

تقدير هيدروكلوريد البايريدوكسين بطريقة الاقتران التأكسدي مع الكاشف ن،ن- ثنائي مثيل - بارا  
فنيولين ثنائي أمين هيدروكلوريد بوجود سيانيد البوتاسيوم الحديدكي في وسط قاعديعلي إبراهيم خليل<sup>2</sup>، محسن حمزة بكر<sup>2</sup>، إسراء طالب حميدي<sup>3</sup><sup>1</sup>كلية الصيدلة، جامعة تكريت، تكريت، العراق<sup>2</sup>قسم الكيمياء، كلية التربية للبنات، جامعة تكريت، تكريت، العراق<sup>3</sup>قسم الهندسة الكيمياء، كلية الهندسة، جامعة تكريت، تكريت، العراق

## المخلص

يتضمن البحث تطوير طريقة طيفية لتقدير عقار هيدروكلوريد البايريدوكسين باستخدام تفاعل الاقتران التأكسدي مع الكاشف ن،ن- ثنائي مثيل - بارا فنيولين ثنائي أمين هيدروكلوريد (N,N-DMPPH) في وسط قاعدي بوجود العامل المؤكسد سيانيد البوتاسيوم الحديدكي لتكوين ناتج اخضر اللون ذائب في الماء ويعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي 650 نانومتر. كانت حدود قانون بير في مدى التراكيز 6-30 مايكروغرام/مل من البايريدوكسين. والامتصاصية المولارية  $4.338 \times 10^3$  لتر.مول<sup>-1</sup>.سم<sup>-1</sup> ودلالة ساندل 0.0474 مايكروغرام/سم<sup>2</sup>. وتراوح قيمة الانحراف القياسي النسبي 0.63-1.41%، وحد كشف 0.756 مايكروغرام/مل. تم تطبيق هذه الطريقة بنجاح لتقدير هيدروكلوريد البايريدوكسين في المستحضر الصيدلاني سامافيت B6 وباسترجاعية ليست اقل من 99.5%.

الكلمات الدالة: هيدروكلوريد البايريدوكسين، N,N- DMPPH، اقتران تأكسدي

## المقدمة

3 - جهاز الأمواج فوق الصوتية مع حمام مائي Ultrasonic with water bath, UNISONICS

4 - مسخن حراري ذو محرك مغناطيسي Stirrer (BIOSAN Hot Plate with Magnetic MSH 300)

5 - ميزان حساس (بأربع مراتب عشرية) BL210 S AG GOTTINGEN Sartorius

المواد الكيمياءية: إن جميع المواد الكيمياءية المستخدمة كانت بدرجة عالية من النقاوة ومجهزة من قبل شركتي BDH و Fluka محاليل المواد المستخدمة :

1- محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين القياسي بتركيز 1000 مايكروغرام/مل ( $4.86 \times 10^{-3}$  مولاري)

حُضِرَ بإذابة 0.1000 غرام من مسحوق هيدروكلوريد البايريدوكسين في كمية من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى حدّ العلامة في قنينة حجمية سعة 10 0 مل بنفس المذيب. وتمّ تحضير محلول بتركيز 300 مايكروغرام/مل ( $1.5 \times 10^{-3}$  مولاري) بالتخفيف من المحلول القياسي الخزين .

2- محلول الكاشف ن،ن - ثنائي مثيل - بارا فنيولين ثنائي أمين ثنائي هيدروكلوريد بتركيز  $10^{-2}$  مولاري

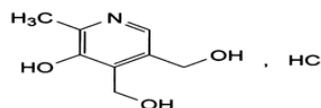
حُضِرَ بإذابة 0.2091 غرام من مسحوق الكاشف ن،ن- ثنائي مثيل - بارا فنيولين ثنائي أمين هيدروكلوريد في كمية قليلة من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى حدّ العلامة في قنينة حجمية سعة 100مل بالماء المقطر .

3- محلول سيانيد البوتاسيوم الحديدكي بتركيز  $10^{-1}$  مولاري: حُضِرَ بإذابة 3.2926 غرام من سيانيد البوتاسيوم الحديدكي في كمية معينة

هيدروكلوريد البايريدوكسين هو :

## 5-hydroxy-6-methylpyridine-3,4-dimethanol hydrochloride

صيغته التركيبية :



صيغته الجزيئية هي :  $C_8H_{11}NO_3.HCl$  . ووزنه الجزيئي 205.6

مادة هيدروكلوريد البايريدوكسين عبارة عن مسحوق بلوري ذات لون ابيض , كثيرة الذوبان في الماء وقليلة الذوبان في الكحول , تتصهر عند 205م° ثم سرعان ما تتفكك<sup>(1)</sup> . يستخدم الدواء في علاج الأكتئاب بسبب استخدام حبوب منع الحمل، وفي علاج الغثيان والقيء أثناء فترة الحمل ، وفي تعزيز وظائف الجهاز المناعي<sup>(2)</sup> ولأهمية المركب قيد الدراسة طبيا تم تقديره بالعديد من الطرائق التحليلية المختلفة مثل تقنية كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي<sup>(11)</sup> HPLC<sup>(3)</sup> والطرائق الطيفية<sup>(12-17)</sup> والكهربائية<sup>(18 و 19)</sup> وطريقة الحقن الجرياني<sup>(20)</sup>. تم في هذا البحث تقدير العقار بطريقة طيفية بسيطة وحساسة تعتمد على اكسدة العقار ثم اقترانه مع الكاشف ن،ن- ثنائي مثيل - بارا فنيولين ثنائي أمين هيدروكلوريد.

## المواد وطرائق العمل

## الأجهزة المستخدمة Instruments

- 1- جهاز المطياف مزدوج الحزمة نوع Shimadzu UV-Visible Spectrophotometer UV-160
- 2- جهاز قياس الدالة الحامضية Jenway pH/mv meter 3310

حامض السلفونيك و 4- ثنائي مثيل امينوبنزالديهايد و N- (ثفيل) اثيلين ثنائي الامين ثنائي هيدروكلوريد و 2، 4- ثنائي نيترو فنيل هيدرازين و بارا-امينو فنيل و سلفانيل امايد و 4- امينو انتي بايرين وبارا-برومو انيلين و سلفانك اسد بتركيز 0.01 مولاري، لكل منها وأظهرت الدراسة أن محلول الكاشف الذي يعطي أفضل النتائج هو ن،ن- ثنائي مثيل - بارا فنيلين ثنائي أمين ثنائي هيدروكلوريد، لذا تم اختيار هذا الكاشف في التجارب اللاحقة.

#### اختيار أفضل عامل مؤكسد

أجريت تجارب عديدة لإيجاد أفضل عامل مؤكسد لتكوين الناتج الملون ، إذ استخدمت محاليل عوامل مؤكسدة عديدة ومنها : سيانيد البوتاسيوم الحديديكي ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ) وبيروكسيدات الصوديوم ( $NaIO_4$ ) وكلوريد الحديدك ( $FeCl_3$ ) ودايبرومات البوتاسيوم ( $K_2Cr_2O_7$ ) -N روموسكسناميد ( $C_4H_4BrNO_2$ ) وكبريتات السيريوم الامونياكية ( $Ce(NH_4)_4(SO_4)_4.2H_2O$ ) ونابتروبروسيد الصوديوم ( $Na_2[Fe(CN)_5NO.2H_2O]$ ) بتركيز 0.1 مولاري، لكل منها وأظهرت الدراسة أن العامل المؤكسد الذي يعطي أفضل النتائج هو فيري سيانيد البوتاسيوم مقارنة ببقية العوامل المؤكسدة المستخدمة، لذا تم اختياره عاملاً مؤكسداً في التجارب اللاحقة.

#### تأثير الدالة الحامضية

تم دراسة تأثير الدالة الحامضية باضافة أحجام من 0.3 - 4.0 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ذي التركيز 1.0 مولاري ، وقد وجد أن أفضل دالة حامضية هو في المدى من 8.2-11.9 وتم اعتماد الدالة الحامضية 11.6 باستخدام 1.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم في التجارب اللاحقة والنتائج مدونة في الجدول رقم (1) ، اما عند اضافة اي كمية من الحامض فانه لايعطي اي لون وهذا يعني ان التفاعل لايمت في الوسط الحامضي.

جدول رقم (1) تأثير الدالة الحامضية

ml of 1.0 M NaOH	Absorbance		pH
	B <sup>Dw</sup>	S <sup>B</sup>	
0.3	0.058	0.182	5.9
0.5	0.052	0.339	8.2
0.7	0.057	0.367	10.8
1.0	0.055	0.385	11.1
1.5	0.049	0.398	11.6
2.0	0.051	0.378	11.8
2.5	0.056	0.361	11.9
3.0	0.051	0.311	12.0
3.5	0.047	0.295	12.1
4.0	0.055	0.254	12.2

أذ أن B<sup>Dw</sup> يمثل امتصاص المحلول الصوري مقابل الماء المقطر. S<sup>B</sup> يمثل طيف امتصاص محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين مقابل المحلول الصوري

#### تأثير كمية العامل المؤكسد

تمت دراسة تأثير العامل المؤكسد باستخدام محلول سيانيد البوتاسيوم الحديديكي ذي التركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري من خلال إضافة أحجام 0.3 - 3.5 مل منه إلى قناني حجمية سعة 25 مل تحتوي على 2

من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مل بالمذيب نفسه.

#### 4- محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز تقريبي 1.0 مولاري

حضرت باذابة 4.000 غرام من المادة النقية في كمية معينة من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مل بالماء المقطر.

#### 5- محاليل المتداخلات 1000 مايكروغرام / مل

حضرت باذابة 0.1000 غرام من كل مادة في كمية معينة من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 مل بالماء المقطر.

#### 6- محلول مستحضر اقراص السامافيت B6 بتركيز 300 مايكروغرام. مل<sup>-1</sup>

يحتوي كل قرص على 40 ملغرام من هيدروكلوريد البايريدوكسين (انتاج الشركة العامة لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية - سامراء - العراق) ويحضر محلول الاقراص بوزن 10 اقراص سوية (1.8684 غم) ثم تسحق الاقراص بشكل جيد ويؤخذ وزن 0.1401 غرام من مسحوق الاقراص، ويذاب بالماء المقطر ثم يرشح المحلول بورق ترشيح (604 , RUNFILTER, Q240 mm) ويغسل الراسب عدة مرات ويكمل الحجم بالماء المقطر إلى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 100 ملتر .

#### الدراسة التمهيدية:

لوحظ أنه عند اضافة 1 مل من محلول ن،ن- ثنائي مثيل- بارا فنيلين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد إلى 2 مل من محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين القياسي بوجود 0.5 مل من محلول سيانيد البوتاسيوم الحديديكي في وسط قاعدي (0.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم ذي تركيز 1 مولاري) يتكون ناتج ذي لون اخضر غامق. وتم قياس طيف الامتصاص للناتج الملون (بعد تخفيفه بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 25 مل إلى حد العلامة) مقابل المحلول الصوري ووجد أنه يعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي 650 نانومتر في حين أن المحلول الصوري لم يعط أي امتصاص في هذه المنطقة، لذا تم دراسة الظروف المثلى لتفاعل الازواج للحصول على افضل نتائج ممكنة لاجل تطوير طريقة طيفية لتقدير هيدروكلوريد البايريدوكسين.

#### دراسة ضبط الظروف المثلى:

تم إجراء التجارب اللاحقة باستخدام 2 مل من محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين القياسي ذي تركيز 300 مايكروغرام/مل في حجم نهائي 25 مل وقياس امتصاص المحاليل عند الطول الموجي 650 نانومتر مقابل المحلول الصوري.

#### اختيار أفضل كاشف اقتران:

أجريت تجارب عديدة لإختيار أفضل كاشف لتكوين الناتج الملون، إذ استخدمت محاليل كواشف عديدة ومنها : ن،ن- ثنائي مثيل - بارا فنيلين ثنائي أمين ثنائي هيدروكلوريد و 4-امينو -2-نفثول-4-

لُوْحِظَ من النتائج المبينة في الجدول أعلاه أن أفضل حجم لمحلول سيانيد البوتاسيوم الحديديكي هو في المدى 0.5 – 1.5 مل لذا تمَّ استخدام 1.0 مل في التجارب اللاحقة.

## تأثير كمية كاشف الاقتران

تمَّت دراسة تأثير كمية كاشف الاقتران بأخذ حجوم مختلفة من محلول ن، ن - ثنائي مثيل- بارا فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد ذي التركيز  $10^{-2} \times 1$  مولاري تتراوح بين 0.3 – 2.5 مل مع حجوم مختلفة (0.5 – 2.5 مل) من محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين ذي التركيز 300 مايكروغرام/مل اي تتراوح تراكيزها النهائية بين (6- 30 مايكروغرام/مل) بوجود 1 مل من محلول سيانيد البوتاسيوم الحديديكي ذي التركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري و 1.5 مل من محلول 1 مولاري هيدروكسيد الصوديوم في حجم نهائي 25 مل والنتائج مدونة في الجدول رقم (3) .

مل من محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين ذي التركيز 300 مايكروغرام/مل و 1 مل من محلول الكاشف ذي التركيز  $10^{-2} \times 1$  مولاري ومن ثم إضافة 1.5 مل من 1 مولاري هيدروكسيد الصوديوم وإكمال الحجم إلى حد العلامة بالماء المقطر والنتائج مدونة في الجدول رقم (2).

جدول رقم (2) تأثير كمية العامل المؤكسد

ml of $1 \times 10^{-1}$ M $K_3[Fe(CN)_6]$	Absorbance	
	$B^{D_w}$	$S^B$
0.3	0.053	0.308
0.5	0.055	0.393
0.7	0.051	0.399
<b>1.0</b>	<b>0.052</b>	<b>0.407</b>
1.2	0.061	0.403
1.5	0.052	0.384
2.0	0.058	0.347
2.5	0.056	0.338
3.0	0.058	0.267
3.5	0.062	0.229

جدول رقم (3) تأثير كمية كاشف الاقتران

ml of Reagent $1 \times 10^{-2}$ M	Conc. of Pyridoxine . HCl , $\mu$ g/ml					$R^2$	Slope
	6	12	18	24	30		
0.3	0.025	0.089	0.158	0.237	0.326	0.9954	0.0125
0.5	0.109	0.165	0.233	0.298	0.345	0.9967	0.0101
0.7	0.127	0.201	0.301	0.352	0.473	0.9878	0.0141
<b>1.0</b>	<b>0.131</b>	<b>0.225</b>	<b>0.327</b>	<b>0.411</b>	<b>0.525</b>	<b>0.9983</b>	<b>0.0162</b>
1.2	0.122	0.212	0.273	0.376	0.509	0.9825	0.0156
1.5	0.112	0.189	0.259	0.361	0.485	0.9854	0.0153
2.0	0.103	0.165	0.234	0.358	0.449	0.9832	0.0148
2.5	0.074	0.139	0.221	0.325	0.413	0.9938	0.0144

1 مل من محلول العامل المؤكسد سيانيد البوتاسيوم الحديديكي بتركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري، وتركت المحاليل فترات زمنية مختلفة، تمَّ أضيف 1 مل من محلول الكاشف ن، ن - ثنائي مثيل- بارا فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد بتركيز  $1 \times 10^{-2}$  مولاري و 1.5 مل من محلول 1 مولاري هيدروكسيد الصوديوم، بعدها تمَّ التخفيف بالماء المقطر إلى 25 مل، وتمَّ قياس الإمتصاص للمحاليل عند الطول الموجي 650 نانوميتر مقابل محاليلها الصورية والنتائج مبينة في الجدول رقم (4).

يلاحظ من النتائج المبينة في الجدول أعلاه ان حجم 1 مل من الكاشف ذي التركيز  $1 \times 10^{-2}$  مولاري أعطى أعلى امتصاص وأعلى قيمة للميل 0.0162 وقيمة لمعامل الارتباط 0.9983 تدل على خطية جيدة لذا تمَّ اعتماده في التجارب اللاحقة.

## تأثير زمن الأكسدة

تمَّت دراسة الزمن اللازم لأكسدة هيدروكلوريد البايريدوكسين بواسطة العامل المؤكسد سيانيد البوتاسيوم الحديديكي بأخذ سلسلة من القناني الحجمية سعة 25 مل، تحتوي كلُّ منها على 2 مل من محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين بتركيز 300 مايكروغرام/مل واطيف اليها

جدول رقم (4) تأثير زمن الاكسدة

Time (min.)	2	4	6	8	10	12	14
Absorbance	0.237	0.399	0.408	0.409	0.410	0.410	0.409
Time (min.)	16	18	20	25	30	40	50
Absorbance	0.409	0.409	0.408	0.408	0.407	0.389	0.276

يمثل (PYR) محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين و (R) محلول ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد و (O) محلول سيانيد البوتاسيوم الحديديكي و (B) محلول هيدروكسيد الصوديوم.

## تأثير درجة الحرارة

تمَّت دراسة تأثير درجة الحرارة على امتصاص الناتج الملون المتكون باستخدام 2 مل من محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين بتركيز 300

يلاحظ من الجدول (4) أن 6 – 12 دقائق كافية لإتمام التفاعل وتم اعتماد 10 دقائق في التجارب اللاحقة.

تسلسل الإضافات: تمَّت دراسة تأثير تغيير تسلسل إضافة مواد التفاعل على امتصاص الناتج الملون بإجراء عدد من التجارب، وقد وُجِدَ أنَّ تسلسل الإضافات (PYR ← O ← R ← B) يحقق أعلى امتصاص للناتج الملون لذا تمَّ اعتماده في التجارب اللاحقة. حيث

الصوديوم عند درجات حرارية مختلفة 5-50 درجة مئوية، بعدها خففت المحاليل بالماء المقطر في قناني حجمية سعة 25 ملتر وأكمل الحجم إلى حد العلامة، وتم قياس الامتصاص والناتج مبينة في الجدول (5).

جدول رقم (5) تأثير درجة الحرارة

Temp. (°C)	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Absorbance	0.154	0.263	0.399	4090	0.408	0.386	0.327	0.268	0.211	0.123

من محلول الكاشف ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد بتركيز  $1 \times 10^{-2}$  مولاري و 1.5 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ذي التركيز 1 مولاري في قنينة حجمية سعة 25 مل وإكمال الحجم إلى حد العلامة بالماء المقطر، لوحظ أن امتصاص الناتج المتكون الاخضر اللون يزداد بعد 5 دقائق من التخفيف ثم يستقر لمدة 40 دقيقة والناتج مبينة في الجدول رقم(6).

جدول رقم (6) استقرارية ناتج التفاعل

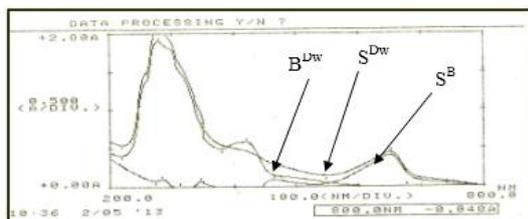
Time(min.)	لحظة التحضير	5	10	15	20	25
Absorbance		0.396	0.407	0.408	0.409	0.409
Time(min.)		35	40	45	50	60
Absorbance		0.408	0.407	0.403	0.368	0.347

في وسط قاعدي، وبعد إكمال الإضافات حسب الظروف المثلى تم إكمال الحجم إلى حد العلامة في قناني حجمية سعة 25 مل بمذيبات عضوية مختلفة، تم أخذ طيف الامتصاص لكل محلول مقابل محلوله الصوري والناتج مدونة في الجدول رقم (7).

جدول رقم (7) تأثير المذيب

Solvent	Water	Acetone	Isopropanol	DMF	Ethanol	Methanol
Absorbance	0.407	0.474	0.321	0.229	Turbid	Turbid
$\lambda_{max}$ , nm	650	648	626	615	-----	-----

650 نانومتر في حين أن محلوله الصوري لم يعط أي امتصاص في هذه المنطقة وكما مبين في الشكل رقم(1).



الشكل (1) طيف الامتصاص النهائي لتقدير هيدروكلوريد البايريدوكسين

أذ أن  $B^{Dw}$  يمثل امتصاص المحلول الصوري مقابل الماء المقطر.  $S^B$  يمثل طيف امتصاص محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين مقابل المحلول الصوري  $S^{Dw}$  يمثل طيف امتصاص محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين مقابل الماء المقطر.

طريقة العمل المعتمدة ومنحني المعايرة : ان سلسلة قناني حجمية سعة 25 مل تحتوي على تراكيز متزايدة من 6 - 42 جزء من المليون من

مايكروغرام/مل و 1 مل من محلول العامل المؤكسد سيانيد البوتاسيوم الحديدية بتركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري وتم اضافة 1 مل من محلول الكاشف ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد بتركيز  $1 \times 10^{-2}$  مولاري و 1.5 مل من محلول 1مولاري هيدروكسيد

لوحظ من الجدول أعلاه أن درجة الحرارة الأمثل هي 15 - 30 ° م ، لذا تمت القياسات عند درجة حرارة المختبر 25°م.

## تأثير الزمن على استقرارية ناتج التفاعل

تمت هذه الدراسة بأخذ 2 مل من محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين ذي التركيز 300 مايكروغرام/مل وإضافة 1 مل من محلول سيانيد البوتاسيوم الحديدية ذي التركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري ثم اضافة 1 مل

## تأثير المذيب

تمت دراسة تأثير بعض المذيبات على ناتج التفاعل الملون المتكون من تفاعل هيدروكلوريد البايريدوكسين مع محلول الكاشف ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد بتركيز  $1 \times 10^{-2}$  مولاري بوجود سيانيد البوتاسيوم الحديدية بتركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري

إن الناتج المبينة في الجدول 8 تشير إلى أن الاسيتون اعطى اعلى امتصاص ولكن لعدم توفره ولكونه متطاير ولأن الماء يُعد وسط جيد للتفاعل ويعطي امتصاص جيد عند الطول الموجي 650 نانومتر ونظراً لتوفره ورخص ثمنه فقد تم استخدامه كأفضل مذيب.

## طيف الامتصاص النهائي

تم قياس طيف الامتصاص النهائي بعد التوصل إلى الظروف المثلى وهي استخدام 2 مل من محلول هيدروكلوريد البايريدوكسين ذي تركيز 300 مايكروغرام/مل و 1 مل من محلول الكاشف ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد بتركيز  $1 \times 10^{-2}$  مولاري و 1 مل من سيانيد البوتاسيوم الحديدية بتركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري و 1.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم ذي التركيز 1 مولاري (دالة حامضية 11.6) عند درجة الحرارة 25 ° م وبعد إتمام الإضافات وفق الظروف المثلى للتفاعل وإكمال الحجم إلى حد العلامة في قنينة حجمية سعة 25 مل بالماء المقطر، تم قياس امتصاص الناتج الاخضر اللون مقابل محلوله الصوري وجد أنه يعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي

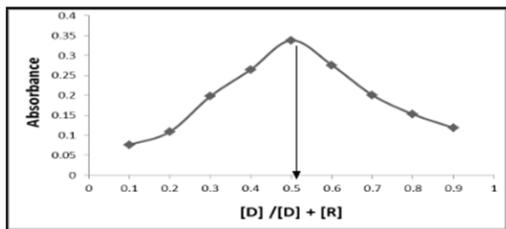
جدول رقم (9) حد الكشف

Concentration µg/ml	$\bar{X}$	S	D.L µg/ml
6	0.025	0.00105	0.756

#### طبيعة الناتج المتكون

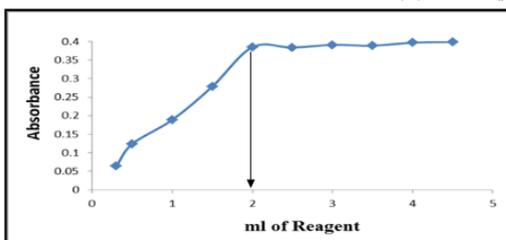
لمعرفة طبيعة الناتج الاخضر اللون المتكون ونسبة ارتباط العقار مع الكاشف، طبقت طريقة جوب وطريقة النسبة المولية. في كلا الطريقتين يكون تركيز كل من محلول هيدروكلوريد البايريدكسين القياسي ومحلول الكاشف ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد متساويان وهو  $1.5 \times 10^{-3}$  مولاري، ففي طريقة جوب، في سلسلة قناني حجمية سعة 25 مل تم وضع أحجام مختلفة من محلول العقار تتراوح بين 1 - 9 مل وأضيفت حجوم (9 - 1مل) من محلول الكاشف ثم أضيف 1 مل من محلول سيانيد البوتاسيوم الحديديكي ذي التركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري و 1.5 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ذي التركيز 1 مولاري وتم التخفيف إلى حد العلامة بالماء المقطر وتم قياس امتصاصات هذه المحاليل عند الطول الموجي 650 نانومتر مقابل المحلول الصوري لكل منها والشكل رقم(3) يوضح أن النسبة

هي 1 : 1



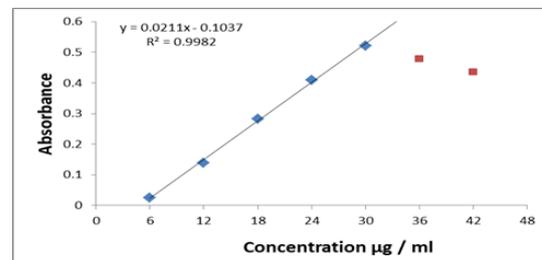
الشكل (3) طريقة جوب للناتج المتكون من الاقتران التأكسدي لهيدروكلوريد البايريدوكسين مع الكاشف العضوي ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد

أما في طريقة النسبة المولية، فتم وضع 2 مل من محلول العقار القياسي في سلسلة قناني حجمية سعة 25 مل وأضيف إليها محلول الكاشف بأحجام تتراوح بين 0.3 - 4.5 مل وإضافة 1 مل من محلول سيانيد البوتاسيوم الحديديكي ذي التركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري و 1.5 مل هيدروكسيد الصوديوم ذي التركيز 1 مولاري وأكمل الحجم إلى حد العلامة بالماء المقطر ثم قيس الامتصاص لهذه المحاليل عند الطول الموجي 650 نانومتر مقابل المحلول الصوري لكل منها، وجد أن النسبة المولية متوافقة مع طريقة جوب وتبين أن النسبة هي 1 : 1 كما في الشكل (4).



الشكل (4) طريقة النسبة المولية للناتج المتكون من الاقتران التأكسدي لهيدروكلوريد البايريدوكسين مع الكاشف العضوي ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد

محلول هيدروكلوريد البايريدكسين القياسي ( 0.5 - 3.5 مل من تركيز 300 مايكروغرام/مل) أضيف 1 مل من محلول الكاشف ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد ذي التركيز  $1 \times 10^{-2}$  مولاري و 1 مل سيانيد البوتاسيوم الحديديكي ذي التركيز  $1 \times 10^{-1}$  مولاري و 1.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم ذي التركيز 1 مولاري (دالة حامضية 11.6) عند درجة الحرارة 25 °م وترك المحلول لمدة 10 دقائق لكي يكتمل التفاعل ثم إكمال الحجم إلى حد العلامة بالماء المقطر ثم تم قياس امتصاص المحاليل عند الطول الموجي 650 نانومتر مقابل المحلول الصوري والشكل رقم (2) يُبين أن منحنى المعايرة يتبع قانون بير في حدود 6 - 30 جزء من المليون ويحدث انحراف عنه في تركيز أعلى من 30 جزء من المليون. تتصف هذه الطريقة بالحساسية، إذ أن قيمة الامتصاصية المولية  $4.338 \times 10^3$  لتر.مول<sup>-1</sup>.سم<sup>-1</sup> ودلالة ساندل 0.0474 مايكروغرام/سم<sup>2</sup>.



الشكل (2) منحنى المعايرة لتقدير هيدروكلوريد البايريدوكسين بطريقة الاقتران التأكسدي مع كاشف ن، ن - ثنائي مثيل فنيولين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد

#### الدقة والتوافقية

تمت دراسة الدقة والتوافقية وذلك عن طريق قياس الامتصاص عند الطول الموجي 650 نانومتر لثلاثة تراكيز مختلفة من العقار والتي تقع ضمن حدود قانون بير لمنحنى المعايرة ولست قراءات متتالية للتركيز الواحد وبتتابع الظروف المثلى ومن حساب معدل الاسترجاعية والانحراف النسبي وجد أن الطريقة ذات دقة عالية (معدل الاسترجاعية 99.98 %) وذات توافقية عالية (الانحراف القياسي النسبي ليس أكثر من 1.41 %) والناتج موضحة في الجدول رقم (8).

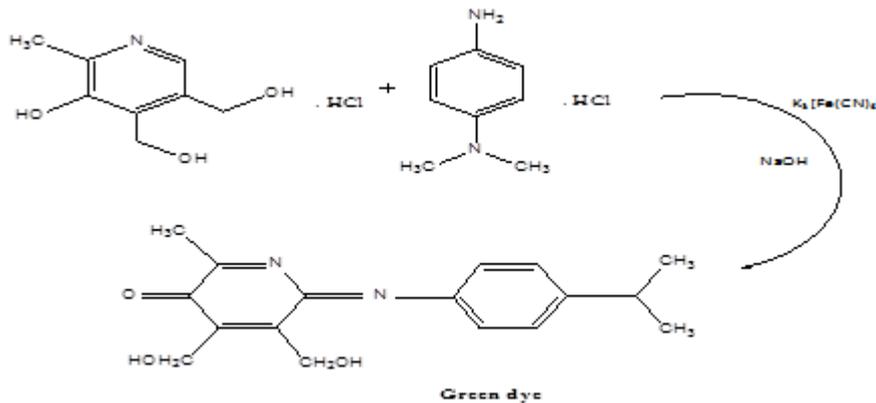
جدول رقم (8) الدقة والتوافقية

Conc.of PYR ppm	RSD, %	Recovery, %	Average recovery,%
12	1.41	99.64	99.98
18	0.74	100.25	
24	0.63	100.05	

#### حد الكشف

تم حساب حد الكشف وذلك بقياس الامتصاص عند الطول الموجي 650 نانومتر لأدنى تركيز (6 مايكروغرام / مل) مأخوذ من منحنى المعايرة وضمن حدود قانون بير عند الظروف المثلى ولعشر مرات والناتج مدونة في الجدول رقم (9).

وعليه تكون معادلة التفاعل المقترحة كالاتي :



### تأثير المتداخلات

الخطوات المتبعة عند تحضير منحنى المعايرة وتمَّ قياس امتصاص هذا المحلول مقابل المحلول الصوري عند الطول الموجي 650 نانومتر وقد أخذت نتائج معدل ستة قراءات ثم تمَّ حساب الاسترجاعية والانحراف القياسي النسبي لها والنتائج مدونة في الجدول رقم (11) .

جدول رقم (11) الطريقة المباشرة لتقدير هيدروكلوريد البايريدوكسين في

أقراص السامافيت B6

Pyridoxine present µg/ml	Pyridoxine measured µg/ml	RSD, %	Recovery*, %
6	5.99	3.58	99.83

\*Average of six determinations

### طريقة الإضافات القياسية

من أجل بيان مدى كفاءة الطريقة المقترحة ودقتها وإثبات ان الطريقة المطورة خالية من التداخلات ، طبقت طريقة الإضافات القياسية في تقدير هيدروكلوريد البايريدوكسين في المستحضر الصيدلانية، إذ تم نقل حجم 0.5 مل من محلول المستحضر الصيدلاني سامافيت B6 (300 مايكروغرام/مل) الى ست قناني حجمية سعة 25 مل ، ثم أضيفت حجوم متزايدة (0.25-1.5 مل) بتركيز 300 مايكروغرام / مل من محلول البايريدوكسين القياسي والتي تقع ضمن حدود قانون بير مع بقاء القنينة السادسة دون إضافة ، بعدها تم إضافة جميع المحاليل بقيمها المثلى حسب طريقة العمل المقترحة ، ثم أكمل الحجم بالماء المقطر إلى حد العلامة ، وتم قياس الامتصاص عند الطول الموجي 650 نانوميتر مقابل المحلول الصوري، بعدها تم تحضير المنحنى القياسي بين الامتصاص والتركيز حسب ما موضح في الشكل(5) ومن معادلة الخط المستقيم تمَّ حساب التركيز المدروس والنتائج مثبتة في الجدول (12) .

من أجل التأكد من انتقائية الطريقة بهدف الفائدة من امكانية تطبيقها على المستحضرات الصيدلانية تمت دراسة تأثير تداخل بعض المضافات المستخدمة في صناعة المستحضرات الصيدلانية على امتصاص الناتج المتكون وذلك بأخذ قناني حجمية سعة 25 مل تحتوي على 2 مل من هيدروكلوريد البايريدوكسين بتركيز 300 مايكروغرام / مل، ثم اضافة احجام مختلفة (2.5 و 5 و 7.5 مل) من المتداخلات بتركيز 1000 مايكروغرام / مل ليكون التركيز النهائي 100 ، 200 ، 300 مايكروغرام / مل وتمت اضافة الكميات المثلى لبقية المواد حسب طريقة العمل المثلى وأكمل الحجم بالماء المقطر الى حد العلامة ، ثم قيس الامتصاص عند الطول الموجي 650 نانوميتر مقابل المحاليل الصورية وتمَّ حساب الاسترجاعية وتبينَّ من النتائج عدم وجود تداخلات والنتائج مدونة في الجدول رقم (10) .

جدول رقم (10) تأثير المتداخلات

Foreign compounds	Recovery (%) of 24 µg .ml <sup>-1</sup> of pyridoxine. HCl per µg .ml <sup>-1</sup> foreign compound added		
	100	200	300
Starch	99.80	100.18	99.45
Glucose	99.65	99.63	100.15
Fructose	100.02	100.36	99.24
Maltose	99.93	99.27	100.31

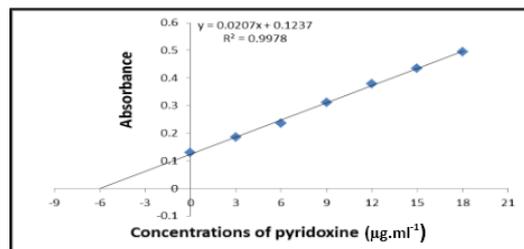
### التطبيقات

أمكن تطبيق الطريقة على المستحضر الصيدلاني أقراص السامافيت B6 الحاوي على البايريدوكسين هيدروكلوريد، إذ ان كل قرص يحتوي على 40 ملغرام منه .

### الطريقة المباشرة

لمعرفة مدى نجاح الطريقة المطورة ، تم تطبيقها على المستحضر الصيدلاني الحاوي على البايريدوكسين هيدروكلوريد، الذي تم تحضيره سابقاً وذلك بسحب حجم 0.5 مل من محلول المستحضر الصيدلاني ذي التركيز 300 مايكروغرام/مل، ثم وضع في قنينة حجمية سعة 25 مل للحصول على تركيز 6 مايكروغرام/مل وعُومل المحلول وفق

الطريقة القياسية وقد تمَّ إجرائها حسب دستور الادوية البريطاني (1) (British Pharmacopeia) فقد أخذت 20 حبة من المستحضر الصيدلاني كل حبة تحتوي على 40 ملغم من هيدروكلوريد البايروكسين فقد تمَّ طحنها جيداً ثمَّ إذابة 25 ملغم من مسحوق المستحضر الصيدلاني في حجم 50 مل من محلول 0.1 مولاري حامض الهيدروكلوريك ثمَّ سخن في حمام مائي لمدة 15 دقيقة ثمَّ يبرد ويخفف الى 100 مل بواسطة محلول 0.1 مولاري حامض الهيدروكلوريك ثمَّ يرشح ويهمل 20 مل من الراشح في بداية الترشيح ثمَّ يُخفف 5 مل من الراشح إلى 100 مل بواسطة محلول 0.1 مولاري حامض الهيدروكلوريك ويتمَّ قياس امتصاص المحلول عند الطول الموجي 290 نانومتر. تمَّ إيجاد تركيز هذا المحلول من مقارنة قيمة امتصاصه مع امتصاص قرينه من المحلول القياسي الذي تمَّ تحضيره بنفس الطريقة، وتمَّ تطبيق اختباري  $t$  و  $F$  والجدول رقم (13) يوضح ذلك.



الشكل (5) منحنى الإضافات القياسية لتقدير هيدروكلوريد البايروكسين في 0.5 مل من محلول مستحضر اقراص السامافيت B6

جدول رقم (12) نتائج طريقة الاضافات القياسية لتقدير هيدروكلوريد

البايروكسين في اقراص السامافيت B6

Pyridoxine present µg/ml	Pyridoxine measured µg/ml	Recovery, (%)
6	5.98	99.50

مقارنة طريقة تقدير هيدروكلوريد البايروكسين مع الطريقة القياسية : أُجريت هذه الطريقة لغرض مقارنة الطريقة المقترحة مع

جدول (13) المقارنة مع الطريقة القياسية

Drug	Pharmaceutical preparation	Recovery*%		t.exp	F.exp
		Present method	British Ph.copeia method		
Pyridoxine.HCl	Tablets	100.22	100.07	0.56	1.16

\* Average of six determinations

صبغة ذات لون اخضر التي أعطت أعلى امتصاص لها عند الطول الموجي 650 نانومتر، إذ أمكن تقدير كميات من العقار المدروس بين 6- 30 مايكروغرام/ مل بامتصاصية مولارية  $4.338 \times 10^3$  لتر. مول<sup>-1</sup> .سم<sup>-1</sup> ودلالة ساندل تساوي 0.0474 مايكروغرام .سم<sup>-2</sup>، وبلغت قيمة الانحراف القياسي النسبي بين 0.63 و 1.41 % اعتماداً على مستوى التركيز و باستردادية بين 99.64 و 100.25 % . كانت الطريقة حساسة ودقيقة وتمتاز ببساطتها وسرعتها إذ يكتُمَل التفاعل بعد 10 دقائق ويبقى الناتج مستقر لمدة لا تقل عن 45 دقيقة وهي مدة كافية لإجراء عدة قياسات إضافة إلى كون الطريقة لا تحتاج إلى تسخين أو ضبط لدرجة الحرارة أو استخدام مذيبات عضوية أو استخلاص وأمكن تطبيق الطريقة بنجاح في تقدير هيدروكلوريد البايروكسين في المستحضر الصيدلاني سامافيت B<sub>6</sub> وباسترجاعية ليست أقل من 99.5% .

1-British Pharmacopeia in CD-ROM", 5<sup>th</sup> Ed., by system simulation ltd., The stationary office, London, (2005).

2- <http://www.anakeef.com>

3-E.V.Kompantseva, A.V. Khalata, L.P. Ovcharenko and N.V. Blagorazumnya; **HPLC Analysis of a New Granulated Preparation Containing Isoniazid and Pyridoxine Hydrochloride**; p. Chem. J., 39(8), pp441-443, (2005).

4- R. Ekinci and C.Kadalkal; **Determination of seven water-soluble vitamins in tarhana, a traditional**

إذ وُجِدَ أنَّ قيمة  $t$  التجريبية 0.56 أقل من القيمة الجدولية 2.571 عند مستوى ثقة 95% ولعشر درجات حرية بالنسبة للمستحضر Samavit B6 وهذا يؤكد أنَّ الطريقة المقترحة طريقة دقيقة وذات صلاحية تطبيق جيدة على المستحضر الصيدلاني المدروس والطريقة المقترحة متفقة بشكل جيد مع الطريقة القياسية كما وجد أنَّ قيمة  $F$  التجريبية 1.16 أقل من قيمتها الجدولية 4.95 عند مستوى ثقة 95% ولست درجات حرية وعليه لا يوجد فرق معنوي بين نتائج الطريقتين.

#### الاستنتاجات

تمَّ تطوير طريقة طيفية حساسة وسريعة لتقدير هيدروكلوريد البايروكسين بواسطة تفاعل الاقتران التأكسدي، اعتمدت الطريقة على أكسدة هيدروكلوريد البايروكسين باستخدام العامل المؤكسد سيانيد البوتاسيوم الحديديكي ثمَّ اقترانه مع الكاشف ن، ن - ثنائي ميثيل فينيلين ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد في وسط قاعدي لتكوين

المصادر.

**Turkish cereal food, by HPLC**; ACTA Chromatographica, 15,(2005).

5- R. Amidzic, J. Broboric, O. Cudina, S. Vladimirov; **RP- HPLC Determination of vitamins B1, B3, B6, FOLIC ACID and B12 in multivitamin tablets**; J.Serb.Chem.Soc.70(10)1229-1235, (2005).

6- C.Anyakora, I. Afolami, T. Ehianeta and F. Onwumere; **HPLC analysis of nicotinamide, pyridoxine, riboflavin and thiamin in some**

- selected food products in Nigeria; African J. of P. and P., 2(2). 029-036,(2008).
- 7-M.Walash, F. Belal, N. El-Enany and M. El-Maghrabey; **Simultaneous determination of metoclopramide hydrochlorid and pyridoxine hydrochloride in syrup using HPLC method with fluorescence detection**; J. of liq. C. & Related Technol., 36( 4),(2013).
- 8-Y.Li and P.R. Brown; **The optimization of HPLC conditions for use with FTIR detection in the analysis of B vitamins**; ; J. of chromatographic Sci., 41, (2003).
- 9- K.V. Rao, Y. Chaithanya, P. Raghavendhra, M. Surendar and D. Banji; **Method development and validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of rifampicin, isoniasid and pyridoxine hydrochloride in bulk pharmaceutical Dosage form**; IJPRD, 4(08), 153-162, (2012).
- 10- P.F. Chatzimichalakis, V. F. Sammanidou, R. Verpoorte, I.N. Papadoyannis; **Development of a validated HPLC method for the determination of B-complex vitamins in pharmaceuticals and biological fluids after solid phase extraction**; J. Sep. Sci., 27(14), 1181-8, (2004).
- 11- A. E. F. Presoto, M. D. G. Rios, L. B. de Almeida - Muradian; **Simultaneous high performance liquid chromatographic analysis of vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>6</sub> in royal jelly**; J.Braz.Chem.Soc. 15 (1),(2004) .
- 12- A. N. Abdul Kadir; **Spectrophotometric determination of vitamin B6 by coupling with diazotized p-nitroaniline**; Jou. Raf. Sci., 21 (4), pp 49- 59,( 2010).
- 13- I. Muszalska, M. Puchalska and A. Sobczak; **Determination of vitamin B6 by means of differential spectrophotometry in pharmaceutical preparations in the presence of magnesium compounds**; Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research, 68 (6) , 845-851, (2011).
- 14- A. RAZA, T. M. ANSARI, S. B. NIAZI and A. REHMAN; **Spectrophotometric determination of pyridoxine hydrochloride (vitamin B6) in bulk and tablets by charge-transfer complexation with chloranil**; J. of the Chemical Society of Pakistan, 29 (1), (2007).
- 15- M. Raheed, A. Qadir, A. Mosa; **Spectrophotometric assay of pyridoxine hydrochloride(vitamin B6) in pharmaceutical preparations and serum Via arsenazo III- Cerium (III) Reaction**; Raf. Jour. Sci., 19 (2), 28 - 41, (2008).
- 16-A. Pathak and S. J. Rajput ; **Simultaneous derivative spectrophotometric analysis of doxylamine succinate, pyridoxine hydrochloride and folic acid in combined dosage forms**; Indian J. Pharm. Sci., 70(4), 513–517,( 2008).
- 17- M. S. Arayne, N. Sultana, F. A. Siddiqui, M H. Zuberi, A. Z. Mirza ; **Spectrophotometric methods for the simultaneous analysis of meclezine hydrochloride and pyridoxine hydrochloride in bulk drug and pharmaceutical formulations**; Pakistan j. of pharma. Scie. ; 20(2),149-56,( 2007).
- 18- G.A. Mostafa , Sel-S. Ghazy ; **Potentiometric membrane sensors for the selective determination of pyridoxine hydrochloride (vitamin B6) in some pharmaceutical formulations**; Ann Chim. ,93(7-8),691-9,( 2003).
- 19- A. R. Pires' A. N. Araújo, J. A. Lopes and M. Conceição; **Simultaneous potentiometric determination of thiamine and pyridoxine in multivitamins using a single cyclodextrin-based thiamine-selective electrode**; Anal. Lette. , 42 (13), 1923-1939, (2009).
- 20- M. Q. Al-Abachi, S. Subhi; **Flow injection-spectrophotometric determination of salbutamol sulphate and pyridoxine hydrochloride using 2,4-dinitrophenylhydrazine**; Iraqi J. of Scie., 54 (1) , 6-16,( 2013).

## Determination of pyridoxine HCl by oxidative coupling using N,N-di methyl paraphenylene diamine dihydrochloride (DMPPH) presence of potassium hexacynoferrate(III) in basic medium

Ali Ibraheem Khaleel<sup>1</sup>, Mohsin Hamza Bakir<sup>2</sup>, Israa Talib Humedy<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pharmacy College , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

<sup>2</sup> Dept. Chemistry , Education College for women , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

<sup>3</sup> Dept. Chemical Eng. , Engineering College , University of Tikrit , Tikrit , Iraq

### Abstract

This research involves the development of spectrophotometric method for determination of pyridoxine hydrochloride by oxidative coupling reaction with N,N-dimethylparaphenylenediamine dihydrochloride (DMPPDAD ) in a basic medium (pH 11.6) in the presence of potassium ferricyanide to produce an intense green colour, soluble in water, stable product and absorbs at 650 nm. Beer's law was in the linear range 6-30 µg/ml of pyridoxine hydrochloride, the molar extinction coefficient, Sandell's sensitivity index and detection limit were  $4.338 \times 10^3 \text{ L. mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$  ,  $0.0474 \text{ µg.cm}^{-2}$  and  $0.756 \text{ µg/ml}$  respectively. The RSD value was 0.63 - 1.41% depending on the concentration. This method was applied successfully to the determination of pyridoxine hydrochloride in pharmaceutical preparation samavite B6 tablet with recovery of not less than 99.5%.