

تقدير الدوكسيسايكلين بشكله النقي وفي مستحضره الصيدلاني بطريقة معقد انتقال الشحنة

سهى صبري محمد¹، ايمان ذياب احمد¹، نشوان حسين علي²

1- قسم الكيمياء، كلية التربية، جامعة سامراء، العراق

2- كلية الكيمياء التطبيقية، كلية العلوم التطبيقية، جامعة سامراء، العراق

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)<https://doi.org/10.54153/sjpas.2024.v6i2.604>

الخلاصة:

تم تطوير طريقة طيفية بسيطة وسريعة ودقيقة لتقدير قاعدة شف لعقار الدوكسيسايكلين (Doxoy) في شكله النقي وفي مستحضره الصيدلاني (Doxyclyne Capsule 100 mg) اعتمدت هذه الطريقة على تكوين معقد انتقال الشحنة بين قاعدة شف لـ Doxy وكاشف الكلورانيل في وسط قاعدي، اعطى المعقد أعلى امتصاص له عند الطول الموجي 344 نانومتر. تم دراسة الظروف الفضلى لتكوين المعقد (الوقت، درجة الحرارة، نوع وحجم الكاشف الأفضل، تسلسل الاضافة). تراوحت خطية الطريقة للمركب المكون من (0.25-5) مايكروغرام / مل، ودلالة ساندل 0.008038 مايكروغرام/سم² ومعامل الامتصاص المولاري 5.982396×10^4 لتر/مول.سم وحدالكشف كان 0.000872 مايكروغرام / مل والحد الكمي 0.002643 مايكروغرام / مل ونسبة الاسترجاعية المنوية %Rec بين (98.037-95.640) % ومعدل الانحراف القياسي النسبي %RSD لايتجاوز ≥ 0.1864 وتم تطبيق الطريقة بنجاح لتقدير الـ (Doxy) في مستحضره الصيدلاني بالطريقة المباشرة وطريقة الإضافات القياسية..

معلومات البحث:

تاريخ الاستلام: 2023/6/23

تاريخ التعديل: 2023/7/18

تاريخ القبول: 2023/7/29

تاريخ النشر: 2024/6/30

الكلمات المفتاحية:

دوكسيسايكلين Doxy، كلورانيل، قاعدة شف، معقد انتقال الشحنة

معلومات المؤلف

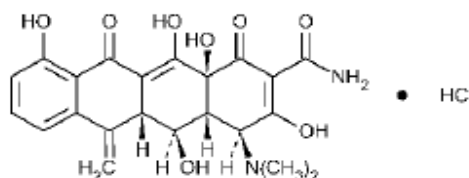
الايمل:

suhasabriamohammed@gmail.com

الموبايل:

المقدمة

الاسم النظامي للدوكسيسايكلين هو 4-(dimethylamino)- S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-3,5,10,12,12a- 4- 1,11-dioxo- 1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracene- 2- ,pentahydroxy- 6-methyl-carboxamide والتي تشمل مركبات تحتوي على أربع حلقات مدمجة، وايضا تحتوي على روابط مزدوجة وينتمي الدوكسيسايكلين (Doxy) إلى فئة التتراسيكلين، و الصيغة الجزيئية له $C_{22}H_{25}ClN_2O_8$ ، وكتلته المولية 480.90 غم/ مول و يبين الشكل 1 التركيب الكيميائي للـ (Doxy) [1].



شكل 1: الصيغة التركيبية للدوكسيسايكلين

والدوكسيسايكلين مضاد حيوي يوقف نمو الجراثيم وهو مشتق من أوكسي تتراسكلين. يستعمل في معالجة الالتهابات الناتجة عن أصناف من الكائنات الحية الدقيقة مثل: ريكتسيا، مايكوبلازما، بروسيل، للبيكتيريا الموجبة. والسالبة الغرام. ويعمل على تثبيط تصنيع البروتين في البكتيريا. وكذلك يعالج امراض السرطان بما فيها سرطان الثدي[2].. الدوكسيسايكلين خيار علاجي لـ COVID-19 ، ويحتمل أن يخفف من العواقب الرئوية وشبيه الالتهاب الرئوي الجرثومي الليجيونيللا Legionella والالتهاب الرئوي mycoplasma الميكوبلازما[3,4]. واستعملت العديد من الطرائق التحليلية في التقدير الكمي للدوكسيسايكلين منها الطرائق الطيفية[5-10] والطرائق الكروماتوغرافية [11-15] والطرائق الكهربائية[16-20].

الهدف من البحث

ان الهدف من البحث الحالي هو تطوير طريقة طيفية لتقدير عقار الدوكسيسايكلين بشكله النقي وفي مستحضره الصيدلاني بطريقة معقد انتقال الشحنة.

المواد وطرائق العمل

الاجهزة والمواد الكيميائية المستعملة

ميزان حساس Sartorius- Germany ، مقياس الطيف الضوئي -1650- UV-Vis Double Beam, Shimadzu ، حمام مائي فوق صوتي Ultrasonic water bath ، LabTech – كوري المنشأ، وجهاز Microwave جامعة سامراء/كلية التربية /قسم الكيمياء ، واستخدمت مواد ذات نقاوة عالية وهي الكلورانيل Sigma- Aldrich ، الايثانول Fluka,Italy ، الدوكسيسايكلين Sigma- Aldrich ، هيدروكسيد الصوديوم Merk-German.

تحضير قاعدة شف للدوكسيسايكلين

حضرت قاعدة شف من تكاثف الأمين الأولي Doxycycline مع الألديهيد para-Dimethylaminobenzaldehyde باستخدام جهاز Microwave حيث تم اذابة (0.001mol) gm0.45 من الأمين الأولي الدوكسيسايكلين في 10ml من الايثانول المطلق في دورق دائري وبعد اتمام الاذابة تم اضافة (0.001mol) gm 0.1491 من الالديهيد المخفف في 10ml من الايثانول مع التحريك المستمر لمدة 5 دقائق ، وحفز التفاعل بإضافة (2-3) قطرة من حامض الخليك الثلجي كعامل مساعد ووضع المحلول في جهاز Microwave لمدة 10 دقيقة (425watt)، وبرد مزيج التفاعل في درجة حرارة الغرفة وتم الحصول على بلورات ذات لون اصفر ووضعت المادة في بيكر لمدة 24 ساعة لتبخير اكبر كمية من المذيب ثم تغسل بالماء البارد لتنقية الراسب وترشح بواسطة ورقة ترشيح Whatman No.42 . بعدها اخذ الراسب وتم تجفيفه وحفظه

محلول قاعدة شف للدوكسيسايكلين (100 مايكروغرام/مل)

تم تحضير المحلول بإذابة 0.0129 غرام من قاعدة شف وهو يكافئ 0.01 غرام من الدوكسيسايكلين النقي في كمية قليلة من الايثانول ثم اكمل بالمذيب نفسه في قنينة حجمية سعة 100 مل ليتم الحصول على محلول بتركيز 100 مايكروغرام / مل ، ومنه حضرت المحاليل المخففة.

تحضير المستحضر الصيدلاني لقاعدة شف

المستحضر الصيدلاني Doxycycline انتاج شركة (Accord,Bamstaple,EX 32 BNS,UK) بشكل حبوب وكل حبة تحتوي على 100 ملغم من الدوكسيسايكلين تمَّ تحضير محاليلها كالآتي :

تمَّ طحن 8 حبات بشكل جيد بعد وزن كل حبة على انفراد حيث ان معدل وزن حبة واحدة (0.198) غم والتي تحتوي على 100 ملغم من المادة الفعالة الدوكسيسايكلين ، ثم اخذ مايكافئ وزن 0.45 غم (0.001 mol) ، من المستحضر الصيدلاني تم اذابة المسحوق في 10ml من الايثانول المطلق في دورق دائري وبعد اتمام الاذابة تم اضافة (0.001mol) gm 0.1491 (من الالديهيد المخفف في 10ml بالايثانول مع التحريك المستمر لمدة 5 دقائق ، وتم تحفيز التفاعل بإضافة (2-3) قطرة من حامض الخليك الثلجي كعامل مساعد ووضع المحلول في جهاز Microwave لمدة 10 دقيقة (425watt)، وبرد مزيج التفاعل في درجة حرارة الغرفة وتم الحصول على بلورات ذات لون اصفر ووضعت المادة في بيكر لمدة 24 ساعة لتبخير اكبر كمية من

المذيب ثم تغسل بالماء البارد لتنقية الراسب وترشح بواسطة ورقة ترشيح Whatman No.42 . بعدها تم اخذ الراسب وتم تجفيفه , ثم تم اخذ وزن 0.0129 غرام من قاعدة شف وهو يكافئ 0.01 غرام من الراسب وذوب باقل كمية من الايثانول المطلق ثم تم وضعه في قنينة حجمية سعة 100 مل واكمل الحجم الى حد العلامة بالمذيب نفسه الى ليصبح التركيز 100 مايكروغرام / مل، ومنه حضرت المحاليل الاخرى بالتخفيف.

محلول كاشف الكلورانييل (100 مايكروغرام/مل)

تم تحضير المحلول باذابة 0.01 غرام من كاشف الكلورانييل في الايثانول ويوضع في قنينة حجمية سعة 100 مل ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالمذيب نفسه ليصبح تركيز المحلول 100 مايكروغرام/مل مل، ومنه حضرت المحاليل المخففة.

طريقة العمل

حضر معقد انتقال الشحنة و ذلك بمزج 0.1 مل من قاعدة شف لعقار الدوكسيسايكولين ذات التركيز 50 مايكروغرام/مل مع 1 مل من محلول الكلورانييل ذو التركيز 50 مايكروغرام /مل ثم اضافة 0.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.05 مولاري في قنينة حجمية سعة 10 مل، ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالايثانول، واجري مسح للأطوال الموجية تراوحت بين 190 – 800 نانومتر، لوحظ تكون معقد ذا لون اصفر فاتح والذي أعطى المعقد الناتج اعلى امتصاص له عند 344 نانومتر، والتي تم اعتمادها في التجارب اللاحقة. في حين اعطى المحلول الصوري اعلى امتصاص عند 288 نانومتر.

النتائج والمناقشة

تم تحضير معقد انتقال الشحنة و ذلك بمزج 0.1 مل من قاعدة شف لعقار الدوكسيسايكولين ذات التركيز 50 مايكروغرام/مل مع 1 مل من محلول الكلورانييل ذو التركيز 50 مايكروغرام /مل ثم اضافة 0.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.05 مولاري في قنينة حجمية سعة 10 مل، ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالايثانول، أعطى المعقد الناتج اعلى امتصاص له عند 344 نانومتر، والتي تم اعتمادها في التجارب اللاحقة. في حين اعطى المحلول الصوري اعلى امتصاص عند 288 نانومتر.

اختيار نوع وحجم الكاشف

اجريت دراسة لاختيار افضل كاشف من بين الكواشف التالية (Iodide, DDQ , Chloranil , 8-Hydroxyquinoline) ويتم اختيار الكاشف الذي يعطي اعلى قيمة امتصاص مقارنة بالكواشف الأخرى، فبعد اضافة 0.6 مل من الكواشف اعلاها بتركيز 50 مايكروغرام/مل الى سلسلة من القناني الحجمية سعة 10 مل حاوية على 0.1 مل من قاعدة شف بتركيز 50 مايكروغرام / مل ثم اضافة 0.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز (0.05M)، واكمالها بالايثانول الى حد العلامة، تبين ان كاشف الكلورانييل اعطى اعلى امتصاص مقارنة بالكواشف الأخرى التي تم دراستها، وتم دراسة اختيار أفضل حجم للكاشف والتي يعطي عندها المعقد الناتج اعلى امتصاص، وتبين من نتائج الدراسة لإختيار الحجم الافضل للكاشف ان حجم 1 مل من محلول الكلورانييل بتركيز 50 مايكروغرام /مل هو حجم الكاشف الافضل والذي يعطي من خلاله المعقد الناتج اعلى امتصاص، لذا تم اختياره كأفضل حجم للكاشف والنتائج موضحة في الجدول 1 و2.

جدول 1: اختيار افضل نوع كاشف بتركيز 50 مايكروغرام/مل

Type of Reagent	λ_{max} (nm)	Absorbance
Chloranil	344	.0275
8-Hydroxyquinoline	348	0.109
Iodide	340	0.098
DDQ	350	0.102

ml of Chloranil 50 µg /ml	Absorbance
0.2	0.106
0.4	0.188
0.6	0.275
0.8	0.298
1	0.385
1.2	0.308

دراسة تأثير الحامض

اجريت دراسة تأثير الحامض واستخدم فيها حامض الهيدروكلوريك بتركيز 0.05 مولاري حيث تم اضافة حجوم مختلفة منه تتراوح بين (0.1 – 0.5) مل الى المعقد الحاوي على 0.1 مل من قاعدة شف للدوكسيسايكلين بتركيز 50 مايكروغرام / مل و 1 مل من محلول الكلورانيل بتركيز 50 مايكروغرام / مل، وأكمل الحجم بالايثانول الى حد العلامة وسجلت قيم الامتصاص للمعقد المتكون عند كل قيمة من هذه القيم بعد اجراء دراسة تأثير الحامض على تفاعل تكوين معقد انتقال الشحنة لعقار الدوكسيسايكلين فقد بينت نتائج هذه الدراسة ان اضافة الحامض ادت الى نقصان امتصاص الناتج لذا تم تجنب استعماله في التجارب اللاحقة كما هو موضح في الجدول 3.

جدول 3: تأثير الحامض على المعقد

ml Acid 0.05M of Hydrochloric Acid	Absorbance
With Out	0.385
0.1	0.027
0.2	0.035
0.3	0.036
0.5	0.038

دراسة تأثير القاعدة

تم اضافة حجوم متزايدة من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.05 مولاري وبحجوم مختلفة تراوحت بين (0.1-1) مل الى سلسلة من القنان الحجمية سعة 10 مل تحتوي 0.1 مل من قاعدة شف للدوكسيسايكلين ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل و 1 مل من محلول كاشف الكلورانيل ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل وتم قياس الامتصاص عند الطول الموجي 344 نانومتر، وقد بينت نتائج هذه الدراسة ان اضافة الوسط القاعدي بحجم 0.5 مل وبتركيز 0.05 مولاري اعطى اعلى قيمة للأمتصاص وهو الذي تم اعتماده في للتجارب اللاحقة كما موضح في الجدول 4.

الجدول 4: تأثير هيدروكسيد الصوديوم على المعقد

M of 0.05 ml Base Sodium Hydroxide	Absorbance
0.1	0.220
0.3	0.299
0.5	0.385
0.8	0.321
1.0	0.289

تأثير اضافة المحلول المنظم

في الدراسة السابقة تم الأعتقاد على حجم القاعدة المضاف والذي اعطى اعلى قيمة امتصاص هو حجم 0.5 مل وعندها تم تحديد الدالة الحامضية وهي 12.9 وعندها تم تحضير محلول منظم [21] عند هذه الدالة الحامضية والذي تكون من كلوريد البوتاسيوم وهيدروكسيد الصوديوم, ثم تم اضافة حجوم متزايدة بين (0.3 – 1.5) مل من المحلول المنظم الى سلسلة من القناني الحجمية سعة 10 مل تحوي 0.1 مل من قاعدة شف ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل و 1 مل محلول الكاشف الكلورانييل ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل, ثم اضافة 0.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.05 مولاري وتم قياس الامتصاص عند الطول الموجي 344 نانومتر, وتبين ان اضافة المحلول المنظم قد ادى الى نقصان الامتصاص بشكل ملحوظ لذلك تم استبعاده والاعتماد على اضافة القاعدة لوحدها كونها اعطت اعلى امتصاص كما موضح في الجدول 5.

الجدول 5: تأثير المحلول المنظم على امتصاص المعقد

ml of Buffer solution (KCl+NaOH)	Absorbance
With out	0.385
0.1	0.276
0.3	0.270
0.5	0.201
0.8	0.190
1.0	0.174

تسلسل الإضافات

تم اجراء عدد من التجارب المختبرية بتسلسل اضافات مختلف للحصول على الترتيب الذي يعطي افضل امتصاص للمعقد المتكون, حيث تم اضافة 0.1 مل من محلول قاعدة شف ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل و 1 مل من محلول الكاشف الكلورانييل ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل و 0.5 مل من محلول NaOH ذي التركيز 0.05 مولاري وبتسلسلات مختلفة وبالاعتماد على ظروف التفاعل الفضلى وتم تسجيل قيم الامتصاص لها عند الطول الموجي 344 نانومتر في كل حالة, وان افضل امتصاص للنتائج المتكون هو الترتيب D+R+B اذ تمثل (D) قاعدة شف للعقار و (R) كاشف الكلورانييل و (B) القاعدة, لذا تم اعتماده في التجارب اللاحقة والجدول 6 يوضح ذلك.

الجدول 6: تأثير تسلسل الاضافة على امتصاص معقد انتقال الشحنة

Reaction component	Order number	Absorbance
D+R+B	I	0.386
D+B+R	II	301.0
R+D+B	III	0.125
B+D+R	VI	0.154

تأثير درجة الحرارة

من اجل اختيار درجة الحرارة الفضلى التي يعطي عندها المعقد الناتج اعلى امتصاص، فقد تم أخذ حجم 0.1 مل من محلول قاعدة شف ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل و 1 مل محلول الكاشف الكلورانييل ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل و 0.5 مل من محلول NaOH ذي التركيز 0.05 مولاري واكمل الحجم الى حد العلامة بالايثانول، ثم أجريت عملية قياس الامتصاص للمعقد الناتج عند لحظة التفاعل وبمدى درجات حرارة تراوحت بين (5-60)°م ، يتضح من نتائج هذه الدراسة والموضحة في الجدول 7 ان اقصى امتصاص هو عند درجة حرارة 25 م⁰ اي عند درجة حرارة المختبر، لذا تم اعتماد درجة الحرارة 25 م⁰ في التجارب اللاحقة وهو موضح في الجدول 7.

الجدول 7: تأثير درجة الحرارة على معقد انتقال الشحنة

Temperature (C ⁰)	Absorbance
5(ice bath)	0.171
10	0.265
18	0.272
25	0.386
30	0.371
35	0.354
40	0.321
45	0.311
50	0.303
60	0.213

تأثير الزمن

اجريت دراسة لمعرفة ثباتية واستقرار المعقد المتكون بين قاعدة شف لعقار الدوكسيسايكلين وكاشف الكلورانييل من خلال اختيار الزمن الافضل والذي يعطي عنده المعقد المتكون اعلى امتصاص، حيث تم أخذ حجم 0.1 مل من محلول قاعدة شف ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل و 1 مل محلول الكاشف الكلورانييل ذي التركيز 50 مايكروغرام/مل و 0.5 مل من محلول NaOH ذي التركيز 0.05 مولاري ، ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالايثانول ، و تم قياس امتصاص المعقد عند 344 نانومتر وعند أزمان مختلفة تراوحت ما بين بداية تحضير المعقد إلى حد 60 دقيقة ، وان افضل امتصاص يعطيه المعقد من بعد مرور 5 دقائق حتى 20 دقيقة وهي مدة كافية لإجراء التجارب اللاحقة والجدول 8 يبين ذلك.

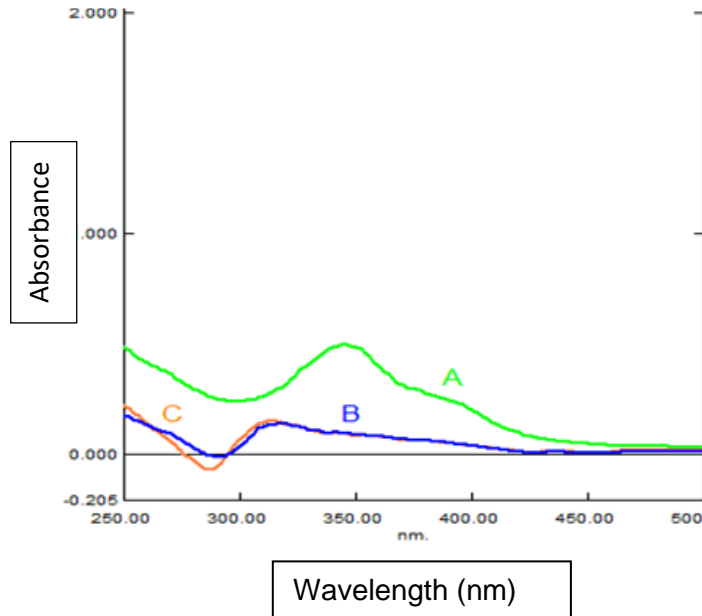
Time(min)	Absorbance
بداية التفاعل	0.385
5	0.453
10	0.452
15	0.451
20	0.452
25	0.448
30	0.447
35	0.440
40	0.398
40	0.378
60	0.248

اختيار المذيب المناسب

تمت دراسة تأثير بعض المذيبات على ناتج التفاعل وذلك باستخدام 0.1 مل من محلول شف لعقار الدوكسيسايكلين بتركيز 50 مايكروغرام / مل اضيف اليه 1 مل من محلول الكاشف الكلورانييل بتركيز 50 مايكروغرام / مل، ثم اضافة 0.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.05 مولاري عند درجة حرارة المخبر 25 م⁰ ثم خفف بالمذيبات (الايثانول، الميثانول، بتريليوم ايثر، الماء المقطر، ثلاثي كلوروايثيلين) في قناني حجمية سعة 10 مل و ترك المعقد لمدة 5 دقائق لاعطاء فرصة لاكمال التفاعل، وسجلت اطياف الامتصاص مقابل محاليلها الصورية يتبين من خلال الجدول 9 والشكل 1 ان استخدام الايثانول اعطى اعلى امتصاص مقارنة بباقي المذيبات العضوية لذلك تم استخدامه واعتماده في التجارب اللاحقة .

الجدول 9: تأثير نوع المذيب

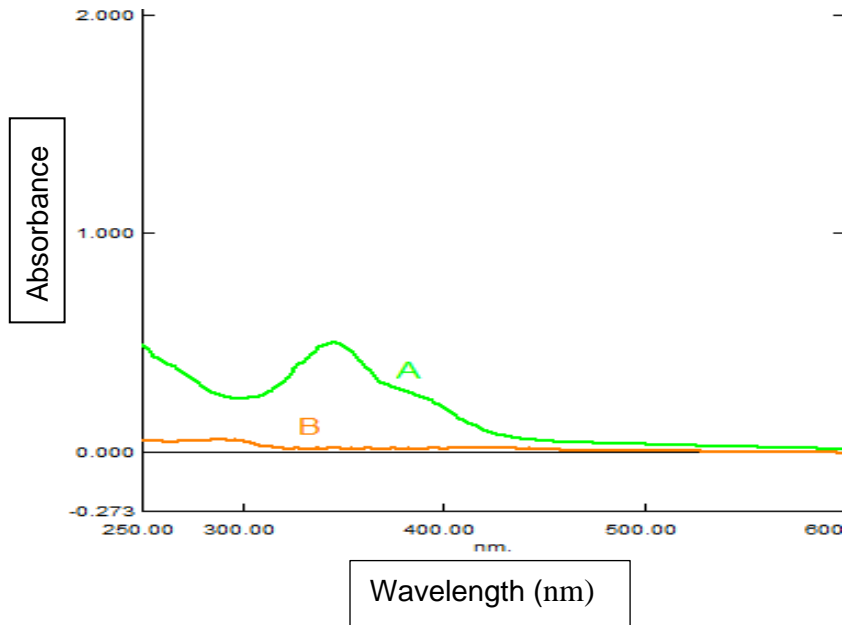
Solvent	Absorbance	λ_{max}	Code
Ethanol	0.452	344	A
Methanol	0.141	318	B
Petroleum Ether	0.154	314	C
Water	عكر	---	---
Trichloroethylene	فصل طبقتين	---	---



الشكل 1: تأثير المذيّب على تفاعل معقد انتقال الشحنة

طيف الامتصاص النهائي

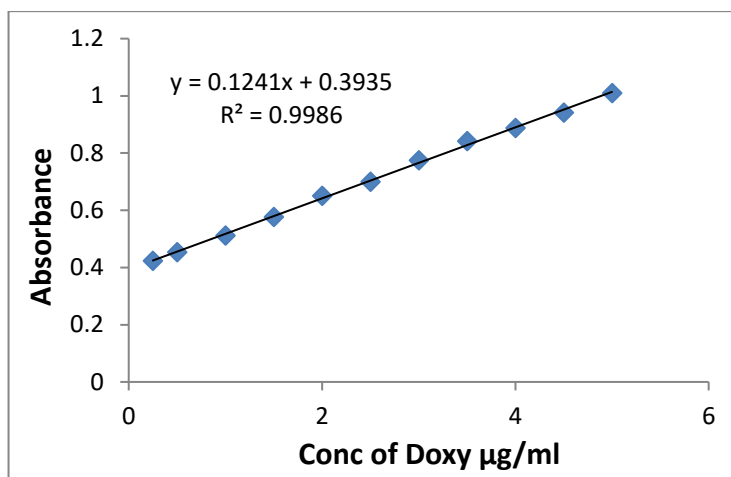
تم التفاعل وذلك بأستخدام 0.1 مل من محلول شف لعقار الدوكسيسايلين بتركيز 50 مايكروغرام / مل اضيف اليه 1 مل من محلول الكاشف الكلورانيل بتركيز 50 مايكروغرام / مل، ثم اضافة 0.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.05 مولاري عند درجة حرارة المختبر 25 م 0 ، ثم خفف بالايثانول في قنينة حجمية سعة 10 مل و ترك المعقد لمدة 5 دقائق لاعطاء فرصة لاكمال التفاعل واخذ طيف الأمتصاص مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 344 نانومتر والشكل 2 يوضح ذلك.



الشكل 2: طيف الأمتصاص النهائي (A) المعقد مقابل المحلول الصوري (B) المحلول الصوري مقابل الايثانول.

منحنى المعايرة للمعقد

بعد تثبيت الظروف الفضلى لمعقد انتقال الشحنة تم تحضير منحنى المعايرة بأضافة حجوم متزايدة من محلول قاعدة شف للدوكسيسايكلين ذي التركيز 50 مايكروغرام/ مل في سلسلة من قناني حجمية سعة 10 مل، وتراوحت الحجوم بين (0.05- 1) مل، وأضيف إليها حجم ثابت 1 مل من محلول الكاشف الكلورانييل بتركيز 50 مايكروغرام/ مل ثم اضافة 0.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 0.05 مولاري، ثم خففت بالايثانول الى حد العلامة ثم الأنتظار لمدة 5 دقائق لأتمام التفاعل، وقيس الأمتصاص لكل محلول مقابل المحلول الصوري، وكانت خطية الطريقة ما بين (0.25- 5) مايكروغرام/ مل، حيث بلغ معامل الامتصاص المولاري 5.967969×10^4 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹، ودلالة ساندل 0.008038 مايكروغرام .سم⁻²، وقيمة معامل التقدير 0.9986، والشكل 3 يبين منحنى المعايرة لمعقد انتقال الشحنة لعقار الدوكسيسايكلين.



الشكل 3: منحنى المعايرة لمعقد انتقال الشحنة لعقار الدوكسيسايكلين

المعطيات التحليلية الإحصائية

الجدول 10: المعطيات الإحصائية

Molar absorptivity (l.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	Sandel Index µg.cm ²	Appreciation Coefficient	Slope	Beers law range (µg.ml ⁻¹)	Wave length (nm)
5.967969×10^4	0.008038	0.9986	0.1244	0.25-5	344

توافق الطريقة المقترحة ودقتها

لبيان دقة وتوافق الطريقة، تم تقييم الطريقة من خلال ثلاث قيم من التراكيز (1، 2.5، 4.5) مايكروغرام / مل من محلول شف للدوكسيسايكلين القياسي ضمن منحنى المعايرة ولخمس تكرارات لكل تركيز. حيث تعتمد قياسات التوافق والدقة على حسابات الانحراف القياسي النسبي %RSD والاسترجاعية المئوية %Rec على التوالي اذ تراوحت قيم %Rec بين (95.640- 98.037%) وقيم %RSD لا تتجاوز 0.1864% اي ان الطريقة كانت ذات دقة وتوافق جيدين كما في الجدول 11.

الجدول 11: دقة وتوافق الطريقة المقترحة

Conc. Taken of Doxycycline µg/ml	Abs.	Conc of Doxycycline taken µg/ml	Recovery %	Average of Recovery%	RSD%
1	0.5122	0.9564	95.640	488.97	0106.0
2.5	0.700	2.4697	98.788		0.1864
4.5	0.941	4.4117	98.037		0.0582

حد الكشف والحد الكمي

تم حساب حد الكشف من خلال قياس امتصاص محاليل لأدنى تركيز 0.250 مايكروغرام / مل في منحنى المعايرة ضمن حدود قانون بير وعند الظروف نفسها (الظروف الفضلى) ، بلغ حدّ الكشف 0.000872 مايكروغرام / مل اما الحد الكمي فبلغ 0.002643 مايكروغرام / مل كما موضح في الجدول 12.

جدول 12 حد الكشف والحد الكمي

Concentration µg/ml	\bar{X}^*	S	LOD µg/ml	LOQ µg/ml
0.250	0.422	0.000	0.000	0.0026
	8	447	872	43

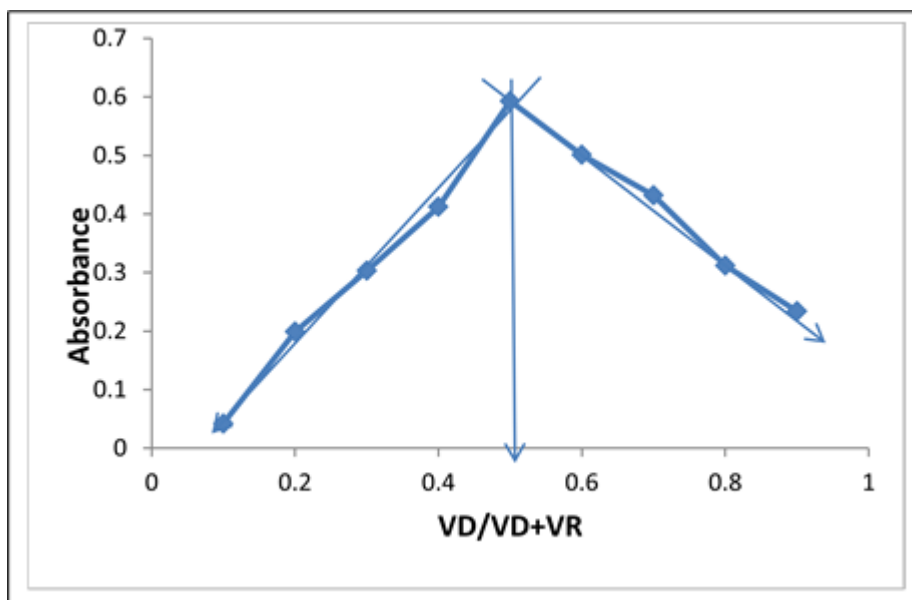
\bar{X}^* تمثل معدل خمس قراءات.

نسبة الارتباط للمعقد

اجريت دراسة لتعيين نسبة ارتباط العقار إلى الكاشف في معقد انتقال الشحنة وبحسب طريقة جوب للتغيرات المستمرة. حيث استعملت محاليل ذات تراكيز متساوية من شف لعقار الدوكسيسايكلين والكاشف بتركيز 0.001 مولاري فقد تم وضع حجوم متزايدة (0.1 - 0.9) مل من محلول قاعدة شف لعقار الدوكسيسايكلين في 9 قناني حجمية سعة 10 مل واضيف إلى هذه القناني حجوم معاكسة من محلول الكاشف (0.1-0.9) مل و بعدها أكمل الحجم الى حد العلامة بالايثانول، ثم الأنتظار لمدة 5 دقائق لأكتمال التفاعل وتم قياس قيم الامتصاص للمعقد المتكون مقابل محلول الصوري، ومن خلال النتائج التي تم الحصول عليها من طريقة جوب فقد تبين أنّ المعقد المتكون تحت الظروف الفضلى مكون من نسب متساوية من العقار والكاشف وبنسبة (1:1) على التوالي وكما موضح في الجدول 13 والشكل 4.

الجدول 13: طريقة جوب لمعقد انتقال الشحنة لعقار الدوكسيسايكلين

V _{Schiff's}	V _R	Absorbance	V _D / (V _D +V _R)
0.1	0.9	0.042	0.1
0.2	0.8	0.199	0.2
0.3	0.7	0.303	0.3
0.4	0.6	0.412	0.4
0.5	0.5	0.593	0.5
0.6	0.4	0.501	0.6
0.7	0.3	0.432	0.7
0.8	0.2	0.312	0.8
0.9	0.1	0.234	0.9



الشكل 4: طريقة جوب لمعد انتقال الشحنة لعقار الدوكسيسايكلين

تطبيق الطريقة الطريقة المباشرة

تم تقدير ثلاثة تراكيز (1 , 2.5 , 4.5) مايكروغرام / مل من محلول شف الدوكسيسايكلين للمستحضر الصيدلاني 100 mg Doxycycline انتاج شركة (Accord,Bamstaple,EX 32 BNS,UK) لتطبيق الطريقة المقترحة باجراء خمسة تكرارات لكل عملية قياس (n=5) اختيرت لتقع ضمن تراكيز منحنى المعايرة، ونجحت الطريقة في تقدير الدوكسيسايكلين في مستحضره الصيدلاني وكانت قيم Rec% تتراوح بين (95.480 – 97.744 %) وRSD % لا تتجاوز 0.1389 والنتائج مبينة في الجدول 14

الجدول 14: الطريقة المباشرة لتقدير الدوكسيسايكلين بتفاعل معد انتقال الشحنة مع شف الدوكسيسايكلين في المستحضر الصيدلاني

Conc. of pharmaceutical preparation (Doxycycline) µg/ml	Doxycycline			
	Abs.	Conc. of Doxycycline taken µg/ml	Recovery%	RSD%
1	5120.0	0.9548	95.4800	0.1070
2.5	0.692	4053.2	2120.96	0.0646
4.5	0.939	4.3985	97.7444	0.1389

*معدل خمس قراءات

طريقة الاضافة القياسية المفردة

تم تطبيق طريقة الاضافة القياسية المفردة على محلول شف للدوكسيسايكلين المستحضر الصيدلاني 100 mg Doxycycline انتاج شركة (Accord,Bamstaple,EX 32 BNS,UK) ، حيث كان حجم قاعدة شف الدوكسيسايكلين المستحضر الصيدلاني ثابت 0.1 مل من 50 مايكروغرام / مل ، وأخذ حجوم مختلفة من شف عقار الدوكسيسايكلين القياسي(0.1,0.2,0.3) مل وطبقت الطريقة المقترحة واجري القياس عند الطول الموجي 344 نانومتر، وكانت قيم Rec% ما

بين (95.3532-99.3150 %) وقيم RSD% لا تتجاوز 0.700% ما يدل على نجاح الطريقة في تقدير الدوكسيسايكلين كما مبين في جدول 15.

الجدول 15: تقدير عفار الدوكسيسايكلين بطريقة الاضافات القياسية المفردة بتفاعل معقد انتقال الشحنة

Conc. of Doxycycline in pharma form taken ($\mu\text{g/ml}$)	Conc. Of standard Doxycycline $\mu\text{g/ml}$ added	Abs.	Doxycycline Found $\mu\text{g/ml}$	Rec%	RSD%
0.5	0.5	0.5121	0.9556	95.5680	0.0118
0.5	1	0.5710	1.4302	95.3532	0.1238
50.	1.5	0.640	1.9863	99.3150	0.700

الخصائص التحليلية للطريقة المقترحة

يوضح الجدول 16 الخصائص التحليلية لطريقة معقدات انتقال الشحنة لتقدير قاعدة شف للدوكسيسايكلين و RSD% و Rec% و LOD و LOQ و خطية الطريقة تحت الظروف الفضلى.

الجدول 16: الخصائص التحليلية للطريقة المقترحة لتقدير الدوكسيسايكلين

Parameters	The value
Medium	Ethanol
λ_{max} (nm)	344
Beer's law range $\mu\text{g/ml}$	5 0.25-
LOD $\mu\text{g/ml}$	0.000872
LOQ $\mu\text{g/ml}$	0.002643
ϵ L/mol,cm	5.967969×10^4
Sandell's sensitivity $\mu\text{g/cm}^2$	0.008038
Regression equation	$Y=0.1241+0.3935$
Intercept	0.3935
Slope	0.1241
Determination coefficient R^2	0.9986
Rec%	%98.037-95.640
RSD%	≥ 0.1864

الاستنتاج

تم تطوير طريقة طيفية، حساسة وبسيطة لتقدير قاعدة شف لعفار الدوكسيسايكلين بطريقة معقد انتقال الشحنة ، تعتمد الطريقة على تكوين معقد انتقال الشحنة للدوكسيسايكلين ، حيث تكون معقد والذي اعطى اعظم امتصاص له عند الطول الموجي 344 نانومتر. ويتبع قانون بير في مدى التراكيز (5-0.25) مايكروغرام/مل. وكانت الطريقة ذات دقة وتوافقية عالية وقد طبقت الطريقة بنجاح على الدوكسيسايكلين في المستحضر الصيدلاني Doxycycline Capsules 100mg.

References

1. Khammas, Z. A., & Rashid, R. A. (2016). Visible spectrophotometric analysis for the mutual determination of doxycycline hydrochloride and iron in real samples after cloud point extraction. *International Journal of Chemical Science*, 14(2), 955-977.
2. "Doxycycline calcium". The American Society of Health-System Pharmacists. Archived from the original on 23 September 2015. Retrieved 18 August 2015.
3. Malek, A. E., Granwehr, B. P., & Kontoyiannis, D. P. (2020). Doxycycline as a potential partner of COVID-19 therapies. *IDCases*, 21, e00864.
4. Awad, F. H., & Taki, A. G. (2021). Spectrophotometric determination of doxycycline via oxidation reduction reactions. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(11), 6615-6621
5. Khalafa, N. M., & Othmanb, N. S. (2022). Diazo-coupling reaction in spectrophotometric determination of doxycycline in pure and its dosage form (capsule). *Egyptian Journal of Chemistry*.
6. Tawfeeq, A. H., & Qassim, B. B. (2021). A novel method of CFIA/Merging zones technique for assay of Doxycycline in bulk and pharmaceutical preparation depending on azo dye formation. *Research Journal of pharmacy and Technology*, 14(1), 67-74..
7. Gholse, Y. N., Chaple, D. R., & Kasliwal, R. H. (2022). Development and validation of novel analytical simultaneous estimation based UV spectrophotometric method for doxycycline and levofloxacin determination. *Biointerface Res. App. Sci*, 12(4), 5458-5478.
8. Abdulsattar, J. O., Hadi, H., Richardson, S., Iles, A., & Pamme, N. (2020). Detection of doxycycline hyclate and oxymetazoline hydrochloride in pharmaceutical preparations via spectrophotometry and microfluidic paper-based analytical device (μ PADs). *Analytica Chimica Acta*, 1136, 196-204.
9. ALASSAF, N. A., & Faeza, H. Z. (2019). Sensitive Spectrophotometric Determination of Doxycycline in Pure and Dosage Form by Bromanil. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 11(2).
10. Ramesh, P. J., Basavaiah, K., & Rajendraprasad, N. (2010). Sensitive and selective spectrophotometric assay of doxycycline hyclate in pharmaceuticals using Folin-Ciocalteu reagent. *Acta pharmaceutica*, 60(4), 445-454.
11. Rao Nadendla, R., Prasad Morla, S., Patchala, A., & Pinnamaneni, P. (2021). A Novel Synchronic Estimation of Metronidazole, Ciprofloxacin and Doxycycline by RP-HPLC in Bulk and Pharmaceutical Formulation.
12. Mileva, R. (2019). Determination of free doxycycline concentrations in the plasma and milk of sheep and in the plasma of rabbits by using the HPLC method. *Macedonian Veterinary Review*, 42(2), 123-130.
13. Becze, A., Resz, M. A., Ilea, A., & Cadar, O. (2022). A Validated HPLC Multichannel DAD Method for the Simultaneous Determination of Amoxicillin and Doxycycline in Pharmaceutical Formulations and Wastewater Samples. *Applied Sciences*, 12(19), 9789.

14. Mashru, R., & Koshti, N. (2021). Development and validation of UV-Spectrophotometric and RP-HPLC method for simultaneous estimation of Metformin and Doxycycline in bulk and synthetic mixture. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(4-S), 26-35.
15. Permana, A. D., Tekko, I. A., McCarthy, H. O., & Donnelly, R. F. (2019). New HPLC-MS method for rapid and simultaneous quantification of doxycycline, diethylcarbamazine and albendazole metabolites in rat plasma and organs after concomitant oral administration. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 170, 243-253
16. Attia, A. K., & Saber, R. A. (2011). Differential pulse voltammetric assay of antibacterial drug doxycycline hyclate. *Anal. Bioanal. Electrochem*, 3, 291-301.
17. Issa, Y. M., Abdel-Fattah, H. M., & Abdel-Moniem, N. B. (2013). Chemically modified carbon paste sensor for potentiometric determination of doxycycline hydrochloride in batch and FIA conditions. *Int. Electrochem. Sci*, 8, 9578.
18. Xu, Z., Jiang, X., Liu, S., & Yang, M. (2020). Sensitive and selective molecularly imprinted electrochemical sensor based on multi-walled carbon nanotubes for doxycycline hyclate determination. *Chinese Chemical Letters*, 31(1), 185-188.
19. Cánovas, R., Slegers, N., van Nuijs, A. L., & De Wael, K. (2021). Tetracycline antibiotics: elucidating the electrochemical fingerprint and oxidation pathway. *Chemosensors*, 9(7), 187.
20. Han, S., Zhang, X., Sun, H., Wei, J., Wang, H., Wang, S., ... & Zhang, Z. (2022). Electrochemical Behavior and Voltammetric Determination of Chloramphenicol and Doxycycline Using a Glassy Carbon Electrode Modified with Single-walled Carbon Nanohorns. *Electroanalysis*, 34(4), 735-742.
21. Robinson, RA. And Stokes, R.H. *Electrolyte Solutions*, 2nd Edition. review. London. Butterworths. 1968.

Determination of doxycycline in its pure form and in its pharmaceutical formulation by charge transfer complex method

Suha Sabri Muhammad^{1*}, Eman Diab Ahmed¹ and Nashwan Hussain Ali²

1- Department of Chemistry, College of Education, University of Samarra, Iraq

2- Department of Applied Chemistry, College of Applied Science, University of Samarra, Iraq

Article Information

Received: 23/6/2023

Revised: 18/7/2023

Accepted: 29/7/2023

Published:30/6/2024

Keywords:

*Doxycycline Doxy,
Chloranil, Schiff base,
charge transfer complex*

Corresponding Author

E-mail: ahmed@gmail.com

Mobile:

Abstract

A simple, rapid and accurate spectrophotometric method was developed for the determination of Schiff base for doxycycline (Dxoy) in its pure form and in its pharmaceutical preparation (Doxycycline Capsule 100 mg). at a wavelength of 344 nm. The optimal conditions for complex formation (time, temperature, type and size of the best reagent, addition sequence) were studied. The linearity of the method for the compound ranged from (0.25-5) $\mu\text{g/mL}$, Sandel's significance was $0.008038 \mu\text{g/cm}^2$, the molar absorption coefficient was $5.982396 \times 10^4 \text{ L/mol.cm}$, the detection limit was $0.000873 \mu\text{g/mL}$, the quantitative limit was $0.002643 \mu\text{g/mL}$, and the recovery percentage was Rec%. Between (95.640-98.037)% and the relative standard deviation rate RSD% does not exceed ≤ 0.1864 . The method was successfully applied to estimate (Doxy) in its pharmaceutical formulation by the direct method and the method of standard additives..