College of Basic Education Researchers Journal. ISSN: 7452-1992 *Vol. (19), No.(2), (2023)*

CC BY

تقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد طيفياً بطريقة غير المباشرة باستخدام صبغة الإريوكروم بلاك-T

زينب ميسر زيدان الطائي انتصار عادل شهاب
الجامعة الموصل/ الكلية التربية للبنات/ القسم الكيمياء

(قدم للنشر في ٢٠٢٣/٢/١٣ قبل للنشر في ٢٠٢٣/٣/٢٨)

الملخص

تضمن ضمن البحث وصف طريقةٍ طيفيةٍ بسيطة غير مباشرة لتقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد إعتمدت على أكسدة البايريدوكسين بكمية من N–بروموسكسينمايد بوجود حامض الهيدروكلوريك والكمية الفائضة منه تُؤكسد صبغة الإريوكروم بلاك –T، وقيس الامتصاص عند ٥١٧ نانومتر، وكان مُعامل الامتصاص المولاري ٨×١٠^{3} لتر/ مول. سم ، دلالةُ على حساسية الطريقة . والامتثال لقانون بير لتراكيز تراوحت (٢–١٤) مايكروغرام. مل$^{-1}$،تميزت الطريقة بدقة والتوافقية الجيدتين ، حيثُ بلغت الإسترجاعية ٩٩.٠٧٪. بينما بلغ الإنحراف القياسي النسبي اقل من٠.٦٣. وتم تطبيق الطريقة على المستحضرات الصيدلانية للبايريدوكسين هيدروكلوريد. وبهذا يمكن القول ان العمل على هكذا تجارب مستقبلا يكون ذو فائدة نسبة الى الطريقة الاقتصادية التي تم اجراء البحث فيها كذلك بامكان الباحثين في حقل الكيمياء التحليلية اتباع الخطوة المتعبة في هذا البحث مع صبغات اخرى. وكذلك يمكن ان تجرى نفس الطرق المتبعة مع مستحضرات صيدلانية اخرى محلية او عالمية المنشأ. ويمكن من خلالها اجراء مقارنة. اذن يجب العمل بهذا الاتجاه للوصول الى افضل النتائج الممكن باقل تكاليف .

الكلمات المفتاحية: المطياف الفوتومتري،البايريدوكسين هيدروكلوريد ،الإريوكروم بلاك–T، قانون بير

College of Basic Education Researchers Journal. ISSN: 7452-1992 *Vol. (19), No.(2), (2023)*

Indirect Spectrophotometric Determination of Pyridoxine Hydrochloride Using Eriochrome Black-T

Zeinab M Zaidan Altaie **Intisar Adil Shihab Al- Hammoodi**

University of Mosul College of Education for Girls

Department of Chemistry

Abstract

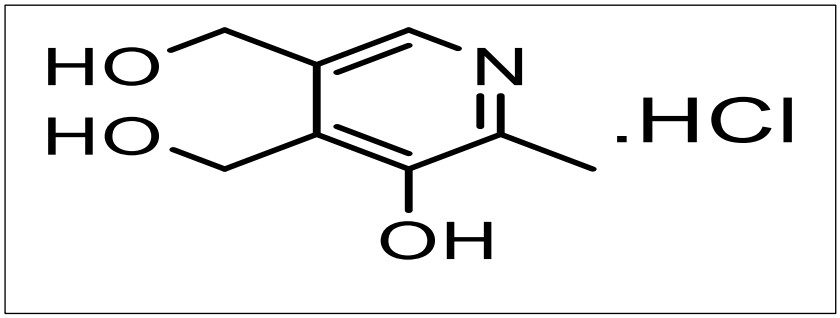
The research included the description of a simple indirect spectrophotometric method for the determination of pyridoxine hydrochloride, which depended on the oxidation of pyridoxine with an amount of N-bromosuccinimide in the presence of hydrochloric acid and the excess amount of it oxidized the dye Eriochrome black-T. The absorption was measured at 517 nm, and the molar absorption coefficient was 8 × 103 L / mol. cm, indicating the sensitivity of the method. Compliance with Beer's law for concentrations ranged from (2-14) micrograms. ML-1, the method was characterized by good accuracy and compatibility, with a recoverability of 99.07%. The relative standard deviation was less than 0.٦٣. The method was applied to pharmaceutical preparations of pyridoxine hydrochloride. So, what have been mentioned above show the importance of doing such researches in this simple and sensitive ways. Researchers within the field of analytical chemistry can follow the same procedures with different dyes .ِ Also, other pharmaceutical preparations (of local and international sources) can be worked on holding a comparative study. So, things should be in this direction to reach the best results with low costs.

Key words: spectrophotometric, pyridoxine hydrochloride, Eriochrome black-T, Beer's law

المقدمة

يُطلق على البايريدوكسين هيدروكلوريد اسم فيتامين B_6 ، وهو عبارة عن مسحوق ذو لون ابيض له ذوبانية عالية في الماء وغير ذائب في الكحولات ، يعمل البايريدوكسين هيدروكلوريد على زيادة إنتاج الخلايا الحمراء في الدم ويساعد في إنتاج الحامض النووي ، ويستخدم لإيقاف القيئ لدى النساء الحوامل . إن نقص هذا الفيتامين يسبب فقر الدم وتقرحات في الفم ومشاكل جلدية والجرعة الزائدة منه تسبب فقدان الإحساس بالقدمين وعدم التوازن وتلف بالأعصاب (Goodman واخرون،2018)

يمتلك البايريدوكسين هيدروكلوريد الصيغة التركيبية الأتية:(British pharmacopoeha،٢٠٠٩).



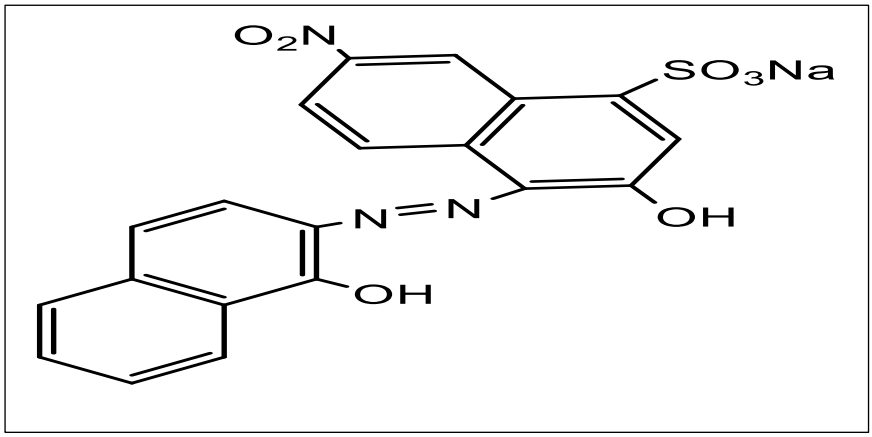
M.wt=205.638g/mol

(5-hydroxy-6- methyl pyridine -3,4-diyl) Dimethanol hydrochloride

تم تقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد بطرائق طيفية منها طريقة الأزوتة والاقتران (Obed Agha،2010) و(Abdulkadir،2010) وتم تقديره باستخدام تفاعل الاقتران التاكسدي (Al-Shreify،٢٠١٢) و(Khaleel واخرون،٢٠١٦) و(Hamed واخرون،٢٠١٨) وتم تقدره بطريقة التعويض الالكتروفيلي (Shehab واخرون،٢٠٢٠) وقدر بتفاعل نقل الشحنة (Khudhair واخرون،٢٠١٩) وتم تقديره بطريقة تفاعل نقل البروتون(Saleem،٢٠٢٢) وكذلك تم تقديره بطريقة غير مباشرة (Ahmed،٢٠٢١). وقدر بتقنية الفولتامتري النبض التفاضلي(Kuzmanovic،٢٠١٦) كما تم تقديره باستخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائل عالي الأداء(Ravichandran،٢٠١٨).

صبغة الإريوكروم بلاك –T واستخداماتها :

عُرفت بلونها الأزرق وكونها ازوية وتستخدم في تسحيحات تكوين المعقدات . وعند تفاعلها مع الكالسيوم او المغنيسيوم تعطي معقد لونه احمر وتتحول عند نقطة النهاية الى لون ازرق و تمتلك الصبغة الصيغة التركيبية الأتية (Al-Sabha واخرون ،٢٠٢٠).



Mwt=461.381g/mol
3-hydroxy-4-[(1-hydroxy-2-naphthalnyl)azo]-7-nitro-1-naphthylene sulfonic acid mono sodium salt

الجزء العملي :

الأجهزة المستخدمة:

لإجراء القياس الطيفي للمحاليل استخدم جهاز المطياف الفوتومتري ثنائي الحزمة نوعه " **Shimadzu UV– 1800spectrophotometary** " باستخدام الخلايا المصنوعة من الزجاج نوع "**glass**" عرض ١سم ، ووزنت المواد بميزانٍ حساس نوعه "**ae ADAM**"، واستخدام الحمام المائي نوع "**elektro–mag** " لإجراء عملية تسخين المحاليل.

محاليل المواد الكيميائية المستخدمة

المواد المستخدمة جميعها كانت بنقاوة عالية .

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

حُضر المحلول بإذابة ٠.٠١ غرام من البايريدوكسين هيدروكلوريد النقي بكمية قليلة من الماء المقطر ثم نقله الى القنينة الحجمية واكمل الحجم بالماء المقطر الى ١٠٠ مللتر .

محلول صبغة الاريوكروم بلاك – T (EBT) (٥٠٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$)

حُضر محلول الصبغة بإذابة ٠.٠٥ غرام من المادة النقية في كمية قليلة من الماء المقطر ثم نقله الى القنينة الحجمية واكمل الحجم بالماء المقطر الى ١٠٠ مللتر.

محاليل العوامل المؤكسدة

حُضرت محاليل العوامل المؤكسدة (بيريودات البوتاسيوم وN–بروموسكسيناميد وكرومات البوتاسيوم) بتركيز ٥×١٠$^{-3}$مولاري وذلك بإذابة كميات مناسبة من كل عامل بالماء المقطر ثم نُقلت المحاليل الى القناني الحجمية واكمل الحجم بالماء المقطر الى ١٠٠ مللتر.

محاليل الحوامض

حُضرت محاليل الحوامض (حامض الهيدروكلوريك وحامض الفسفوريك وحامض الكبريتيك وحامض النتريك) بتركيز ١.٠مولاري وذلك بإذابة الكميات المناسبة من كل حامض بالماء المقطر في القناني الحجمية سعة ١٠٠ مللتر.

محاليل المواد الفعّالة سطحياً

حُضرت جميع المحاليل (Tween 20,SDS,CPC) بتركيز ٠.١ %، وذلك بإذابة ٠.١ غرام من كل عامل شد سطحي بالماء المقطر، ثم نُقلت المحاليل الى القناني الحجمية واكمل الحجم بالماء المقطر الى ١٠٠ مللتر.

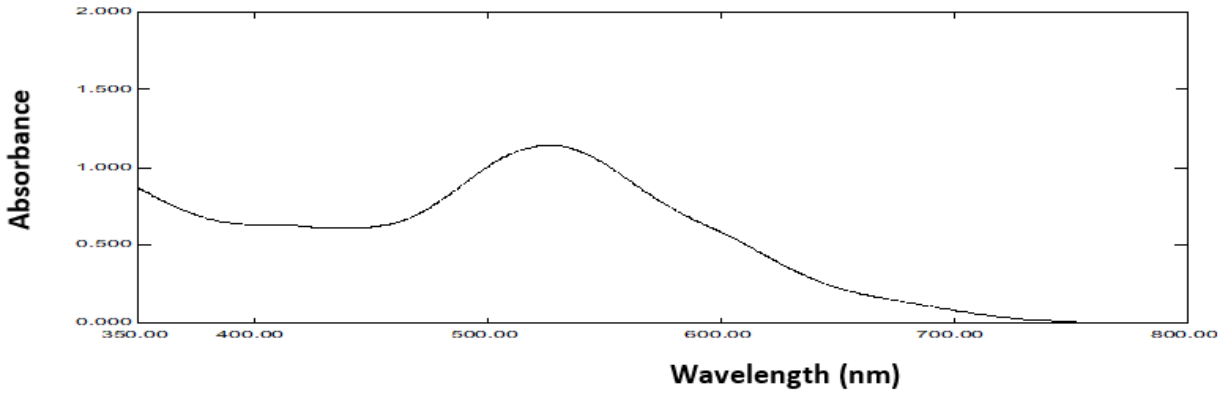
محلول هيدروكسيد الصوديوم (١.٠ مولاري)

حُضر المحلول بإذابة ٤.٠ غرام من المادة النقية في ١٠٠ مللتر من الماء المقطر .

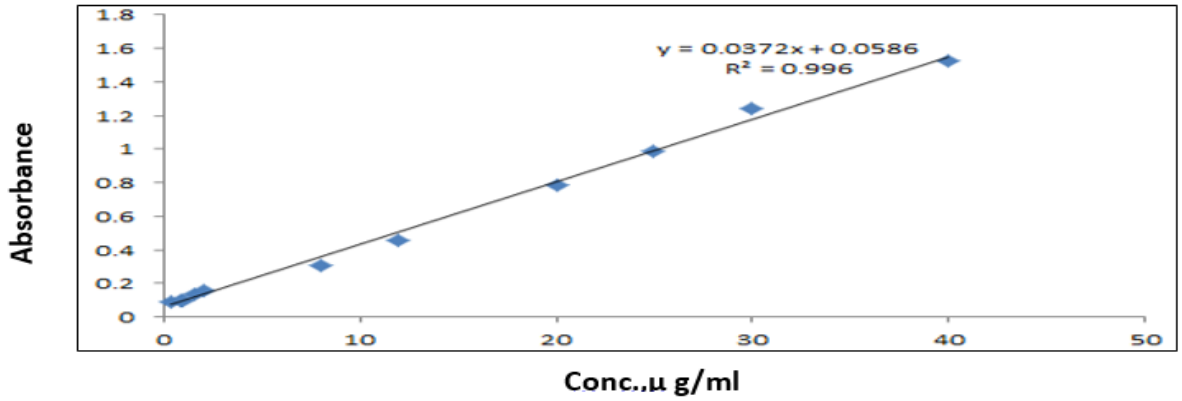
الدراسة التمهيدية

بهدف تقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد بالشكل النقي وفي مستحضراته الصيدلانية بطريقة طيفية غير مباشرة ، تم إجراء عدة تجارب لإختبار إمكانية استخدام صبغة الاريوكروم بلاك–T(EBT) بالإعتماد على عملية الأكسدة . تم عمل المنحني القياسي للصبغة من اجل الحصول على الكمية المثلى من الصبغة تعطي اقصى امتصاص لذلك أُخذت حجومٍ مُتزايدة (٢–٠.٠٢) مل من صبغة الاريوكروم بلاك –T تركيزها ٥٠٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$ وإضافتها الى القناني الحجمية وإكمال الحجم بالماء المقطر الى ٢٥ مللتر. فوُجد أن الصبغة تعطي اعلى امتصاص عند ٥١٧ نانومتر كما موضح في الشكل (1) .

والإمتثال لحدود بير للصبغة كان ضمن التراكيز (٠.٤-٤٠) مايكروغرام . مل$^{-1}$، الشكل (٢) يُوضح اعلى قيمة امتصاص للصبغة أعطاها التركيز ٤٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$ وعليه أُعتمد في الدراسات اللاحقة . وبعدها أُخذت الكمية المثلى من الصبغة لإجراء إختبار تفاعل الأكسدة في الوسطين (الحامضي والقاعدي) كلٌ على انفراد وذلك بإضافة ١.٠ مللتر من محاليل تركيزها ١.٠ مولاري من حامض الهيدروكلوريك وهيدروكسيد الصوديوم وبوجود كميات مولارية من العامل المؤكسد. وُجد أن الوسط الحامضي هو الأفضل في قصر الصبغة كونه اعطى اعلى قيمة امتصاص. وعند مُفاعلة كميات مايكروغرامية من (البايريدوكسين هيدروكلوريد) مع الكميات المثلى من كل من الصبغة والعامل المؤكسد وفي وسطٍ حامضي في القناني الحجمية وإكمال الحجم بالماء المقطر الى ٢٥ مللتر تبين أنه (كلما زاد تركيز البايريدوكسين هيدروكلوريد لُوحظ الزيادة الخطية في الامتصاص لصبغة الإريوكروم بلاك-T) عند٥١٧ نانومتر لذلك يمكن استخدام الطريقة في تقدير الدواء ومستحضراته الصيدلانية .



شكل (١) طيف امتصاص ٤٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$ لصبغة الاريوكروم بلاك -T



شكل (٢) المنحني القياسي لصبغة الاريوكروم بلاك –T

ضبط الظروف المثلى

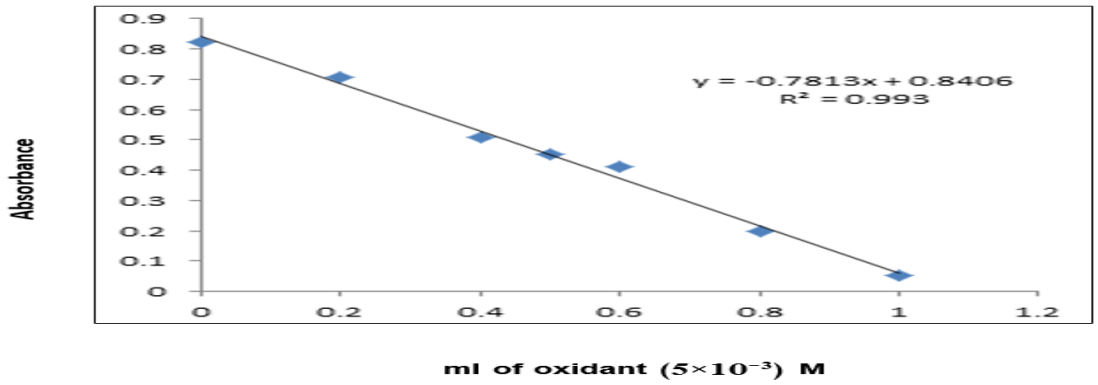
تأثير نوع وكمية العامل المؤكسد في قصر صبغة الاريوكروم بلاك –T

دُرست مجموعة مختلفة من العوامل المؤكسدة المُحضرة بتركيز ثابت مقداره ٥×١٠$^{-٣}$مولاري حيث تم إضافة كميات مايكروغرامية منها الى الكمية المثلى من الصبغة والإنتظار مدة خمسُ دقائق وبعدها إضافة ١.٠ مللتر من حامض الهيدروكلوريك بتركيز ١.٠ مولاري، والتخفيف بالماء المقطر في القناني الحجمية الى حد ٢٥ مللتر وقيس الامتصاص بعد عشرُ دقائق من التخفيف عند ٥١٧ نانومتر ويبين الجدول (١) أن N–بروموسكسيناميد كان الأفضل في قصر الصبغة .

Oxidant 5×10^{-3}M	without	NBS	KIO_4	K_2CrO_4
Absorbents	1.085	0.198	0.348	0.495

جدول (١) تأثير العوامل المؤكسدة في قصر صبغة الاريوكروم بلاك –T

ومن اجل الحصول على الحجم الأمثل من العامل المؤكسد N–بروموسكسيناميد أُخذت حجوم متزايدة (٠–١) مللتر وبإتباع الخطوات المذكورة انفاً. يوضح الشكل (٣) أن الكمية المثلى لقصر الصبغة هي ١.٠ مللتر وعليه أُعتمدت بالدراسات اللاحقة .



شكل (٣) تأثير كمية العامل المؤكسد في قصر ٤٠ مايكروغرام . مل$^{-١}$ من صبغة الاريوكروم بلاك –T

تأثير تراكيز مختلفة من العامل المؤكسدN–بروموسكسينااميد

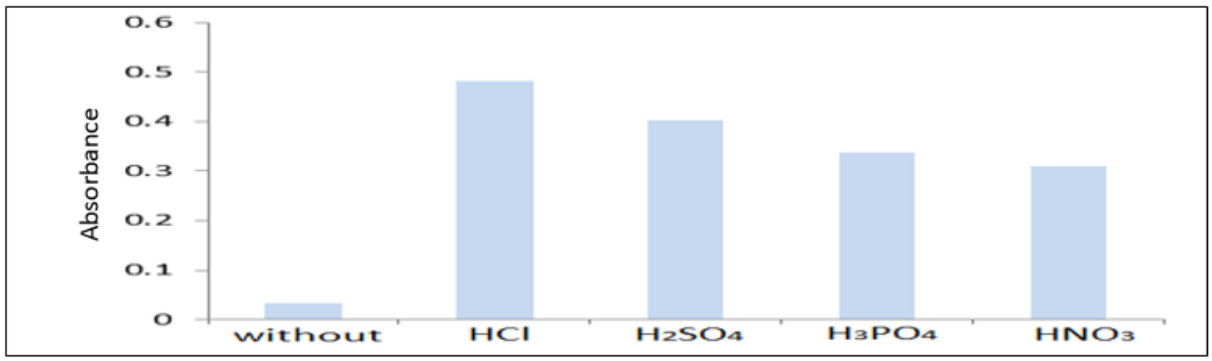
أُضيفَ ١.٠ مللتر من تراكيز مُختلفة من N– بروموسكسينااميد تراوحت من ٥×١٠$^{-٣}$–٢×١٠$^{-٢}$ مولاري الى الكمية المثلى للصبغة في حجمٍ نهائي مقداره ٢٥ مللتر وبوجود ١.٠ مللتر من حامض الهيدروكلوريك تركيزه ١.٠ مولاري ، وقيس الامتصاص عند ٥١٧ نانومتر. والجدول (٢) يبين أن التركيز ٥×١٠$^{-٣}$ مولاري كان الأمثل لكونه اعطى اقل امتصاص واعلى قصر للصبغة، وتم إعتماده في الدراسات اللاحقة .

جدول (٢) تأثير تراكيز العامل المؤكسد N– بروموسكسينااميد

1.0 ml of NBS(M)	5×10^{-3}	2×10^{-3}	5×10^{-4}	2×10^{-4}	5×10^{-2}	2×10^{-2}
Absorbance	0.052	0.330	0.059	0.392	0.065	0.360

اختيار الحامض المناسب

لِكون صبغة الإريوكروم بلاك–T تتأكسد في وسطٍ حامضي ، تمت دراسة أنواعٍ مختلفة من الحوامض(حامض الهيدروكلوريك وحامض الكبريتيك وحامض الفسفوريك وحامض النتريك) في التقدير حيث تم إضافة ١.٠ مللتر من كل حامض بتركيز ثابت ١.٠ مولاري، كلٌ على انفراد الى القناني الحجمية سعة ٢٥ مللتر المُحتوية على كمية مايكروغرامية (١٠ مايكروغرام . مل$^{-١}$) من البايريدوكسين هيدروكلوريد وبوجود كلٌ من الصبغة والعامل المؤكسد بكمياتها المثلى. وقيس الامتصاص بعد التخفيف بالماء المقطر عند ٥١٧ نانومتر، ويُوضح الشكل (٣) أن حامض الهيدروكلوريك هو الأمثل في عملية الأكسدة لِكونه اعطى اقصى امتصاص وعليه أُستخدم في الدراسات اللاحقة.



الشكل (٣) تأثير نوع الحامض

تأثير تركيز وكمية حامض الهيدروكلوريك

للتوصل الى التركيز الأمثل من حامض الهيدروكلوريك حُضرت منه تراكيز مختلفة تراوحت (٠.٥ –٣) مولاري وتمت إضافة١.٠ مللتر من كل تركيز الى القناني الحجمية سعة ٢٥ مللتر المُحتوية على ١٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$ من البايريدوكسين هيدروكلوريد وإضافة 1.0 مللتر من N– بروموسكسينيميد تركيزه ٥×١٠$^{-3}$ والإنتظار مُدة خمسُ دقائق، يليها إضافة ٤٠ مايكروغرام. مل$^{-1}$ من صبغة الاريوكروم بلاك T– وقيس الامتصاص عند ٥١٧ نانومتر بعد عشرُ دقائق من إكمال حجم القناني بالماء المقطر. والجدول (٣) يبين أن التركيز ١.٠ مولاري كان الأمثل. وعليه تم إعتماده في الدراسات اللاحقة .

جدول (٣) تأثير تركيز حامض الهيدروكلوريك

Molarity of HCl	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Absorbance	0.479	0.482	0.431	0.375	0.317	0.261

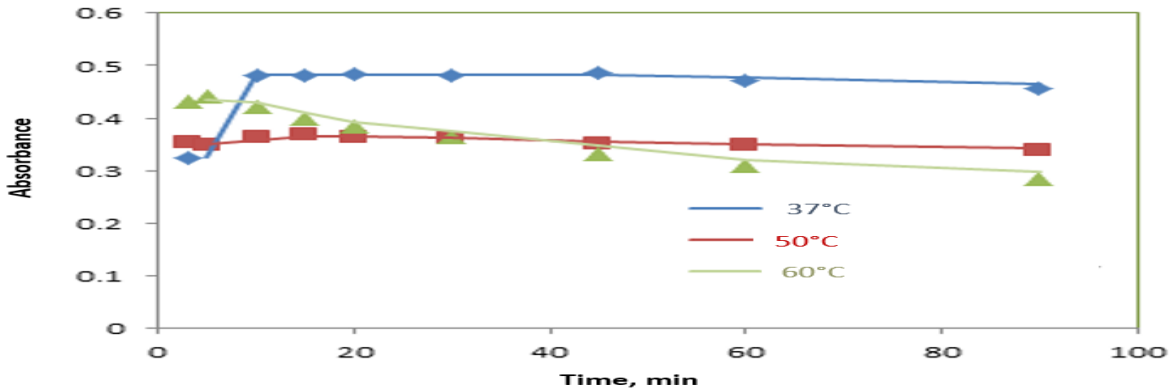
وللتوصل الى الحجم الأفضل من الحامض أُخذت حجوم متزايدة تراوحت بين (٠.٥–٣.٠) مللتر بتركيز ١.٠ مولاري وبإتباع الإضافات ذاتها في الخطوة السابقة ، وُجِد ان ١.٠ مللتر اعطى اعلى امتصاص وهو المُتبع في دراسات تثبيت الظروف . والجدول (٤) يُبين الحجم الأفضل من حامض الهيدروكلوريك.

جدول (٤) تأثير حجم حامض الهيدروكلوريك

Volume of HCl ml	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Absorbance	0.473	0.485	0.462	0.415	0.296	0.250

تأثير درجة الحرارة والزمن على تفاعل الأكسدة وإستقرارية صبغة الاريوكروم بلاك –T

دُرس تأثير درجـة الحرارة وزمن الاستقرار للناتج عند الدرجات الحرارية (37 °م، 50 °م ،٦٠°م) بوجود كميـــة ثابتة من البايريدوكسين هيدروكلوريد ١٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$ و١.٠ مللتر بتركيز ١.٠ مولاري من حامض الهيدروكلوريك ويتبعها إضافة ١.٠ مللتر من العامل المؤكسد N– بروموسكسيناميد والإنتظار مدة خمسُ دقائق ثم إضافة الكمية المثلى لصبغة الاريوكروم بلاك –T وقيس الامتصاص عند ٥١٧ نانومتر بعد إكمال الحجم بالماء المقطر الى ٢٥ مللتر. والشكل (٤) يوضح الدرجة الحرارية المُثلى في إستقرارية وتقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد وهي درجة حرارة المختبر (٣٧ °م) لِكونها أعطت اعلى امتصاص بعد عشرُ دقائق من بدء التفاعل .



شكل (٤) تأثير درجة الحرارة وزمن الاستقرار

تأثير المادة الفعّالة سطحياً

لِمعرفة تأثير مواد الشد السطحي على امتصاص صبغة الاريوكروم بلاك–T عند تقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد، دُرس أنواعٍ مُختلفة منها وذلك بإضافة ١.٠ مللتر من كل مادة بتركيز ٠.١ %. والجدول (٥) يبين التأثير السلبي لتلك المواد . لذلك أُستُبعدت من الدراسة .

جدول (٥) تأثير المواد الفعّالة سطحياً

Surfactant	With out	CPC	SDS	Tween-20
Absorbance	0.482	Turbid	0.392	0.272

تأثير تسلسل الإضافة

تم دراسة خمسُ تسلسلات إضافة متغيرة الترتيب للحصول على افضل تسلسل يعطي اعلى امتصاص وإن النتائج المُدونة في الجدول (٦) تُبين ان التسلسل (I) هو الأفضل والذي كان مُتبعا في دراسات تثبيت الظروف .

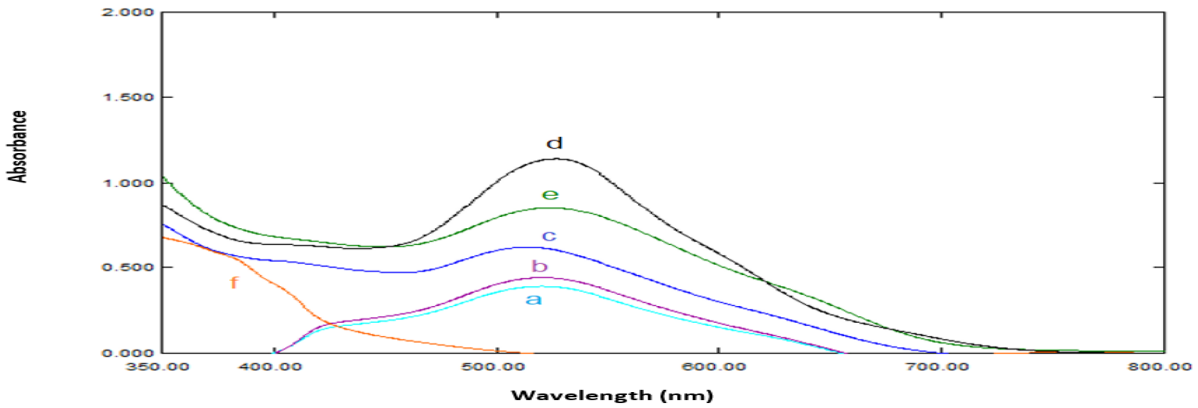
جدول (٦) تأثير تسلسل الإضافة

Order Number	Reaction of component	Absorbance
I	D + A + O + E	٠,٤٨٣
II	D + O + A + E	٠,٤٣١
III	E + D + O + A	٠,٣٧٨
IV	E + A + O + D	٠,٠٩٢
V	E + O + D + A	٠,١٢٠

البايريدوكسين هيدروكلوريد (D) ، حامض الهيدروكلوريك (A) ، N– بروموسكسيناميد (O) ، الاريوكروم بلاك –T(E)

طيف الإمتصاص النهائي

بعد الوصول الى الظروف المثلى في تقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد وتثبيتها رُسِم طيف الامتصاص النهائي لتراكيز مختلفة مقابل محاليلها الصورية تم الحصول على اعلى قمم امتصاص عند ٥١٧ نانومتر، كما موضح في الشكل (٥) . والجدول (٧) يُبين الظروف المثلى التي تم التوصل إليها للبايريدوكسين هيدروكلوريد.



شكل (٥) طيف الامتصاص النهائي

a: طيف الامتصاص للبايريدوكسين هيدروكلوريد (١٠مايكروغرام / مللتر) مقابل المحلول الصوري .

b: طيف الامتصاص للبايريدوكسين هيدروكلوريد(١٢ مايكروغرام / مللتر) مقابل المحلول الصوري .

c: طيف الامتصاص للبايريدوكسين هيدروكلوريد (١٠ مايكروغرام / مللتر) مقابل الماء .

d: طيف امتصاص (٤٠ مايكروغرام / مللتر) EBT مقابل الماء .

e: طيف امتصاص (٤٠ مايكروغرام / مللتر) EBT بوجود الحامض مقابل المحلول الصوري .

f: المحلول الصوري مقابل الماء .

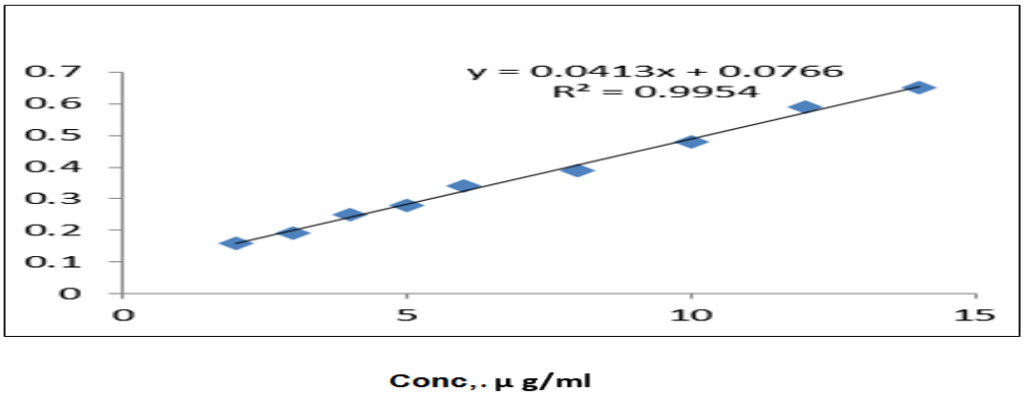
جدول (٧) ملخص الظروف المُثلى للبايريدوكسين هيدروكلوريد

Experimental condition	Pyridoxine Hydrochloride
λ_{max} (nm)	517
Color	Dark purple
Conc .of HCl (M)	1
Vol. of HCl (ml)	1
EBT (500µg/ml) amount (ml)	٢
Conc.of N- bromosuccinimide(M)	5×10^{-3}
Vol.of N- bromosuccinimide(ml)	١
Oxidizing time (min)	٥
Development time after dilution(min)	١٠

طريقة عمل المنحني القياسي لتقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد

أُضيفت كميات متزايدة من البايريدوكسين هيدروكلوريد بتركيز ١٠٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$ الى مجموعةٍ من القناني الحجمية سِعة ٢٥ مللتر، ثم إضافة ١.٠ مللتر من محلول حامض الهيدروكلوريك يليه إضافة ١.٠ مللتر من N– بروموسكسيناميد بتراكيزهما المولارية المثلى مع الرج والإنتظار مدة خمسُ

دقائق، ثم إضافة ٢.٠ مللتر من محلول صبغة الاريوكروم بلاك –T تركيزه ٥٠٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$ وقيس الامتصاص بعد مرور عشرُ دقائق من التخفيف بالماء المقطر مقابل المحلول الصوري عند ٥١٧ نانومتر،عند درجة حرارة المختبر(٣٧°م). الشكل (٥) يوضح المنحني القياسي للبايريدوكسين هيدروكلوريد الذي يمتثل لقانون بير بتراكيز تراوحت بين (٢–١٤) مايكروغرام . مل$^{-1}$، وبامتصاصية مولارية ٨×١٠^{٣} لتر/مول . سم، وحد الكشف ٠.٩٤ مايكروغرام . مل$^{-1}$ والحد الكمي ٣.١٤ مايكروغرام . مل$^{-1}$.



شكل (٥) المنحني القياسي للبايريدوكسين هيدروكلوريد

نُلاحظ من الشكل أعلاه أن قيمة مُعامل الإرتباط تساوي ٠.٩٩٥٤ دلالةٌ على إمتلاك المنحني القياسي مواصفاتٍ خطيةٍ جيدة. الجدول (٨) يُبين تلك المواصفات .

جدول (٨) المواصفات الخطية للبايريدوكسين هيدروكلوريد

Parameters	Linearity range (µg/ml)	Intercept	Slope	Correlation coefficient (R^2)	LOD (µg/ml)*	LOQ (µg/ml)*	Molar absorptivity ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)
Pyridoxine Hydrochloride	(2-14)	0.0766	٠,٠٤١٣	٠,٩٩٥٤	٠,٩٤	٣,١٤	٨×١٠^{٣}

*Average of ten determinaitions

دقة الطريقة وتوافقها

دُرست الدقة والتوافقية للطريقة المُقترحة من خلال حساب الإسترجاعية والإنحراف القياسي النسبي بإستخدام ثلاث مكررات لثلاثـةِ تراكيزٍ مختلفة للبايريدوكسين هيدروكلوريد. تُبين النتائج التي دُونت في الجدول (٩) دقة الطريقة وتوافقها.

الجدول (٩) دقة الطريقة وتوافقها

Compound	Amount added(µg/ml)	Recovery* (%)	Average recovery (%)	RSD*
Pyridoxine Hydrochloride	٣	٩٧,١٧	٩٩,٠٧	٠,٦٢١
	٨	٩٧,٢٧		٠,٢٥١
	١٢	١٠٢,٧٨		٠,٢٦٩

*Average of three determinations

تطبيق الطريقة على المستحضرات الصيدلانية

أقراص فيتاساف B_6(٥٠ ملغم)

وُزنت سبع أقراص من المستحضر الصيدلاني وتم طحنها جيداً، وبعدها أُخذ مايعادل وزن قرصٍ واحد وأُذيب بالماء المقطر ثم رُشح وأُكمل الحجم الى ١٠٠ مللتر باستخدام الماء المقطر للحصول على تركيز ٥٠٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$وسُحب منه ٢٠ مللتر لتحضير محلول بتركيز ١٠٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$ وأُخذت منه حجومٍ مختلفة للحصول على التراكيز (٣, ٨, ١٢) مايكروغرام . مل$^{-1}$، من البايريدوكسين هيدروكلوريد. وتم إيجاد تركيز المركب الدوائي في ألاقراص باستخدام معادلة الخط المستقيم للمنحني القياسي للمادة النقية ، ودُونت النتائج في الجدول (١٠).

حقن فيتامين B_6 (١٠٠ ملغم / ٢ مللتر) بايريدوكسين هيدروكلوريد

سُحب ٠.٥ مللتر من مُحتوى الحقنة وخُفف الى ١٠٠ مللتر باستخدام الماء المقطر للحصول على تركيز ٢٥٠ مايكروغرام .مل$^{-1}$، ثم سُحب منه ٤٠ مللتر لتحضير محلول بتركيز ١٠٠ مايكروغرام . مل$^{-1}$ وأُخذت منه حجومٍ مختلفة للحصول على التراكيز (٣, ٨, ١٢) مايكروغرام . مل$^{-1}$، وتم إيجاد تركيز المركب الدوائي في الحقنة باستخدام معادلة الخط المستقيم للمنحني القياسي للمادة النقية، ودُونت النتائج في الجدول (١٠) .

جدول (١٠) تطبيق الطريقة على المستحضرات الصيدلانية

Pharmaceutical preparation	Certified Value (mg)	Amount present (µg/ml)	Amount found (µg/ml)	Recovery (%)	Average recovery (%)	Drug content (mg)	Average Drug content (mg)
Vitasaf B_6 [a]	50	3	٢,٨٩١	96.36	98.76	48.18	49.383
		8	٧,٨٠٦	97.57		48.785	
		12	١٢,٢٨٥	102.37		51.185	

B_6(injection) [b]	100	3	٢,٩٣٩	97.98	99.41	97.98	99.41
		8	٧,٧٨٢	97.27		97.27	
		12	١٢,٣٥٨	102.98		102.98	

[a] SPI (tablet) , [b] India

تقييم نتائج الطريقة المطورة

لإثبات كفاءة الطريقة المُقترحة ومدى نجاحِها في تقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد في المستحضر الصيدلاني (أقراص) ، أُجريت مُقارنة بين الطريقة التحليلية مع الطريقة القياسية الواردة في الدستور البريطاني (British pharmacopoeha،٢٠١٢) وذلك باستخدام الإختبارين (t,F) . وأُدرجت النتائج في الجدول (١١) .

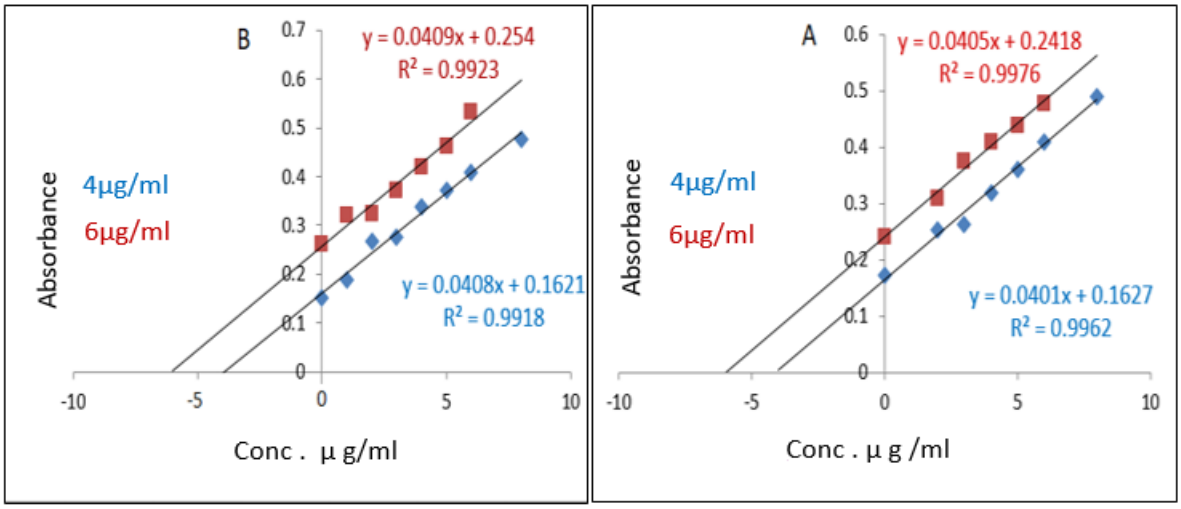
جدول (١١) تقييم نتائج الطريقة المطورة للبايردوكسين هيدروكلوريد

Drug	Pharmaceutical preparation	Recovery (%)		t_{exp}	F_{test}
		Present method	Standard method		
Pyridoxine Hydrochloride	Vitasaf B_6 tablets	102.73	101.29	٠,٩٤٦	٧,٧٩١

من الجدول أعلاه اتضح أن قيمة t العملية اقل من قيمتها الجدولية ٢.٥٧١ ولخمس درجات حرية عند مستوى ثقة ٩٥ % والاختلاف غير معنوي بين الطريقتين ، وهذا يدل بأن الطريقة التحليلية المقترحة موثوق بها وصالحة التطبيق على المستحضرات الصيدلانية .

تطبيق طريقة الإضافة القياسية على المستحضرات القياسية

لإثبات كفاءة الطريقة المقترحة ونجاحِها في التقدير وخلوها من تأثير تداخلات الإضافات ، طُبقت طريقة الإضافة القياسية على المستحضرات الصيدلانية للبايريدوكسين هيدروكلوريد بشكل أقراص وحقنة، والشكل (٦) يوضح ذلك .



شكل (٦) منحنيات الإضافة القياسية لتقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد في مستحضرات:

A: الأقراص ، B : الحقنة

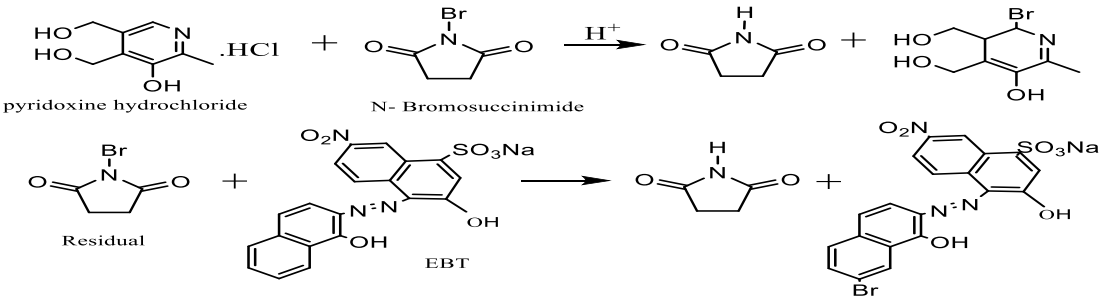
من ملاحظة الاشكال أعلاها تبين إمكانية تطبيق الطريقة المقترحة على مستحضرات(الأقراص والحقنة) للبايريدوكسين هيدروكلوريد. ونتائج الجدول (١٢) تؤكد ذلك .

جدول (١٢) الإضافة القياسية للبايريدوكسين هيدروكلوريد

Pharmaceutical preparation	Certified Value (mg)	Amount present (µg/ml)	Amount found (µg/ml)	Recovery (%)
Pyridoxine tablet	50	4	4.05	101.25
		6	5.97	99.50
B_6(injection)	100	4	3.97	99.25
		6	6.21	103.50

التفاعل المقترح

يتبين من التفاعل بان المركب N– بروموسكسيناميد عامل مؤكسد قام بأكسدة البايريدوكسين هيدروكلوريد في الوسط الحامضي. وعند إضافة الصبغة يتم قصرها بواسطة المتبقي من العامل المؤكسد كم موضح في الشكل (٧).



شكل (٧) الميكانيكية المقترحة لتقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد

الاستنتاج

اقترحت طريقةٍ طيفيةٍ بسيطة غير مباشرة لتقدير البايريدوكسين هيدروكلوريد إعتمدت على أكسدة البايريدوكسين بكمية من N– بروموسكسيناميد بوجود حامض الهيدروكلوريك والكمية الفائضة منه تُؤكسد صبغة الإريوكروم بلاك –T، وقيس الامتصاص عند ٥١٧ نانومتر، وكان مُعامل الامتصاص المولاري٨×١٠^{3} لتر/مول.سم، دلالةُ على حساسية الطريقة . والامتثال لقانون بير لتراكيز تراوحت (٢–١٤) مايكروغرام.مل$^{-١}$، تميزت الطريقة بالدقة والتوافقية الجيدتين ، حيثُ بلغت الإسترجاعية ٩٩.٠٧ % . بينما بلغ الإنحراف القياسي النسبي اقل من ٠.٦٣. كما تميزت الطريقة نتيجة عدم استخدام عمليتي الاستخلاص والتسخين بالبساطة والسهولة . وتم تطبيق الطريقة على المستحضرات الصيدلانية للبايريدوكسين هيدروكلوريد وُجد ان النتائج تتفق مع طريقة الإضافة القياسية. وعند فحص صلاحية التطبيق للمستحضر الصيدلاني (الأقراص) والمقارنة مع طريقة الدستور البريطاني كانت قيم اختباري (t , F) اقل من قيمها الجدولية.

المصادر

- Abdulkadir, A. N. (2010) Spectrophotometric determination of Vitamin B6 by coupling with diazotized p-Nitroaniline . Rafidain Journal of Science. 21 ,4, 49-59.
- Ahmed, N. R. (2021). Indirect Determination of Vitamin B6 in Pharmaceutical Formulations and Wastewater Samples.

- Al-Sabha, T., and Al-Gubouri, Z. J. (2020). Indirect spectrophotometric determination of paracetamol via decolorization of Eriochrom Black-T With N-bromsuccinimide. Journal of Education and Science, 29(3), 246-256.
- Al-Shreify, Z.(2012) Development of spectrophotometric and fluorophotometric methods determination of Phenolic and Nitrogenic drug compounds M. Sc. Thesis University of Mosul, 37.
- British Pharmacopoeia Commission, and Great British. (2012). British pharmacopooeia 2013. London, Stationery Office.
- Goodman, L., Gilman, A., Brunton, L., Hilal-Dandan, R., and Knollmanna, B. (2018). The Pharmaceutical basis of therapeutics. New York [etc.], McGraw Hill Education .11th ed. 404-119.
- Hamed, R. A., Mahmood, S. S., and Hussein, N. A. (2018). Spectrophotometric Determination of Pyridoxine HCl in Pharmaceutical formulations by oxidative coupling Reactiok With p-aminophenol in the Presence of Potassium iodide in Basic Medium. Journal of Education and Scientific Studies, 3(12).
- Khaleel, A. I., Bakir, M. H., and Humedy, I. T. (2016). Determination of pyridoxine HCl by oxidative coupling using N, N-di methyl paraphenylene diamine dihydrochloride (DMPPH) presence of potassium hexacynoferrate (III) in basic medium. Tikrit Journal of Pure Science, 21(4).
- Khudhair, A. F. Saeed, S. I., Marhoon, A.A., and Alesary, H. F. (2019, July). A new spectrophotometric method to determine vitamin B6 in pharmaceutical formation samples using a micelle from. In Journal of Physics: Conference Series (Vol. 1234, No. 1,p. 012087). IOP Publishing.
- Kuzmanovic, D. Khan, M., Mehmeti, E., Nazir, R,. Amaizah, N. R. and Stankovic, D.M. (2016). Determination of Pyridoxine (vitamin B6) in pharmaceuticals and urine samples using unmodified boron-doped diamond electrode. Diamond and Related Materials, 64, 184-189.
- Obed Agha, N, (2010), Development of spectrophotometric, Kinetic and chromatographic methods for determination of some drug compounds and aromatic imines Ph.D. Thesis, Mosul University.
- Ravichandran, S., Selvakumar S. Afreen, N. (2018). Rp-HPLC method development and validation for the Doxylamine Succinate and Pyridoxine HCl in its pure and pharmaceuticals tablet dosage form. Indian Journal of Pharmaceuticals Science and Research, 8 ,1, 35-43.
- Saleem, B. A. (2022). Assessment of Isoniazid and Pyridoxine Hydrochloride in Pure and Pharmaceutical Preparations. Progress in Chemical Science Research Vol. 1,102-114.

- Shehab, I. A., and AI-Sabha, T. (2020). Spectrophotometric determination of Aspirin and Pyridoxine Hydrochloride using 9-Chloroacridin reagent in aqueous solution. JOURNAL OF EDUCATION AND SCIENCE, 29(1), 60-74.
- Stationery Office. (2008). British pharmacopoeha 2009. London, Stationy Office.