

التقدير الطيفي المايكروبي لعقاري هيدروكلوريد البايريدوكسين والنيكوتين امايد بطريقة مشتقة الطيف

الأولى والثانية

محمد قاسم السامرائي ، خلف فارس السامرائي

قسم الكيمياء ، كلية التربية ، جامعة سامراء ، سامراء ، العراق

الملخص

تم تقدير عقاري هيدروكلوريد البايريدوكسين (PYR.HCl) والنيكوتين امايد (NTA) في اشكالها النقية وفي مستحضراتها الصيدلانية بتطوير طريقة طيفية، بسيطة وحساسة واقتصادية ، تستند الطريقة على مجموعة من البيانات الرقمية والمعروفة جيداً في فصل إشارات الاستجابة للإنموذج الحاوي على المكونين دون الحاجة الى فصلهما عن طريق مشتقة الطيف الأولى D1 والثانية D2 ، أظهرت الطريقة مطاوعة لقانون بير – لامبرت لمدى من التراكيز تراوحت بين ($5-45 \mu\text{g.ml}^{-1}$) لهيدروكلوريد البايريدوكسين بوجود النيكوتين امايد بتركيز ($5 \mu\text{g.ml}^{-1}$) و ($5-45 \mu\text{g.ml}^{-1}$) للنيكوتين امايد بوجود هيدروكلوريد البايريدوكسين بتركيز ($15 \mu\text{g.ml}^{-1}$) عند الطول الموجي نفسه (210 nm) اذ يظهر تداخلا تاما في طيفي المركبين، إذ تراوحت الاسترجاعية المئوية % Rec ما بين (98.5354-103.4335%) بينما تراوح معامل الانحراف القياسي النسبي % RSD ما بين (0.0864-0.1487%) وحد الكشف LOD بقيمة ($1.0822 \mu\text{g.ml}^{-1}$) والحد الكمي LOQ بقيمة ($3.6075 \mu\text{g.ml}^{-1}$) لهيدروكلوريد البايريدوكسين بوجود النيكوتين امايد بينما تراوحت الاسترجاعية المئوية % Rec ما بين (96.1418-102.9273%) و معامل الانحراف القياسي النسبي % RSD ما بين (0.2165-0.4933%) وحد الكشف LOD بقيمة ($0.7273 \mu\text{g.ml}^{-1}$) والحد الكمي LOQ بقيمة ($3.6075 \mu\text{g.ml}^{-1}$) للنيكوتين امايد بوجود هيدروكلوريد البايريدوكسين.

الكلمات المفتاحية: مشتقة الطيف، هيدروكلوريد البايريدوكسين، النيكوتين امايد.

المقدمة

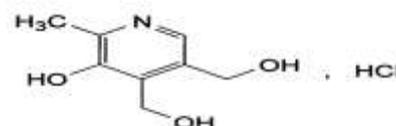
يعزز النيكوتين امايد العلاج الكيميائي والاشعاعي المستعمل للسرطانات من خلال العمل على زيادة تدفق الدم الى الأورام مما يؤدي إلى زيادة امداد الاوكسجين إلى الأورام [4] ، كما يعد عنصر فعال لتزويد الجسم بالطاقة و يساعد في عمليات التمثيل الغذائي للكربوهيدرات والدهون والبروتينات [5] ، له القدرة على منع أي آثار جانبية من البيود والتي يمكن أن تسبب أو تقاوم التهاب حب الشباب لذا يؤخذ كمواد ساند في أحد المستحضرات عن طريق الفم أو على شكل كريمات موضعية [6] ، يكون النيكوتين امايد فعالاً في الوقاية من التقرن الشعاعي حينما يؤخذ عن طريق الفم [7] ، يعمل على منع موت الخلايا المبرمج المعرضة للعوامل التي تحفز على الأكسدة [8] ، و يعد عنصر فعال ورئيس في تفتيح البشرة عن طريق الاستعمال الموضعي للكريمات [9] .

قدر النيكوتين امايد باستعمال طريقتي كروماتوغرافيا (HPLC) و (TLC) في الكريمات ومستحضرات التجميل التجارية [10] ، كما قدر في المستحضرات الصيدلانية باستعمال طريقة (RP-HPTLC) [11,12].

اما هيدروكلوريد البايريدوكسين فتم تقديره باستعمال المشتقة الأولى والثانية للطيف [13] ، وقدر في مستحضراته الصيدلانية ولعينات من المياه بتكوين معقد كليتي بين الدواء وأيون الحديد الثلاثي [14]، وقدر باستعمال الأشعة تحت الحمراء في المستحضرات الصيدلانية بوجود ثايوسيانات البوتاسيوم وباستعمال أقراص بروميد البوتاسيوم [15]، وقدر بطريقة طيفية في مستحضراته الصيدلانية [16]، إضافة الى انه قدر بطريقة الفولتامترية الحلقي والنبضي باستعمال الكرافين وانايبب الكاربون النانوية المركبة على قطب الكاربون الزجاجي وبولي حامض

هيدروكلوريد البايريدوكسين (PYR.HCl):

اسمه العلمي 3,4-Pyridine di methanol , 5-hydroxy-6-methyl hydrochloride ، يذوب في الماء المقطر، الايثانول، الايثانول والماء المقطر، الايثانول و (DMSO) وافضل مذيب له هوالمذيب المكون من الماء المقطر وهيدروكسيد الصوديوم ويبين الشكل التالي التركيب الكيميائي للمركب [2,1] :

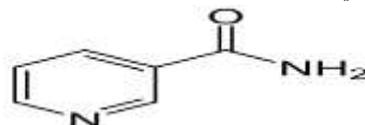


شكل (1) التركيب الهندسي لعقار هيدروكلوريد البايريدوكسين

يستخدم في موازنة الصوديوم والبوتاسيوم وتشجيع إنتاج خلايا الدم الحمراء ، ضروري للجهاز العصبي وجهاز المناعة ، يساعد في الحفاظ على مستويات السكر الطبيعية في الدم ، يعد عامل مساعد أساسي في العديد من الأنشطة الانزيمية بما في ذلك تخليق وتركيب الأحماض الامينية والعصبية والاسفنجية [3].

النيكوتين امايد (NTA) : اسمه العلمي 3-Pyridine

carboxamide ، يذوب في الماء المقطر، الايثانول، الايثانول والماء المقطر، الايثانول و (DMSO) وافضل مذيب له هوالمذيب المكون من الماء المقطر وهيدروكسيد الصوديوم ويبين الشكل التالي التركيب الكيميائي للمركب [2,1]:



شكل (2) التركيب الهندسي لعقار النيكوتين امايد

و(DMSO) بنسبة حجوم (1:9) ، محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1N) .

أطياف الامتصاص

حُضرت مجموعة من التراكيز ($5-45\mu\text{g.ml}^{-1}$) PYR.HCl بوجود ($5\mu\text{g.ml}^{-1}$) من NTA و ($5-45\mu\text{g.ml}^{-1}$) NTA بوجود ($15\mu\text{g.ml}^{-1}$) من PYR.HCl وتم إجراء مسح الأطوال الموجية لها ما بين (190-350 nm) لرسم الطيف الصفري وبناء منحنيات المعايرة .

تقدير عقاري PYR.HCl و NTA باستعمال مطيافية المشتقة

تم نقل كميات (4.5 - 0.5 ml) من المحاليل القياسية لعقاري PYR.HCl و NTA ذات التركيز ($100\mu\text{g.ml}^{-1}$) كلا على حدة إلى سلسلة من القناني الحجمية سعة (10ml) تحتوي سلسلة PYR.HCl على (0.5 ml) من NTA ذو التركيز ($100\mu\text{g.ml}^{-1}$) بينما تحتوي سلسلة NTA على (1.5ml) من PYR.HCl وخففت السلسلتين بالماء المقطر إلى حد العلامة ثم سجل الطيف الصفري لكل منها ، بعد ذلك تم إشتقاق الطيف الاعتيادي (طيف المرتبة الصفرية) المسجل لكل محلول للحصول على المشتقة الأولى (D1) والمشتقة الثانية (D2) .

طريقة عمل و بناء منحنيات المعايرة لعقار PYR.HCl بوجود NTA ولعقار NTA بوجود PYR.HCl باستعمال المشتقة الأولى والثانية

تم إجراء قياسات متعددة على الأطياف الصفرية وأطياف المشتقة الأولى والثانية لغرض التحليل الكمي لعقار PYR.HCl بوجود NTA ولعقار NTA بوجود PYR.HCl في النماذج ، ومن هذه القياسات : قياس إرتفاع القمة إلى خط الأساس (Peak to base line) ، المساحة تحت القمة (area under Peak) وقمة إلى قمة (Peak to Peak) ونقطة التقاطع الصفري (zero-crossing). استعملت لأعداد المشتقة الأولى والثانية مجموعة من المحاليل تحتوي على كميات لمدى التراكيز ($5-45\mu\text{g.ml}^{-1}$) من مزيج عقار PYR.HCl مع NTA بتركيز ($5\mu\text{g.ml}^{-1}$) ولمدى التراكيز (5- $45\mu\text{g.ml}^{-1}$) من مزيج عقار NTA مع PYR.HCl بتركيز ($15\mu\text{g.ml}^{-1}$) ، جدول (1,2) يبيننا خواص تحليل عقار PYR.HCl للتراكيز ($5-45\mu\text{g.ml}^{-1}$) مع NTA بتركيز ($5\mu\text{g.ml}^{-1}$) و خواص تحليل عقار NTA للتراكيز ($5-45\mu\text{g.ml}^{-1}$) مع PYR.HCl بتركيز ($15\mu\text{g.ml}^{-1}$) باستعمال نمطي المشتقة الأولى والثانية .

دقة وتوافق الطريقة

تم حساب دقة وضبط الطريقة المقترحة للعقارين عن طريق إجراء خمسة تكرارات لكل عملية قياس أُجريت للتراكيز جميعها والتي تقع من ضمن تراكيز منحنى المعايرة، استعملت قيمة %Rec للتعبير عن دقة النتائج وقيمة %RSD للتعبير عن ضبط الطريقة وتوافق النتائج.

النيكوتينيك [17]، وتم تقديره بتقنيتي HPLC و RE-HPLC [18,22] .

تم إجراء مسح للأبحاث المنشورة في المجالات العلمية ولم يتم العثور على دراسة لتقدير العقارين مع بعضهما بطريقتي المشتقة الأولى والثانية للطيف الصفري في مزيج لهما دون فصل ، لذلك تهدف هذه الدراسة الى التقدير الطيفي لمزيج مكون من هذين العقارين باستعمال المشتقة الأولى والثانية للطيف الصفري.

الجزء العملي

المواد الكيميائية والأجهزة المستعملة

تم استعمال المواد القياسية للعقارين (PYR.HCl) و (NTA) والتي تم الحصول عليها من (الشركة العامة لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية - سامراء - العراق) في تحضير المحاليل التي أُجريت عليها تجارب البحث المختلفة إضافة الى مادة (NaOH) المجهزة من (Fluka-Switzerland) كما تم استعمال جهاز (Shimadzu UV-Visible-1650Japan) ثنائي الحزمة في تحليل العقارين وقد أُجريت القياسات في نطاق الطول الموجي (190-350nm) باستعمال خلايا من الكوارتز .

المحاليل

محلول هيدروكلوريد البايروكسين ($10\mu\text{g.ml}^{-1}$)

حُضر بإذابة (0.01g) من (PYR.HCl) الصلب في حجم معين من محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1 N) وأكمل الحجم إلى العلامة في قنينة حجمية سعة (1000 ml) من المذيب ذاته .

محلول النيكوتين اميد ($100\mu\text{g.ml}^{-1}$)

حُضر بإذابة (0.01g) من (NTA) الصلب في حجم معين من محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1 N) ثم أكمل الحجم إلى العلامة في قنينة حجمية سعة (100 ml) من المذيب ذاته.

محلول هيدروكسيد الصوديوم التقريبي (0.1N)

حضر بإذابة (0.4g) من هيدروكسيد الصوديوم الصلب بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة (100 ml) لتحضير التركيز (0.1 N).

المحاليل المصنعة لعقاري PYR.HCl و NTA

تم تحضير مستحضرين صيدلانيين حاويين على عقاري PYR.HCl و NTA، يحتوي الأول على ($10\mu\text{g.ml}^{-1}$) من PYR.HCl و ($4\mu\text{g.ml}^{-1}$) من NTA ، بينما يحتوي الثاني على ($100\mu\text{g.ml}^{-1}$) من NTA و ($10\mu\text{g.ml}^{-1}$) من PYR.HCl بوجود (النشأ) كسواغ وذلك لصعوبة الحصول على المستحضر الصيدلاني الحاوي عليهما معا في السوق العراقية بالرغم من وجوده تجارياً.

اختيار المذيب المناسب

تم اختيار عدد من المذيبات لاستعمالها في إذابة مزائج عقاري (PYR.HCl) و (NTA) ومن ثم تسجيل طيف الامتصاص، والمذيبات المستعملة هي الماء المقطر، الايثانول، وكذلك استعمال مزائج وهي الايثانول والماء المقطر بنسبة حجوم (9:1) ، الايثانول

دراسة تأثير السواغات

تم دراسة تأثير (النشأ) على تقدير عقار PYR.HCl بوجود NTA وعقار NTA بوجود PYR.HCl بتركيز يصل إلى عشرة اضعاف السواغ باستعمال المشتقة الأولى والثانية للطيف الصفري.

تطبيق الطريقة

تم تطبيق الطريقة المقترحة بإجراء خمسة تكرارات لكل عملية قياس أجريت لثلاث تراكيز هي ($10, 20$ and $30 \mu\text{g.ml}^{-1}$) من عقار PYR.HCl بوجود NTA بتركيز ($5 \mu\text{g.ml}^{-1}$) وبتركيز ($10, 20$ and $30 \mu\text{g.ml}^{-1}$) من عقار NTA بوجود PYR.HCl بتركيز ($15 \mu\text{g.ml}^{-1}$)، إذ أُختبرت تراكيز عقاري PYR.HCl و NTA من ضمن تراكيز منحنيات المعايرة.

تحليل عينات دوائية لعقار PYR.HCl بوجود NTA و لعقار NTA بوجود PYR.HCl بطريقة الإضافات القياسية المتعددة

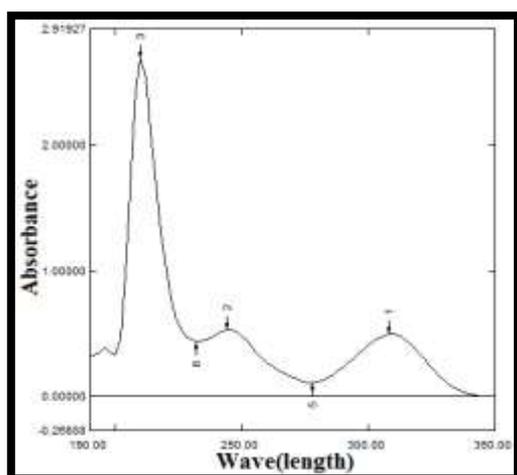
من أجل إختبار إمكانية تقدير عقار PYR.HCl بوجود NTA و عقار NTA بوجود PYR.HCl بمطابقة المشتقة الأولى والثانية فقد تم استعمال طريقة الإضافات القياسية المتعددة لتقديرهما، إذ استعمل محلول مصنع حاوي على PYR.HCl و NTA لتحضير محاليل النماذج الدوائية المستعملة للقياس بهذه الطريقة حيث تم تحضير محاليل قياس العقارين بنقل حجم ثابتة (1ml) من محلول

المستحضر الصيدلاني المصنع لعقار PYR.HCl ذو التركيز ($10 \mu\text{g.ml}^{-1}$) و (1ml) لعقار NTA ذو التركيز ($100 \mu\text{g.ml}^{-1}$) كلا على حدة إلى قناني حجمية سعة (10 ml) ثم تمت إضافة حجم متزايدة من محلول العقار القياسي (0-3 ml) والذي تركيزه ($100 \mu\text{g.ml}^{-1}$)، ثم خفف المحلول بالماء المقطر الى العلامة وبعدها تم تسجيل طيف الإمتصاص لكل محلول لمدى من الأطوال الموجية والتي تراوحت ما بين (190-350 nm) وبعد ذلك تم إشتقاق هذه الأطياف المسجلة ومن ثم أجريت القياسات المطلوبة وهي: إرتفاع القمة عن خط الاساس، وإرتفاع قمة إلى قمة إضافة إلى المساحة تحت القمة عند الأطوال الموجية ونقطة التقاطع الصفري واستعملت القيم المقاسة التي تم الحصول عليها لإعداد منحنيات المعايرة للإضافات القياسية وذلك برسم هذه القيم مقابل حجم المحلول القياسي للعقار المضاف.

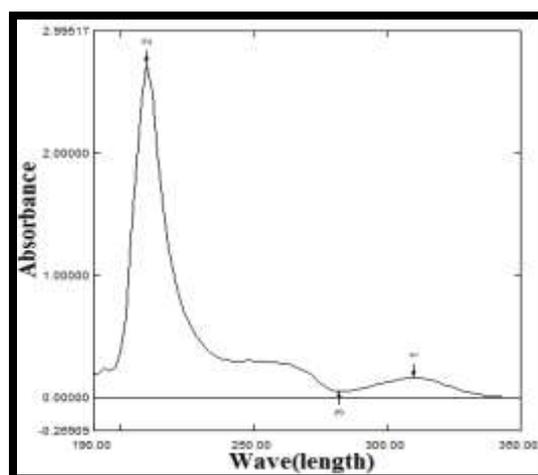
النتائج والمناقشة

أطياف الإمتصاص Absorption spectra

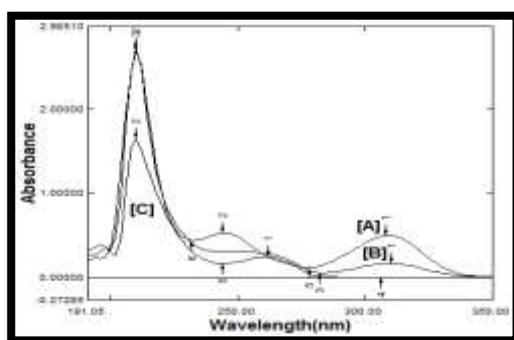
تم قياس الإمتصاصية لمزائج مختلفة لعقاري PYR.HCl و NTA مقابل محلولهما الصوري عند الأطوال الموجية ما بين (190-350nm)، إذ أظهر طيف إمتصاص المزيج المكون من عقاري PYR.HCl و NTA تداخلا تاما عند الطول الموجي (210nm).



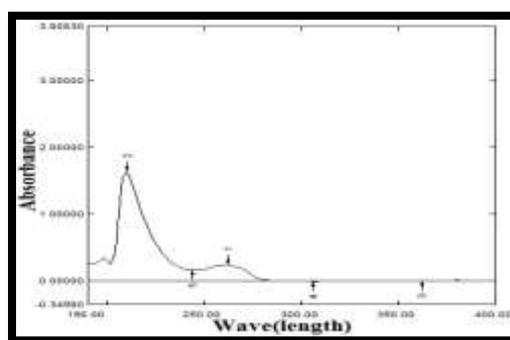
(A)



(B)



(D)



(C)

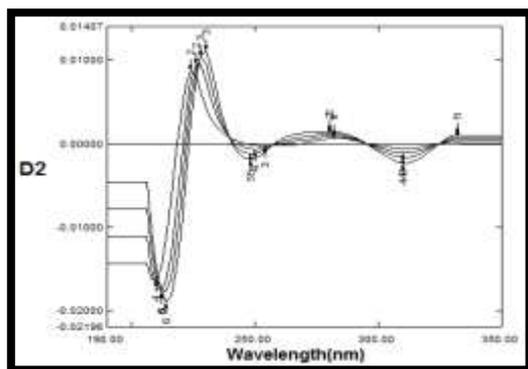
شكل (3) أطياف المرتبة الصفرية: (A) عقار PYR.HCl بتركيز $(15\mu\text{g.ml}^{-1})$ ، (B) عقار NTA بتركيز $(40\mu\text{g.ml}^{-1})$ ، مزيج عقار NTA بتركيز $(10\mu\text{g.ml}^{-1})$ بوجود PYR.HCl بتركيز $(15\mu\text{g.ml}^{-1})$ ، (D) : أطياف المرتبة الصفرية : عقار PYR.HCl بتركيز $(15\mu\text{g.ml}^{-1})$ ، (B) عقار NTA بتركيز $(40\mu\text{g.ml}^{-1})$ ، مزيج عقار NTA بتركيز $(10\mu\text{g.ml}^{-1})$ بوجود PYR.HCl بتركيز $(15\mu\text{g.ml}^{-1})$

وقمة مفيدة للمشتقة الثانية لطيف عقار PYR.HCl عند الطولين الموجيين $\lambda(258,294\text{ nm})$ و $\lambda(268\text{ nm})$ (D2) .

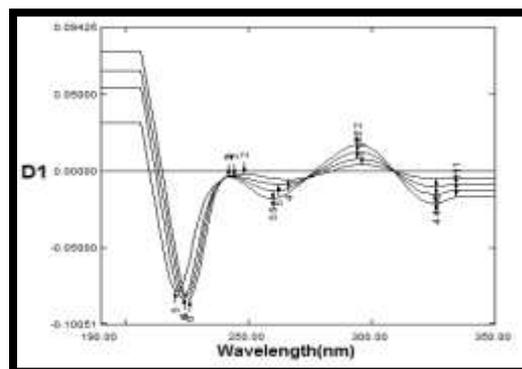
Order of derivative	Mode of calculation	$\lambda(\text{nm})$
D1	Peak to base line	294
	Peak to base line	326
	Peak to Peak	294-326
	Peak area	276-310
	Peak area	310-334
D2	Zero-cross	273.55
	Peak to base line	268
	Peak area	256-294
	Peak area	294-324
	Zero-cross	253.66
	Zero-cross	274

تقدير عقار PYR.HCl بوجود NTA وعقار NTA بوجود PYR.HCl باستخدام مطيافية المشتقة

أظهر طيف امتصاص عقاري PYR.HCl و NTA تداخلاً فيما بينهما لذا فإن عملية تقديرهما بصورة أدبية باستخدام طيف المرتبة الصفرية يكون صعباً وعليه تم استعمال طريقة مشتقة الطيف بتقنياتها الأربعة وهي إرتفاع القمة إلى خط الأساس (Peak to base line) وإرتفاع قمة إلى إرتفاع قمة (Peak to Peak) والمساحة تحت الحزمة (area under Peak) ونقطة التقاطع الصفري (zero-crossing) حيث تستعمل التقنيات الأربعة في تقدير تركيز مكون معين في مزيج من العينات لذا تم تقدير PYR.HCl بوجود NTA حيث أظهر طيف المشتقة الصفرية عند اشتقاقه قمتين مفيدتين للمشتقة الأولى



(A)

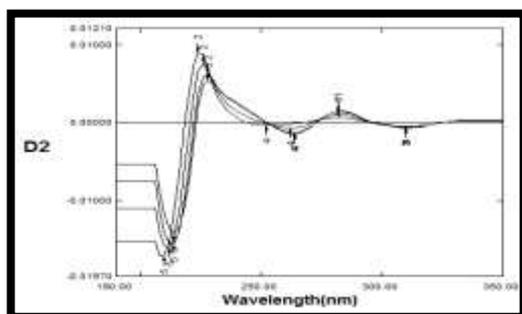


(B)

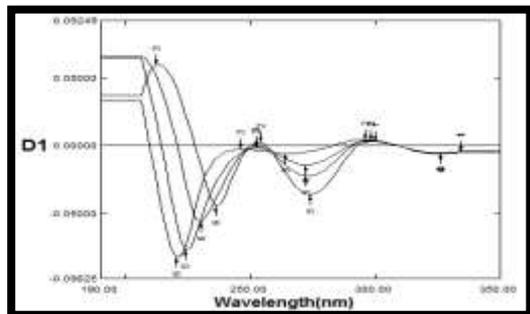
شكل (4) (A) أطيايف المشتقة الأولى ، (B) أطيايف المشتقة الثانية لعقار PYR.HCl للتركيز ($5-45\mu\text{g.ml}^{-1}$) بوجود عقار NTA بتركيز ($5\mu\text{g.ml}^{-1}$)

Order of derivative	Mode of calculation	λ (nm)
D1	Peak to base line	274
	Peak to base line	298
	Peak to peak	274-298
	Peak area	252-292
	Peak area	292-310
	Zero-cross	258.7
D2	Peak to base line	282
	Peak area	252-272
	Peak area	272-294
	Zero-cross	256.95

كما تم تقدير NTA بوجود PYR.HCl والذي أظهرت مشتقة طيفه الصفري عند اشتقاقه قمتين مفيدتين للمشتقة الأولى و قمة مفيدة للمشتقة الثانية عند الطولين الموجبين (274,298 nm) لـ (D1) و (282 nm) لـ (D2).



(B)



(A)

شكل (5) (A) أطيايف المشتقة الأولى ، (B) أطيايف المشتقة الثانية لعقار NTA للتركيز ($5-45\mu\text{g.ml}^{-1}$) بوجود PYR.HCl بتركيز ($15\mu\text{g.ml}^{-1}$)

ينتاسب كل من إرتفاع القمة إلى خط الأساس عند الأطوال الموجية (276 - 310) و $294,326\text{nm}$ والمساحة تحت القمة للأطوال الموجية (310 - 334) و إرتفاع قمة إلى قمة (Peak to Peak) (nm) ، و إرتفاع قمة إلى قمة (Peak to Peak) (nm) و إرتفاع القمة عند PYR.HCl ($294,326\text{nm}$) و إرتفاع القمة عند NTA عند الطول الموجي (273.55nm) للمشتقة الأولى كما أظهرت نتائج قياسات المشتقة الثانية تتناسب كل من إرتفاع القمة إلى خط الأساس عند الطول الموجي (268nm) والمساحة تحت القمة للأطوال الموجية ($256 - 294\text{nm}$) ، و إرتفاع القمة عند PYR.HCl ($294-324\text{nm}$)

بناء منحنيات المعايرة لعقار PYR.HCl بوجود NTA و NTA بوجود PYR.HCl للمشتقة الأولى والثانية أظهرت نتائج قياسات إرتفاع القمة إلى خط الأساس (Peak to base line) و إرتفاع قمة إلى إرتفاع قمة (Peak to Peak) والمساحة تحت الحزمة (area under Peak) ونقطة التقاطع الصفري (zero-crossing) التي أجريت لأغراض التحليل الكمي إعتقاداً على أطيايف المشتقات ضمن مدى التركيز ($5-45\mu\text{g.ml}^{-1}$) لعقار PYR.HCl في مزيج له مع عقار NTA بتركيز ($5\mu\text{g.ml}^{-1}$) ، أنه عند تثبيت تركيز عقار NTA وتغيير تركيز عقار PYR.HCl

المرور بنقطة الصفر (zero-crossing) لعقار PYR.HCl عند الطول الموجي (258.7nm) للمشتقة الأولى بينما أظهرت نتائج قياسات المشتقة الثانية أنه عند تثبيت تركيز عقار PYR.HCl وتغيير تركيز NTA تتناسب كل من إرتفاع القمة إلى خط الأساس عند الطول الموجي (282nm) والمساحة تحت القمة للأطوال الموجية (252-272nm) ، وقيمة إرتفاع القمة NTA عند المرور بنقطة الصفر (zero-crossing) لعقار PYR.HCl عند الأطوال الموجية (256.95 nm) لذلك رسمت منحنيات المعايرة لتقدير عقار NTA للتركيز (5-45µg.ml⁻¹) بوجود عقار PYR.HCl بتركيز (15µg.ml⁻¹) عند مناطق الطيف المشار إليها حيث وجد أنها تتناسب مع تركيز NTA التي تم استعمالها في تقديره المعايرة في المناطق المشار إليها من للمشتقة.

المرور بنقطة الصفر (zero-crossing) لعقار NTA عند الطولين الموجيين (274nm , 253.66) لذلك رسمت منحنيات المعايرة لتقدير عقار PYR.HCl بوجود عقار NTA عند مناطق الطيف المشار إليها حيث وجد أنها تتناسب مع تركيز عقار PYR.HCl والتي تم استعمالها في تقديره.

اما نتائج القياسات التي اجريت لأغراض التحليل الكمي اعتمادا على أطيايف المشتقات ضمن مدى التراكيز (5-45µg.ml⁻¹) لعقار NTA في مزيج له مع عقار PYR.HCl بتركيز (15 µg.ml⁻¹) فأظهرت إنه عند تثبيت تركيز عقار PYR.HCl وتغيير تركيز NTA يتناسب كل من إرتفاع القمة إلى خط الأساس عند الأطوال الموجية (274,298nm) والمساحة تحت القمة للأطوال الموجية (292 - 252 nm) ، وإرتفاع قمة إلى قمة (Peak to Peak) (292- 310nm) ، وقيمة إرتفاع القمة NTA عند الأطوال الموجية (274,298nm) وقيمة إرتفاع القمة NTA عند

جدول (1) خواص تحليل عقار PYR.HCl بوجود عقار NTA باستعمال انماط المشتقة الأولى والثانية

Order of derivative	Mode of calculation	λ(nm)	Regression equation	R ²	Slope	L.O.D µg.ml ⁻¹	L.O.Q µg.ml ⁻¹
D1	Peak to base line	294	y = 0.0009x - 0.0005	0.9994	0.0009	0.0070	0.0235
	Peak to base line	326	y = -0.0011x+ 0.0016	0.9996	-0.0011	0.0063	0.0212
	Peak to Peak	294-326	y = -1.005x - 6E-04	0.9993	-1.005		
	Peak area	276-310	y = 0.0204x - 0.0663	0.9999	0.0204	0.0641	0.2139
	Peak area	310-334	y = -0.0088x+ 0.0127	0.9997	0.0088 -	0.0575	0.1918
	Zero-cross	273.55	y = -0.0009x+ 0.0041	0.9997	- 0.0009		
D2	Peak to base line	268	y = 8E-05x - 0.0004	0.9993	8E-05	4.1E-05	0.0001
	Peak area	256-294	y = 0.0022x - 3E-05	0.9996	0.0022	0.0180	0.0602
	Peak area	294-324	y = -0.0021x - 6E-05	0.9993	- 0.0021	0.0180	0.0602
	Zero-cross	253.66	y = 1E-05x - 0.0003	0.9999	1E-05		
	Zero-cross	274	y = 7E-05x - 0.0004	0.9997	7E-05		

جدول (2) خواص تحليل عقار NTA بوجود PYR.HCl باستعمال انماط المشتقة الأولى والثانية

Order of derivative	Mode of calculation	λ (nm)	Regression equation	R ²	Slope	L.O.D $\mu\text{g.ml}^{-1}$	L.O.Q $\mu\text{g.ml}^{-1}$
D1	Peak to base line	274	$y = -0.0009x + 0.0003$	0.9994	- 0.0009	0.0068	0.0227
	Peak to base line	298	$y = 4E-05x + 0.0027$	0.9995	4E-05	0.0012	0.0041
	Peak to peak	274-298	$y = -23.517x + 0.0642$	0.9993	23.517 -		
	Peak area	252-292	$y = -0.0201x + 0.06$	0.9990	0.0201 -	0.0799	0.2664
	Peak area	292-310	$y = 0.0011x + 0.0188$	0.9999	0.0011	0.0234	0.0782
	Zero-cross	258.7	$y = -0.0009x + 0.0045$	0.9996	-0.0009		
D2	Peak to base line	282	$y = 7E-05x + 0.0003$	0.9995	7E-05	0.0009	0.0030
	Peak area	252-272	$y = -0.001x + 0.0035$	0.9996	-0.001	0.0024	0.0082
	Peak area	272-294	$y = 0.0011x + 0.0011$	0.9998	0.0011	0.0107	0.0359
	Zero-cross	256.95	$y = -5E-05x + 0.0002$	0.9991	-5E-05		

دقة وتوافق الطريقة
Accuracy and of the method
تم حساب دقة وتوافق الطريقة لعقار PYR.HCl
بوجود NTA وعقار NTA بوجود PYR.HCl عن طريق اجراء
التالية:

دقة وتوافق الطريقة
Accuracy and of the method
تم حساب دقة وتوافق الطريقة لعقار PYR.HCl
بوجود NTA وعقار NTA بوجود PYR.HCl عن طريق اجراء
التالية:

جدول (3) دقة وتوافق المشتقة الأولى والثانية لعقار PYR.HCl بوجود NTA

Order of derivative	Mode of analysis	λ (nm)	Drug Conc ($\mu\text{g/mL}$)		Rec%	R.S.D%
			Taken	Found		
D1	Peak to base line	294	10.0000	10.2222	102.2222	0.2492
			25.0000	25.0000	100.0000	0.9936
	Peak to base line	326	10.0000	9.7909	97.9090	0.1091
			25.0000	25.2909	101.1636	0.0434
	Peak to peak	294-326	10.0000	10.1530	101.5309	
			25.0000	24.6285	98.5140	
	Peak area	276-310	10.0000	10.0147	100.1471	0.8811
			25.0000	24.7696	99.0784	0.1906
Peak area	310-334	10.0000	10.1931	101.9318	0.7076	
		25.0000	24.3977	97.5908	0.7866	
D2	Peak to base line	268	10.0000	10.0000	100.0000	0.5972
			25.0000	25.3750	101.5000	0.4883
	Peak area	256-294	10.0000	9.5636	95.6363	0.2627
			25.0000	25.0181	100.0724	0.7920
	Peak area	294-324	10.0000	9.9714	99.7142	0.1762
			25.0000	25.2095	100.8381	0.7920

جدول (4) دقة وتوافق المشتقة الأولى والثانية لعقار NTA بوجود PYR.HCl

Order of derivative	Mode of analysis	λ (nm)	Drug Conc ($\mu\text{g/mL}$)		Rec%	RSD%
			Taken	Found		
D1	Peak to base line	274	10.0000	10.1888	101.8880	0.0953
			25.0000	25.3444	101.3776	0.0315
	Peak to base line	298	10.0000	10.1250	101.2500	0.1033
			25.0000	25.7500	103.0000	0.1895
	Peak area	252-292	10.0000	10.3482	103.4820	0.5007
			25.0000	24.3343	97.3372	0.0277
Peak area	292-310	10.0000	10.1818	101.8180	0.5252	
		25.0000	25.9459	103.7836	0.0486	
D2	Peak to base line	282	10.0000	10.0000	100.0000	0.7423
			25.0000	24.4285	97.7140	0.9669
	Peak area	252-272	10.0000	10.0100	100.1000	0.3008
			25.0000	24.9500	99.8000	0.2108
	Peak area	272-294	10.0000	10.0181	100.1810	0.0583
			25.0000	25.9545	103.8180	0.1230

تم تطبيق الطريقة المقترحة بإجراء خمسة تكرارات لكل عملية قياس أُجريت لثلاث تراكيز من ضمن تراكيز منحنيات المعايرة وهي (10, $10\mu\text{g.mL}^{-1}$ و $30\mu\text{g.mL}^{-1}$) من عقار PYR.HCl بوجود NTA بتركيز $5\mu\text{g.mL}^{-1}$ و (10, 20 and $30\mu\text{g.mL}^{-1}$) من عقار NTA بوجود PYR.HCl ($5\mu\text{g.mL}^{-1}$) ، بينت النتائج إن الطريقة ذات دقة وتوافق جيدين إذ تراوحت قيم % Rec ما بين 98.4545- 102.3633 وقيم % RSD ما بين (0.0564 - 0.9882) للمشتقة الأولى وتراوحت قيم % Rec ما بين (96.2225- 102.5710) وقيم % RSD ما بين (0.2698 - 0.9393) للمشتقة الثانية لعقار PYR.HCl بوجود NTA في حين تراوحت قيم % Rec بين (0.0211- 96.0450-102.2185%) وقيم % RSD بين (0.9380% للمشتقة الأولى و قيم % Rec بين (97.1420- 102.9000%) وقيم % RSD بين (0.3512-0.9154%) للمشتقة الثانية لعقار NTA بوجود PYR.HCl .

Study of expipients effect

دراسة تأثير السواغات

تم تقدير عقار PYR.HCl بتركيز ($15\mu\text{g.mL}^{-1}$) بوجود NTA بتركيز ($10\mu\text{g.mL}^{-1}$) وعقار NTA بتركيز ($10\mu\text{g.mL}^{-1}$) بوجود PYR.HCl بتركيز ($5\mu\text{g.mL}^{-1}$)، لوحظ من نتائج التحليل إن هذا السواغ ليس له تأثير معنوي على العقار حتى عند وجوده بتركيز تصل إلى عشرة أضعاف على عملية تقدير العقارين إذ تراوحت الاسترجاعية المئوية % Rec ما بين (99.2000-104.0000%) و معامل الإنحراف القياسي النسبي % RSD ما بين (0.1831- 0.9186%) لعقار PYR.HCl بتركيز ($15\mu\text{g.mL}^{-1}$) بوجود NTA بتركيز ($10\mu\text{g.mL}^{-1}$) وتراوحت الاسترجاعية المئوية % Rec ما بين (96.3630-102.2500%) وقيم معامل الإنحراف القياسي النسبي % RSD ما بين (0.2524-0.8719%) لعقار NTA بتركيز ($10\mu\text{g.mL}^{-1}$) بوجود PYR.HCl بتركيز ($5\mu\text{g.mL}^{-1}$).

تطبيق طريقة مطيافية المشتقة لتقدير عقار PYR.HCl بوجود

PYR.HCl و NTA

جدول (5) النتائج التجريبية لتطبيق الطريقة المقترحة للمشتقة الأولى والثانية لعقار PYR.HCl بوجود NTA

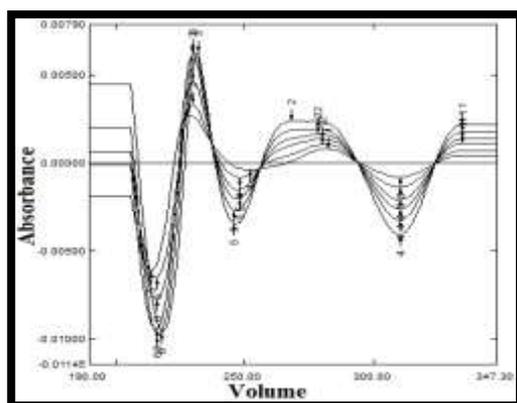
Order of derivative	Mode of analysis	λ (nm)	Drug Conc ($\mu\text{g/mL}$)		Rec%	RSD%
			Taken	Found		
D1	Peak to base line	294	10.0000	10.1111	101.1111	0.9070
			20.0000	20.0666	100.3333	0.0569
			30.0000	30.2112	100.7040	0.5041
	Peak to base line	326	10.0000	9.9090	99.0900	0.9015
			20.0000	19.6909	98.4545	0.1982
			30.0000	30.7090	102.3633	0.0564
	Peak area	276-310	10.0000	10.1029	101.0290	0.1376
			20.0000	20.0637	100.3185	0.3320
			30.0000	30.1617	100.5390	0.8830
	Peak area	310-334	10.0000	10.2159	102.1590	0.1686
			20.0000	19.8522	99.2610	0.9882
			30.0000	29.8522	99.5073	0.8749
D2	Peak to base line	268	10.0000	10.1250	101.2500	0.4724
			20.0000	20.1250	100.6250	0.3436
			30.0000	30.0000	100.0000	0.9354
	Peak area	256-294	10.0000	9.7454	97.4545	0.7066
			20.0000	19.2445	96.2225	0.2698
			30.0000	30.2454	100.8180	0.6686
	Peak area	294-324	10.0000	10.2571	102.5710	0.5268
			20.0000	20.2095	101.0475	0.3573
			30.0000	30.3523	101.1743	0.9393

جدول (6) النتائج التجريبية لتطبيق الطريقة المقترحة للمشتقة الأولى والثانية لعقار NTA بوجود PYR.HCl

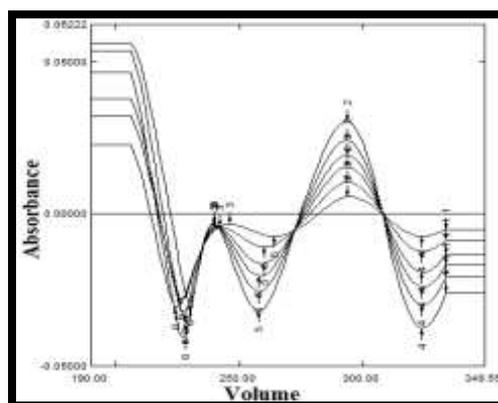
Order of derivative	Mode of analysis	λ (nm)	Drug Conc ($\mu\text{g/mL}$)		Rec%	RSD%
			Taken	Found		
D1	Peak to base line	274	10.0000	9.8888	98.8880	0.9115
			20.0000	20.4111	102.0555	0.2109
			30.0000	30.3333	101.1110	0.8364
	Peak to base line	298	10.0000	9.6500	96.5000	0.0702
			20.0000	20.2500	101.2500	0.0211
			30.0000	30.5000	101.6667	0.8839
	Peak area	252-292	10.0000	10.0497	100.4970	0.6272
			20.0000	20.4437	102.2185	0.7169
			30.0000	29.9333	99.7776	0.2226
	Peak area	292-310	10.0000	9.9090	99.0900	0.5660
			20.0000	19.2090	96.0450	0.9380
			30.0000	29.9454	99.8180	0.0753
D2	Peak to base line	282	10.0000	9.7142	97.1420	0.8042
			20.0000	20.1428	100.7140	0.8337
			30.0000	29.8571	99.5236	0.3512
	Peak area	252-272	10.0000	10.2000	102.0000	0.4542
			20.0000	20.5800	102.9000	0.8328
			30.0000	29.5000	98.3333	0.9154
	Peak area	272-294	10.0000	10.2727	102.7270	0.7178
			20.0000	19.8909	99.4545	0.1957
			30.0000	29.9090	99.6966	0.8132

RSD% ما بين (0.2303-0.8971%) للمشتقة الثانية لعقار PYR.HCl بتركيز ($10\mu\text{g.ml}^{-1}$) بوجود NTA بتركيز ($4\mu\text{g.ml}^{-1}$) في حين تراوحت قيم Rec% ما بين (102.2744-103.7037%) وقيم RSD% ما بين (0.2767-0.6812%) للمشتقة الأولى وتراوحت قيم Rec% ما بين (100.0000-103.4091%) وقيم RSD% ما بين (0.5646-0.8335%) للمشتقة الثانية لعقار NTA بتركيز ($100\mu\text{g.ml}^{-1}$) بوجود PYR.HCl بتركيز ($10\mu\text{g.ml}^{-1}$).

تحليل عينات دوائية لعقار PYR.HCl بوجود NTA و NTA بوجود PYR.HCl بطريقة الإضافات القياسية المتعددة تم تقدير عقار PYR.HCl بتركيز ($10\mu\text{g.ml}^{-1}$) بوجود NTA بتركيز ($4\mu\text{g.ml}^{-1}$) وعقار NTA بتركيز ($100\mu\text{g.ml}^{-1}$) بوجود PYR.HCl بتركيز ($10\mu\text{g.ml}^{-1}$) بطريقة الإضافات القياسية المتعددة وتظهر النتائج التي تم الحصول عليها كفاءة ونجاح الطريقة المتبعة إذ تراوحت قيم Rec% ما بين (95.9026-102.4691%) وقيم RSD% ما بين (0.0978-0.9065%) للمشتقة الأولى بينما تراوحت قيم Rec% ما بين (100.0000-102.4752%) وقيم



(B)

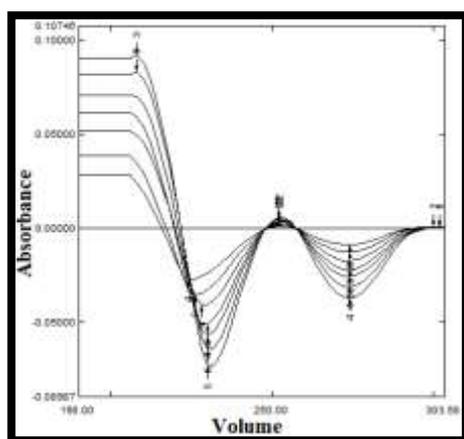


(A)

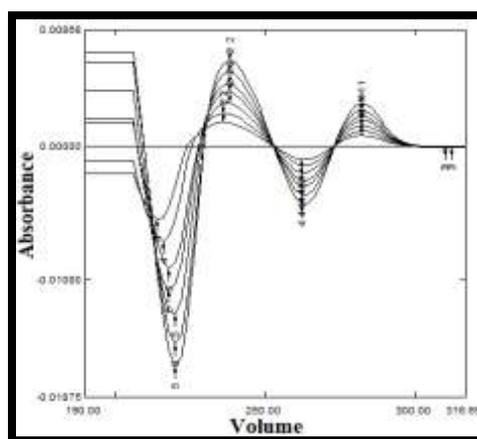
شكل (6) (A) أطيف المشتقة الأولى، (B) أطيف المشتقة الثانية لنتائج تحليل عقار PYR.HCl بتركيز ($10\mu\text{g.ml}^{-1}$) بوجود NTA بتركيز ($4\mu\text{g.ml}^{-1}$) بطريقة الإضافات القياسية المتعددة

جدول (7) نتائج تحليل عقار PYR.HCl بوجود NTA باستعمال انماط المشتقة الأولى والثانية بطريقة الإضافات القياسية المتعددة

Sample	Order	Mode of analysis	λ (nm)	Concentration ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)		Rec%	RSD%
				Taken	Found		
PYR.HCl	D1	Peak to base line	294	10.0000	10.0000	100.0000	0.0978
		Peak to base line	326	10.0000	10.2469	102.4691	0.8222
		Peak area	276-310	10.0000	9.8962	98.9621	0.2432
		Peak area	310-334	10.0000	9.5902	95.9026	0.9065
	D2	Peak to base line	268	10.0000	10.0000	100.0000	0.8971
		Peak area	256-294	10.0000	10.2475	102.4752	0.2303



(A)



(B)

شكل (7) (A) أطيايف المشتقة الأولى، (B) أطيايف المشتقة الثانية لنتائج تحليل عقار NTA بتركيز ($100\mu\text{g.ml}^{-1}$) بوجود PYR.HCl بتركيز ($10\mu\text{g.ml}^{-1}$) بطريقة الإضافات القياسية المتعددة

جدول (8) نتائج تحليل عقار NTA بوجود PYR.HCl باستعمال انماط المشتقة الأولى والثانية بطريقة الإضافات القياسية المتعددة :

Sample	Order	Mode of analysis	λ (nm)	Drug Amount (ppm)		Rec%	RSD %
				Taken	Found		
NTA	D1	Peak to base line	274	100.0000	103.7037	103.7037	0.6812
		Peak area	252-292	100.0000	102.2744	102.2744	0.2767
	D2	Peak to base line	282	100.0000	10.0000	100.0000	0.8335
		Peak area	252-272	100.0000	102.5947	102.5947	0.5646
		Peak area	272-294	100.0000	103.4091	103.4091	0.6079

(base line) وارتفاع قمة إلى إرتفاع قمة (Peak to Peak) والمساحة تحت القمة (area under Peak) ونقطة التقاطع الصفرى (zero-crossing) إمكانية تطبيق الطريقة بنجاح لتقدير العقارين.

الاستنتاجات

يمكن أن تعد الطريقة المستعملة لتقدير عقاري PYR.HCl و NTA بأنها مفيدة وذلك لما إمتازت به من الحساسية العالية للتركيز القليلة وذات دقة وتوافق عاليين حيث أظهرت النتائج الجيدة لقياسات مشتقة الطيف بتقنياتها الأربعة وهي إرتفاع القمة إلى خط الأساس (Peak to

المصادر

- 4- S. Sareen Gropper and L. Jack Smith ; Advanced Nutrition And Human Metabolism . Book. (2012); pp 320 - 360.
- 5- J. Yang and J.D. Adams. Drug Design Reviews, (2004) ; p 1 - 43.
- 6- AR. Shalita, JG. Smith, LC. Parish, MS. Sofman and DK. Chalker; Topical Nicotinamide Compared With Clindamycin Gel in The Treatment of

- 1- The United States Pharmacopeia (USP) 35. Vol:1. (2012) ; pp 1067-8.
- 2- 228 - British Pharmacopeia, Appendix IIIA. Vol : 3 . (2012) ; 110A.
- 3- JA. Timmons, JC. Meyer, DJ. Steible and SP. Assenza; Reverse Phase Liquid Chromatographic Assay For Calcium Pantothenate in Multivitamin Preparations and Raw Materials. J Assoc Off Anal Chem. Vol: 70 (3) , (1987) ; pp 510 - 513.

- and Oral Dosage Form . International Journal of Pharma Sciences and Research. Vol : 6 (2) . (2015); pp 459 - 462 .
- 16-S.N. Shah; Development and Validation of Stability Indication Spectrophotometric Method Pyridoxine Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Formulations. The American Journal of Innovative Research and Applied Science. Vol: 1(2) . (2015) ; pp 75 - 79 .
- 17-He Feng-Yun, Yu Jing , Liu Huan, Gu Xiao-Yan, Tang Peng-Peng , Zhou Hong , Chen Chang-Yun and Lu Guo - Fei; Electrochemical Behavior and Determination of Pyridoxine Hydrochloride at Graphene-Carbon Nanotubes Poly(Nicotinic Acid) Modified Electrode. Chinese Journal of Analytical Chemistry . Vol : 42 (7) . (2014) ; pp 1039 - 1043 .
- 18- E.H. Kh. Adam and R. Al-Shdefat; Development and Validation of aRP-HPLC Method For Simultaneous Estimation of Pyridoxine Hydrochloride (Vitamin B6) and its Degraded Products Formed Under Effect of Different Solvents . JCPS . Vol : 8 (2). (2015) ; pp 293 - 245 .
- 19- H.W. Jun, L.Z. Peng, P. Xuan, T. Lu, D.K. Hua and X. Xin; HPLC Determination of Hydrochlorothiazide, Dihydralazine Sulfate Vitamin B1, Vitamin B6 in Compound Reserpine Tablets . Applied Chemical Industry, (2012); pp 1632 - 1634 .
- 20- M. Walash, F. Belal, N. El-Enany and M. El-Majhrapy; Simultaneous Determination of Metoclopramide Hydrochloride Pyridoxine Hydrochloride in Syrup Using HPLC Method with Fluorescence Detection: Application to Human Plasma. Journal of Liquid chromatography and Related Technologies .Vol:36(4). (2013); pp 439 - 453 .
- 21-S. Prashanti, M. Aruna, P.Mahesh, A.R. Phat and K. Swapna; Simultaneous Estimation of DL-methionine and Pyridoxine Hydrochloride in Tablets Dosage Form By RP-HPLC. International Journal of Pharmaceutical and Chemical Science . Vol:3(1) . (2014); pp 105 - 109 .
- 22-Md. S. Nawaz; A new Validated Stability Indicating RP-HPLC Method For Simultaneous Estimation of Pyridoxine Hydrochloride and Meclizine Hydrochloride in Pharmaceutical Sold Dosage Forms . Chromatography Research International. Vol: 7. (2013)
- Inflammatory Acne Vulgaris. International Journal of Dermatology. Vol: 34 (6) . (1995) ; pp 434 -7.
- 7- M. Surjana Devita , M. Halliday Gary, J. Martin Andrew, J. Moloney Fergal and L. Damian Diona; Oral Nicotinamide Reduces Actinic Keratoses in Phase II Double-Blinded Randomized Controlled Trials. Journal Of Investigative Dermatology . Vol : 132 (5) . (2012) ; pp 1497 - 1500 .
- 8- SG. Bhansali, DA. Brazeau, M. Sonee and SK. Mukherjee; Nicotinamide Prevents Apoptosis in Human Cortical Neuronal Cells. Toxicol Mech Methods. Vol: 16 (4). (2006); pp 173 - 180.
- 9- J. Navarrete - Solís, JP. Castanedo - Cázares and B.Torres-Alvarez et al; A Double-Blind, Randomized Clinical Trial of Niacinamide 4% Versus Hydroquinone 4% in The Treatment of Melasma . Dermatol Res Pract . (2011) ; pp 1 - 5 .
- 10-K. Muszalska Kiaszewicz, D. Kson and A. Sobczak; Determination of Nicotinamide (VitaminB3) in Cosmetic Products Using Differential Spectrophotometry and Liquid Chromatography (HPLC) . Journal of Analytical Chemistry. Vol :68 (11) . (2012) ; pp 1007 - 1013.
- 11-Saji Thomas , Amber Bharti , Kalsang Tharpa and Ashutosh Agarwal; Quantification of Potential Impurities By a Stability Indicating UV-HPLC Method in Niacinamide Active Pharmaceutical Ingredient. Journal Pharm Biomed Anal. Vol: 6. (2012); pp 86 - 90 .
- 12-MaBgorzata DoBowy and Alina Pyka ; Validation of An RP-HPTLC Densitometric Method Using Silica Gel 60 RP18WF254 For Simultaneous Determination of Nicotinamide in Selected Pharmaceutical Formulations . Journal Anal Methods Chem . (2015) .
- 13-NM . Gowekar , MD. Madhekar , CC. Nalawade, KG. Jadhav, PP.Dhanawade and SN .Gowekar; Derivative Spectrophotometric Method For The Estimation of Pyridoxine HCl in Bulk Drug & Dosage Form. International Journal of Pharmaceutical And Chemical Sciences. Vol: 1. (2012) ; pp 393 - 342.
- 14-N.R. Ahmad; Spectrophotometric Determination of Pyridoxine Hydrochloride Via Complexation With Fe (III) in Pharmaceutical and Environmental Wastewater Samples. Iraqi National Journal of Chemistry. vol: 48 . (2012) ; pp 413 - 423 .
- 15-V. Niraimathi, A.J. Suresh and J. Jaisudha; IR Quantification of Pyridoxine hydrochloride in Bulk

Determination Micro Spectrophotometric of Pyridoxine Hydrochloride and Nicotinamide via Derivative Spectrophotometry First and Second

Mohammed Qasim Al-Sammarae , Khlaf Faris Al-Sammarae

Department of Chemistry , College of Education , University of Sammaraa , Sammaraa , Iraq

Email : alfarisalsamarai2013@gmail.com

Abstract

A simple, sensitive and accurate spectrophotometric method for determination of PYR.HCl and NTA in pure and pharmaceutical forms. The method based on group of known digital data used to separate the response signals for sample contains the two components without need to separating via first and second derivative of spectra. The method obtained obeying to the Beers law in the concentration range between (5-45 $\mu\text{g.ml}^{-1}$) for two components in the presence of PYR. HCl ($15\mu\text{g.ml}^{-1}$) and NTA ($5\mu\text{g.ml}^{-1}$) with another components at wavelength (210 nm) respectively . The Rec % range was between (98.5354 - 103.4335 %) and RSD% (0.0864 - 0.1487 %), LOD ($1.0822 \mu\text{g.ml}^{-1}$), LOQ ($3.6075 \mu\text{g.ml}^{-1}$) PYR.HCl in presence of NTA, The Rec% range was between (96.1418 - 102.9273 %) and RSD% (0.2165–0.4933 %), LOD ($0.7273\mu\text{g.ml}^{-1}$), LOQ ($2.4252 \mu\text{g.ml}^{-1}$) NTA in presence of PYR. HCl .

Key words: derivative of spectra , Pyridoxine Hydrochloride , Nicotinamide .