طريقة طيفية لتقدير المثيل دوبا بشكله النقي وفي مستحظره الصيدلاني باستخدام تفاعل الاقتران التأكسدي

ايمان موسى يادكار[1] ,أ.م.د سرحان علي سلمان[2], أ. م. د. شهلة جمال شكور[3]

[1]كلية التربية للبنات\قسم الكيمياء\جامعة تكريت

[2]كلية العلوم\قسم الكيمياء\جامعة تكريت

[3]كلية العلوم\قسم الكيمياء\جامعة كركوك

, Sarhan.ali@tu.edu.iq Emanmusa610@gmail.com

shahla.jamal@uokirkuk.edu.iq

طريقة طيفية لتقدير المثيل دوبا بشكله النقي وفي مستحظره الصيدلاني باستخدام تفاعل الاقتران التأكسدي

ايمان موسى يادكار[1] ,أ.م.د سرحان علي سلمان[2], أ. م. د. شهلة جمال شكور[3]

[1]كلية التربية للبنات\قسم الكيمياء\جامعة تكريت

[2]كلية العلوم\قسم الكيمياء\جامعة تكريت

[3]كلية العلوم\قسم الكيمياء\جامعة كركوك

Emanmusa610@gmail.com , Sarhan.ali@tu.edu.iq , shahla.jamal@uokirkuk.edu.iq

الخلاصة:

تطوير طريقة طيفية لتقدير المثيل دوبا بالاقتران التأكسدي مع الكاشف L– تربتوفان في وسط حامضي من حامض الهيدروكلوريك وبوجود N– بروموسكسنميد كعامل مؤكسد , لتكوين ناتج ذو لون بنفسجي له اعلى امتصاص عند الطول الموجي 532 نانومتر, وبامتصاصية مولارية بلغت $3.717x10^3$ لتر/ مول.سم ,ويتبع قانون بير في مدى من التركيز (2–26) مايكروغرام امل, وقيمة دلالة ساندل 0.056 مايكروغرام اسم^2,وامتازت الطريقة باالدقة والتوافقية العاليتين حيث بلغت قيمة الاسترجاعية (98.52–99.345%)والانحراف القياسي النسبي لم يتجاوز 1.04%, وبحد كشف بلغ 0.4275 مايكروغرام امل والحد الكمي 1.295مايكروغرام امل ,وقد طبقت على المستحضر الصيدلاني للمثيل دوبا بشكل حبوب بنجاح .

الكلمات المفتاحية: التقدير الطيفي ,الاقتران التأكسدي ,مثيل دوبا ,L_تريبتوفان .

المقدمة :

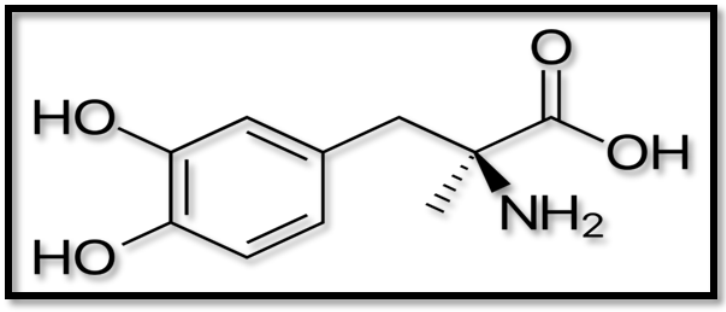
الاسم العلمي للمثيل دوبا حسب نظام IUPAC هو:

(25)-2-امينو-3(3,4-ثنائي هيدوكسي فينيل)-2-مثيل حامض البروبانويك

(25)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenl)-2-methyl proponoic acid

والشكل (1-2) يبين 211.215 g/mol والوزن الجزيئي $C_{10}H_{13}NO_4$ ذو الصيغة الكيميائية

الصيغة التركيبية للمثيل دوبا.[1]



الشكل(1) الصيغة التركيبية للمثيل دوبا

من حيث الخواص فأن المثيل دوبا مركب يتميز بكونه عديم اللون او مسحوق بلوري ابيض اللون لاطعم له يذوب في الكحول مثل الايثانول والايزوبروبانول وغير قابل للذوبان في الايثر عملياً [2]، ويذوب في الماء بدرجة حرارة (25) درجة سيليزية حوالي 10 ملغم/مل، وكذلك يذوب في الاحماض المعدنية، وفي معظم المذيبات العضوية الشائعة. [3]

يستعمل المثيل دوبا كدواء أولي يتم استقلابه في الجهاز العصبي المركزي ثم اشتقاقه من الفنيل الانين وهو مثبط لكاربوكسيلات الاحماض الامينيه العطرية وله نشاط خافض لضغط الدم، وسبب نشاطه لخفض ضغط الدم يرجع الى تحويله الى الفا ميثيل نوربينفرين.[4]

يعتبر المثيل دوبا من مشتقات الكاتيكولامين ويستخدم على نطاق واسع لعلاج ارتفاع ضغط الدم الشرياني المعتدل وايضاً الشديد، حيث يعتبر دواء اولي لانه يعمل بشكل اساسي بسبب استقلابه في الجهاز العصبي المركزي لمثيل نورابينفرين.[5,6]

ويعرف المثيل دوبا تحت الاسم التجاري Aldomet ويؤخذ عن طريق الفم او بشكل حقن وريديه حيث يظهر تأثيره بعد حوالي5 ساعات ويستمر هذا التأثير لمدة يوم واحد اي 24 ساعة.[7]

طرائق تقدير المثيل دوبا (MDP)

1-طرائق طيفية[8,9,10,11,12,13]

2-طرائق كروماتوغرافية[14,15]

3-الطرائق الاخرى[16,17]

الجزء العملي

الأجهزه والأدوات المستخدمه

في العملي تم استخدام الأجهزه والأدوات كما هو موضح في الجدول (1):

الجدول (1) الاجهزة والادوات المستخدمة

ت	المنشأ	اسم الجهاز ونوعه	
.1	الصين	جهاز المطياف المزدوج الحزمه المدى (200-800) نانومتر	UV-visible Spectrophotometric T92 + Spectrophotometer rangc

		الخلايا المستخدمه كوارتز اسم	C (200–800) nm quartize cell 1cm
.2	الماني	ميزان حساس 210–SAG	Sartorius BL210 SAG
.3	الماني	جهـاز قيـاس الدالــه الحامضــيه جنيوي 3310	PH meter Jenway 3310

المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة

استخدمت مواد كيميائيه وكواشف عالية النقاوه والجدول (2) يبين ذلك:

الجدول (2) المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة

الأسم الكيميائي **Chemical name**	الصيغه الكيميائيه **Chemical formul**	الوزن الجزيئي **Moleculav weight** **g/mol**
Methyldopa	$C_{10}H_{13}NO_4$	211.215 g/mol
L–Tryptophan	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	204.23 g/mol
N–Bromosuccinimide	$C_4H_4BrNO_2$	177.98 g/mol

Hydrochloric acid	HCl	36.458 g/mol

محاليل المواد الكيميائية المستخدمة وتحضيرها

محلول المثيل دوبا القياسي 1000مايكروغرام/مل (4.7345×10^{-3}) مولاري:

تم تحضير هذا المحلول بأذابة 0.10 غرام من المثيل دوبا في الماء المقطر الساخن ومن ثم أكمل الحجم الى 100 ml في قنينة حجمية.

محلول المثيل دوبا 200 مايكرو غرام /مل (0.9469×10^{-3}) مولاري:

قد حضر هذا المحلول 200 مايكرو غرام/ مل بتخفيف 20ml في المحلول القياسي المحضر من المثيل دوبا وبتركيز 1000 مايكروغرام /مل في قنينه حجميه سعة 100 مل وأكمل الحجم الى حد العلامه بلماء المقطر.

محلول L- تربتوفان بتركيز 1×10^{-2} مولاري:

حضر هذا المحلول بأذابة 0.204g من L - تربتوفان في الماء مع التحريك ومن ثم نقل المحلول الى قنينه حجميه سعة 100 ml وأكمل الحجم الى العلامه بالماء المقطر.

محلول N - بروموسكسنيميد بتركيز 2×10^{-2} مولاري:

تم تحضير المحلول بأذابة 0.355g من N-بروموسكسينيميد في 8 ml من الاسيتون ومن ثم نقل المحلول الى قنينه حجميه سعة 100ml واكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة.

محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 مولاري:

حضر محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 مولاري في حامض الهيدروكلوريك المركز 12 مولاري بتخفيف 8.3 ml منه في قنينه حجميه سعة 100 مل الى حد العلامه بالماء المقطر.

محلول المستحضر الصيدلاني للمثيل دوبا (200 مايكروغرام/مل):

تم استخدام المستحضر الصيدلاني للمثيل دوبا بشكل اقراص الدوميت من انتاج معمل ادوية سامراء S.D.Iوالذي يحتوي على 250 ملغم من المثيل دوبا ويحضر المحلول بأخذه 10 اقراص (4.38) غم من العقار ومن ثم سحقها جيدا، ويتم اذابة 0.1752 غم منه في كمية قليلة من الماء المقطر الساخن مع اضافة كميه من الماء المقطر ومن ثم ترشيح المحلول وغسل الراسب بالماء المقطر عدة مرات وبعدها تم اكمال الحجم في قنينة حجميه سعة 100ml بالماء المقطر الى حد العلامة للحصول على محلول بتركيز 1000 مايكروغرام /مل، وينقل 20 مل من هذا المحلول الى قنينة حجمية سعة 100 مل، ويكمل الحجم الى العلامه بالماء المقطر للحصول على محلول المستحضر الصيدلاني بتركيز 200 مايكروغرام /مل .

النتائج والمناقشة

مبدأ الطريقة

تعتمد مبدأ الطريقه على اقتران المثيل دوبا مع الكاشفL– تربتوفان بوجود العامل المؤكسد N –برومو سكسنيميد وفي وسط حامضي حيث يتكون ناتج بنفسجي اللون يعطي اعلى امتصاص في الطول الموجي (532) نانومتر.

الاختبارات الأولية

تم دراسة طيف الامتصاص للمثيل دوبا مع الكاشف L– تربتوفان والعامل المؤكسد N –برومو سكسنيميد ومحلول حامض الهيدروكلوريك، حيث تم اضافة 1.5 مل من N–برومو سكسنيميد بتركيز $2x\ 10^{-2}$ مولاري الى محلول المثيل دوبا 2.5 مل بتركيز 200 مايكروغرام /مل مع الرج بعدها اضافة 2.5 مل من L–تربتوفان بتركيز $1x\ 10^{-2}$

مولاري ومن ثم اضافة 0.5 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1مولاري، وترك المحلول لمدة (15) دقيقه وقياس امتصاص الناتج البنفسجي اللون حيث اعطى اعلى امتصاص عند الطول الموجي (532) نانومتر مقابل المحلول الصوري.

دراسة الظروف المثلى للتفاعل

تم اختبار الظروف المثلى للتفاعل التي تعطي اعلى امتصاص للناتج المتكون، وفي الطريقة تم استخدام قناني حجمية سعة (20) مل وخلايا كوارتز 1سم.

اختبار أفضل كاشف اقتران

تم اضافة 1.5مل من N–برومو سكسنيميد بتركيز $2x\ 10^{-2}$ الى 2.5 مل من محلول المثيل دوبا بتركيز 200 مايكروغرام /مل ومن ثم اضافة 2.5 مل من محاليل الكواشف المحضره بنفس التركيز $1x\ 10^{-2}$ مولاري و0.5 مل من محلول حامض الهيدروكلوريك 1 مولاري تم اكمال الحجم الى العلامة في قناني حجمية سعة (20) مل بالماء المقطر وبعد مرور 15 دقيقه تم قياس الامتصاص لكل محلول مقابل محلوله الصوري والنتائج موضحه في الجدول (3).

جدول (3) تأثير نوع الكاشف

Reagent	λ Max (nm)	Abs.	Chemical formula
L–Tryptophan	532	0.487	$C_{11}H_{12}N_2O_2$
P–Bromoanaline	560	0.17	C_6H_6BrN
Resorsenol	483	0.168	$C_6H_6O_2$

O–Toluidine	450	0.432	C_7H_9N
1,5–naphthalene–4–Sulfonic acid	423	0.388	$C_{10}H_9No_3S$
2,6– Diaminopyridine	502	0.343	$C_5H_7N_3$

تم اختبار الكاشف L – تربتوفان لكونه اعطى أفضل نتيجه لأعلى امتصاص للناتج الملون وبطول موجي (532) نانو متر.

تأثير كمية كاشف الاقتران

لدراسة تأثير كمية الكاشف تم أخذ حجوم مختلفة (0.5، 1، 1.5، 2.5، 3) مل من محلول L– تربتوفان بتركيز 1×10^{-2} مولاري مع حجوم مختلفة من المثيل دوبا(1،1.5،2.5) مل بتركيز 200 مايكروغرام /مل وبوجود 1.5 من N–برومو سكسنيميد بتركيز 2×10^{-2} مولاري و0.5 مل من محلول حامض الهيدروكلوريك 1 مولاري في قناني حجمية سعة (20) مل، واكمل الحجم الى حد العلامه بالماء المقطر وبعد مرور (15) دقيقة، تم قياس امتصاص كل محلول مقابل محلوله الصوري والنتائج مبينة في الجدول (4).

الجدول (4) تأثير كمية الكاشف

Reagent	**Methyl dopa 1ml 10 µg/ml**		**Methyl dopa 1.5ml 15 µg/ml**		**Methyl dopa 2.5ml 25 µg/ml**	
	S.B	S.W	S.B	S.W	S.B	S.W

0.5	0.135	0.211	0.186	0.298	0.205	0.331
1	0.194	0.286	0.276	0.342	0.316	0.427
1.5	0.215	0.313	0.301	0.459	0.412	0.553
2.5	0.240	0.426	0.364	0.544	0.489	0.602
3	0.237	0.411	0.352	0.514	0.456	0.625

حيث في الجدول (4) S.W يمثل طيف امتصاص المحلول الناتج مقابل الماء وS.B يمثل طيف امتصاص المحلول الناتج مقابل المحلول الصوري وكما موضح ان الحجم 2.5 مل للكاشف اعطى اعلى قيمة امتصاص لذلك تم اعتماده في التجارب اللاحقه.

اختيار أفضل عامل مؤكسد

تم دراسة افضل عامل مؤكسد بأضافة 1.5 مل من مجموعة من العوامل المؤكسده جميعها بتركيز 2×10^{-2} مولاري الى 2.5 مل من محلول المثيل دوبا 200 مايكروغرام/مل ومن ثم اضافة 2.5 مل من L–تربتوفان بتركيز 10^{-2} x1مولاري و0.5 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 مولاري في سلسلة من قناني حجميه سعة (20) مل واكمل الحجوم الى حد العلامه بالماء المقطر وبعد مرور 15 دقيقه تم قياس طيف امتصاص كل نموذج مقابل محلوله الصوري والنتائج مبينه في الجدول (5).

الجدول (5) تأثير العامل المؤكسد على الأمتصاص

Oxidizing agent	Chemical formul	λ Maxnm	Abs.
N–Bromosuccinimide	$C_4H_4BrNO_2$	532	0.485
Potassium Periodate	KIO_4	425	0.411
Frece Chloride	$FeCl_3$	496	0.175
Potassium iodate	KIO_3	–	–
Potassium persulfate	$K_2S_2O_8$	–	–

كما موضح في الجدول(5) ان أفضل عامل مؤكسد هو N– برومو سكسنيميد، لهذا تم استخدامه في التجارب اللاحقه.

تأثير كمية العامل المؤكسد

لدراسة تأثير كمية العامل المؤكسد تم اخذ حجوم مختلفة من N– برومو سكسنيميد من (0.5– 2.5) مل وبتركيز 10^{-2} x 2 مولاري واضافته الى 2.5 مل من محلول المثيل دوبا وبتركيز 200 مايكروغرام /مل في قناني حجميه سعة (20) مل، ومن ثم اضافة 2.5 مل من الكاشف L– تربتوفان بتركيز 10^{-2} x 1 مولاري و0.5 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 مولاري واكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة وبعد مرور (15) دقيقه ،تم قياس امتصاص كل محلول مقابل محلوله الصوري والنتائج مبينه في الجدول (6).

الجدول (6) تأثير كمية العامل المؤكسد

ml of N–Bromsuccinimide	Absorbance
0.5	0.325
1	0.435
1.5	0.489
2	0.461
2.5	0.458

ولوحظ من النتائج كما موضح في الجدول ان أفضل حجم للعامل المؤكسد الذي يعطي اعلى امتصاص للناتج هو (1.5) مل من N– بروموسكسنيميد.

تأثير الداله الحامضية

اختيار أفضل قاعدة

لاتمام هذه الدراسة تم استخدام 0.5 مل من كل من هيدروكسيد الصوديوم وهيدروكسيد البوتاسيوم وكاربونات الصوديوم وبتراكيز مختلفه لكل منها ولوحظ ان جميعها يسبب تعكر المحلول الناتج لذلك تم استبعاد الوسط القاعدي.

اختيار أفضل حامض

تم اجراء هذه الدراسة باستخدام ثلاث تراكيز من كل حامض الخليك CH_3COOH وحامض الهيدروكلوريك HClالتي تمت اضافتها في قناني حجميه سعة (20) مل الى المثيل دوبا وN– برومو سكسنيميد وL– تربتوفان بالتراكيز والحجوم التي تم التوصل اليها سابقا وبحجم 0.5 مل لكل من الحامضين تم اكمال الحجم في كل قنينه الى حد

العلامةبالماء المقطر وبعد مرور (15) دقيقه ,تم قياس امتصاص كل محلول مقابل محلوله الصوري عند الطول الموجي (532) نانومتر، والنتائج موضحه في الجدول (7) .

الجدول (7) اختيار أفضل حامض

Acid	Concentration (M)	V(ml)	AbS.	PH
HCl	0.01	0.5	0.403	3.07
HCl	0.1	0.5	0.421	2.60
HCl	1	0.5	0.488	1.77
CH_3COOH	0.01	0.5	0.329	3.35
CH_3COOH	0.1	0.5	0.332	3.24
CH_3COOH	1	0.5	0.347	3.13

لوحظ من الجدول اعلاه ان افضل امتصاص للناتج عند استخدام حامض HCl ويتركز 1M لذا تم اختياره في التجارب اللاحقه.

اختيار أفضل حجم حامض

تم اجراء هذه الدراسة لمعرفة تأثير كمية الوسط الحامضي، وذلك بأستخدام احجام مختلفة من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 مولاري وتتراوح هذه الأحجام بين (0.2–0.6) مل حيث اضيفت الى قناني حجمية سعة (20) مل تحتوي كل منها على 2.5 مل من المثيل دوبا بتركيز 200 مايكروغرام/ مل و1.5 مل من العامل المؤكسد N–برومو سكسنيميد بتركيز 2×10^{-2} مولاري و(2.5) مل من L– تربتوفان بتركيز 1×10^{-2} مولاري ثم اكمل الحجم الى

حد العلامة بالماء المقطر وبعد مرور 15 دقيقه، تم قياس الامتصاص لكل نموذج مقابل محلوله الصوري عند الطول الموجي 532 نانومتر والنتائج مبينه في الجدول (8).

الجدول (8) اختيار أفضل كمية حامض

ml of 1 M HCl	Absorbance	pH
0.2	0.435	2.12
0.3	0.449	1.96
0.4	0.457	1.86
0.5	0.484	1.77
0.6	0.470	1.67

من الجدول نلاحظ ان أفضل كمية حامض تعطي أعلى امتصاص هي (0.5) مل لذلك تم استخدام (0.5) مل وبدالة حامضية (1.77) في جميع التجارب اللاحقه.

تسلسل الأضافات

تمت دراسة تأثير تسلسل الأضافات وتغييرها للمواد المتفاعله على امتصاص الناتج وتم اجراء عدد من التجارب في تسلسلات مختلفة وقد وجد ان أفضل تسلسل يعطى اعلى امتصاص للناتج هو التسلسل رقم (1) لذلك تم اعتماده في جميع التجارب اللاحقه والجدول (9) يبين هذه التسلسلات وقيم الأمتصاص لكل منه.

الجدول (9) تسلسل الأضافات

Number of order	The order of addition	Absorbance
1	D+O+R+A	0.489
2	R+O+D+A	0.322
3	D+R+O+A	0.345
4	O+D+R+A	0.399
5	D+O+A+R	0.452

حيث ان O: يمثل العامل المؤكسد، R: يمثل الكاشف، D: يمثل الماده المراد تقديرها، A: يمثل الوسط الحامضي

تأثير درجة الحرارة على امتصاص الناتج

تم دراسة تأثير درجة الحرارة على امتصاص ناتج التفاعل الملون وحسب الظروف المثلى للتفاعل عند مدى من درجات الحرارية مختلفة (5–60) درجه مئوية وعند الطول الموجي (532) نانومتر، ويمكن توضيح نتائج التجارب من الجدول (10) والمبين ادناه:

الجدول (10) تأثير درجات الحرارة على الأمتصاص

Temperature C°	Absorbance
5	0.433
10	0.469
15	0.489
20	0.487
25	0.488
30	0.486
35	0.473
40	0.477
45	0.478
50	0.473
55	0.471
60	0.472

من الجدول اعلاه يتبين ان تغير درجة الحرارة لايؤثر بشكل كبير على امتصاص الناتج الملون ،وان افضل قياس للامتصاص كان في درجات الحرارة بين (15–30) در جه مئوية لذلك تم اعتماد درجة حرارة المختبر في التجارب اللاحقة.

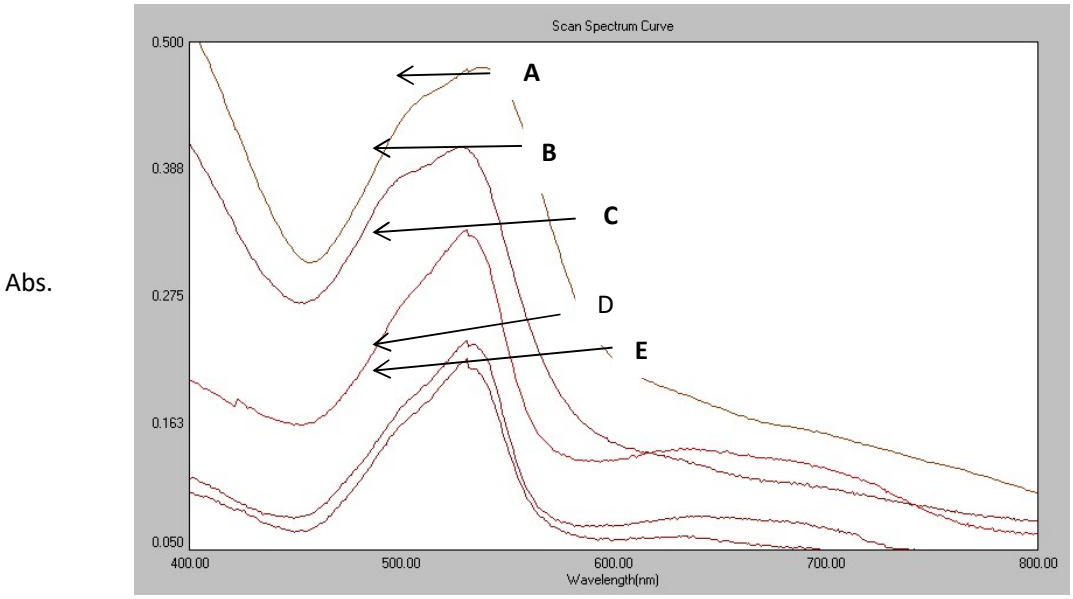
تأثير المذيبات

اجريت دراسة لتأثير بعض المذيبات على امتصاص الناتج الملون وذلك من خلال اجراء الأضافات حسب الظروف المثلى التي تم التوصل اليها ومن ثم اكمال الحجم في قنينة حجمية سعة 20 مل لحد العلامة باستخدام مذيبات مختلفة ،ومن ثم قياس امتصاص الناتج الملون بعد مرور (15) دقيقة لكل محلول محضر مقابل محلوله الصوري وتم تدوين النتائج في الجدول (11) والشكل (2).

الجدول (11) تأثير المذيبات على الأمتصاص

Solvent	λ max	Absorbance
Water (A)	532	0.488
Methanol (B)	529	0.407
Aceton (C)	531	0.334
Isopropanol (D)	531	0.235
Ethanol (E)	531	0.219

من النتائج الموضحة في الجدول (11) نلاحظ ان اعلى امتصاص للناتج في الطول الموجي (532) نانومتر عند استخدام الماء كمذيب لذلك تم اعتماد الماء لأكمال الحجم في جميع التجارب.



الشكل (2) تأثير المذيبات

استقرارية ناتج التفاعل

اجريت هذه الدراسة بأخذ ثلاث احجام مختلفة (1،2،2.5) مل من محلول المثيل دوبا وبتركيز (200) مايكروغرام /مل وكانت التراكيز النهائية للحجوم الثلاثة (10،20،25) مايكروغرام /مل على التوالي واضافة 1.5 مل من N– بروموسكسنيميد بتركيز 10^{-2} x 2 مولاري و(2.5) مل من محلول L– تربتوفان ذي تركيز 10^{-2} x 1 مولاري و(0.5) مل من محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 مولاري، وتم اكمال الحجم في القناني الحجمية سعة (20) مل لحد العلامة بالماء المقطر ومن ثم تم قياس الامتصاص للمحاليل مقابل محاليلها الصورية كل 5 دقائق حيث اعطت

التراكيز الثلاثة اعلى امتصاص بعد مرور 15 دقيقة ويبقى الناتج مستقر لمدة اكثر من 60 دقيقة وهذه المدة مناسبة لاتمام القياسات.

الجدول (12) استقرارية الناتج الملون

Time minute	Absorbance of Methyldopa		
	10 µg/ml	20 µg/ml	25 µg/ml
0	0.104	0.283	0.436
5	0.199	0.301	0.449
10	0.231	0.342	0.478
15	0.285	0.384	0.489
20	0.283	0.382	0.488
25	0.281	0.381	0.487
30	0.280	0.382	0.488
35	0.278	0.380	0.487
40	0.279	0.379	0.486
45	0.277	0.377	0.485
50	0.273	0.375	0.484
55	0.272	0.376	0.481

60	0.271	0.374	0.480

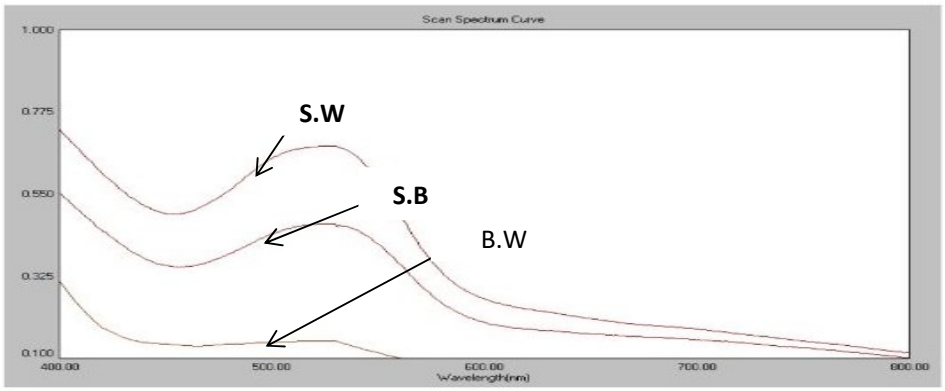
الطيف النهائي للامتصاص

بعد التوصل الى الظروف المثلى وهي استخدام (2.5) مل من محلول المثيل دوبا بتركيز (200) مايكروغرام /مل و(1.5) مل من محلول العامل المؤكسد N- بروموسكسنيميد بتركيز 2×10^{-2} مولاري و(2.5) مل من محلول L- تربتوفات بتركيز 1×10^{-2} مولاري و(0.5) مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 مولاري بدالة حامضية (1.77)، وبعد الأضافات تم اكمال الحجم الى حد العلامة في قناني حجمية سعة (20) مل بالماء المقطر وبعد مرور 15 دقيقة ،تم قياس امتصاص المحلول الناتج مقابل المحلول الصوري، وكان اعلى امتصاص عند الطول الموجي (532) نانومتر وكما موضح في الجدول (13) والشكل(3) يمثل طيف الامتصاص النهائي للمثيل دوبا.

الجدول (13) الظروف المثلى للتفاعل

Volum	Value	Anlytical parameters
2.5 ml	L-Tryptophan 2×10^{-2} M	**الكاشف المستخدم**
1.5 ml	N-Bromosuccinimide 2×10^{-2} M	**العامل المؤكسد**
0.5 ml	Acitic acid (1) M	**الوسط المستخدم**
-	532 nm	**الطول الموجي**
15 دقيقة	-	**زمن اكتمال التفاعل**
-	D+O+R+A	**تسلسل الأضافات**

درجة الحرارة	–	(30−15) C°



الشكل (3) طيف الامتصاص النهائي للمثيل دوبا

حيث ان :

S.Wيمثل المثيل دوبا بعد الاقتران مقابل الماء

S.B يمثل طيف امتصاص الناتج مقابل المحلول الصوري

B.W يمثل امتصاص المحلول الصوري مقابل الماء

منحنى المعايرة حسب طريقة العمل المتعددة

بعد تثبيت الظروف المثلى:تم اخذ سلسلة من القناني الحجمية سعة (20) مل و وضع فيها احجام من (0.2−2.6) مل من محلول المثيل دوبا بتركيز 200 مايكروغرام/ مل تراكيزها النهائيه (2−26) مايكروغرام/مل، وتم اضافة العامل المؤكسد والكاشف وبالتراكيز والحجوم تم التوصل اليها في الظروف المثلى وبعد مرور 15دقيقة تم قياس الامتصاص لكل محلول مقابل المحلول الصوري، وكما مبين في الشكلين (4) و(5) ويمثلان منحنى المعايرة وطيف الأمتصاص للمحلول المثيل دوب وكانت حدود قانون بير بين (2−26) مايكروغرام/مل، وتم حساب الامتصاصية

المولارية وقيمتها 0.3717×10^4 لتر/مول.سم، ودلالة ساندل كانت قيمتها (0.056) مايكروغرام/سم^2، ومعامل الارتباط مقداره (0.9947).

$$\varepsilon = a \times 1000 \times M$$

$$S = \frac{M}{\varepsilon}$$

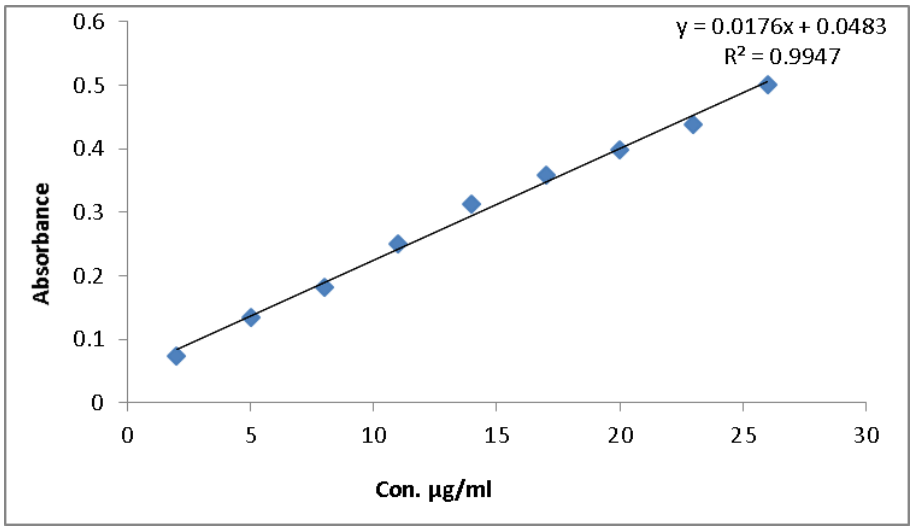
حيث ان :

ε:يمثل الامتصاصية المولارية (لتر زمول $^{-1}$.سم$^{-1}$)

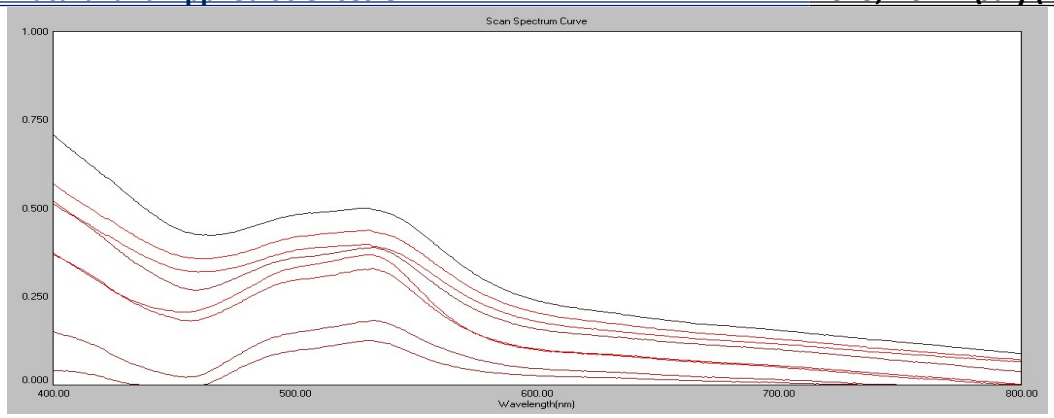
a : ميل المنحني (مل. مايكروغرام$^{-1}$.سم$^{-1}$)

M: الوزن الجزيئي الغرامي (غم.مول$^{-1}$)

S:دلالة ساندل (مايكروغرام .سم$^{-2}$)



الشكل (4)منحنى المعايرة للمثيل دوبا للتراكيز (2-26) مايكروغرام/مل



الشكل (5) طيف الامتصاص النهائي للتراكيز (2-26) مايكروغرام/مل

الدقة والتوافقية

استخدمت الظروف المثلى في طريقة العمل لاختبار الدقة التوافقية للطريقة ،حيث تم اخذ ست قراءات لثلاث تراكيز مختلفه للعقارمثيل دوبا (5،20،26) مايكروغرام/مل والتي تقع ضمن حدود قانون بير للتراكيز في منحنى المعايرة، حيث تم حساب قيمة معدل الاسترجاعية وايضا قيمة الانحراف القياسي النسبي[18,19]ومن القيم وجد ان الطريقة ذات دقة وتوافقية عاليتين وكما مبين في الجدول (14).

الجدول (14) الدقة والتوافقية

Concentration of Methyldopa (taken) µg/ml	Concentration of Methyldopa (found) µg/ml	Recovery %	Average of Recovery %	RSD %
5	4.926	98.52	98.930	1.04
20	19.869	99.345		0.35
26	25.721	98.926		0.28

حد الكشف وحد الكمي

تم حساب حد الكشف وحد الكمي [20] وذلك من خلال قياس امتصاص المحلول الصوري مقابل الماء ولست مرات في الظروف المثلى، والنتائج في الجدول (15) حيث بلغ قيمة حد الكمي (0.801) مايكروغرام /مل وحد الكشف (0.264) مايكروغرام/ مل.

LOD =3 x δ / Slope

LOQ=10 x δ / Slope

الجدول (15) حد الكشف وحد الكمي

δ	Slope	LOD	LOQ
0.00228	0.0176	0.4279	1.295

حيث ان LOD: يمثل حد الكشف.

LOQ: يمثل حد الكمي.

Slop: يمثل ميل منحني المعايرة.

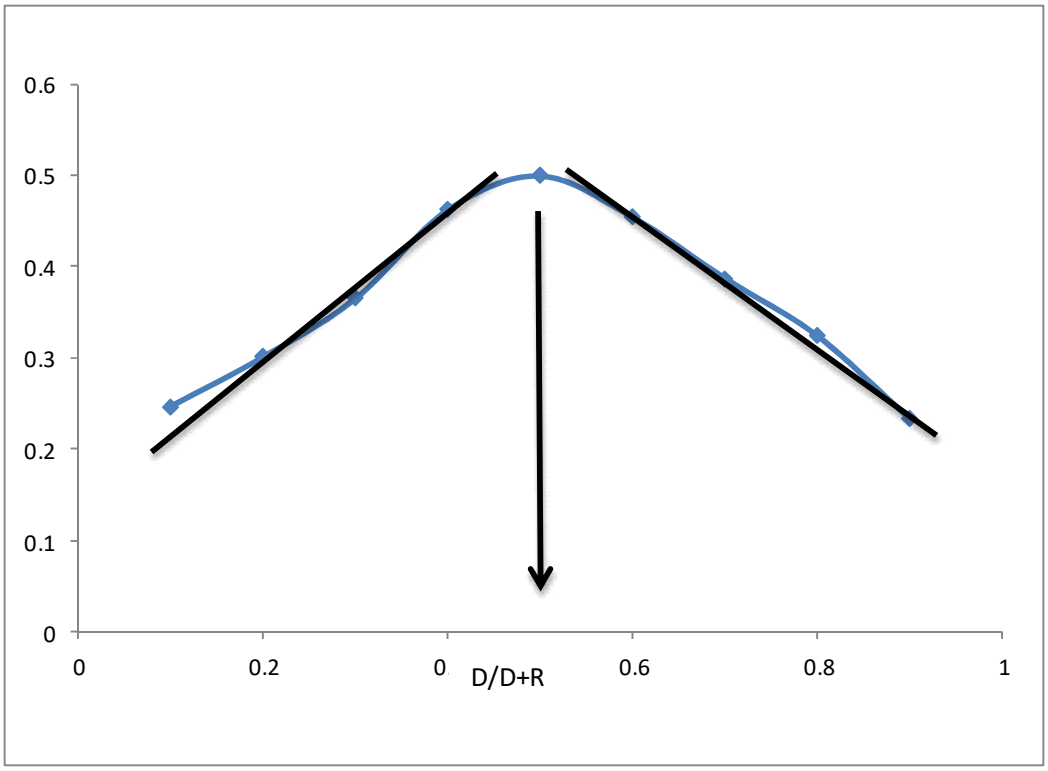
δ: يمثل الانحراف القياسي .

طبيعة الناتج المتكون

يمكن معرفة طبيعة الناتج المتكون ونسبة الارتباط بين العقار والكاشف المستخدم من خلال تطبيق طريقتي التغيرات المستمرة (طريقة جوب) وطريقة النسب المولية [21]، يجب ان يكون تركيز العقار المثيل دوبا مساوي لتركيز الكاشف L- تربتوفان 1×10^{-2} مولاري في كلا الطريقتين

في

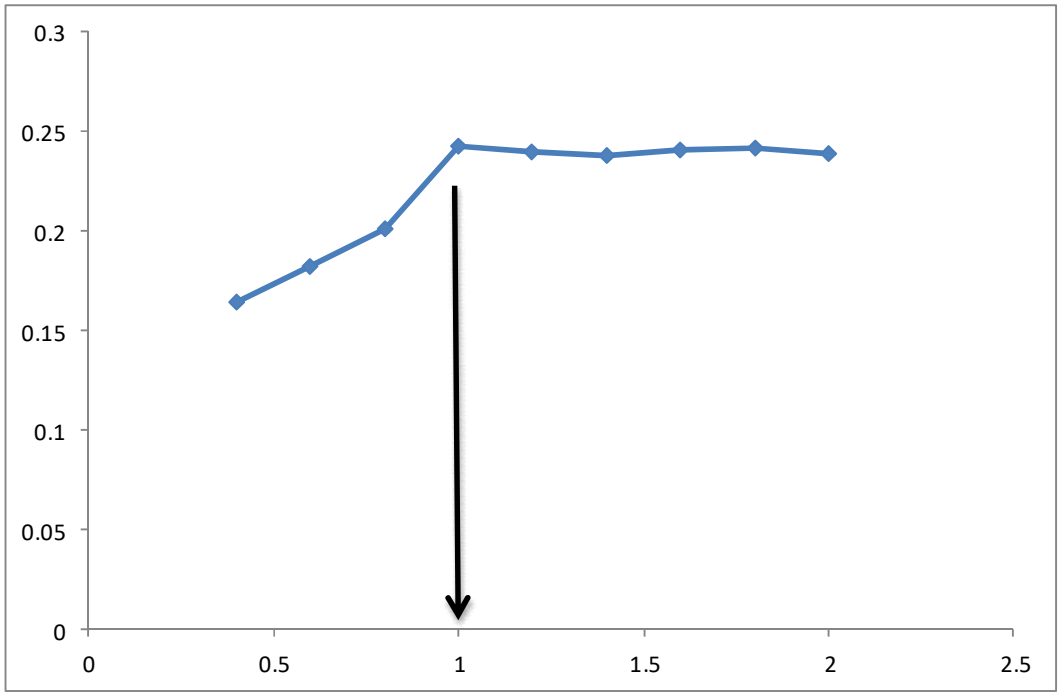
طريقة جوب تم وضع احجام مختلفة من العقار تتراوح بين (0.5-4.5) مل، وأضيفت مكملات هذه الحجوم الى حجم 5 مل من المحلول الكاشف في سلسلة من قناني حجمية سعة 20 ml مل



طريقة جوب

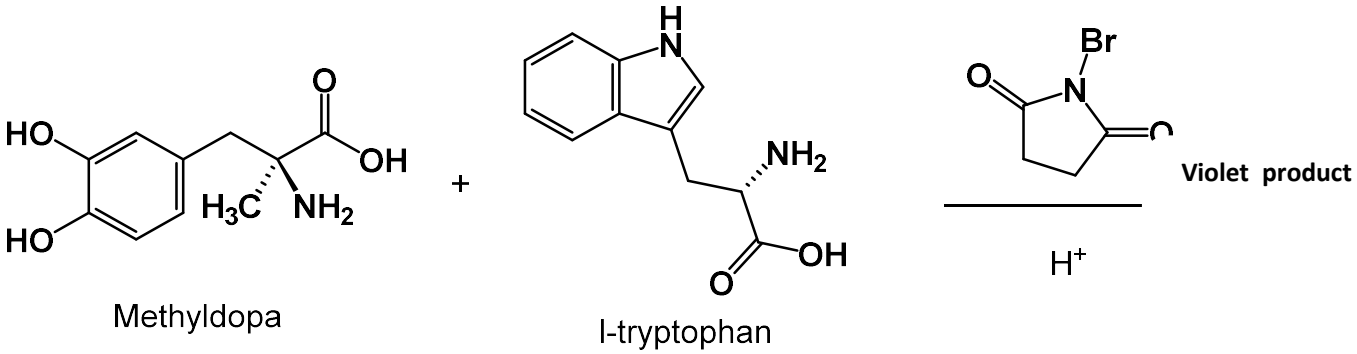
واكملت باقي الأضافات من العامل المؤكسد والوسط الحامضي حسب ما تم التوصل اليه في الظروف المثلى وهي (1.5) مل من (2×10^{-2}) مولاري، وN- برومو سكسنينميد و(0.5) مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 مولاري واكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر وبعد مرور 15 دقيقه بالماء المقطر، تم قياس الامتصاص لهذه المحاليل عند طول موجي (532) نانومتر مقابل محاليلها الصورية وكما مبين في الشكل (6).

وفي طريقة النسب المولية تم وضع 1 مل من محلول العقار في سلسلة من القناني الحجمية وبسعة (20) مل، ومن ثم اضيفت اليها حجوم مختلفة من الكاشف تتراوح بين (0.3-2) مل وبتركيز 1×10^{-2} و تم اضافة 1.5مل من العامل المؤكسد وN- برومو سكسنينميد وبتركيز (2×10^{-2}) مولاري و 0.5 مل من حامض الهيدروكلوريك بتركيز 1 مولاري واكمل الحجم الى العلامة بالماء المقطر وتم قياس الامتصاص للمحاليل بعد مرور 15 دقيقه مقابل محاليلها الصورية، وكما موضح في الشكل (7) وجد ان النسبة المولية متفقة في الطريقتين (جوب والنسب المولية) وتحقق النسبة (1:1).



الشكل (7) النسبة المولية

وعليه تكون المعادلة المقترحة كما يلي :



التطبيقات

تم تطبيق الطريقة على المستحضر الصيدلاني الحاوي على المثيل دوبا وهو حبوب الالدوميت Aldomet 250 mg.

طريقة القياس المباشرة

في هذه الطريقة تم اخذ ثلاث تراكيز من محلول المستحضر ويعامل بنفس خطوات منحنى المعايرة وتم قياس الامتصاص لها عند الطول الموجي (532) مقابل المحلول الصوري ومن ثم تم حساب معدل ست قراءات لكل تركيز من هذه التراكيز ، وحساب الاسترجاعية والانحراف القياس النسبي لكل تركيز وكما مبين في الجدول (16).

الجدول (16) القياسات المباشرة

Type of Pharaceutial	Concentration of Methyldopa (taken) µg/ml	Concentration of Methyldopa (found) µg/ml	Recovery %	Average Recovery %	RSD %
Tablet	5	5.15	103	99.92	0.643
	20	19.691	98.49		0.452
	26	25.55	98.27		0.179

في الجدول اعلاه يتبين ان قيمة معدل الاسترجاعية (99.92) في حبوب الالدوميت، مما يدل على ان الطريقة ناجحة في تقدير المثيل دوبا في المستحضرات الصيدلانية الحاوية عليه.

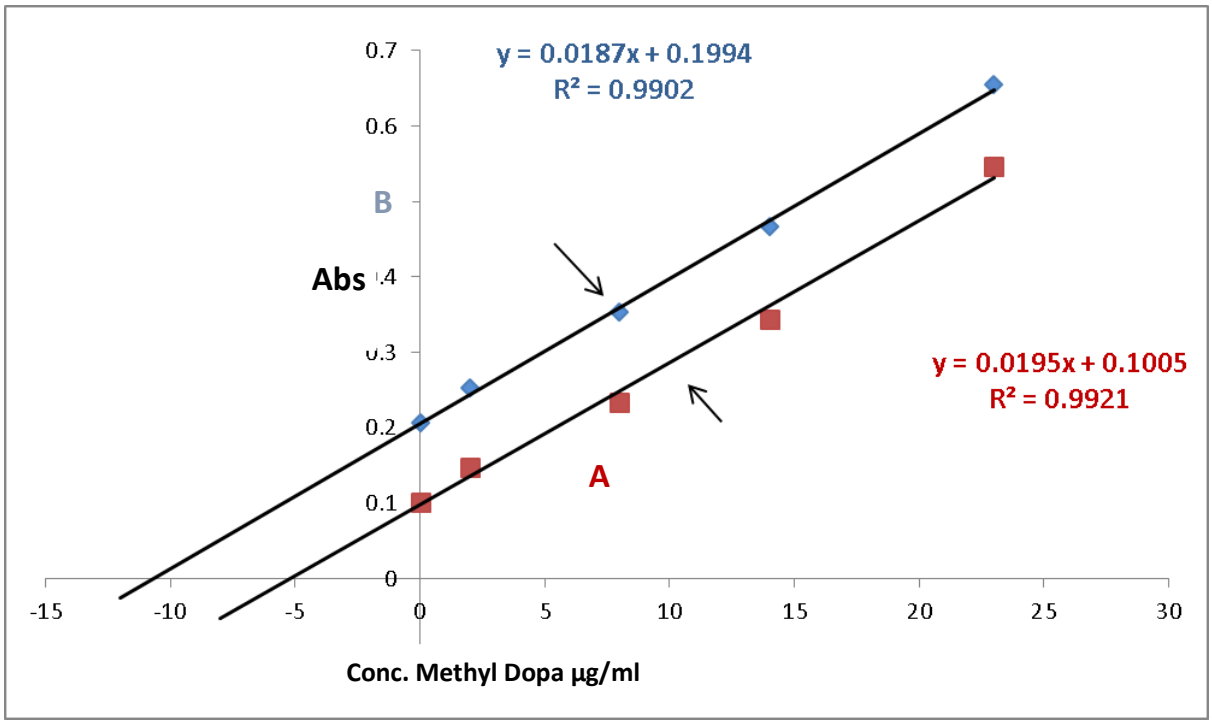
طريقة الاضافات القياسية

للتأكد من ان الطريقة المقترحة خالية من التداخلات ، تم تطبيق طريقة الاضافات القياسية [22] في تقدير المثيل دوبا في مستحضراته الصيدلانية، والطريقة تتضمن اضافة كميات ثابته (0.5 و1.1) مل من محلول المستحضر الصيدلاني المحضر بتركيز (200) مايكروغرام/مل وبتراكيز نهائية (11,5)مايكروغرام/مل في سلسلتين من القناني الحجمية سعة (20) مل، ومن ثم اضافة حجوم متزايدة (0.2، 0.8 ، 1.4، 2.3) مل من المحلول القياسي النقي للمثيل دوبا وبتركيز (200) مايكروغرام/ مل، حيث تم معاملة المحاليل اعلاه بنفس الطريقة التي تم اتباعها في منحنى المعايرة، وتم قياس معدل ست قراءات للأمتصاص لكل محلول مقابل المحلول الصوري وعند الطول الموجي (532) نانومتر والنتائج مبينه في الجدول (17) والشكل (8).

الجدول (17) الأضافات القياسية

Type of Pharaceutial	Concentration of Methyldopa (taken) µg/ml	Concentration of Methyldopa (found) µg/ml	Recovery %
Tablet	5	5.153	103.06
	11	10.66	96.91

من الجدول اعلاه يتبين ان طريقة الاضافات القياسية متفقة مع الطريقة المباشرة ضمن المدى المقبول للخطأ.



الشكل (8) الأضافات القياسية للمثيل دوبا في حبوب الالدوميت

حيث ان:

A: تمثل منحنى الأضافة القياسية للتركيز (5) مايكروغرام/ م.

B: تمثل منحنى المعايرة للتركيز (11) مايكروغرام /مل.

مقارنة الطريقة مع الطرق الأخرى

اجريت مقارنة للنتائج التحليلية للطريقة الحالية لتقدير مثيل دوبا مع طرائق تقدير طيفية اخرى والنتائج موضحه في الجدول (2-18).

الجدول (18) مقارنة الطريقة مع الطرائق الأخرى

Analytical Parmeters	Present method	Literture method [12]	Literture method [11]
λ max	532	480	565
Color	Violet	Orange	Violet
Reagent	L-Tryptophan	O-Toludine	di-aminothiazol
Beers Law rang μ/ml	2-26	0.5-20	2.5-62
Solvent	Water	Water	Water
pH	1.77	Equal	Alkaline
ε(L.mol^{-1}.cm^{-1})	0.3717 x 10^4	1.47 x 10^4	0.382 x 10^4

T (C^0)	15–30	Room temperature	–

من الجدول اعلاه يتبين ان الطريقة المقترحة تعتبر جيدة لانها لا تحتاج الى مذيبات عضوية بل تتم باستخدام الماء اي انها اقتصادية وعملية في نفس الوقت وتتم في درجة حرارة المختبر اي لاتحتاج الى تثبيت درجة الحرارة اما المدة الزمنية لاستقرار الناتج تعتبر كافية لاجراء العديد من القياسات . بالأضافة الى دقة الطريقة ونسبة الخطأ جيدة مقارنة مع الطرق الأخرى.

الاستنتاجات

طورت طريقة طيفية بسيطة وحساسة لتقدير المثيل دوبا بتفاعلات اقتران تأكسدي حيث تعتمد الطريقة على تفاعل المثيل دوبا مع الكاشف L– تربتوفان، وبوجود N– برومو سكسنيميد كعامل مؤكسد وفي وسط حامضي، وكان الناتج بنفسجي اللون، له اعلى امتصاص عند الطول الموجي (532) نانومتر، ومدى التراكيز لقانون بير بين (2–26) مايكروغرام /مل، وقيمة الأمتصاصية المولارية (0.3717×10^4) لتر /مول .سم، ودلالة ساندل قيمتها (0.056) مايكروغرام/ سم^2. وحد الكشف للطريقة بلغت (0.4275) مايكروغرام/مل، والحد الكمي (1.295) مايكروغرام/مل، وقيمة الاسترجاعية بين 98.52–99.345 C%، اما الانحراف القياسي فلا يتحاوز (1.04) % ، وتم تطبيق الطريقة بنجاح على المثيل دوبا في مستحضره الصيدلاني بشكل حبوب

المصادر

1. British Phamacopeia, CD- Rom 6th ed system. simulation Ltd., the Stationary office London 2009.
2. Nagam S. T., Elham N. M. Annals of Tropical Madicine and public Health, 2021, 24:528.
3. Mcevoy, G.K. (ed). American Hospital Formulary Service - Drug Information. Bethesda, MD: American society of Health -System pharmacists, Inc. (plus supplements) ., p. 1510, 1998,
4. Budavari, S. (ed). The Merckindex - An Enagchopedie of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Whitehouse Station, NJ Merck and Co., Inc, p. 1034, 1996.
5. AL. Da'any M. A., Moswi, R.F., g Chemistry and Materials Research, 2013, 3-31.

6. Fauladgar M., Ahmadzaden S., Application of ananostru ctured Sensor based on Nio nanopartiches modified Carbon Paste electrode for determination of methyldope in the Presence of folic acid, Applied surface science, 2016, 379:150.
7. Mah G.T, Tejani AM, Musini VM "Methyldopa for Primary hypertension". (October 2019).
8. L.K. Abdulrahman, A. M. AI-Abachi, M.H. AL-Qaissy. "Flow Injection Spectrophotometric determination of some Catecholamine drugs in pharmaceutical Preparations via oxidative Caupling reaction with p-Toluidine and sodium periodate", J. of Um. Salama for Science, , (2005), 2(1), 124-130.
9. Gadkariem, E.A., et al."A new spectrophotometric method for the determination of methyldopa "Saudi pharmaceutical journal 17.4:289-293.(2019).
10. A. Abdul - Monem and E. Bahget, "spectrophotometin micro determination of methytdopa and etilefrine hydrochloride using copper (II) neocuproine reagent in pure form and pharmaceutical formulations", Der Pharma cia Lelter, (2018) , 10 (8), 17-32.
11. N.K. Abood, "Spectrophotometric determination of amino and phenolic drugs in pharmaceutical preparation using flow injection and clow point methods", Ph. D. Thesis Mustansiryah University(2020).
12. A. A. AL-Dáamy and R.F. Al Moswi, "Spectrophotometric determination af methyldapa in Pharmacentical preparation via axidative Coupling organic reaction", Materials Res, (2013), 3(5).
13. GadKariem, E. A. et al "Anew spectrophotometrie method for the determination of methyldopa". Saudi pharmaceutied Jourmal 17, 4:289-293, (2019).
14. Tajik, Somayeh, Mohammad Ali Taher, and Hadi Beitollarhi "First report for simultaneous defermination of Methyl dope and hydrochtorothinzid, using ananostructured based electrachemical Sensor" Journt of Electroanalytical Chemistry 704 p137 - 144 (2013).
15. Muzzi, Chiara, et al. "Simultaneous determination of serum Concentrations of levodopa, dopamine, 3-o-methyl dopa and α-mettyldlopa by HPLC". Biomedicine and pharmacotherapy 62.4, P-253-258. (2018).
16. Haynes, William M. , ed. CRC HandbooK of Chemistry and physics (97 th ed.) . CRC press. p. 5-88.(2016).

17. LV, Li, et al. "LC-MS - MS simultaneous determination of La -dopa and its prodrug L- dopa n-pentyl ester hydrochoride in rat plasma "Chromatographia 72-3 -4 (2010)-239-243.

18. ثابت سعيد الغبشة ,مؤيد قاسم العباجي , "التحليل الوصفي والحجمي " ,دار الكتب للطباعة والنشر ,جامعة موصل 1989,ص-421 . 413

19. D.B Hibbert "Quality Assurance for the Analytical Chemistry Laboratory ",Oxford University Press,Inc,New York, USA 2007,p254.

20. Miguel valcarce, Cases,Angelal. Lopez-Lorenta,M.Angeles Lopez-jimenez"foundations of Analytical chemistry"ATeaching –learning Approach 2017 Edition ;spriger ,p.92-104,https://doi.org /10.1007/978-3-319-62872-1.

21. عبد المحسن عبد الحميد الحيدري ,(التحليل الكيميائي الألي) المكتبة الوطنية , دار الكتب والوثائق ,جامعة بغداد .1999,ص-177 .174

22. D.A. Skoog, D.M.West,F.J.Holler,S.R. Crouch "Analytical Chemistry,"7th Edn.,Sannders College publishing ,philadelphia ,2001,P152-155,135-139.

Abstract:

This chapter included the development of a spectrophotometric method for the determination of methyldopa `by oxidative coupling with the reagent L-tryptophan in an acidic medium (hydrochloric acid) and in the presence of N-bromosuccinimide as an oxidizing agent, to form a violet-colored product with the highest absorption at the wavelength of 532 nm, and with a molar absorbance of 3.717 x103 L/mol.cm, and Beer's law is followed in a range of concentrations (2-26) µg/ml, Sandel's index value is 0.056 µg/cm2, and the method was characterized by accuracy and high compatibility as the recovery value reached 98.52-99.345%, and the relative standard deviation was not It exceeds 1.04%, with a detection limit of 0.4275 µg/ml and a quantitative limit of 1.295 µg/ml. It was successfully applied to pharmaceutical preparations of methyldopa in pill form.

Keywords : spectrophotometric determination , oxidative coupling , methyldopa , L-tryptophan.

Spectrophotometric method for the determination of methyldopa in its pure form and in its pharmaceutical formulations using the oxidative coupling reaction

Iman Musa Yadkar [(1)],Sarhan Ali Salman [(2)], Shahla Jamal Shakur [(3)]

[1] College of Education for Girls \ Department of Chemistry \ University of Tikrit [2] College of Science \ Department of Chemistry \ University of Tikrit [3] College of Science \ Department of Chemistry \ University of Kirkuk

Emanmusa610@gmail.com , Sarhan.ali@tu.edu.iq , shahla.jamal@uokirkuk.edu.iq