التقدير الطيفي للميزالازين بطريقة الاكسدة وقصر الصبغة باستخدام صبغة المثيل البرتقالي والتطبيق على المستحضرات الصيدلانية

احلام احمد شهاب
جامعة الموصل كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم حياة

داؤد حبو محمد
جامعة الموصل كلية التربية للبنات
قسم علوم كيمياء

(قدم للنشر في ٢٠٢٠/٩/٢٩ ، قبل للنشر في ٢٠٢١/١١/٧)

ملخص البحث:

لقد تناول البحث تطوير طريقة طيفية سريعة وحساسة غير مباشرة لتقدير الميزالازين فى المحلول المائى، حيث اعتمدت هذه الطريقة على تفاعل الأكسدة والاختزال لأكسدة الميزالازين مع زيادة (محسوبة) من العامل المؤكسد لخليط البرومات – البروميد فى وسط حمض الهيدروكلوريک. ومن ثم يتفاعل التركيز المتبقى (غير المختزل) مع وجود كمية ثابتة من صبغة المثيل البرتقالية ويؤدى ذلک إلى قصر اللون. تم قياس الصبغة المتبقية (صبغة المثيل البرتقالى) عند الطول الموجى ٥٠٧ نانومتر. كانت العلاقة خطية بين امتصاص الصبغة المتبقية وزيادة تركيز الدواء المراد تقديره ، وقدرت الكميات الميكروغرامية للميزالازين التى اتبعت حدود قانون بير من ٠.٥ إلى ١٢.٥ ميكروغرام/ مل مع الامتصاصية المولية ٢.٠٣ × ٤١٠ لتر. مول–١. سم–١ وحساسية ساندل (٠.٠٠٧٥٣٥٧) ميكروغرام/ سم٢. الانحراف المعيارى النسبى لا تتجاوز قيمته ٠.٦٩٠٪ وقيمة الاسترجاع لا تقل عن ٩٩.٠٥٪. تم تطبيق هذه الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية (الاقراص) وكانت الطريقة متوافقة مع المحتوى الأصلى للمستحضرات الصيدلانية وكذلک مع نتائج طريقة الإضافة القياسية.

College of Basic Education Researchers Journal. ISSN: 7452-1992 *Vol. (17), No.(4), (2021)*

Spectrophotometric Determination of Mesalazine by Oxidation and Shortening Using Methyl Orange Dye and Application to Pharmaceutical Preparations

Ahlam A. Shehab
University of Mosul
College of educationfor pur scince
Department of Biology

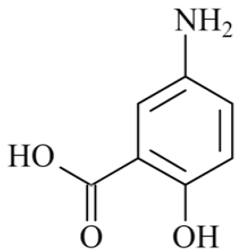
Dawood H. Mohammed
University of Mosul
College of Education for Department
of Chemistry

Abstract:

A rapid, sensitive and indirect spectral method was developed to estimate the mesalazine in the aqueous solution, as the method relied on the oxidation and reduction reaction of the mesalazine oxidation with an increase (calculated) from the oxidizing agent of bromate – bromide mixture in the medium of hydrochloric acid. The remaining (non-reducing) concentration then reacts. With a constant amount of methyl orange dye leads to color bleaching. The residual dye was followed at 507 nm wavelength. The relationship was linear between residual pigment absorption and increased drug concentration, and the micrographic quantities of mesalazine that followed Beer, s law limits were estimated from 0.5 to 12.5 µg /ml with molar absorptivity 2.03 x 104 l. mol-1 . cm-1 and Sand ell's sensitivity index (0.0075357) µg / cm2 . A relative standard deviation whose value does not exceed 0.690% and the C recovery value not less than 99.05%. The method was successfully applied to the pharmaceutical preparations as tablets and it was compatible with the original content of the pharmaceuticals and with the results of the standard addition method.

المقدمة

يعرف الميزالازين بالاسم العلمي 5-Amino salicylic acid او بالاسم الكيميائي 5-Amino -2- hydroxybenzoic acid ولهُ وزن جزيئي 153.135 (غرام/ مول) وصيغته الجزيئية هي $C_7H_7NO_3$ ويمتلك الميزالازين الصيغة التركيبية بالشكل[١] الاتي:



5-Amino -2- hydroxybenzoic acid

g/mole٣٥M.wt= 153.1

يظهر الميزالازين عل شكل بلورات بيضاء إلى رمادية قليلا او مسحوق ابيض تقريبا له نقطة انصهار ٢٧٤ م° الذوبانية في الماء متوسطة حوالي ١:١٠٠٠ عند درجة حرارة ٢٠ م° وتصل إلى١ :٨٠ عند ١٠٠ م° يحتوي المحلول المائي المشبع على درجة حموضة حوالي (٤.١)، يتأكسد حامض ٥- امينو سالسيليك بسهولة في المختبر ويتأثر استقراره في المحلول بدرجة الحرارة، التعرض للضوء ودرجة الحموضة من المتوقع أن يخضع المركب للتأكسد[٢،٣].

يكون الميزالازين باشكال صيدلانية مختلفة الاقراص (Tablets)، التحاميل (Suppositories) الحقن الشرجية (Form enema) والحبيبات (Granules)[١] .

يكون الميزالازين باشكال صيدلانية مختلفة مثل الاقراص (Tablets)، التحاميل (Suppositories) الحقن الشرجية (Form enema) والحبيبات (Granules).

إستخدمت عدة طرق تحليلية في تقدير الميزالازين منها الطرق الطيفية[٤-١٢] بالاضافة الى ذلك تم تقديره طيفيا بطريقة الحقن التدفق المستمر [١٣] ، والطرق الكروماتوغرافية[١٤-١٧]، والكهربائية[١٨-٢٢] كما استعمل تطبيق الجسيمات النانوية لتعديل قطب معجون الكربون (CPE) للكشف الفولتميترى الحساس للميزلازين[23] .

في هذا البحث تم تقدير الميزالازين طيفياً عن طريق تفاعل الاكسدة والاختزال باستخدام كمية محسوبة (فائضة) من مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم ($KBrO_3$: KBr) وتم تطبيق الطريقة بنجاح على المستحضرات الصيدلانية على شكل اقراص وتحاميل دوائية للميزالازين.

الجزء العملي Experimental part

الأجهزة المستخدمة Apparatus used

تم رسم الطيف وقياس الامتصاصية باستخدام جهاز ثنائي الحزمة Shimadzu UV/Vis 1800 spectrophotometer, Japan، واستخدام خلايا بعرض ١سم المصنوعة من الكوارتز، وتم اجراء جميع عمليات الوزن باستعمال ميزان دقيق نوعه Sartorius BL 201 S . واستعمل لعملية التسخين الحمام المائي Elektro.mag .

محاليل المواد الكيميائية

كانت جميع المواد الكيميائية المستخدمة على درجة عالية من النقاوة.

محلول الميزالازين (١٠٠ مايكروغرام. مل$^{-1}$)

تم تحضير المحلول الميزالازين باذابة ٠.٠١ غرام باستخدام ٥ مل ايثانول مطلق و٧٠ مللتر ماء مقطر مع التحريك والتسخين البسيط يليها التخفيف باستعمال قنينة حجمية سعة ١٠٠ مل بالماء المقطر.

صبغة المثيل البرتقالي (٥٠ مايكروغرام. مل$^{-1}$)

تم تحضيره باذابة ٠.٠٠٥ غرام من الصبغة في قنينة حجمية سعة ١٠٠ مل بالماء المقطر إلى حد العلامة.

محلول حامض الهيدروكلوريك (٢ مولاري)

استخدام الماء المقطر لتخفيف ١٧ مل من حامض الهيدروكلوريك HCl المركز الذي نسبته ٣٦٪ للحصول على تركيز ٢ مولاري في قنينة كانت حجمية سعة ١٠٠ مل.

مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم ($KBrO_3$ - KBr)

تم تحضير المزيج برومات – بروميد البوتاسيوم بوزن ٠.٠١٦٧ غرام من برومات البوتاسيوم ($KBrO_3$) بتركيز ٠.٠٠١ مولاري وتم تحضير بروميد البوتاسيوم تركيزه ٠.٠١ مولاري بوزن ٠.١١٩٠ غم من (KBr) ثم يتم اذابتهما معاً في ٥ مل ماء مقطر واكمال الحجم باستخدام قنينة حجمية سعة ١٠٠ مل بالماء مقطر.

محاليل المتداخلات (٥٠٠٠ مايكروغرام. مل$^{-1}$)

تم تحضرها بوزن ٠.٥ غم واذابتها بصورة منفردة في الماء المقطر ثم أكمال القنانٍ الحجمية سعتها ١٠٠ مل بنفس المذيب إلى حد العلامة.

محاليل المواد الفعالة سطحياً

حضرت المحاليل باذابتها في الماء المقطر بتركيز ٥x 10^{-3} مولاري كل من SDS وCTAB وتم تحضير (X-100) Triton بتركيز (W/V) ٢٪.

المستحضر الصيدلاني الاقراص (awasalazine ٤٠٠ ملغم/ قرص)

حضر بوزن عشرة اقراص يتم طحنها ومزجها جيدا، ووزن مايكافى ٠.٠١ غم من الميزالازين ١٠٠ مايكروغرام. مل$^{-1}$ واذبتها في ٥ مل من الايثانول مطلق و٧٠ مللتر ماء مقطر وسخن المحلول ثم رشح في قنينة حجمية سعة ١٠٠ مل، ثم يليها غسل ورقة الترشيح عدة مرات بالماء المقطر ثم اكمل الحجم بالماء المقطر.

المستحضر الصيدلاني التحاميل (Salofalk ٥٠٠ ملغم/ تحميلة)

حضر بوزن خمسة تحاميل يتم طحنها ومزجها جيدا، ووزن مايكافئ ٠.٠١ غم من الميزالازين ١٠٠ مايكروغرام. مل$^{-1}$ واذبتها في ٥ مل من الايثانول المطلق و٧٠ مل من الماء مقطر وسخن ثم رشح في قنينة حجمية سعة ١٠٠ مل، يليها غسل ورقة الترشيح مرات عديدة بالماء المقطر ثم اكمل الحجم بالماء المقطر.

النتائج والمناقشة

1- المبدأ العام للطريقة:

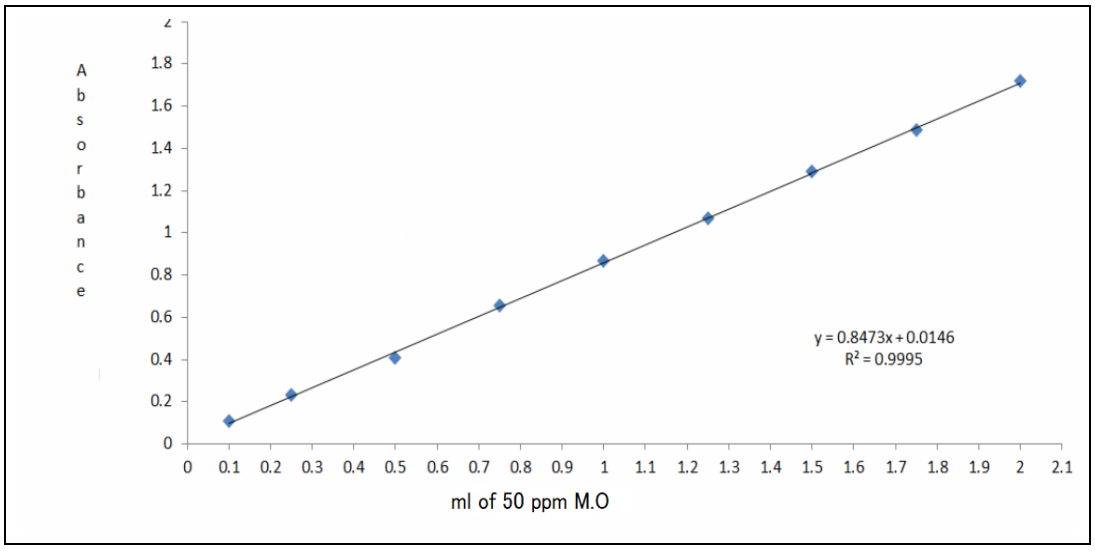
مبدأ الطريقة الحالية يعتمد على تفاعل الأكسدة والاختزال باستخدام كمية محسوبة (فائضة) من مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم ($KBrO_3$: KBr) حيث تؤدي اضافة $KBrO_3$: KBr إلى المركب الدوائي وتحرر البروم إلى برومة الميزالازين، والكمية المتبقية غير المتفاعلة من البروم تعمل على أكسدة وقصر كمية ثابته ومعروفة من صبغة المثيل البرتقالي في الوسط الحامضي بوجود حامض الهيدروكلوريك، اذ تم تقدير البروم المتبقي غير المتفاعل بقصر كمية ثابتة من الصبغة وازالة لونها بينما ادت اضافات كميات متزايدة من الميزالازين إلى خفض تركيز غير المتفاعل من البروم وزيادة خطية في كمية الصبغة الممتصة، وتم قياس اعلى امتصاص لصبغة المتبقية عند الطول الموجي ٥٠٧ نانوميتر.

٢- ضبط ظروف التفاعل المثلى

درست المتغيرات التحليلية المختلفة بتفاعل الأكسدة وقصر الصبغة التي تؤثر على الصفات الطيفية لصبغة لمثيل البرتقالي وتم استخدام ٠.٥ مل من الميزالازين من محلول تركيزهُ ١٠٠ مايكروغرام. مل$^{-1}$ والعامل المؤكسد مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم في وسط حامضي وحجم نهائي ١٠ مل للحصول على شدة امتصاص عالية واستقرارية للصبغة الملونة المتبقية والمتكونة من تفاعل الأكسدة وقصر الصبغة بالاضافة إلى التباين اللوني الواضح مقابل محلولهُ الصوري، بقياس الامتصاص عند الطول الموجي ٥٠٧ نانوميتر.

اختيار افضل كمية لصبغة المثيل البرتقالي

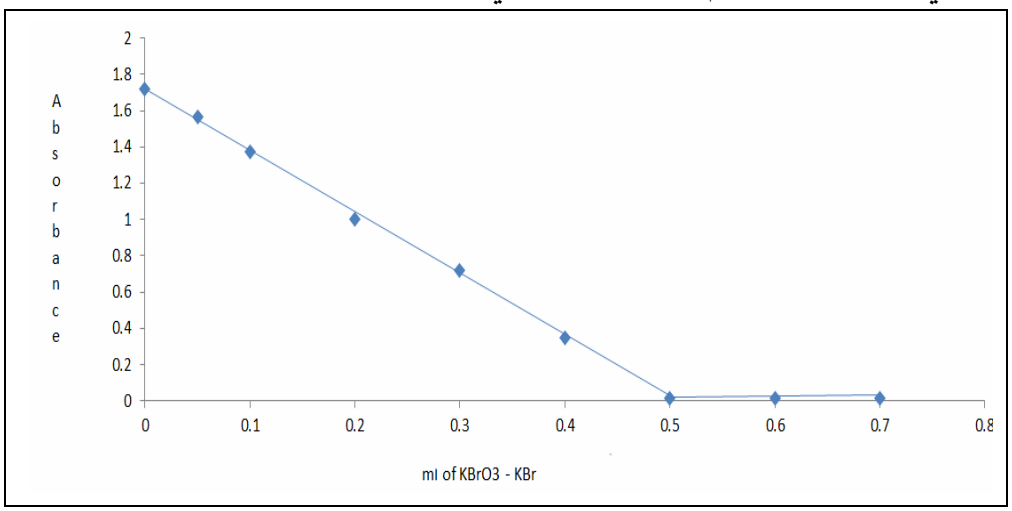
لغرض أختيار افضل كمية من الكاشف المثيل البرتقالي التي يمكن استعمالها للتقدير الطيفي غير المباشر للميزالازين والتي يسري عليها الحدود الخطية لقانون بير، حضرت عدة تراكيز من الصبغة في مجموعة من القنانٍ الحجمية سعة ١٠ مل، وكانت العلاقة الخطية بين الامتصاص والحجوم من ٠.١-٢ مل من صبغة المثيل البرتقالي المتزايدة ثم اضيف اليها ٠.٥ مل من المحلول تركيزهُ ٢ مولاري من الحامض الهيدروكلوريك وتركت المحاليل مع الرج لمدة خمسة دقائق لاتمام أكسدة الصبغة وتم التخفيف باستخدام الماء المقطر وتم قياس امتصاص المحاليل عند ٥٠٧ نانوميتر مقارنة بمحلوله الصوري، ومن النتائج المستحصلة عليها في الشكل (١) أن ٢ مل من صبغة المثيل البرتقالي افضل حجم يتبع قانون بير.



الشكل (١) المنحني القياسي لصبغة المثيل البرتقالي

اختيار افضل كمية من العامل المؤكسد لقصر الصبغة

تمت دراسة افضل كمية من المزيج برومات – بروميد للتفاعل مع ٢ مل من المثيل البرتقالي وقصر لونها اضيف اليها ٠.٥ مل محلول تركيزه ٢ مولاري من حامض الهيدروكلوريك وحجوم متزايدة من العامل المؤكسد ٠.١ – ٠.٧ مل وتركت المحاليل مع الرج لمدة خمسة دقائق ثم التخفيف بالماء المقطر مقابل المحلول الصوري تم قياس الامتصاص عند طول الموجي 507 نانوميتر والشكل (٢) يوضح بان افضل كمية من العامل المؤكسد ادت إلى قصر الصبغة هي ٠.٥ مل لذلك تم الاعتماد عليها في التجارب اللاحقة.



الشكل (٢) دراسة كمية المزيج برومات – بروميد البوتاسيوم

دراسة نوعية وكمية الحامض

استنادا إلى التجارب العملية للدراسات السابقة ان أكسدة الميزالازين وقصر صبغة المثيل البرتقالي يتم في وسط حامضي[24،٢٥] ، وتم دراسة انواع من الحوامض القوية والضعيفة لتقدير الميزالازين، واظهرت النتائج الموضحة في الجدول (1) باضافة كميات ثابتة ٠.٥ مل من محلول تركيزه ٢ مولاري من الحوامض المختلفة كل على انفراد إلى مجموعة قنانٍ حجمية التي تحتوي على ٤ مايكروغرام. مل$^{-١}$ من الميزالازين والكمية المثلى من مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم عاملا مؤكسداً والصبغة ثم تم ترك المحاليل المحضرة مع الرج لمدة ٥ دقائق يليها التخفيف بالماء المقطر وتم قياس اقصى امتصاص عند الطول الموجي ٥٠٧ نانوميتر، ويوضح الجدول (١) ان افضل

حامض تم اختياره هو حامض الهيدروكلوريك حيث أعطى اقصى امتصاص عند الطول الموجي٥٠٧ نانوميتر لذلك تم الاعتماد على حامض الهيدروكلوريك في الدراسات الاتية، ويشير الجدول (٢) ان افضل حجم لحامض الهيدروكلوريك الذي تم اختياره هو ٠.٥ مل حيث اظهر اعلى شدة امتصاص واستقرار لصبغة المثيل البرتقالي.

جدول (١) دراسة نوعية الحامض

Type acid (2M)	**HCL**	**H_2SO_4**	**HNO_3**	**CH_3COOH**
Absorbance/0.5 ml of acid used	0.621	0.615	0.607	0.580

جدول (٢) دراسة حجم حامض الهيدروكلوريك

ml of HCL (2M)	**0.1**	**0.25**	**0.5**	**0.75**	**1.0**
Absorbance	0.617	0.619	0.622	0.612	0.610

دراسة زمن أكسدة الميزالازين وقصر صبغة المثيل البرتقالي

لاجل أختيار أفضل زمن اللازم لأكسدة الميزالازين في الوسط الحامضي باستخدام الكمية المحسوبة من مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم يليها رج وترك المحاليل لأوقات مختلفة ثم يضاف حجم ثابت من صبغة المثيل البرتقالي وتركت لفترات زمنية مختلفة في درجة حرارة الغرفة ٢٥ م° مع الرج بعدها تم تخفيف محاليل المواد المتفاعلة بالماء المقطر واعطت الصبغة المتكونة اقصى امتصاص بطول الموجي ٥٠٧ نانوميتر، وتشير النتائج الموضحة في الجدول (٣) ان الزمن الابتدائي لأكسدة لمركب الدوائي قيد الدراسة هو ١٠ دقائق وخمسة دقائق الزمن اللازم لأكسدة وقصر الصبغة، وكان الناتج الملون لصبغة المتبقية مستقرة لمدة ٥٠ دقيقة.

جدول (٣) تأثير الزمن على أكسدة الميزالازين وصبغة المثيل البرتقالي

Addition of Oxidative reagent / (min.)	**Absorbance / Standing time before dilution, (min.)**								
	5	**10**	**15**	**20**	**25**	**30**	**35**	**40**	**50**
5	0.601	0.602	0.602	0.603	0.601	0.603	0.603	0.604	0.603
10	0.622	0.622	0.622	0.622	0.621	0.621	0.622	0.621	0.622
15	0.613	0.614	0.611	0.615	0.615	0.614	0.613	0.613	0.612
20	0.577	0.577	0.569	0.568	0.569	0.568	0.567	0.568	0.567

دراسة المواد الفعالة سطحياً

تم دراسة المواد الفعالة سطحياً الخافضة للتوتر السطحي (الأنيونية والكاتيونية والمتعادلة) لمعرفة مدى تأثيرها على امتصاصية واستقرارية الناتج المتكون لصبغة المتبقية تم اضافة كميات متزايدة من المواد الفعالة سطحيا ٠.٥ – ٢.٥ مل كل على انفراد إلى مجموعة من القنانٍ الحجمية سعة ١٠ مل تحتوي على الميزالازين ٥ مايكروغرام. مل$^{-1}$ والكمية المثلى التي تم الوصول اليها في الطريقة الحالية من العامل المؤكسد مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم والحامض الهيدروكلوريك وصبغة المثيل البرتقالي في الطريقة الحالية وقياس امتصاص المحاليل للمواد المتفاعلة بطول موجي ٥٠٧ نانوميتر مقابل محاليلها الصورية كما هو مدون في الجدول (٤) الاتي:

الجدول (٤) دراسة المواد الفعالة سطحياً على امتصاص صبغة المثيل البرتقالي

Surfactant used	Absorbance/ml of surfactant used				
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
SDS ($1x10^{-3}$) M	0.603	0.609	0.607	0.610	0.608
CTAB ($1x10^{-3}$) M	0.607	0.603	0.600	0.590	0.584
Triton(X-100) 2%	0.588	0.592	0.597	0.589	0.583
Without Surfactant					0.623

وتدل النتائج المستحصلة ان استخدام المواد الخافضة لشد السطحي التي ذكرت في الجدول (٤) أدت إلى تقليل شدة امتصاصية المعقد المتكون لصبغة المتبقية وعدم كفائتها في زياد حساسية طريقة العمل المعتمدة لذلك تم استبعاد استعمالها في الدراسة اللاحقة.

تأثير تسلسل الاضافة

درس تسلسل الاضافة للمواد المتفاعلة المؤثرة على امتصاص صبغة المثيل البرتقالي المتبقية، وتشير النتائج المدونة في الجدول (٥) ان التسلسل رقم (I) والمستخدام في الطريقة المقترحة لتقدير المركب الدوائي قيد الدراسة ملائم في التقدير، واي تغير يستخدام في تسلسل الاضافة له تأثيراً سلبياً على الامتصاص والتقدير.

جدول (٥) دراسة تسلسل الاضافة

"Order number"	"Order of addition"	"Absorbance"
I	S+O+R+A	0.623
II	S+ A+ O +R	0.620
III	R+O+A+S	0.041
IV	R+A+S+O	0.110
V	O+S+A+R	0.615

A = الحامض، R = الكاشف ، O = العامل المؤكسد، S = الميزالازين

تأثير الزمن على الناتج الملون المتكون واستقراريته

اجريتْ دراسة الصبغة المتبقية (المثيل البرتقالي) واستقراريتها بعد اكمال الاضافات لتقدير الميزالازين ٥ مايكروغرام. مل$^{-1}$ ثم قيس امتصاص الصبغة المتكونة وبأزمنة مختلفة بمقارنتها مع محلولها الصوري عند الطول الموجي ٥٠٧ نانوميتر وتوضح النتائج المدونة في الجدول (٦) بان الصبغة المتكونة مستقرة بعد التخفيف بالماء المقطر مباشرةً ولمدة ٥٠ دقيقة.

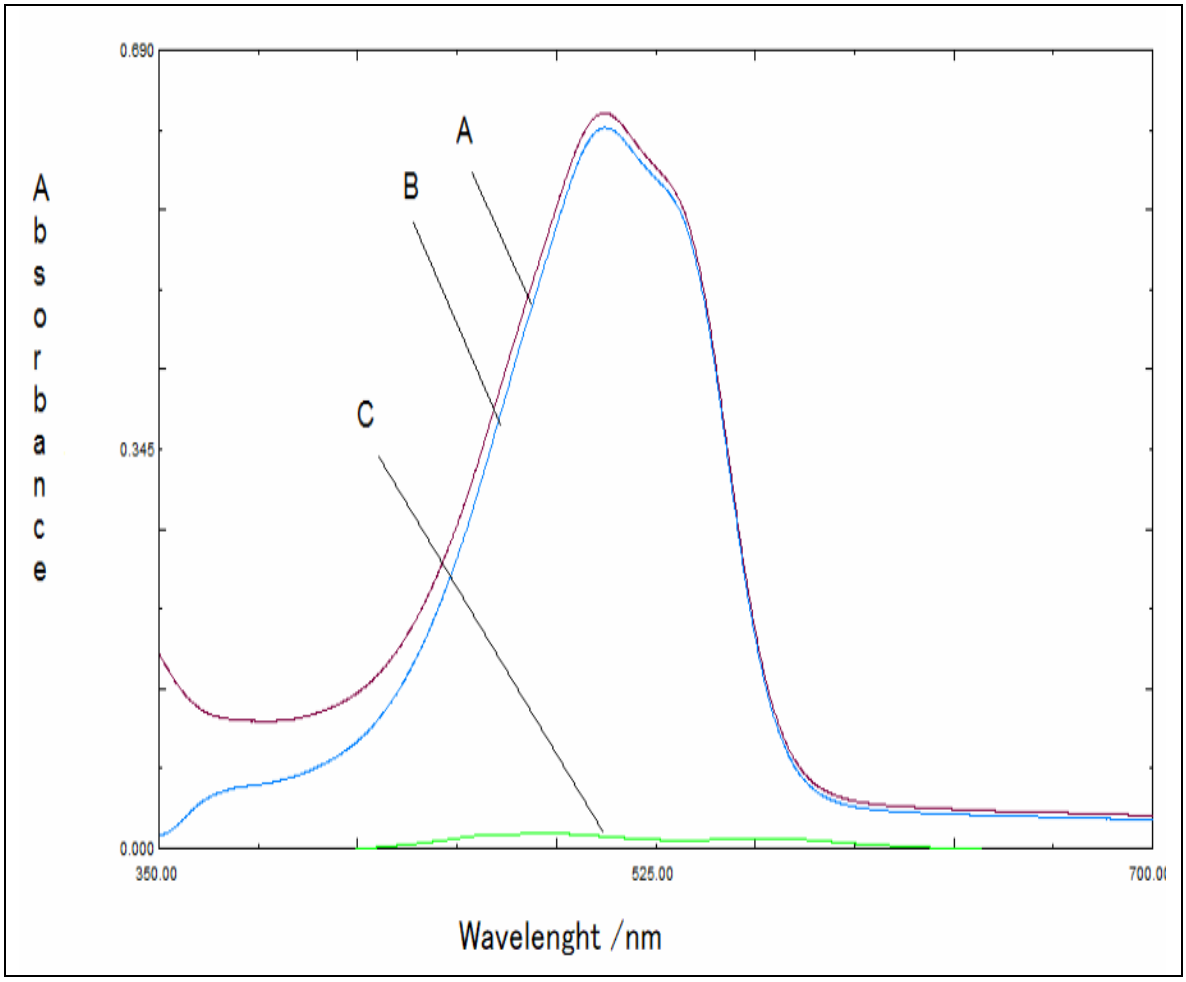
جدول (٦) دراسة زمن استقرارية الصبغة المتبقية

Temp. (C°)	Absorbance/time after dilution (min)									
	1	5	10	15	20	30	40	50	60	Over night
R.T	0.62٣	0.62٣	0.622	0.62٢	0.621	0.622	0.622	0.622	٠.٦١١	٠.٤٨١

طيف الامتصاص النهائي

بعدما تم تثبيت الظروف المثلى لصبغة المثيل البرتقالي المتبقية من أكسدة المركب الدوائي قيد الدراسة بتركيز ٥ مايكروغرام. مل$^{-1}$ باستخدام ٠.٥ مل من مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم ورجت المحاليل وتم تركها عشرة دقائق يليها اضافة ١ مل تركيز ٥٠ مايكروغرام. مل$^{-1}$ من محلول الصبغة (مثيل البرتقالي) في وسط حامضي وتركت المحاليل للمواد المتفاعلة خمسة دقائق مع الرج يليها التخفيف بالماء المقطر إلى حجم نهائي ١٠ مل يتبعها قياس

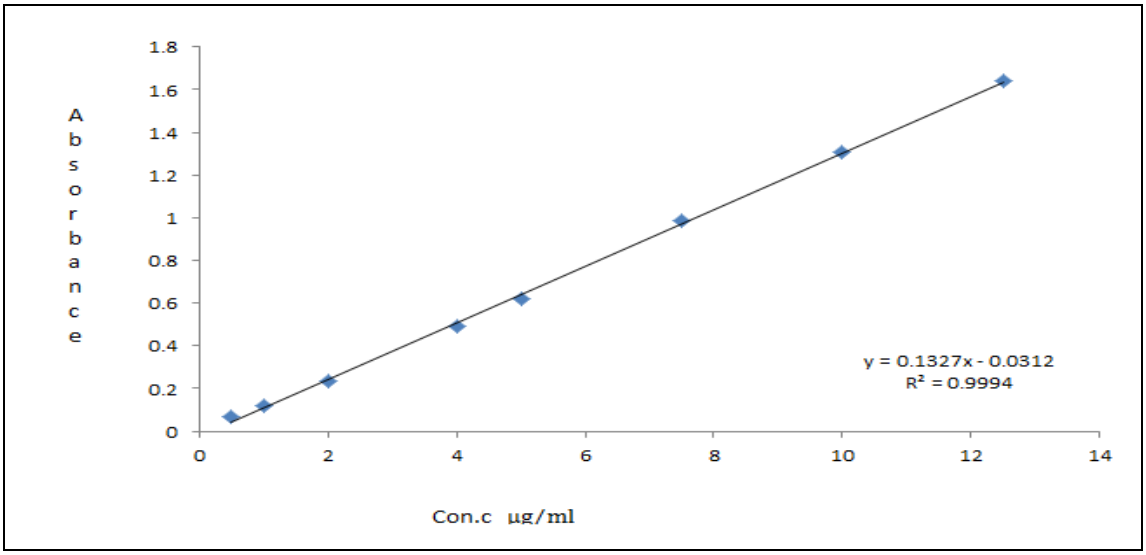
شدة الامتصاص الصبغة المتبقية التي اعطت اعلى امتصاص بطول موجي ٥٠٧ نانوميتر وتم رسم الطيف النهائي للامتصاص كما هو مبين بالشكل (٣).



الشكل (٣) الطيف النهائي للامتصاص لتقدير الميزالازين ٥ مايكرغرام. مل$^{-1}$، A: محلول الميزالازين مقاسا مقابل محلوله الصوري،B: محلول الميزالازين مقاسا مقابل الماء المقطر، C: المحلول الصوري مقارنة بالماءالمقطر.

طريقة العمل والمنحني القياسي لتقدير الميزالازين

حضر المنحني القياسي باستخدام ظروف التفاعل الفضلى للتقدير الميزالازين بتفاعله مع العامل المؤكسد والصبغة في وسط حامضي باستعمال قنانٍ سعتها الحجمية ١٠ مل، اذ تم اضافة حجوم متزايدة من المحلول الميزالازين تركيزه ١٠٠ مايكروغرام. مل$^{-1}$ لمدى من التراكيز المايكروغرامية (0.5–١٢.٥) يليها اضافة ٠.٥ مل من خليط برومات – بروميد البوتاسيوم بعدها رجت المحاليل وتم تركها لفترة زمنية لمدة عشرة دقائق ثم يضاف ١ مل من صبغة المثيل البرتقالي و٠.٥ مل من حامض الهيدروكلوريك ٢ مولاري مع الرج وتركت محاليل المواد المتفاعل لمدة (٥) دقائق لاتمام عملية الأكسدة يتبعها التخفيف بالماء المقطر إلى حد العلامة وقياس امتصاص الناتج الملون لصبغة المتبقية بطول موجي ٥٠٧ نانوميتر ويشير الشكل (٤) الى حدود قانون بير لتراكيز المايكروغرامية الخطية والمدونة ضمن الجدول(٨) لتقدير الميزالازين، وكان معامل الارتباط بقيمة اكبر من ٠.٩٩٩ وهذا يدل على ان المنحني القياسي يمتلك مواصفات خطية ممتازة.



شكل (٤) المنحني القياسي للميزالازين (٥ مايكروغرام. مل$^{-1}$)

حد الكشف وحد التقدير الكمي

تم تحضير عشرة محاليل صورية تم معاملتها باتباع ظروف التفاعل المثلى وتم قياس شدة الامتصاص للمحاليل بطول موجي ٥٠٧ نانوميتر كما مبين في الجدول (٧) الاتي:

جدول (٧) حساب حد الكشف والتقدير الكمي

Number	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Absorbance (X_i)	0.012	0.011	0.013	0.009	0.010	0.008	0.012	0.014	0.010	0.011
$\overline{X} = \frac{\sum Xi}{N}$	٠.٠١١									

$$\sigma_B = \frac{\sum(Xi - \overline{X})^2}{N-1}$$

$$= 0.0018257$$

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \sigma_B}{S} = \quad 0.0412743029 \quad \mu g/ml$$

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \sigma_B}{S} = \quad 0.1375810098 \quad \mu g/ml$$

النتائج الأحصائية

جدول (٨) نتائج القيم الاحصائية والمواصفات الخطية

Parameters	**Value**
Beer's law limits (µg/ml)	(0.5-12.5)
Slop	0.1327
Intercept	- 0.0212
Coefficient of determination (R^2)	0.9994
Molar absorptivity ($l.mol^{-1}.cm^{-1}$)	$2.03x10^4$
Sand ell's sensitivity ($\mu g/cm^2$)	0.0075357
Average recovery %	99.05
LOD (µg/ml)	0.0412743
LOQ (µg/ml)	0.13758100

الدقة والتوافقية

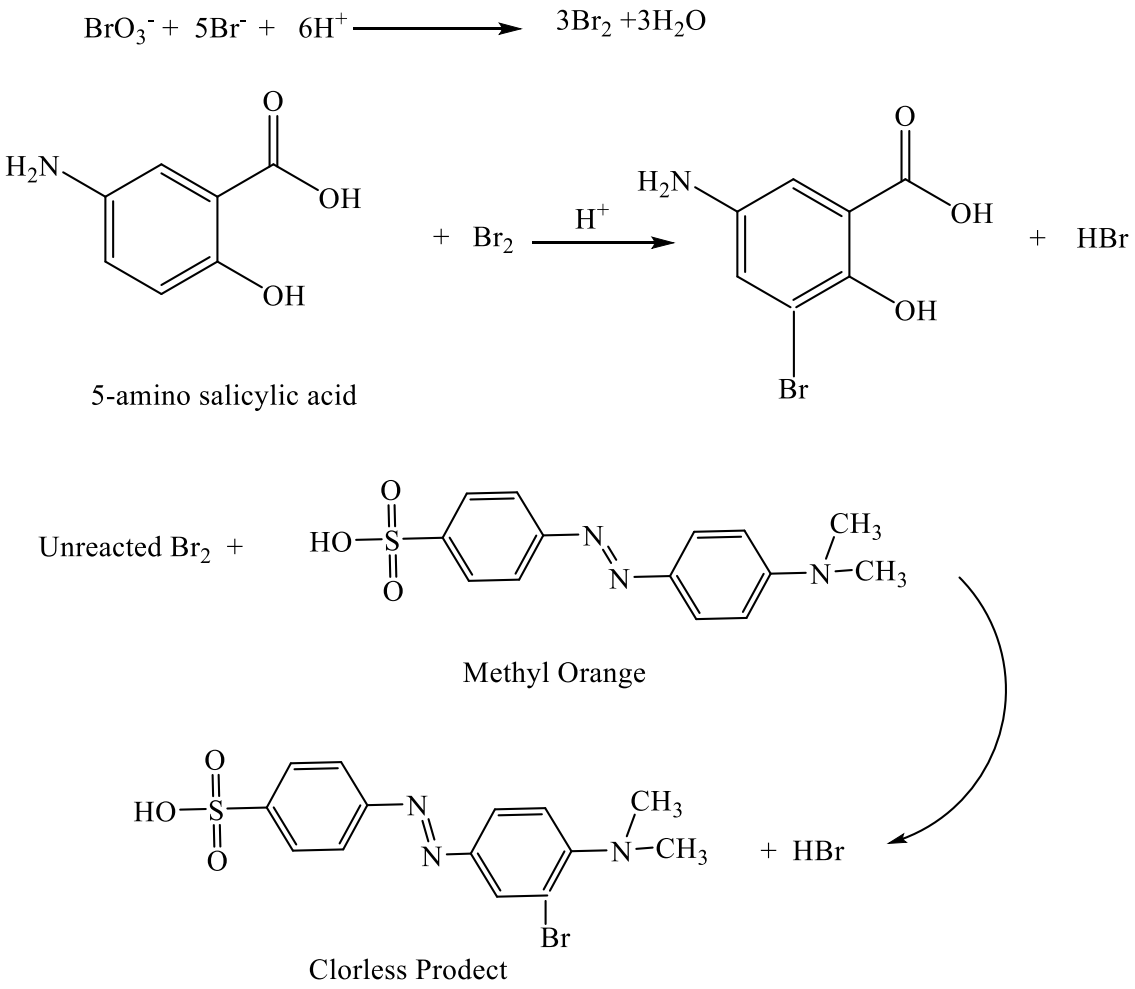
درست الدقة والتوافقية بتطبيق طريقة العمل المذكورة انفا في تقدير الميزالازين من خلال حساب نسبة الاسترجاع، الانحراف القياسي النسبي RSD % والخطأ النسبي Relative Error RE% ، ويشير الجدول (٩) إلى النتائج المستحصلة باستخدام التراكيز(٢،٥،١٠) مايكروغرام. مل$^{-١}$ مما يدل على دقة والتوافقية الجيدتين لطريقة المقترحة.

جدول(٩) دقة وتوافقية

Amount Mesalazine taken µg/ml	**Amount Mesalazine Found µg/ml**	**Recovery%***	**Average Recovery%**	**RE%**	**RSD%***
2	1.957	97.86	99.05	-2.13	0.690
٥	4.9678	99.35		-0.642	0.255
١٠	9.995	99.95		-0.045	1.121

*Average of five determinations.

المعادلات الكيميائية للتفاعل المقترح[26]



تأثير المتدخلات

من اجل فحص انتقائية وامكانية التطبيق للطريقة المقترحة على الاشكال الدوائية، تم دراسة تأثير المضافات، المواد السواغ والاملاح (المضافة من قبل الشركات المصنعة للأدوية)، باضافتها انفراديا بكميات مختلفة إلى قنانٍ سعتها الحجمية ١٠ مل تحتوي على ٥ مايكروغرام. مل$^{-1}$ من الميزالازين وباتباع طريقة العمل الموصوفة، تشير النتائج بالجدول (١٠) عدم حدوث تداخل محلوظ يمكن ان تحدثه مركبات السواغ (المواد المضافة من قبل شركة المصنعة

للادوية) والمضافات مما يدل على الانتقائية وامكانية التطبيق ضمن المدى المقبول للخطأ ± ٥٪ على المستحضرات الصيدلانية بشكل اقراص وتحاميل لتقدير الميزالازين.

جدول(١٠) تأثير المتداخلات لتقدير الميزالازين

Excipient	Recovery% ٥ µg/ml of Mesalazine Per µg of excipient			
	١٠٠	٢٥٠	٥٠٠	١٠٠٠
Starch	٩٩.٥١	١٠١.١٢	٩٩.١٩	٩٥.٩٨
Glucose	١٠٠.٤٨	١٠٠.٣٢	١٠١.٢٨	٩٨.٧١
Lactose	٩٨.٨٧	١٠٠.٩٦	١٠١.٤٤	٩٦.٩٥
Sucrose	٩٩.٦٧	٩٧.٩١	٩٧.٧٥	٩٧.٥٩
NaCl	٩٨.٠٧	٩٥.٦٦	٩٦.٤٦	٩٥.٨٢

تطبيق الطريقة

أمكن من تقدير الميزالازين بتطبيق الطريقة المطورة على مستحضراته الدوائية بهيئة اقراص وتحاميل وذات المناشيء المختلفة بتحضير ثلاث تراكيز مختلفة وباتباع ظروف التفاعل المثلى لطريقة العمل الموصوفة، كما هو مبين في الجدول (١١) الاتي:

جدول (١١) التطبيق على المستحضرات الصيدلانية

Pharmaceutical Preparations	µg Taken	µg Found	Recovery* (%)	Relative error* (%)	Relative Standard deviation* (%)	Average Recovery (%)
Awasalazine tablet / 400mg Mesalazine (Awamedica,Iraq)	2	1.975	98.75	-1.25	0.684	98.96
	٥	4.857	97.14	-2.86	0.428	
	١٠	10.100	101	+ 1	0.113	
Salofalk Suppository/ 500mg Mesalazine (Kaglthane / Istnbul)	2	1.969	98.45	- 1.55	0.835	99.31
	٥	4.890	97.8	- 2.2	0.429	
	١٠	10.168	101.68	+ 1.68	0.713	

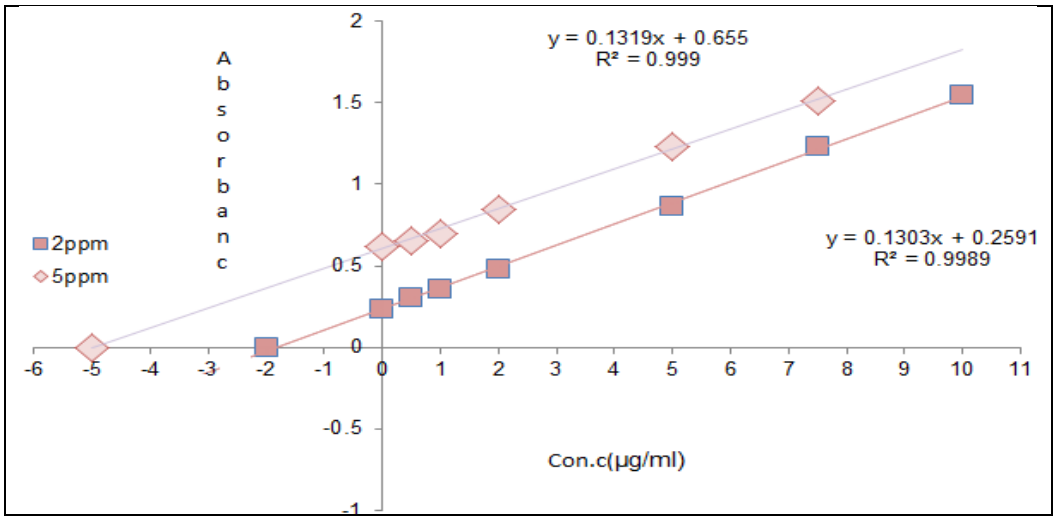
* Average of five determinations

تبين النتائج الموضحة بالجدول الذي ذكر انفاً بنجاح الطريقة المطورة على الاقراص والتحاميل الدوائية لتقدير الميزالاين بدقة عالية ومتوافقة بصورة جيدة.

تقييم الطريقة

طبقت الطريقة المقترحة على الاقراص الدوائية لتقدير الميزالازين لغرض أثبات نجاح الطريقة المطورة وكفائتها وخلوها من تداخل المضافات اذ يمكن الاستدال من الشكل (٥) والبيانات المدونة في الجدول (١٢) تشير إلى ان الطريقة متوافقة بصورة جيدة وانتقائية مع طريقة العمل المعتمدة وبشكل مرضِ.

الشكل (٥) منحني الأضافة القياسية



جدول (١٢) تفاعل الأكسدة وقصر الصبغة بالاضافة القياسية

Pharmaceutical preparation	**Amount Present µg/ml Mesalaizine**	**Amount Fount µg/ml Mesalaizine**	***Recovery (%)**
Awasalazine tablet /٤٠٠ mg Mesalazine (Awamedica,Iraq)	2.0	١.٩٨٨	٩٩.٤
	٥.٠	٤.٩٦٥	٩٩.٣

* Average of five determination

مقارنة الطريقة الحالية طيفيا مع طريقة اخرى

تم إجراء مقارنة القيم الاحصائية لطريقة العمل المعتمدة بتفاعل الأكسدة وقصر الصبغة لتقدير الميزالازين مع طريقة طيفية اخرى غير مباشرة، اذ تدل النتائج المدونة في الجدول (١٣) إلى حساسية الطريقة المقترحة ولا تحتاج إلى استخلاص او عملية تسخين مسبق وخلوها من التداخلات.

جدول (١٣) المقارنة مع طريقة طيفية اخرى

Analytical parameters	**Present method**	**Literature method[27]**
Reagent	Methyl Orang (MO)	Nile Blue A(NBA)
Type of reaction	Indirect method in HCl medium using MO	Indirect method in HCl medium using NB A
Temperature	R.T	R.T
Correlation Coefficient (r)	0.9994	0.9981
λ max (nm)	507	640
Beer's law range (µg/ml)	0. 5-12.5	1.0-2.2
Molar absorptivity($l.mol^{-1}.cm^{-1}$)	$2.03x10^4$	$6.21x10^4$
Color of the dye	pink	–
Slop	0.1327	0.4053
Sandell's sensitivity ($\mu g/cm^2$)	0.00753	2.47
Application or the method	Tablet and suppositories	Tablets and enema

الاستنتاج

تم تطوير طريقة تحليلية سهلة، سريعة وعالية الحساسية في تقدير الميزالازين باستخدام تفاعل الأكسدة وقصر الصبغة، تضمنت الطريقة استخدام كمية فائضة من مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم في وسط حامضي تركيزه ٢ مولاري من حامض الهيدركلوريك HCl لأكسدة الميزالازين، وتم تقدير الكمية الغير المختزلة من مزيج برومات – بروميد البوتاسيوم بوصفه عاملاً مؤكسداً باضافة صبغة المثيل البرتقالي وأكسدة الصبغة بقصر لونها وقياس المتبقي من صبغة المثيل البرتقالي عند الطول الموجي ٥٠٧ نانوميتر ويزداد امتصاص الصبغة بزيادة تركيز الميزالازين، ويتبين ذلك من خلال العلاقة بين الامتصاص والتركيز ضمن حدود قانون بير– لامبرت كانت العلاقة خطية ضمن المدى الذي يتراوح (٠.٥ – ١٢.٥) مايكروغرام. مل$^{-1}$، وامتازت الطريقة بكونها انتقائية وذات دقة وتوافقية جيدتين بمعدل نسبة الاسترجاع بلغت 99.05% وبانحراف قياسي نسبي لايزيد عن (٠.٦٩٠) وبامتصاصية مولارية كانت بقيمة ٢.٠٣ × ١٠^{٤} لتر. مول$^{-1}$. سم$^{-1}$ ودلالة ساندل بلغت قيمتها 0.0075357 مايكروغرام. سم$^{-٢}$.

References

1. British Pharmacopoeia, on CD rom, System simulation ltd., the stationary office, london, 2013.
2. S. Bondesen, et al., 5-Aminosalicylic acid in the treatment of inflammatory bowel disease", Acta Med Scand, 221, 227-242, 1987.
3. H.H Abdu-Allah, A.A El-Shorbagil, S.G.Abdel-Moty, R. EL-Awady and A. M Abdel-Ality, "5-Aminosalycylic acid (5ASA): a unique Anti-Inflammatory salicylate", Med.Chem, 6(5), 306-31, 2016.
4. K.V. Prajpati, K.V. Raj, H.A. Jain, V.C. and N.S. Prajapti, "Simultaneous determination of Mesalazine and rifaximin in synthetic mixture using spectrophotometric technique (simultaneous equation method)". Pharm. Bio. Eval. , (2016), 3(2), 199-207.
5. R.N.Rao, L.S.Reddy, E.P, V. Ravisankar, S. Sulakshana, and R.Meenakshi, "Spectrophotometric method development and validation for the estimation of mesalazine in pure and tablet dosage form by UV-spectrophotometric method", Int.J.Pharm.Res, (2015), 4(4), 88-92.
6. S. A.AL-Zakaria, "Spectrophotometric determination of Mesalazine", Raf.J.Sci, (2019), 28(2), 127-134.

7. A. T. Aziz and S. H. Sultan, "Spectrophotometric determination of Mesalazine in pharmaceutical preparations by oxidative coupling reactions with m -amino phenol and 2, 6- dihydroxybenzoic acid", Baghdad.J.Sci, (2019), 16(4),1010 - 1016.
8. R.A. Zakaria, "Spectrophotometric Determination of Mesalazine by ٨-Hydroxyquinoline and N-(1-naphthyl) ethylenediamine hydrochloride Reagents in Bulk and Capsule Dosage Forms", RAF. J. Sci., (2013), 24(1), 146-158.
9. A. J. Al-Hadidi, and S. M. Al-Mtaiwti, "Spectrophotometric determination of Mesalazine by coupling with 2,4-diazdized dinitroaniline", college of basic education Res.J, (2019), 15 (4), 1639-1658.
10. V. Madhavi, V. panchakshari and T. N Parathyusha. "Spectrophotometric, determination of Mesalazine in bulk and dosage forms based on diazocoupling reaction with Resorcinol", Int.J.Pharm.Sci and Res., (2011), 11(1), 105-119.
11. E. A. Hamdoon, "Indirect Spectrophotometric Determination of Mesalazine via chromate - 1, 5 - diphenyl carbazide complex", RAF. J. Sci., (2018), 27(3), 69-78.
12. N. M.I. Al-Daoud, "Spectrophotometric determination of some drugs by using prussicblue reaction and methylene blue and rhodamine - B dyes", M. Sc. Thesis, Mosul University, (2011), 62-119.
13. H. Hadi, "Continuous Flow Injection Spectrophotometric Determination Of Mesalazine In Pharmaceutical Forms" Sys j. Rev Pharm (2021), 12(2),PP. 2020-208.
14. E. Pastorini, M. Locatelli, P. Simoni, G. Roda and E. Roda, "Development and validation of a HPLC- ESI- MS/MS method for determination of 5-aminosalicylic acid its major- metabolites N-acetyl-5-aminosalicylic acid in human plasma", J. Chromatogr. B., (2008), 8(72), 99- 106.
15. A.K.Moharan and M.Banerjee, C.K.Sahoo and N.K.Sahoo, "Development and validation of stability indicating RP-HPLC method for the estimation of Mesalazine in bulk and tablet dosage form", Asian J Pharm Clin Res, (2011), 4 (2), 71-73.
16. S. Nandipati and S. Uba, "A validated ultra performance liquid chromatography method for assay determination of Mesalamine", Inter.J.Pharm.Pharm.Sci, (2013), 5(1), 312-316.

17. J.A.Rafael, J.R.Jabor, R.S.RGeorgetti, M.F.Borin and M.J.V.Fonseca "Validation of HPLC, DPPH and nitrosation methods for Mesalszine determination in pharmaceutical dosage forms", Barz.J Pharm.Scie., (2007),43(1),97-103.
18. M.Stepankova, el at., "Volta metric determination of Mesalazine in pharmaceutical preparations and biological samples using boron-doped diamond electrode". Chem. Pap. (2017) 71, 1419–1427.
19. S.Kim, N.wang, Yijun Li and X.Heb, "electrochemical determination of Mesalazine by using graphene oxide coated with a molecularly imprinted sol-gel", Anal. Meth. (2016), 8(43), 7780-7788.
20. A.B.Teradalea, S.D.Lamanib, P.S.Ganeshc, B.E.K. Swamy, S.N.Dasa, "CTAB immobilized carbon paste electrode for the determination of Mesalazine: A cyclic voltammetric method, (2017), 15, 53-59.
21. A.A.Kumar, T.S.Rani, P.S.Ganesh and B.E.K.Swamy, "Electrochemical oxidation of Mesalazine drug at poly (glutamic acid) modified glassy carbon electrode", Anal Bioanal.Electrochem., (2017), 9(3).
22. K. V. Harisha, B. E. K. Swamy, P. S. Ganesh and H. Jayadevappa, "An electrochemical sensor for the determination of 5-aminosalicylic acid at poly (alanine) modified carbon paste electrode: acyclic votammetric study", Anal. Bioanal. Electrochem., (2018), 10, 1273-1287.
23. E. Sohouli, M. S. Karimi, E. M. Khosrowshahi, M. R. Nasrabadi, F.Ahmadi, "Fabrication of an electrochemical mesalazine sensor based on ZIF-67.",Elsevier, (2020**)**, 165, pp.108-140.
24. M. M. Amin, S. M.El-Adl, S.A.Abedl-Azizl and S.M. Mostafa. "Bromometric estimation of gliclazide and glibenclamide in bulk and in tablet formulation", Zagazig J. Pharm. Sci. Dec., (2015), 24(2).
25. S.Niranjani et al., "Simple and selective titrimetric and spectrophotometric methods for the determination of loratadine using bromate-bromide, Methyl orange and methylene blue", IJPQA, (2018), 9(2).
26. K. Basavaiah and S. A. M. Abdulrahman, "Utilization of bromination reactions for the determination of carbamazepine using bromate-bromide mixture as a green brominating agent", Arabian J. Chem., (2014), 7, 297-305.
27. A. M. Saeed, "Spectrophotometric and fluorimetric determination of some drug compounds using tiron reagent, nile blue, Rose bengal and acriflavine dyes", Ph.D. Thesis, College of Education, Mosul University, (2019) .