Pharmaceutical Analysis

(Separation methods)

Chromatography

الأستاذ الدكتور جمعه الزهوري (دكتوراه صيدلة-ألمانيا 1991)

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri (Ph .D Germany 1991)

Damascus university

Faculty of Pharmacy

Prof.Dr.Joumaa Al-Ze

Advice

- English Language
- Computer Science

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

- **Under license**

  Problem less

- **Generic** (have the same active ingredients as brand).

search about - Suitable Formulation

- Suitable analytical method

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

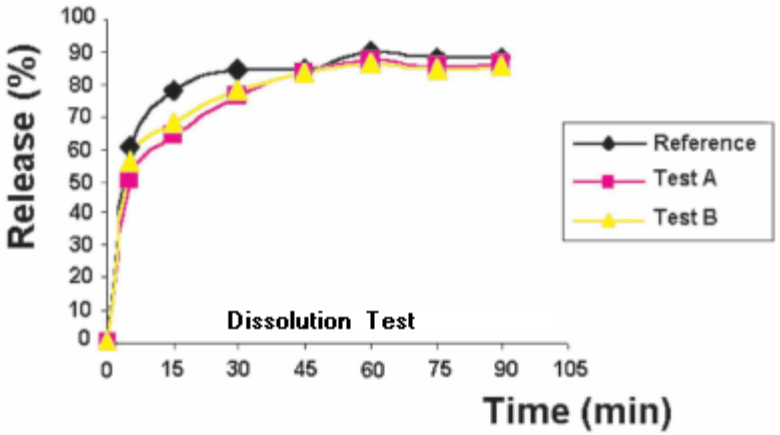
Rote Liste

- PDR
- Vidal
- BNF (Britsh National F
- Handbook of pharmac

  Manufacturing Formul

Prof.Dr.Joum

Analytic method **development**, **validation**, are key elements of any pharmaceutical development program it is very important for :

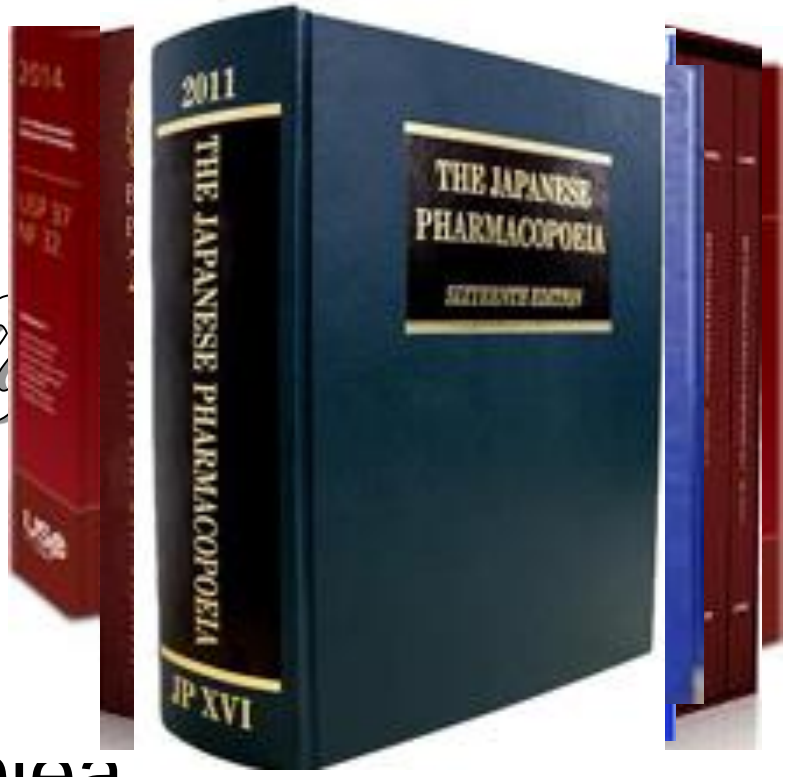


Qualitative & Quantitative assay of API

- Pharmacopeias substance (Aspirin,Adrenalin,metronidazole ..)
- Non-pharmacopeias substance (lansoprazole, silodosin …….)

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

- USP-NF
- BP
- Ph.Eur
- DAB
- Japanese pharmacopiea



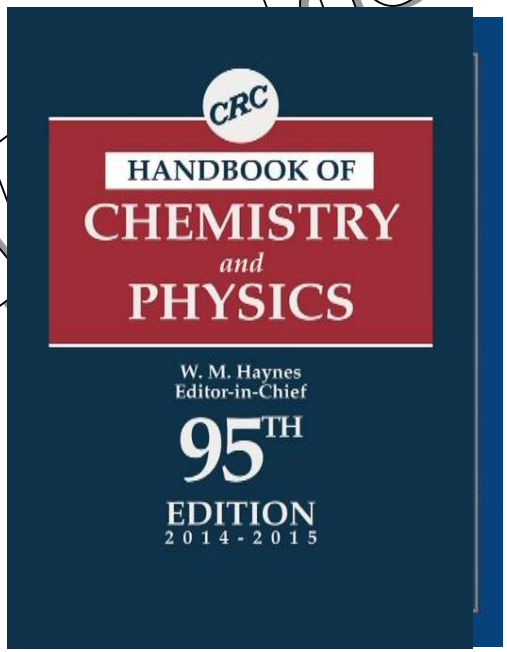
Prof.Dr.Joumana Al-Zehouri

Search the internet:

- PubMed
- Science Direct
- Google Scholar
- ….
- R&D of analytical method (in house)

Prof.Dr.Joumaa

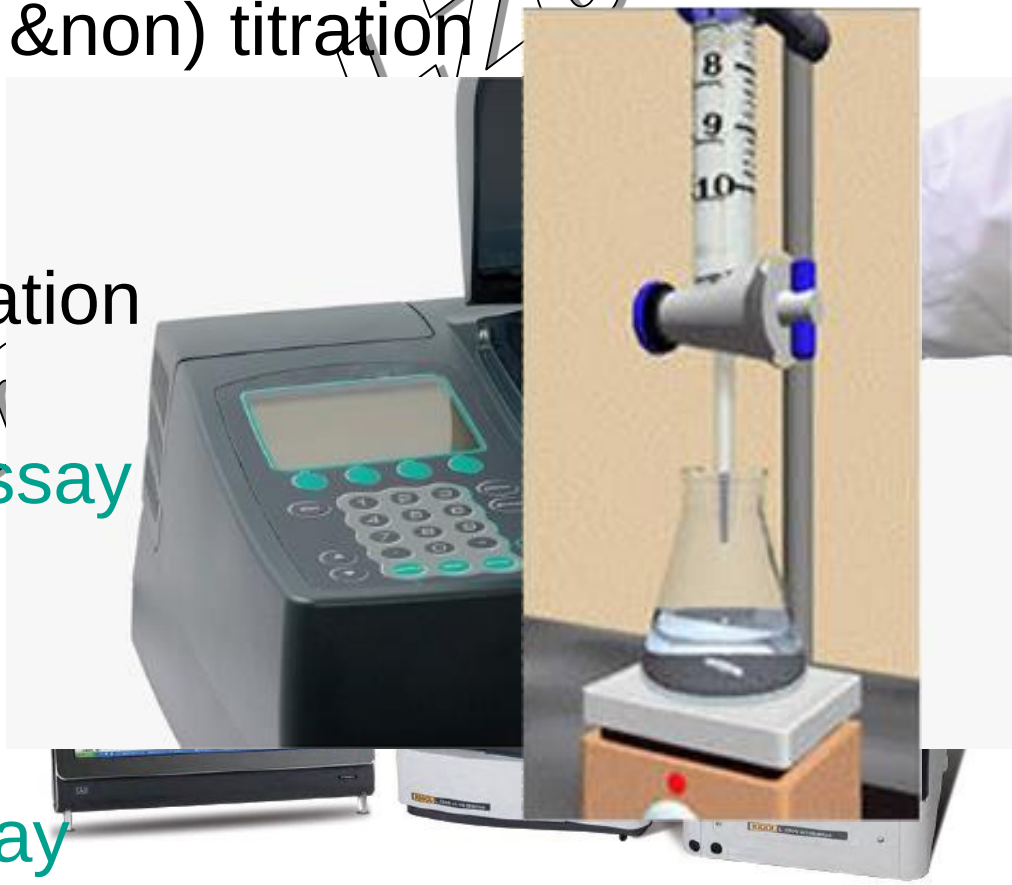
- Merck Index
- CRC (chemical reference compound)



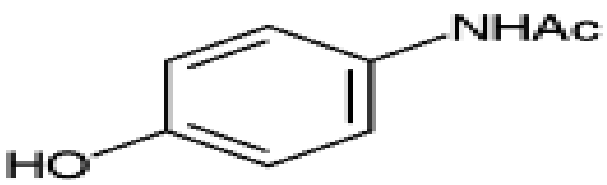
Prof.Dr.Joumaa Al-houri

- Volumetric assay
  - acid base (aqueous &non) titration
  - Redox titration
  - precipitate titration
  - Complexometric titration
  - others
- Spectrophotometer assay
  - UV
  - Vis
  - others
- Chromatographic assay
  - TLC ,GC,HPLC

Prof.Dr.Joum
Zehou



Paracetamol



$C_8H_9NO_2$ 151.

Prof.J.Al-Zehouri

CHARACTERS

A white, crystalline powder, sparingly soluble in water, freely soluble in alcohol, very slightly soluble in ether and in methylene chloride.

IDENTIFICATION

First identification: A, C.

Second identification: A, B, D, E.

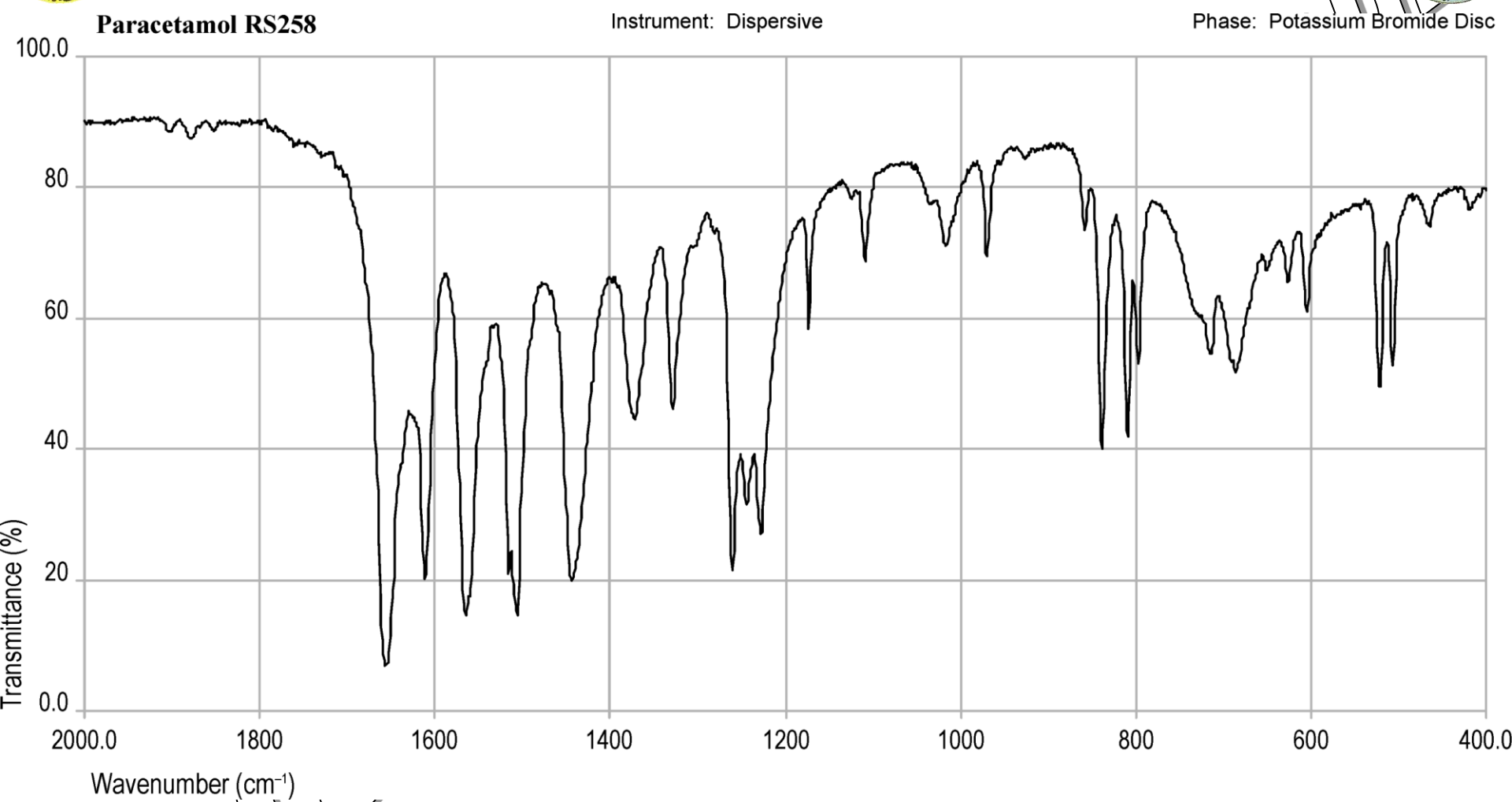
A. Melting point (*2.2.14*): 168°C to 172°C.

B. Dissolve 50 mg in *methanol R* and dilute to 100.0 ml with the same solvent. To 1.0 ml of the solution add 0.5 ml of *0.1M hydrochloric acid* and dilute to 100.0 ml w *methanol R*. Protect the solution from bright light and immediately measure the absorbance (*2.2.25*) at the absorption maximum at 249 nm. The specific absorbance maximum is 860 to 980.

C. Examine by infrared absorption spectrophotometry (*2.2.24*), comparing with the spectrum obtained with *paracetamol CRS*. Examine the substances prepared as d

D. To 0.1 g add 1 ml of *hydrochloric acid R*, heat to boiling for 3 min, add 10 ml of *water R* and cool. No precipitate is formed. Add 0.05 ml of *0.0167M potassium dichromate*. A violet colour develops which does not change to red.

E. It gives the reaction of acetyl (*2.3.1*). Heat over a naked flame.



Prof.J.Al-Zehouri

ASSAY

Dissolve 0.300 g in a mixture of 10 ml of *water R* and 30 ml of *dilute sulphuric acid R*. Boil under a reflux condenser for 1 h, cool and dilute to 100.0 ml with *water R*. To 20.0 ml of the solution add 40 ml of *water R*, 40 g of ice, 15 ml of *dilute hydrochloric acid R* and 0.1 ml of *ferroin R*. Titrate with *0.1 M cerium sulphate* until a greenish-yellow colour is obtained. Carry out a blank titration.

1 ml of *0.1 M cerium sulphate* is equivalent to 7.56 mg of $C_8H_9NO_2$.

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Acetaminophen +Caffeine Tablet

Assay—

Mobile phase— Prepare a suitable mixture of water, methanol, and glacial acetic acid (69:28:3). Make adjustments if necessary (see *System Suitability* under *Chromatography* ⟨621⟩).

Internal standard solution— Prepare a solution of benzoic acid in methanol containing about 6 mg per mL.

Solvent mixture— Prepare a mixture of methanol and glacial acetic acid (95:5).

Standard stock solution— Dissolve accurately weighed quantities of *USP Acetaminophen RS* and *USP Caffeine RS* in *Solvent mixture* to obtain a solution having known concentrations of about 0.25 mg of *USP Acetaminophen RS* per mL and 0.25*J* mg of *USP Caffeine RS* per mL, *J* being the ratio of the labeled amount, in mg, of caffeine to the labeled amount, in mg, of acetaminophen per Tablet.

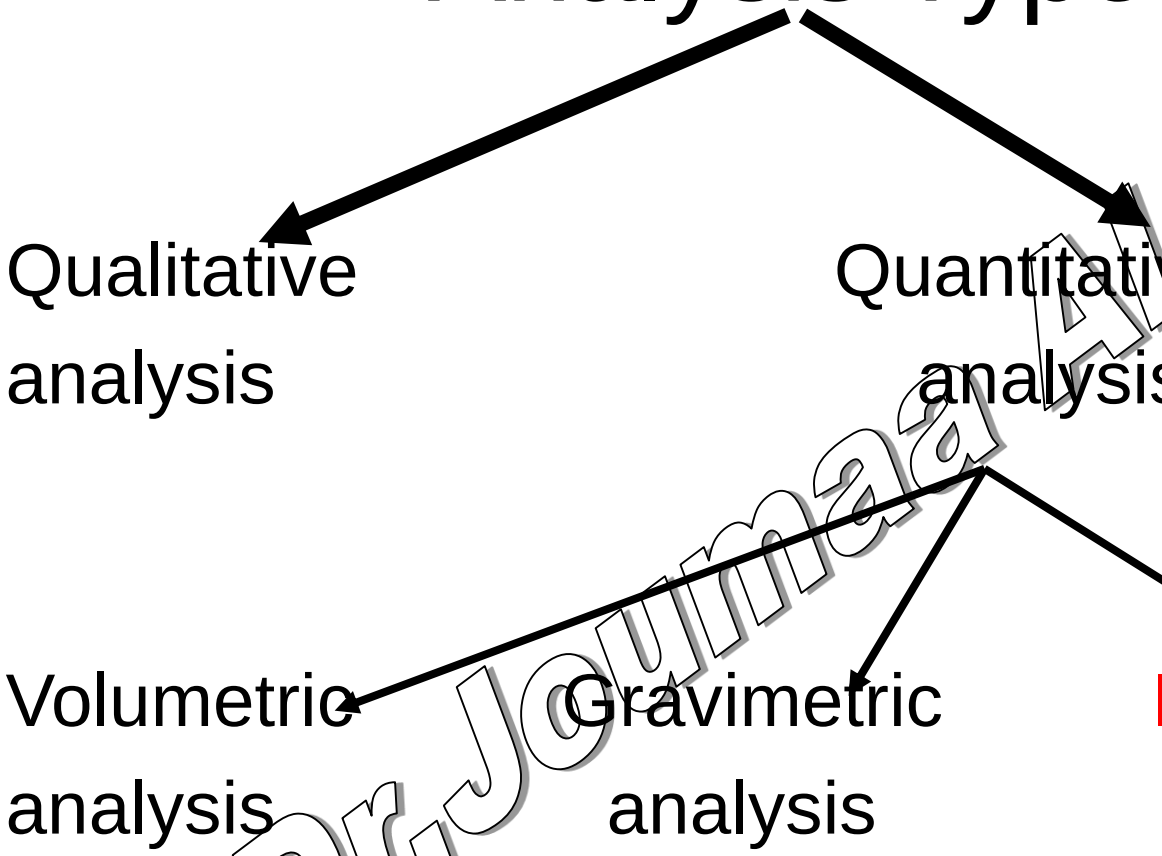
Standard preparation— Transfer 20.0 mL of *Standard stock solution* and 3.0 mL of *Internal standard solution* to a 50-mL volumetric flask, dilute with *Solvent mixture* to volume, and mix. This solution contains about 0.1 mg of *USP Acetaminophen RS* and 0.1*J* mg of *USP Caffeine RS* per mL.

Assay preparation— Weigh and finely powder not fewer than 20 Acetaminophen and Caffeine Tablets. Transfer an accurately weighed quantity of the well-mixed powder, equivalent to about 250 mg of acetaminophen, to a 100-mL volumetric flask. Add about 75 mL of *Solvent mixture*, and shake by

Pre

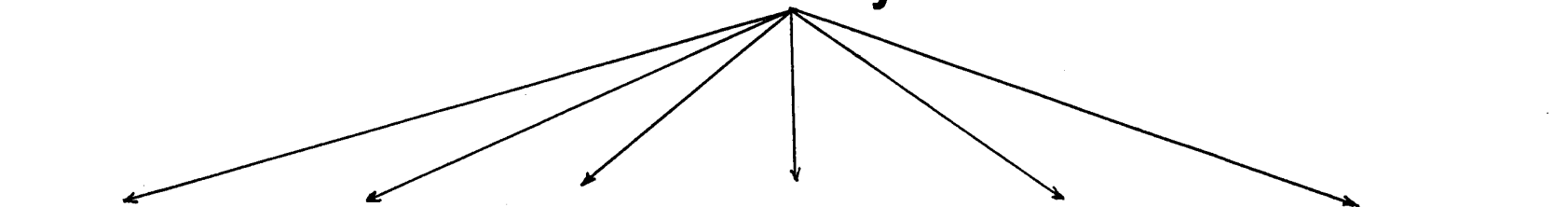
Prof.J.Al-Zehouri

Analysis Types



Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Volumetric Analysis



Acid-Base-Titration	Redox-Titration	Precipitate Titration	Complex titration	Diazometric titration	Mercurimetric Titration
*Aqueous *Non Aqueous	*Permanganometry *Dichromatometry *Iodometry *Cerimetry *Bromometry	*Volhard method (Halogen)	*EDTA-Titration (Metals)	*Aromatic primary amine	*Sulphynyl Compounds

Why ? Instrumental analysis

- Impossibility of assay using volumetric and Gravimetric analysis.
- Very low sensitivity (ng,pg….) .
- Simultaneous assay
- Huge Number of analysis
- Identification analysis
- Structure analysis

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Instrumental Analysis

Spectrophotometric methods

* UV-Vis
*Fluorescence Spectroscopy
*IR
* MS
* NMR (H,C)
*AAS
* AES = Flame Photometry
* X-ray Spectrometry

Chromatographic methods

* TLC , PC
* HPTLC
* GC (GSC , GLC)
* HPLC ,LSC,LLC
* Ion-ExchangeChromato.
* Gel Chromatography

Electrochemical methods

* Voltametry (Polarography)
* Amperometry
* Conductometry
* Coulonmetry
* Electrogravimetry

Immunoassay methods

* RIA
* EIA
* FluorescenceImmuno assay
* PCR

Prof. J .Al- Zehouri

Prof.J.Al-Zehouri

Watson.G.D

Pharmaceutical Analysis 2.eddition

A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists

Elsevier Churchill Livingstone

Prof.Dr.Joumana Al-Zehouri

Separation methods

- **Liquid –Liquid Extraction**
- **TLC**
- **GC**
- **HPLC**
- **EP**
- **CEP**

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Separation methods

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

طرائق الفصل

- نادراً ما تكون طريقة التحليل نوعية Specific لمادة معينة .بحيث يمكن معايرتعا دون تداخل المواد الأخرى .

بمعنى آخرإن أكثر الطرائق غير انتقائية .

- لابد من تلافي التداخلات أثناء التحاليل .
- بالتحليل الحجمي تلافينا بعضها بإضافة عوامل الحجب masking agent (حجب النحاس والنيكل بالسيانور والألمنيوم بثلاثي ايتانول أمين) أو ترسيب بعضها كما هو الحال بمقياس المعقدات(ترسيب المغنزيوم على شكل هيدروكسيد) والمعايرات اللامائية كاضافة خلات الزئبق.(وهذه اجراءات بسيطة لاتفي بالغرض بالنسبة للتحاليل الأخرى)
- من هنا لابد لنا للجوء لطرائق الفصل سواء لفصل مادة لوحدها أو لفصل مجموعة مواد

Prof.Dr.Jouma'a Al-Zehouri

Prof.J.Al-Zehouri

• يتم فصل أغلب المواد الدوائية ضمن أوساطها باستخدام طرائق الفصل المختلفة .

• تعتمد طرائق الفصل على وجود اختلاف في خاصية واحدة أو أكثر من الخواص الفيزيائية الكيميائية للمواد المراد فصلها مثل :

- الذوبان
- الأمتزاز على سطح نشط .
- درجة الغليان .
- درجة الأنصهار .
- التبادل الأيوني .
- حجم الجزئيات

كلما زاد الأختلاف في خاصية من هذه الخصائص لمادتين كلما سهل فصل هاتين المادتين .

Prof.Dr.Joumaa Al-zehouri

سهل

Filtration	ترشيح
Evaporation	تبخير
Distillation	تقطير
Extraction	استخلاص
adsorption	ادمصاص
Crystallization	بلورة
Membranes	بالأغشية

صعب

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Chemical Separations.

لن نتطرق لطرائق التقطير والترسيب الكيميائي والكهربائي ولا التقطير وانما سنتوسع بالكروماتوكرافيا ونكتفي بمقدمة عن الأستخلاص سائل -سائل

Distillation
Solvent Extraction
Chromatographic Theory
Gas Chromatography
  Packed and
  Capillary Column
  Multidimensional GC

Liquid Chromatography
Affinity Chromatograhy
Field Flow Fractionation
Supercritical Fluid
  Chromatography
Electrophoresis
Hyphenated Methods

Separation methods

- Classical methods (liq.- liq methods)
- Chromatographic methods
- Hyphenated methods
- Electrophoreses methods
- Spectroscopic methods(MS)

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Liquid – Liquid Extraction

الأستخلاص سائل- سائل

Prof.Dr.Jounaa Al-Zehouri

Liquid-Liquid Extraction ≡ Solvent Extraction ≡ Partitioning

هي طريقة هدفها فصل المواد وفقاً لانحلاليتها المختلفة في مذيبين مختلفين غير قابلين للامتزاج مع بعضهما ، وعادة ما يكونوا الماء ومحل عضوي آخر ، فهي عملية استخلاص مادة من سائل أول إلى سائل ثان ، وجرت العادة أن تتم هذه العملية بمساعدة أداة تسمى حبابة ابانة أو أداة فصل

Separatory funnels

Prof.Dr.Jouhaina Al-Zehouri

الأستخلاص سائل- سائل

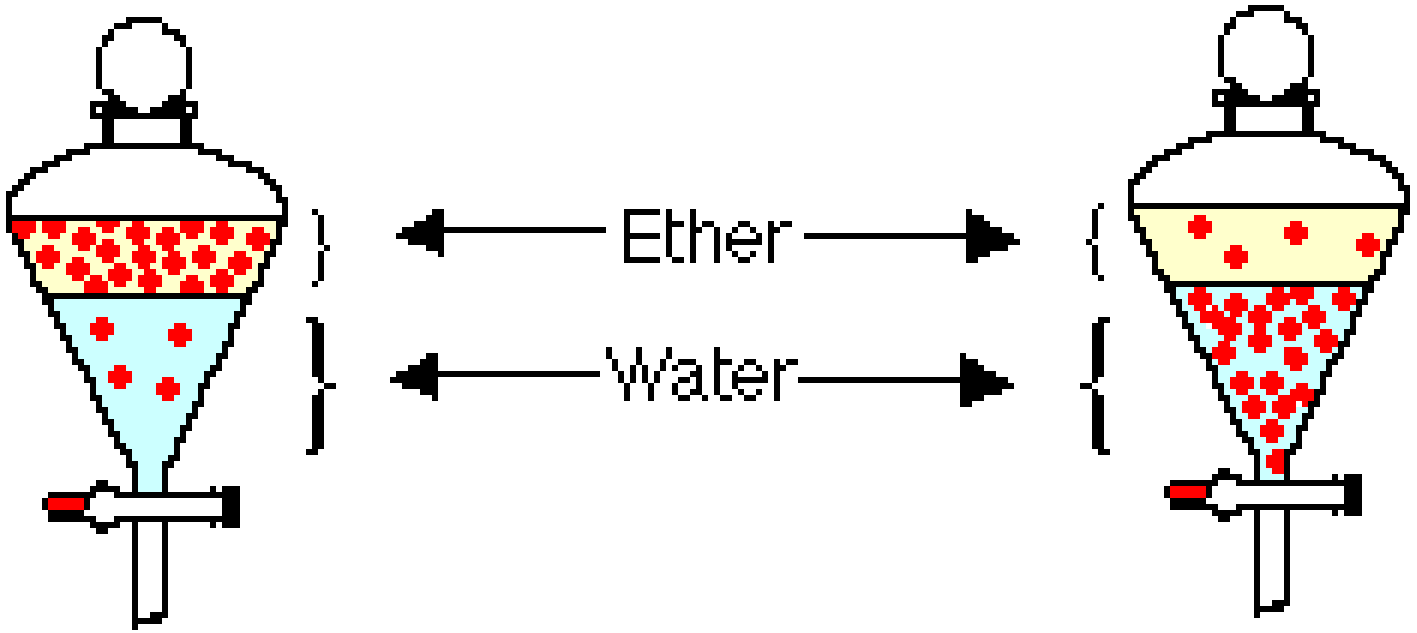
Liquid – Liquid – Extraction (LLE)

الأستخلاص سائل – سائل هو عملية يتم من خلالها نقل مادة مذابةمن المحلول الأصلي Feed Solution إلى مذيب آخر غير قابل للامتزاج معه ، حيث يدعى المحلول الذي تنتقل إليه المادة باسم الخلاصة ، بينما يدعى المحلول الذي فقد المادة ب Raffinate

Prof.Dr.Joumana Al-Zehouri

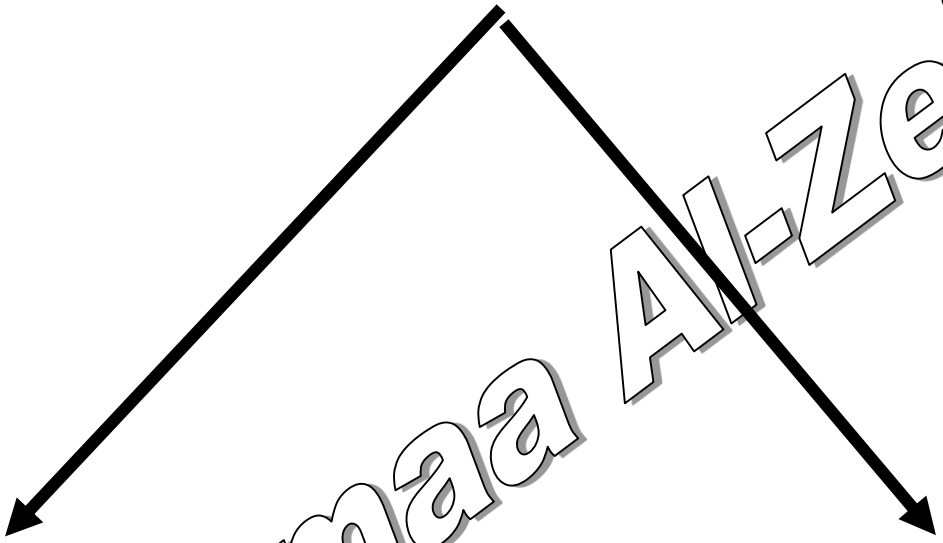
More
organic solvent
soluble compounds

More
water-soluble
compounds



Prof.J.Al-Zehouri

Liquid – liquid- Extraction



Organic Solvent Extraction

Acid-base Extraction

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Organic Solvent extraction

ماء- محل عضوي (غير مزوج بالماء) مثل:

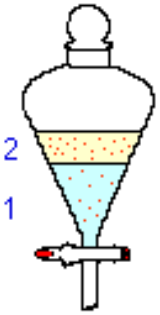
Diethyl ether , ethyl acetate ,toluene ,methylene chloride, chloroform ..

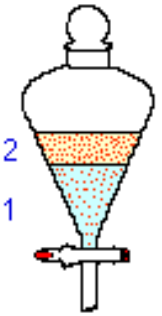
- Distribution coefficient or Partition coefficient
- The efficiency of liq-liq- extraction depends on the distribution coefficent of the desiert compound between the two solvents.

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

) If there are **30** particles of compound , these are distributed between **equal volumes** of solvent$_1$ and solve

Prof.Dr.Jouri Al-Z

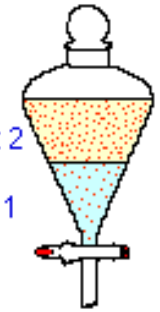




(2) If there are **300** particles of compound , the same distribution ratio is observed in solvents 1 and 2

(3) When you **double** the volume of solvent$_2$ (*i.e.*, **200 mL** of solvent$_2$ and **100 mL** of solvent$_1$), the 300 particles of compound distribute as shown

$$2 = \frac{\frac{x}{200}}{\frac{300-x}{100}} \Rightarrow X = 240$$



Choice of solvent

Factors to be considered:

- Selectivity
- Distribution coefficient
- Insolubility of solvent
- Recoverability of solute from solvent
- Density difference between liquid phases
- Interfacial tension
- Chemical reactivity
- Cost
- Viscosity, vapour pressure
- Flammability, toxicity

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Acid-base Extraction

- تصنف المركبات العضوية إلى معتدلة / حمضية / اساسية وذلك حسب طبيعة الرمر الوظيفية التي تحتوي عليها ، فهناك مجموعات تلعب دور الحمض (كربوكسيل، الفينول، التيول .. تعطي بروتون) واخرى تلعب دور الأسس (أمينات، ..) حيث أن ذوبان هذه المواد غالباً يكون ضعيفاً بالماء بسبب قلة تشردها ، حيث يزداد بشكل واضح عند تفاعلها مع الحمض أو الأساس حيث تتحول لمتأينة تنحل بالماء وغير متأينة تنحل بالوسط العضوي .

Prof.Dr.Joumana Al-Zehouri

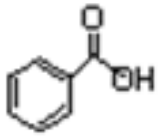
Acid-base Extraction

مثال : استخلاص حمض كاربوكسيلي عضوي R-COOH غير منحل بالماء من محلول التولوين باضافة بيكاربونات الصوديوم التي تحول الحمض لملح حيث يستخلص الملح ثم يحول باسخدام حمض معدني لحمض حيث نحصل عليه بالترشيح او يستخلص ثانية بمحل عضوي للحصول عليه

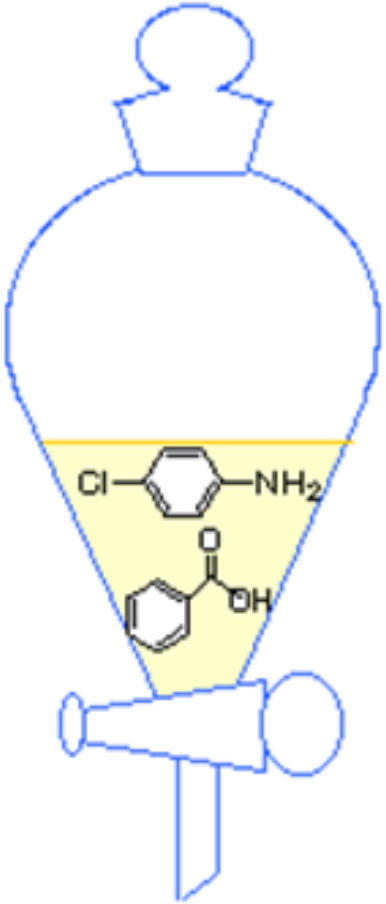
مثال : الأمينات العضوية وهي اسس تستخلص بمحل مائي حمضي على شكل أملاح وبعدها يضاف أساس وتفصل بالترشيح أو تستخلص بمحل عضوي .

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

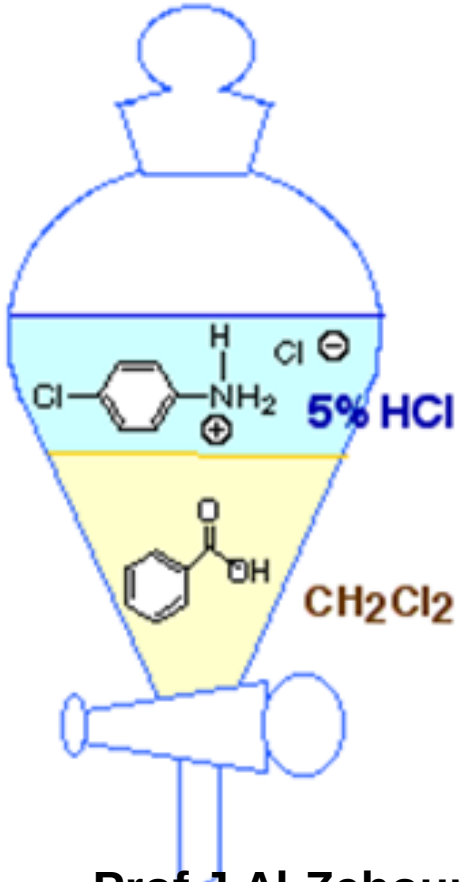
e is a mixture of benzoic acid and p-chloroaniline, dissolved in **dichloromethane**.

p-Chloroaniline	Benzoic acid
	
an amine	a caboxylic acid

You want to separate these two compounds. What will you do?

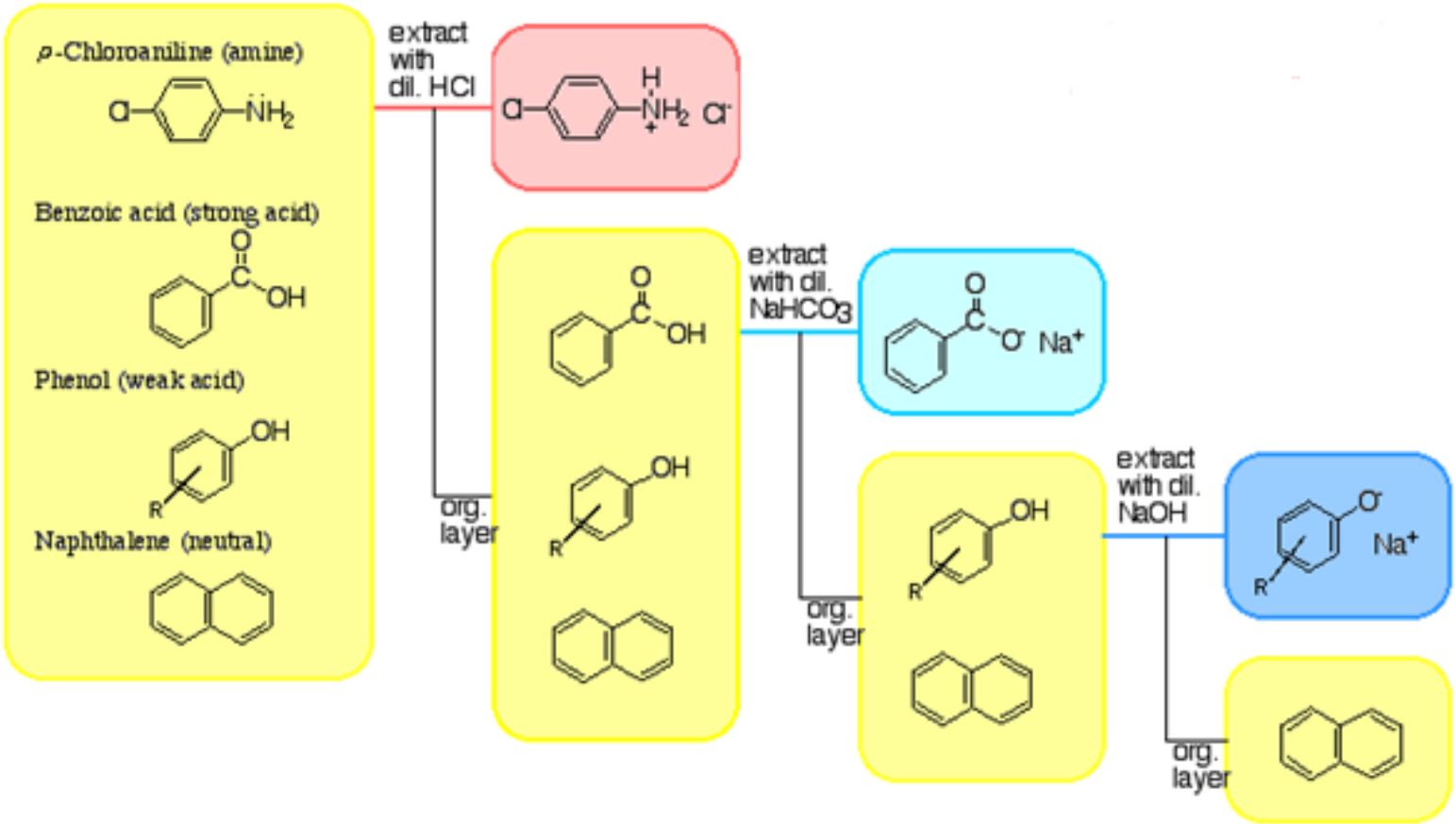


You may use an aqueous solution of either 5% HCl, to extract the amine as a **salt** form and benzoic acid has remained in the organic layer

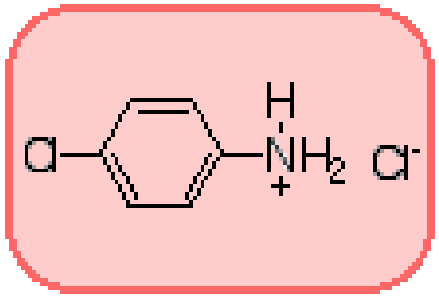


… can separate four different classes of compounds from a mixture base… fering solubility properties. The four classes are:**1.Amines** (organic base)**2.Carboxylic acids** (stronger acid than phenol)**3.Phenols** (weak acid)**4.Neutral compounds**.

Prof.J.Al-Zehouri

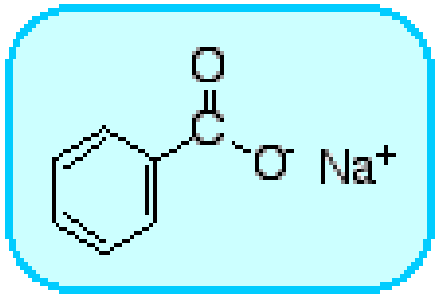


After the separation of the mixture of four components, we will have four solutions: each solution contains one component.



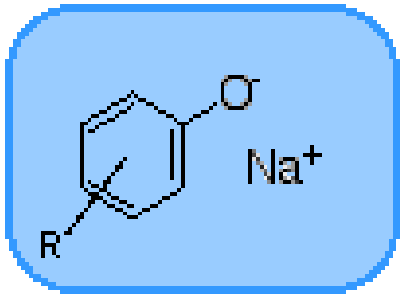
Salt of Amine

dissolved in dil. HCl (aq)



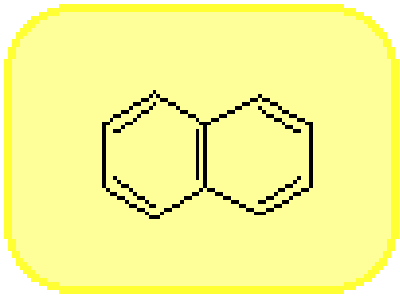
Salt of carboxylic acid

dissolved in dil. $NaHCO_3$ (aq)



Salt of phenol

dissolved in dil. NaOH (aq)



Neutral compound (NOT chemically altered)

dissolved in organic layer

Prof. Zehouri

الأستخلاص سائل – سائل

- طريقة تستخدم لفصل المادة بناءً على نسبة انحلالها في طوريين غير ممتزجين مع بعضهما البعض ويستخدم لتحقيق الأهداف التالية :
- التخلص من المتداخلات remove interference
- لزيادة تركيز المادة قبل التحليل Concentrates species peior analysis
- انتاج مادة قابلة للقياس Produce measurable form of speicis

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

من أجل المادة A عندما تكون بحالة توازن مابين طورين يكون :

$$A_{org} \rightleftharpoons A_{eq}$$

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Liquid –Liquid Extraction

الأستخلاص بالمذيبات

1. Neutral Drugs

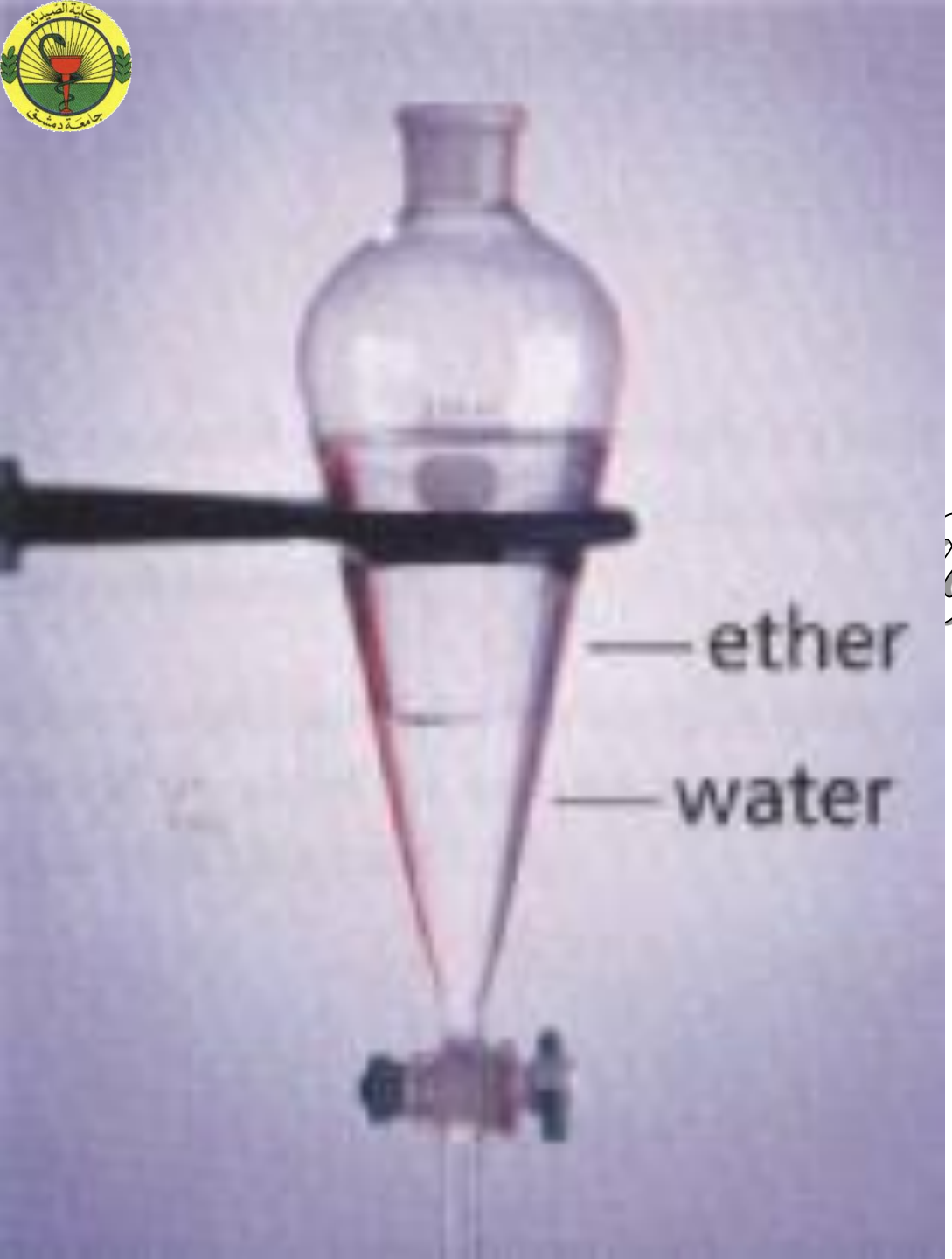
- D_c (concentration distribution ratio)

نسبة التوزع التركيزي(ثابت التوزع أو معامل التوزع أو معامل التجزئة)

- D_m (mass distribution ratio)

نسبة التوزع الكتلي

Prof.Dr.Jounaid Al-Zehouri



- المذيب ذو الكثافة الأعلى سيكون بالأسفل
- بفرض أن المحلول المائي يحوي مادتين A ، B فعند اضافة المذيب العضوي وبعد التحريك الكافي وترك المزيج ليستقر فهنا اذا كانت إحدى المادتين تذوب بالجزء العضوي سيتم استخلاصها أو استخلاص جزء منها .

Prof J. Al-Zehouri

الشروط الواجب توافرها بالمذيب العضوي المستخدم بالأستخلاص

- أن يكون مذيب جيد للمادة المراد استخلاصها (نوعي)..
- أن ينفصل عن الماء بسرعة وبشكل كامل عند استقرار المحلول (لايمزج).
- الوزن النوعي Specific gravity ويساوي لكثافة المذيب العضوي مقسوماً على كثافة الماء .(الفرق بالكثافة عن الماء كبير)
- كلما كان الوزن النوعي للمحل العضوي أكبر بكثير من واحد أو أصغربكثير من واحد كلما كان الأنفصال تاماً وسريعاً .
- أكبر من واحد ، الكلوروفورم $CHCl_3$, 1.49 ورابع كلور الفحم CCl_4 1.59
- أصغر من واحد ، البنزن 0.88 والأيثر الأيتيلي $C_2H_5OC_2H_5$ 0.71 وميثيل ايزوبيوتيل الكيتون MIBK 0.8

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

الشروط الواجب توافرها بالمذيب العضوي المستخدم بالأستخلاص

- امكانية استعادة المادة منه
- عدم اظهار أي تفاعل كيميائي مع المواد
- تكلفته منخفضة
- اللزوجة غير عالية
- مراعاة المحلات شديدة الأحتراق
- مراعاة سمية المحلات
- يؤخذ معامل التوزع بعين الأعتبار

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

Prof.J.Al-Zehour

لماذا تفضل بعض المواد الدوائية المذيب العضوي على الماء وبعضها بالعكس يبقى فى الطبقة المائية ؟

- لايوجد جواب قاطع لهذا السؤال ولكن نستطيع أخذ الملاحظات التالية بعين الأعتبار .

Prof.Dr.Jo Al-Zehour

Prof.J.Al-Zehour

1- المادة المنحلة تفضل المذيب الذي تكون فيه أكثر ثباتاً

2- الشبيه يحل الشبه :

- الأدوية القطبية ، والأملاح تنحل بالمحلات القطبية .
- الأدوية غير القطبية لا تذوب بالماء ولكنها تذوب بالمحلات العضوية .

3- درجة ال pH تلعب دوراً كبيراً في عملية الأستخلاص .

مثال : نريد استخلاص الفينول من وسط مائي بالبنزن :

بحال المحلول المائي حمضي أو معتدل يكون الفينول بشكل غير متشرد ويفضل طبقة البنزن .

بحال المحلول أساسي فالفينول سوف يتشرد ولايمكن استخلاصه بالوسط الأساسي، وأغلب المواد الدوائية تتأين بالماء لذلك فإن درجة ال pH اساسية باستخلاصها .

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Prof.J.Al-Zehour

اتزان الأستخلاص

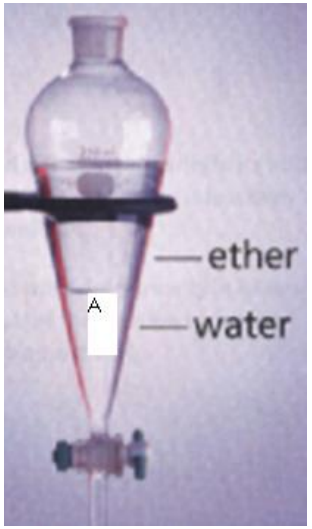
- شرط أساسي بالأستخلاص أن يكون تام.
- الثابتة Dc

وهي نسبة التوزع لتركيز المادة

Concentration Distribution ratio

فللمادة A يكون :

$$Dc = \frac{[A]_o}{[A]_w}$$



Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

اتزان الأستخلاص

$$Dc = \frac{[A]_o}{[A]_w}$$

التركيز المولي = عدد المولات /لتر (عدد الميليمولات /1ل)

$$Dc = \frac{(\text{mmole A})_o/V_o}{(\text{mmol A})_w/V_w} = \frac{(\text{mmol A})_o \times V_w}{(\text{mmol A})_w \times V_o}$$

كسر/كسر = الكسر الأول x مقلوب الكسر الثاني

هذا يعني أنه كلما كانت ثابتة التوزع التركيزي كبيرة كلما كان الأستخلاص أقرب للتمام ، لأنه غالباً ما يكون الأستخلاص من الماء للطبقة العضوية .

ولأن قيمة Dc ثابتة فإنه كلما زاد حجم المذيب العضوي كلما زاد ت كمية المادة المستخلصه .

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

نسبة التوزع الكتلي D_m
mass distribution ratio

وهي كمية المادة بالطبقة العضوية مقسوماً على كمية المادة في الطبقة المائية .

$$Dm = \frac{(\text{m moles A})_o}{(\text{m moles A})_w}$$

نستطيع كتابة المعادلة الخاصة ب DC بالشكل التالي ::

$$Dc = D_m \frac{V_w}{V_o}$$

Dc = (mmolA)o/mmolA)w x Vw/Vo

وباعتبار أنه في أغلب عمليات الأستخلاص يكون $V_o=V_w$ فهذا يعني أن $D_c=D_m$

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour
Prof.J.Al-Zehour

حساب الجزء من المادة الذي لم يستخلص

$$F = \frac{(\text{mmol A})_w}{(\text{mmol A})_o + (\text{mmol A})_w} = \frac{1}{D_m + 1}$$

الأستخلاص لمرة واحدة غالباً لايكفي ولهذا نلجأ لعملية الأستخلاص المتكرر فإذا كانت عدد مرات الأستخلاص = n يعطى الجزء المتبقي من المادة في الطبقة المائية بالعلاقة :

$$F = \frac{1}{(D_m + 1)^n}$$

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

$$F = \frac{(\text{mmol A})w}{(\text{mmol A})o + (\text{mmol A})w}$$

$$Dm = \frac{(\text{mmol A})o}{(\text{mmol A})w} \rightarrow (\text{mmol A})w = \frac{(\text{mmol A})o}{Dm}$$

$$F = \frac{\frac{(\text{mmol A})o}{Dm}}{(\text{mmol A})o + \frac{(\text{mmol A})o}{Dm}}$$

نوحد المقامات بالضرب والتقسيم عليها Dm

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

$$F = \frac{\dfrac{(mmolA)_o}{\cancel{Dm}}}{\dfrac{(mmolA)_o \times Dm + (mmolA)_o}{\cancel{Dm}}}$$

وباعتبار أن المقامات متشابهة فيمكن حذفها

ثم نخرج (mmol A)o خارج قوس

$$F = \frac{(mmol\ A)_o}{(mmolA)_o\ (Dm+1)}$$

$$F = \frac{1}{Dm + 1}$$

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

Percent Extraction (E%) النسبة المئوية للاستخلاص (كفاءة الأستخلاص)

إذا طرحنا الجزء المتبقي من المادة من واحد وضربنا ب 100 نحصل على النسبة المئوية للاستخلاص :

$$\%E = 100 \left[1 - \frac{1}{(D_m+1)^n} \right]$$

- ***كلما كانت Dc أو Dm صغيرة كلما زادت عدد مرات الأستخلاص للوصول لاستخلاص كامل (99,9 %). وعندما تكون قيمة Dc صغيرة جدا تصبح n كبيرة جدا ويصعب الأستخلاص اليدوي ويلجأ لجهاز الاستخلاص المستمر***
- ***يلاحظ ان كفاءة الأستخلاص لاتعتمد على التركيز الأصلي للمادة وهذه ميزة لفصل تراكيز منخفضة أو عالية (شرط أنها لم تتجاوز حاصل الأذابة للمادة)***

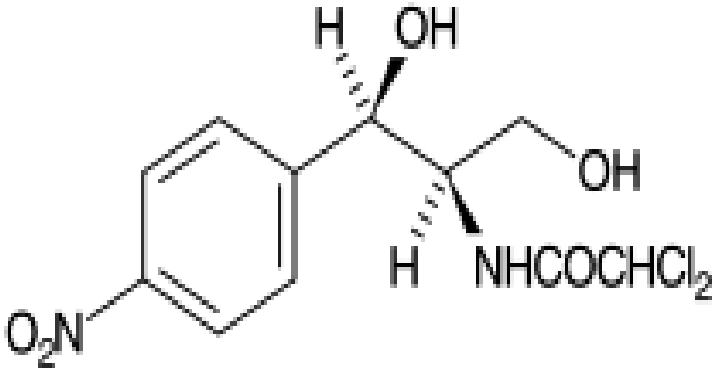
Prof.J.Al-Zehour
Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

لدينا محلول لمادة دوائية معتدلة حجمه 20 مل وتركيزه 0.1 مول ، تم استخلاص المادة ب 10 ملل ايثر ولمرة واحدة ، وبعد نهاية الأستخلاص كان الجزء المتبقي بالماء = 0.5 ميليمول ، احسب Dc و E%.

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

Prof.J.Al-Zehour

Chloramphenicol



323.1 C11H12Cl2N2 O5

Action and use Antibacterial.

Preparations

Chloramphenicol Capsules

Chloramphenicol Ear Drops

Chloramphenicol Eye Drops

Chloramphenicol Eye Ointment

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Chloramphenicol Eye Ointment 2%

Assay :

Suspend a quantity containing 10 mg of Chloramphenicol in 50 ml of Benzene and extract with successive quantities of 50,50,50 and 40 ml worm water .Combine the extracts, dilute to 200 ml with water, mix well and filter, discarding the first 20 ml of the filtrate. Dilute 10 ml of the filtrate to 50 ml with water and measure the absorbance of The resulting solution at the maximum at 278 nm .

1. What is the sample weight taken ? (Answer = 0.5g)
2. If A(1%,1cm) = 297 and A=0.3 What is the % Concentration? (Answer= 101%)

3-If the Dc =4/1 water/benzene What is the resulting extraction % ? (Answer 99.84%)

(8 , 1.6 , 0.32 , 0.06 4)

Prof.Dr.Jouma'a Al-Zehouri

محلول مائي لمادة دوائية حجمه 100مل يحتوي 1 غرام منها ، احسب الجزء المتبقي من المادة بالطبقة المائية وكذلك النسبة المئوية للاستخلاص بالحالات التالية :

1- إذا تم الأستخلاص لمرة واحدة ب 90 مل من محل عضوي مناسب

2- إذا تم الأستخلاص لمرة واحدة باستخدام 30 مل من المحل .

3- بعد الأستخلاص 3 مرات بكل مرة ب 30 مل محل عضوي ، علماً أن Dc = 10 .

الأجابات :

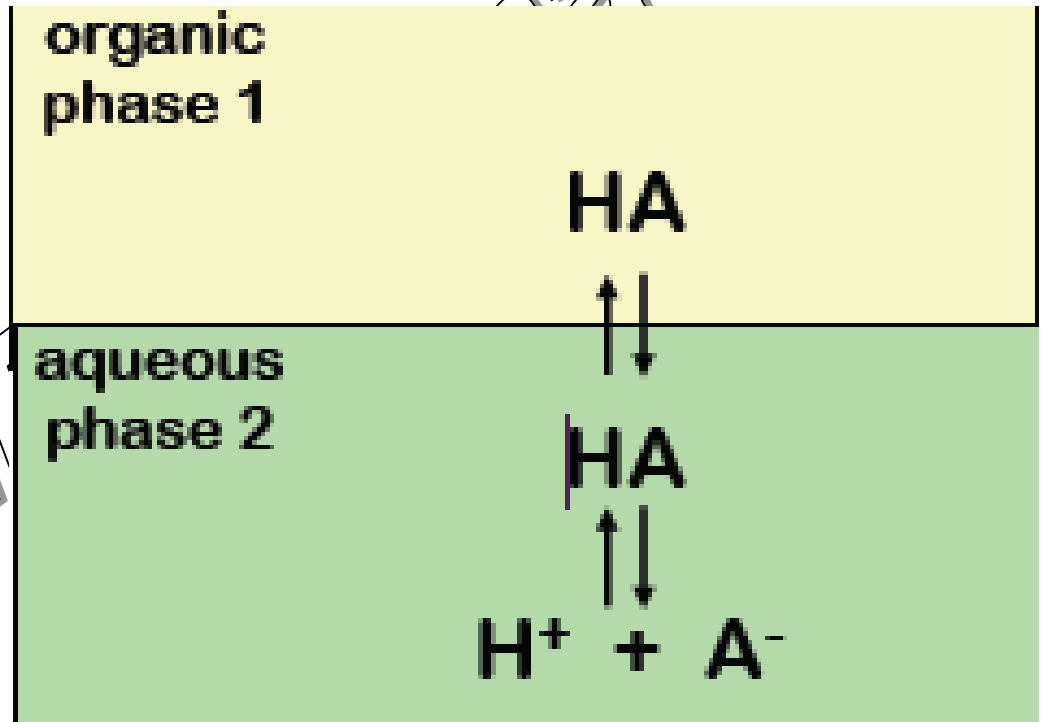
(0.1 ، %90 - 0.25 ، %75 - 0.0156 ، %98.4)

Prof Dr.Joumaa Al-Zehour

Liquid –Liquid Extraction

2. Weak base (acid) Drugs

(Henderson- Hasselbalch equation)



Prof. J .Al- Zehouri

Prof. J .Al- Zehouri

Henderson- Hasselbalch equation

$$pH = pKa + \log \frac{\text{Concentration of Salt}}{\text{Concentration of acid}}$$

$pH = pka + \log A^-/HA$ (acid)

$pH = pKa + \log B/BH^+$ (base)

$$pH = pKa + \log \frac{[\text{nonprotonated species}]}{[\text{protonated species}]}$$

Prof.Dr.J.Zehouri

I-Preparing Buffers

In principle , a buffer solution of any desired pH can be prepared by combining calculated quantities of a suitable conjugate acid/base pair.

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

Buffer preparation

Example :

What is The percentage of each acetic acid and sodium acetate which needed to prepare Buffer solution with pH = 5

(pKa=4.76 for acetic acid)

Prof.Dr.Joumana Al-Zehouri

Pharmaceutical Application

The pK_b for Pilocarpin in ophthalmic drops solution = 7.15.

What is the percentage of free base at pH=7.4 (pH of eye liquid) ?

$$C_{11}H_{16}N_2O_2 + H_2O \rightleftharpoons C_{11}H_{16}N_2O_2H^+ + OH^-$$

Action and use Cholinergic.

ينبه مستقبلات الأستيل كولين / يقبض الحدقة / بحالات الغلوكوما (ارتفاع ضغط العين)

Prof.Dr.Joumana Al-Zehouri

- An acidic drug with pKa =2 is placed in a solution that has a pH of 3 .

  What is the ratio of ionized to unionized drug ?

Answer 1/10

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

- At what pH will the concentration of a compound with pKa of 8.4 be 100 time greater in its basic form than in its acidic form ?

Answer 10.4

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

- Solution :

acidic form basic form

$$RCOOH \rightleftharpoons RCOO^- + H^+$$

If the concentration in the basic form is 100 times greater than concentration in the acidic from the Henderson- Haselbalch equation becomes :

$$pH = pKa + \log \frac{A^- \ (RCOO^-)}{HA \ (RCOOH)}$$

$$pH = 8.4 + \log 100/1 = 8.4 + \log 10^2$$

$$pH = 10.4$$

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehouri

pH table for different solutions :

Solution	pH
Strong acid	- log C
Strong Base	14 + log C
Weak acid	½ pKa - ½ logC
Weak base	7+ ½ pKa + ½ logC
Salt from strong base and strong acid	7
Salt from strong acid and weak base	½ pKa – ½ log C
Salt from weak acid and strong base	7+ ½ pKa + ½ log C
Salt from weak acid and weak base	½ pKa + ½ pKa
Amphotric solution	½ pKa_1 + ½ pKa_2
Buffer (weak acid + his salt)	$pK_a + \log C_s / C_a$
Buffer (weak base + his salt)	$pOH = pKb + C_s/C_b$

- A compound will exist primarily in its acidic form if the pH of the solution is less than the compound sُ pKa.
- A compound will exist primarily in its basic form if the pH of the solution is greater than the compound sُ pKa.

Prof Dr. Joumaa Al-Zehouri

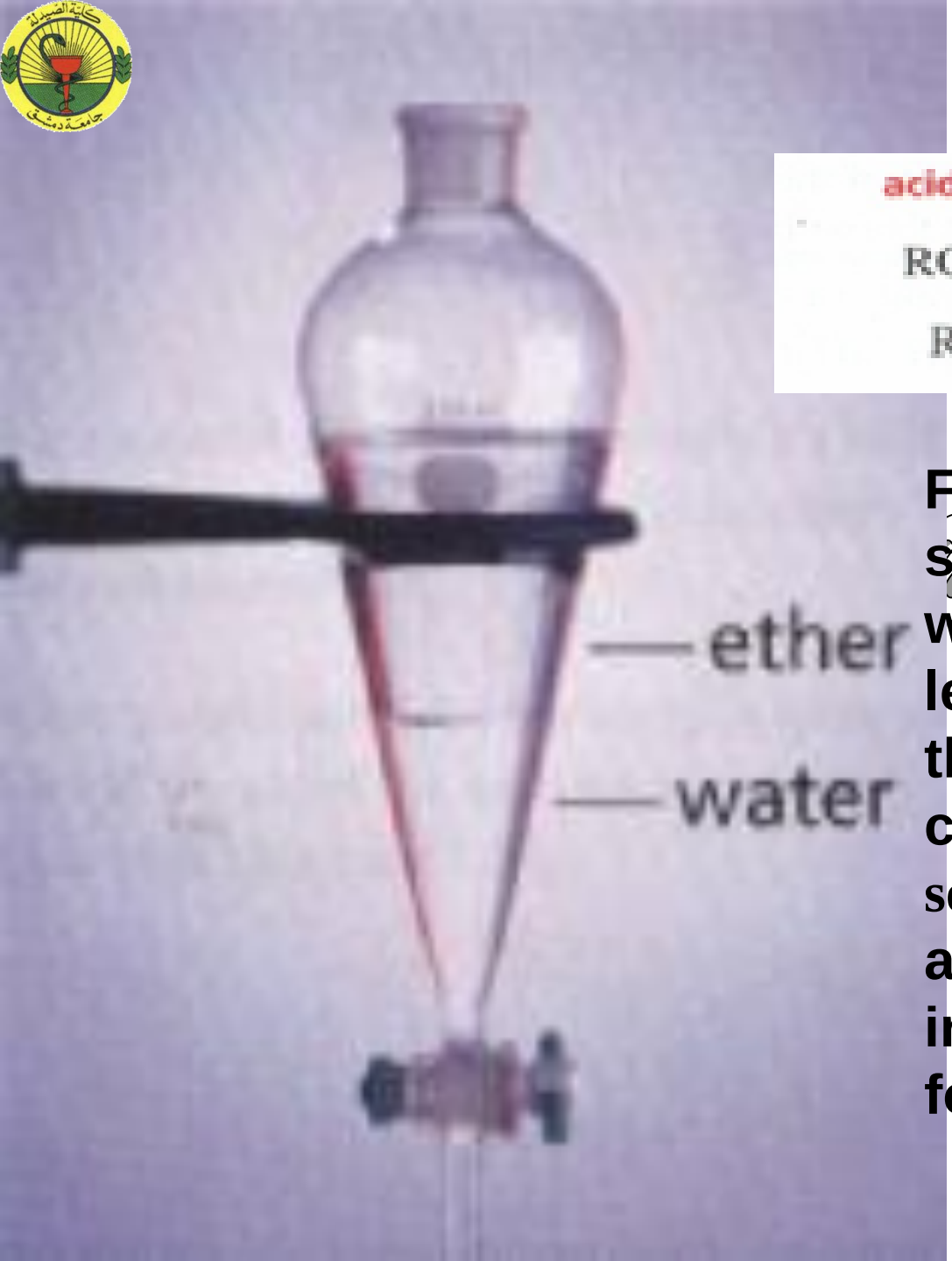
Henderson-Hasselbalch equation

Henderson-Hasselbalch equation can be very useful in the laboratory for separating the compounds in a mixture. Water and diethyl ether are not miscible liquids and , therefore, will form two layers when combined, the ether layer will lie above the more dense water layer.

Prof.Dr.Jumaa Al-Zehouri

charged compounds are more soluble in water, whereas neutral compounds are more soluble in ether. Two compounds, such as a carboxylic acid (RCOOH) with pKa of 5.0 and a protonated amine (RNH3+) with a pKa of 10.0 , dissolved in a mixture of water and ether, can be separated by adjusting the pH of the water layer . For example , if the pH of the water layer is 2, the carboxylic acid and the amine will both be in their acidic forms because the pH of the water is less than the pKa values of both compounds. The acidic form of a carboxylic acid will be more soluble in the ether layer, and the protonated amine will be more

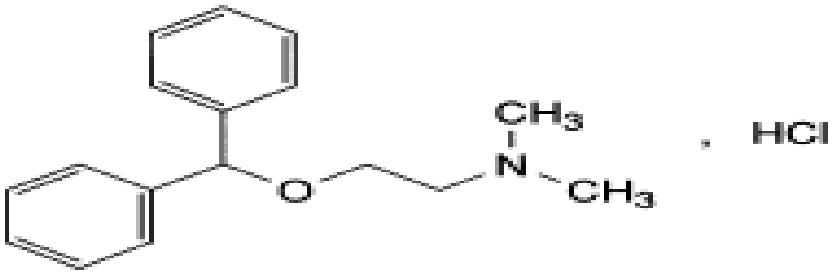
Prof.Dr.Jouma'a Al-Zehouri



acidic form		basic form
$RCOOH$	$\rightleftharpoons$	$RCOO^- + H^+$
$R\overset{+}{N}H_3$	$\rightleftharpoons$	$RNH_2 + H^+$

For the most effective separation, the pH of the water layer should be at least two units away from the pKa values of the compounds being separated. Then the relative amounts of the compounds in their acidic and basic forms will be at least 100:1

Diphenhydramine Hydrochloride



مضاد هيستامين محصور ب H1 (متعارف عليه)

الجيل الأول : يسبب النعاس لوصوله لل CNS

الثاني : لايسبب النعاس مثل لوراتادين وزيترزين

$C_{17}H_{21}NO,HCl$ 291.8

Action and use

حاجب

Histamine H_1-receptor antagonist.

Preparation

Diphenhydramine Oral Solution

H1 للحساسية

H2 للقرحة

Prof.Dr.Jona Al-Zehouri

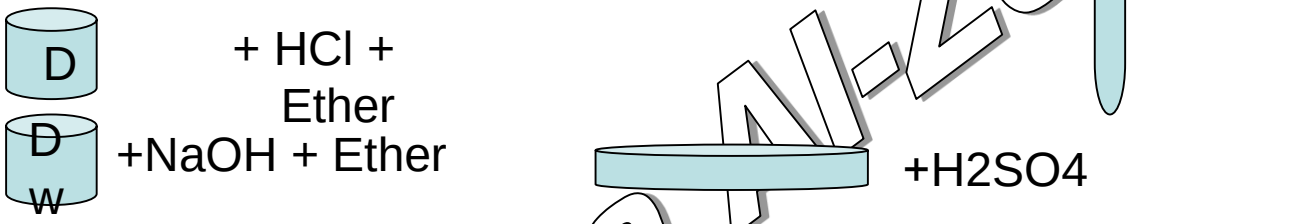
Diphenhydramine Oral Solution

Content of diphenhydramine hydrochloride, C17H21NO,HCl

90.0 to 110.0% of the stated amount.

D

ASSAY

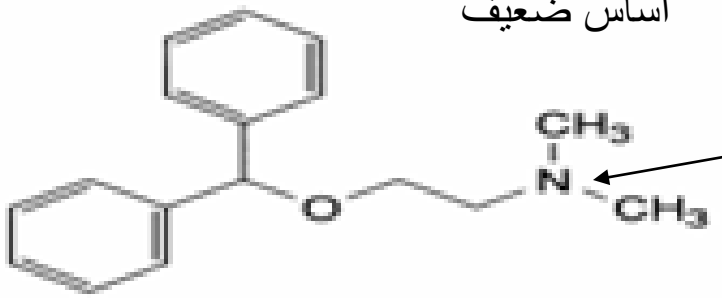


Acidify a quantity containing 0.1 g of diphenhydramine hydrochloride with 2M *hydrochloric acid*, shake with three 20 ml quantities of *ether* , discard the ether, make the aqueous solution alkaline with 5M *sodium hydroxide* and extract with successive 15 ml quantities of *ether* until extraction is complete. Wash the combined ether extracts with two 5 ml quantities of *water* , extract the combined washings with 15 ml of *ether* and evaporate the combined ether extracts to dryness. Dissolve the residue in 15 ml of 0.05M *sulphuric acid VS* and titrate the excess of acid with 0.1M *sodium hydroxide VS* using *methyl red solution* as indicator. Each ml of 0.05M *sulphuric acid VS* is equivalent to 29.18 mg of C17H21NO,HCl.

Prof.Dr.Joumana Al-Zehouri

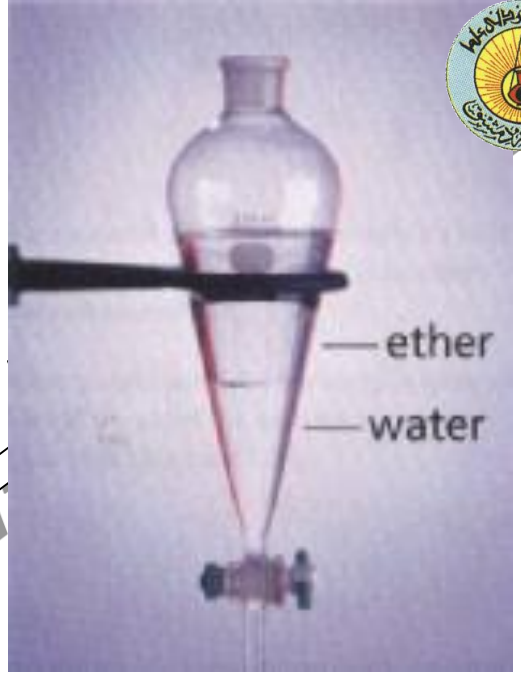
1 M ≡ ½ M H2SO4

أساس ضعيف



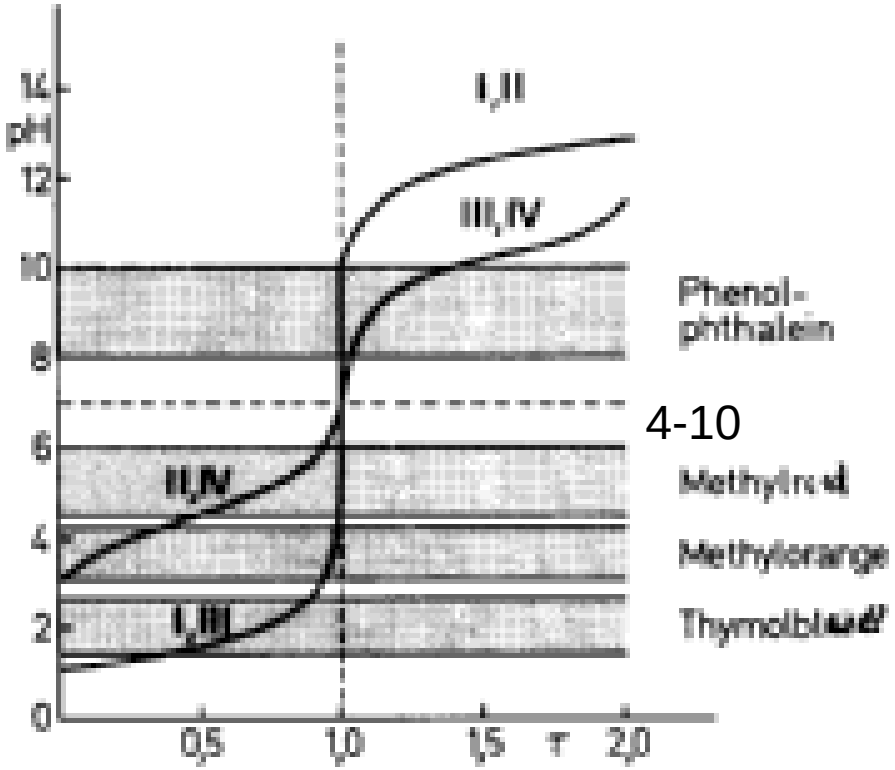
H2SO4حمض قوي

291.18 ≡ 10000 ml H2SO4 0.05 M



الأستخلاص 1 أعطينا بروتون للأبقاء على المادة بشكلها الملحي بالماء

الأستخلاص 2 سحبنا ابروتونات لأبقاء المادة الأساس بالأيتر



4-10

- In case required 11.6 ml NaOH 0.1M

$$\frac{(15 - 11.6) \times 1 \times 29.18 \times 100}{100} = 102.3\ \%$$

Prof.J.Al-Zehour

الخلاصة: طرائق الأستخلاص(سائل-سائل) في التحاليل الصيدلانية

- المبدأ : فصل المادة الفعالة من بين السواغات التي تعيق عملية التحليل من خلال استخدام مذيب مناسب لحل المادة الدوائية وغير مناسب لحل السواغات .
- التطبيق :

- معظم التحاليل الصيدلانية تتطلب الأستخلاص
- واسعة الأستخدام بالتحاليل الحيوية

ميزات الطريقة : سهلة ورخيصة .

مساوئها :انتقائية محدودة ، مقتصرة على محلات معينة وتستهلك حجم كبير من المحلات .

Prof.Dr.Joumaa Al-Zehour

Prof.J.Al-Zehour

Q&A

Prof.Dr.Jounaa Al-Zehouri