين مع الكاشف 4،2- ثنائي نيترو فنيل هيدرازين بوجود ميتا بيريوديت الصوديوم في الوسط القاعدي لينتج معقداً ذي لون بني محمر يقاس أقصـى امتصـاص لـه عِند 455 نانوميتر، إذ بلـغ المدى الخطي للتقدير 0.1- 11 مايكروغرام/مللتر وبامتصاصية مولارية 7.98×10^{4} لتـر. مـول$^{-1}$. سـم$^{-1}$ وبلـغ حـد الكشـف وحـد التقـدير الكمـي 0.17 و0.56 مـايكروغرام/مللتر علـى التـوالي، وكانـت الطريقـة ذات دقـة وتوافق جيـدين بمعـدل نسـبة اسـترجاع 100.20% وبانحراف قياسي نسبي ليس أكثر من 2.33%. طبقت الطريقتان بنجاح في تقدير كبريتات التربيوتالين في المستحضر الصيدلاني (الشراب المعلق للأطفال) من منشئين مختلفين، إذ كانت نتائج الطريقتين متفقة على نحوٍ جيد مع المحتوى الأصيل للمركب الدوائي. وطبقت طريقة الإضافة القياسية التي أثبتت عدم وجود أي تداخل من قبل مواد السواغ. كما تم مقارنة الطريقتين المقترحتين مع الطريقة المعتمدة في دستور الأدوية البريطاني والتي أظهرت نتائجها دقة وتوافقاً جيدين مما يدل على عدم وجود فرق معنوي بين الطريقتين، وأن الطريقة المقترحة ذات صلاحية تطبيق جيدة.

أما **الفصل السادس** فتضمن تطوير طريقة طيفية مباشرة يسيرة وحساسة لتقدير مركبات هيدروكلوريد الدوبامين، والمثيل دوبا، والليفودوبا بأشكالها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية،

استندت الطريقة على تكوين معقد ملون بين المركبات الدوائية وكاشف 4–أمينوأنتي بايرين وأيون النحاس(II) وقيس امتصاص المعقدات المتكونة عند(557، 558، 542) نانوميتر بالتتابع، إذ أمكن تقدير تراكيز بحدود 0.5–30 و0.5–40 و0.2–37 مايكروغرام/مللتر وبامتصاصية مولارية 1.33×10^4 و1.57×10^4 و1.38×10^4 لتر. مول$^{-1}$.سم$^{-1}$ وبحد كشف 0.06 و0.06 و0.03 مايكروغرام/مللتر وبحد تقدير كمي 0.18 و0.18 و0.10 مايكروغرام/مللتر لكل من هيدروكلوريد الدوبامين والمثيل دوبا والليفو دوبا على التوالي. تراوحت معدل نسب الاسترجاع بين 99.21% و98.59% وبانحراف قياسي نسبي ليس أكثر من2.76 % لجميع المركبات الدوائية. طبقت الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية للمركبات الدوائية وكانت النتائج متفقة على نحوٍ جيد مع المحتوى الأصيل للمستحضرات الدوائية ومع طريقة الإضافة القياسية والتي اثبتت عدم وجود تداخل للمواد السواغ. كما تم مقارنة الطريقة المقترحة مع الطريقة المعتمدة في دستور الأدوية البريطاني والتي أظهرت نتائجها دقة وتوافقاً جيدين مما يدل على عدم وجود فرق معنوي بين الطريقين.

Summary

This thesis consists of six chapters:

The first chapter included a review of some of the different analytical methods (spectrophotometric, fluorometric, electrophoretic, and chromatographic) that were used to estimate the pharmaceutical compounds adrenaline, dopamine hydrochloride, methyldopa, levodopa, phenylphrine hydrochloride, paracetamol, domperidone malate, and terbutaline sulfate.

The **second chapter** included the development of an easy and sensitive indirect spectrophotometric method for the determination of adrenaline, dopamine hydrochloride, and methyldopa in their pure forms and in pharmaceutical preparations. The method was based on the oxidation of pharmaceutical compounds with a measured amount of the oxidizing agent N-bromosuccinimide in a medium of buffered phthalate solution (pH 2.5) and the remaining oxidizing agent reducing the color of the Ponceau 4R dye added in a fixed amount, then measuring the absorbance of the remaining dye at a wavelength of 507 nm. The dye absorbance gave a linear increase within the concentration range of 3.5-10, 4-15, and 5-20 µg/ml, with a molar absorptivity values of 8.01×10^4, 5.32×10^4 and 4.93×10^4 l. mol^{-1}. cm^{-1}. The limit of detection (LOD) values are 0.121, 0.234 and 0.118 µg/ml, and the limit of quantitation (LOQ) values are 0.372, 0.712 and 0.357 µg/ml for Adrenaline, Dopamine hydrochloride, and Methyldopa, respectively, the recovery % ranged between 99.15% and 100.61%, and the relative standard deviation(RSD%) not more than 1.42% for all drug compounds under study. The method was successfully applied to pharmaceutical preparations manufactured by different origins, as its results were in good agreement with the original contents of the drugs in pharmaceutical

preparations. The standard addition method was applied and demonstrated the absence of interference by the added excipient materials. The proposed method was also compared with the method approved in the British Pharmacopoeia, whose results showed good accuracy and agreement, indicating that there is no significant difference between the two methods.

The **third chapter** involved the development of a direct, simple, and sensitive spectrophotometric method for the determination of adrenaline, phenylephrine hydrochloride, and terbutaline sulfate in their pure forms and in their pharmaceutical preparations. The method was based on the formation of colored products between the medicinal compounds and the DCQ reagent and The absorbance of the formed products was measured at 475, 651, and 546.5 nm, for above drugs respectively, so it was possible to estimate concentrations in the range of 0.3-9.5. and 0.5-17 and 0.5-55 µg/ml, with molar absorptivity of 1.46×10^4, 1.89×10^4 and 1.57×10^4 L. mol^{-1}. cm^{-1}, with LOD of 0.07, 0.11 and 0.18 µg/ml, and LOQ of 0.22, 0.33 and 0.55 µg/ml for Adrenaline, Phenylephrine hydrochloride, and Terbutaline sulfate, respectively. The average recovery % ranged between 99.34% and 101.10%, with RSD not more than 3.31% for all medicinal compounds. By studying the nature of the colored product, it was found that the product formed in a ratio of 1:1 drug: DCQ. The method was successfully applied to pharmaceutical formulations of medicinal compounds, and the results were in good agreement with the original content of the drugs in their pharmaceutical preparations. The standard addition method has been applied, which proved that there was no interference with excipient materials. The proposed method was also compared with the standard method in the British Pharmacopoeia, and the results of which showed

good accuracy and agreement, indicating that there is no significant difference between the two methods.

The fourth chapter included the development of a simple, sensitive and economical spectrophotometric method for the simultaneous determination of Paracetamol and Domperidone maleate in their binary mixture successfully by applying H-point standard addition method (HPSAM), as it was possible to estimate Paracetamol as the analyte and Domperidone maleate as the interfering substance in the mixture, at the pair wavelengths of 271 and 292 nm, the linear response of the method reached 0-30 and 1-27 µg/ml, and recovery % ranged between 99.12%-105.00% and 97.66%-104.87% for above drugs respectively, with RSD% not more than 2.82%. The proposed method was successfully applied in the determination of Paracetamol and Domperidone maleate in their pharmaceutical preparations in the form of tablets, with recovery % ranging between 96.40-102.40% and 97.38-103.26%, respectively. What distinguishes this method is its superiority over other spectrophotometric methods in terms of accuracy, simplicity, and lower cost, in addition to the use of environmentally friendly materials, and it does not require separation and extraction operations.

The **fifth chapter** includes the development of two sensitive spectrophotometric methods for estimating microgram quantities of Terbutaline sulfate. **The first method** relied on the application of extraction cloud-point method of an orange colored azo dye formed between drug and 2,4-dinitroaniline reagent in the basic medium, in the presence of a non-ionic surfactant Triton X-114. The maximum absorbance of the product was measured at 448 nm, The method followed Beer's law within the concentration range of 0.1-13 µg/ml with a molar absorptivity of 1.6×10^{5} L. mol^{-1}. cm^{-1}, with LOD and LOQ of 0.04 and

0.14 µg/ml respectively, which confirms the sensitivity of the method. The method was characterized by good accuracy and agreement, as the average recovery % was 98.91%, and RSD was not more than 1.60%.

While **the second method** was based on the application of oxidative coupling reactions, which relied on the reaction of Terbutaline sulfate with the reagent 2,4-dinitrophenylhydrazine in the presence of sodium metaperiodate, as oxidizing agent, in the basic medium to produce a reddish-brown colored product having maximum absorption at 455 nm. The linearity of the determination is 0.1-11 µg/ml, with a molar absorptivity of 7.98×10^{4} L. mol^{-1}. cm^{-1}. The LOD and LOQ were 0.17 and 0.56 µg/ml, respectively. The method had good accuracy and agreement with average recovery % of 100.20% and RSD not more than 2.33%. Both methods were successfully applied in the determination of Terbutaline sulfate in a pharmaceutical preparation (children's suspension) from different commercial origins, as the results of both methods were in good agreement with the certified value of the medicinal compounds. The standard addition method was applied, which proved that there was no interference by excipient materials. The two proposed methods were also compared with the standard method in the British Pharmacopoeia, the results of which showed good accuracy and agreement, indicating that there is no significant difference between the two methods and that the proposed method has good application validity.

The **sixth chapter** included the development of an easy and sensitive direct spectrophotometric method for the determination of Dopamine hydrochoride, Methyldopa, and Levodopa in their pure forms and in their pharmaceutical preparations. The method was based on the formation of a new ligand between the drug compounds and 4-aminoantipyrene reagent, and then complexing with copper (II) ion. The

formed complexes were measured at 557, 558,542 nm for above drugs respectively. Beer's law was obeyed in the concentration range of 0.5-30, 0.5-40, and 0.2-37 µg/ml, with molar absorptivity values of 1.33×10^4, 1.57×10^4, and 1.38×10^4 L. mol^{-1}. cm^{-1}, with LOD of 0.06, 0.06 and 0.03 µg/ml, and LOQ of 0.18, 0.18 and 0.10 µg/ml for Dopamine hydrochloride, Methyldopa, and Levo-dopa, respectively. The average recovery % ranged between 99.21% and 98.59%, with RSD not more than 2.76% for all pharmaceutical compounds. The method was successfully applied to pharmaceutical preparations of medicinal compounds, and the results were in good agreement with the original content of the pharmaceutical preparations and with the standard addition method, which proved that there was no interference with excipient materials. The proposed method was also compared with the standard method in the British Pharmacopoeia, the results of which showed good accuracy and agreement, indicating that there is no significant difference between the two methods.

University of Mosul

College of Education

For Pure Science

Development of different spectrophotometric methods for the determination of some pharmaceutical compounds and their binary mixture

Asmaa Hamza Abbas Hussien Al-Hashemi

Ph.D. Thesis

Chemistry

Supervised by

Prof.

Dr. Theia'a Najim Al-Sabha

Asst. Prof.

Dr. Subhi Mohsin Jarullah

2024A.D. **1446 A.H.**