

التقدير الطيفي للأيزونيازايد بتكوين قواعد شيف

محسن حمزة بكر ، صابر بن شاكر محمود

قسم الكيمياء ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

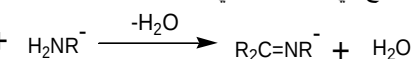
تَصَدَّ مَنَّت هذه الدراسة طريقة طيفية سهلة وسريعة وحساسة لتقدير الأيزونيازايد في الوسط المائي ، إذ تعتمد الطريقة على تكوين قواعد شيف الذي يتم بتفاعل الأيزونيازايد مع الكاشف سالسيلديهايد عند الدالة الحامضية 2.3 ليعطي ناتج لونه أصفر يظهر له أعلى امتصاص له عند الطول الموجي 360 نانومتر ، وكانت حدود قانون بير في مدى التركيز 6 - 30 مايكروغرام/ مل من الأيزونيازايد ، وقيمة الامتصاصية المولارية 3428.25 لتر. مول⁻¹ . سم⁻¹ ، ودلالة ساندل 0.04 مايكروغرام. سم⁻² ، ومعدل الاسترجاعية 99.971 %، والانحراف القياسي النسبي من 0.458 - 3.13 % ، وبدد كشف 0.1481 مايكروغرام/مل ودم تطبيق الطريقة في تقدير مستحضرات الأيزونيازايد الصيدلانية بنجاح .

الكلمات الدالة: الأيزونيازايد، السالسيلديهايد ، قواعد شيف.

المقدمة

له أعلى امتصاص عند الطول الموجي 405 نانومتر، وبلغت حدود قانون 1-12 مايكروغرام / مل⁽⁹⁾، وطرائق الحقن الجرياني إذ تم تقدير الأيزونيازايد باكسدته وذلك بتفاعله مع النحاس (II) والذي يختزل الى النحاس (I) حيث يعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي 454 نانومتر، وبلغت حدود قانون بير 0.3-3.5 مايكروغرام / مل، وامتازت الطريقة بكونها ذات حساسية عالية، سريعة وسهلة وتم تطبيقها في المستحضرات الصيدلانية⁽¹⁰⁾ وتم تقدير الأيزونيازايد بطريقة الحقن الجرياني بوجود العامل المؤكسد بيروكسيد الهيدروجين ، إذ يحقن محلول العقار في محلول اللومينول اذا تم قياس امتصاص النموذج عند الطول الموجي 425 نانومتر، مع تراكيز للعقار 10-1000 نانوغرام / مل ، وبلغت قيمة معامل الارتباط 0.9996 وبلغ حد الكشف 2.7 نانوغرام / مل⁽¹¹⁾ كما تم تقدير الأيزونيازايد بطريقة الحقن الجرياني وبوجود عوامل أكسدة إذ تم حقن محلول العقار في محلول الجريان المستمر للمادة المؤكسدة BrO₃⁻ في وسط قلوي حيث تختزل البرومات الى Br⁻ ، وبلغت قيمة الانحراف القياسي النسبي اقل من 5 % ، اما قيمة حد الكشف فبلغت 7.0 × 10⁻⁹ م / مل، أمّا حدود التركيز 2.0 × 10⁻⁹ × 1.0-10⁻⁶ غم / مل⁽¹²⁾، وطرائق كروماتوغرافيا حيث تم تقدير الأيزونيازايد في انسجة وبلازما الفئران وتتضمن الطريقة فصل المركبات في العمود حيث استخدم نوع العمود C₄ بدرجة حرارة 25 م⁰، وتتضمن الطور المتحرك 0.05% من حامض الفورميك والميثانول ، وبلغت سرعة الجريان 1.0 مل / دقيقة، وبلغت قيمة الاسترجاعية في الاغشية 83.3 - 98.8% اما في البلازما فبلغت 75.5-90.8 %، وبلغت الدقة في الاغشية 91.7-12.0% أمّا في البلازما فبلغت الدقة 94.6-108.8 %، وبلغت حدود التراكيز للأيزونيازايد في الاغشية 0.11-5.42 مايكروغرام / مل وفي البلازما 0.8-9.04 مايكروغرام / مل، أمّا في البلازما فبلغ حد الكشف 5.5 مايكروغرام / مل⁽¹³⁾، تم تقدير الأيزونيازايد بتقنية كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC في بلازما الجرذان إذ أنه تم الفصل باستخدام نوع العمود C₁₈ أمّا الطور المتحرك فيحتوي على

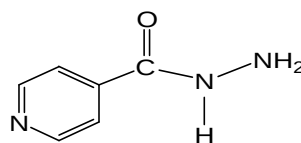
اكتشفت قواعد شيف لأول مرة عام 1864 من قبل العالم الألماني هوك - شيف (Huge-Schiff's) وبذلك سميت قواعد شيف نسبة لمكتشفها⁽¹⁾. وتتكون قواعد شيف من تفاعل تكثيفي (Condensation reaction) بين الالديهيدات والكيونونات مع الأمينات الأولية (Primary amines) لتعطي قاعدة شيف ذات الصيغة R₂C=NR⁽²⁾ كما موضح في التفاعل التالي:



الأيزونيازايد مركب عضوي مَصْنَع وهو عبارة عن مسحوق بلوري أبيض ، عديم الرائحة قابل للذوبان جدا في الماء والكحول⁽³⁾ وقليل الذوبان في الكلوروفورم وثنائي ايثل ايثر والبنزين^(5,4) واستعمل الأيزونيازايد لمعالجة امراض السل وكما مادة مخدرة مضاد للفايروسات.^(8,7,6) وله عدة تسميات علمية:

Isonicotinoylhydrazine, isonicotinylhydrazine, INH, rimitsid, tubazid
4-pyridine carboxylic acid hydrazide, isonicotinic acid hydrazide⁽⁵⁾

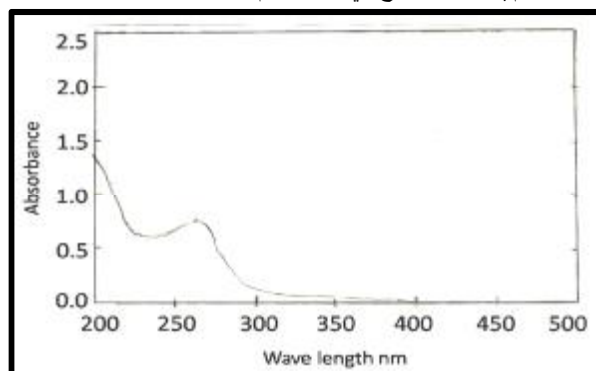
والصيغة التركيبية له :



ولأهمية العقار من الناحية الطبية تم تقديره بطرائق تحليلية مختلفة ومنها :

طرائق طيفية حيث امكن تقدير الأيزونيازايد والريتودراين هيدروكلورايد (Ritodrine Hydrochloride) بطريقة تفاعل الاوتة والاقتران وذلك من خلال اقتران 4,4- ثنائي سلفونيل انلين مع الأيزونيازايد والريتودراين هيدروكلورايد في وسط قاعدي، عند الطولين الموجيين 440 و 460 لكلا العقارين على التوالي ، وبلغت حدود قانون بير للأيزونيازايد 0.5-20 مايكروغرام / مل⁽⁸⁾، وتم تقدير الأيزونيازايد مع الفانيلين بتكوين قواعد شيف ليعطي ناتج أصفر اللون

/ مل وذلك بوضع 2 مل من محلول الايزونيازايد ذي التركيز 300 مايكروغرام/مل كما موضح في الشكل رقم 1.



شكل رقم (1) طيف امتصاص محلول الايزونيازايد مقابل الماء المقطر قبل التفاعل .

تبيّن من الشكل أعلاه أنّ أعلى امتصاص لهذا المحلول في المنطقة فوق البنفسجية هو عند الطول الموجي 263 نانومتر .

• محلول الكاشف الساليسيلديهايد 10×10^{-2} مولاري

حُدِّرَ هذا المحلول بإذابة 0.1221 غرام من المادة السائلة في كمية من الماء المقطر بعد إضافة 2 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز لكي تساعد على ذوبانها ثم أضيف 35 مل من حامض الهيدروكلوريك ذي التركيز 0.01 مولاري وأكمل الحجم بملّي حدّ العلامة بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مل .

• محلول المستحضر الصيدلاني ايزونيازايد 300 مايكروغرام/مل المستحضر الصيدلاني Isoniazid (انتاج الشركة العامة للدوية والمستلزمات الطبية-SDI- سامراء - العراق) بشكل حبوب وكل حبة تحتوي على 100 ملغرام من الايزونيازايد تمّ تحضير محاليلها كالآتي: تمّ طحن 10 حبات بشكل جيد بعد وزن كلّ حبة على انفراد، وأخذ معدل وزن حبة واحدة الذي يكافئ 0.1000 غرام من الايزونيازايد، وتمّت إذابته في كمية من الماء المقطر، ثم رشح المحلول، وغسل الراسب عدة مرات ، بعد ذلك وضع الراشح في قنينة حجمية سعة 100 مل، وأكمل الحجم بملّي حدّ العلامة بالماء المقطر، وأخذ 30 مل ووضع في قنينة حجمية سعة 100 مل واكمل الحجم به الى حد العلامة بالماء المقطر، للحصول على محلول ذي تركيز 300 مايكروغرام/مل .

النتائج والمناقشة

المبدأ العام للطريقة

عند إضافة محلول الساليسيلديهايد إلى محلول الايزونيازايد يتكون حالاً ناتجاً بلون أصفر (قاعدة شيف) وذلك لاقتران المركب الدوائي مع الكاشف .

الدراسة التمهيدية

اضيف 2 مل من محلول الساليسيلديهايد ذي التركيز 10×10^{-2} مولاري إلى 2 مل من محلول الايزونيازايد ذي التركيز 300 مايكروغرام / مل (24 مايكروغرام / مل) في قنينة حجمية سعة 25

مزيغ من الميثانول ومحلول الخلّات المنظم عند دالة حامضية 5.0 ، وأجري الكشف عند الطول الموجي 270 نانومتر ، إذ بلغت سرعة الجريان 0.1 مل / دقيقة ، أمّا حدود التراكيز فكانت 0.2-10 مايكروغرام / مل للايزونيازايد وبمعامل ارتباط 9997⁽¹⁴⁾، وطرائق كهربائية فولتامترية حيث امكن تقدير الايزونيازايد بطريقة فولتامترية وباستخدام الكاشف بولي 4,3-اثلين دايوكسي ثايوفان Poly(3,4- ethylendioxythiophene) ويوجد انواع مختلفة من المواد الفعالة سطحيا ومواد اخرى ، وعند دالات حامضية مختلفة، وبلغت حدود التراكيز 0.8-4 و 10^{-5} - 10^{-4} مول / لتر، وبمعامل ارتباط 0.999 و 0.998 ، اما قيمة حد الكشف فبلغت 32 نانومول / لتر و 45 نانومول / لتر⁽¹⁵⁾، وتم تقدير الايزونيازايد بطريقة فولتامترية وباستخدام تقنية البولارغرافي النبضي المشتق واستخدم التيار الرجعي 0.3 فولت أمّا حدود التراكيز للايزونيازايد فبلغت $(2.0 \times 10^{-6} - 2.3 \times 10^{-4})$ مولاري) وقيمة حد الكشف بلغت 9.69×10^{-9} مول / لتر⁽¹⁶⁾.

المواد وطريقة العمل

الأجهزة المستخدمة

تمّ استخدام الأجهزة الآتية للقياسات :

جهاز المطياف أحادي الحزمة نوع CECIL single beam CE1021

جهاز المطياف مزدوج الحزمة نوع Shimadzu UV-Visible spectrophotometer UV-160

خلايا كوارتز وسليكا عرض مقداره 1سم.

حمام مائي نوع Galleahomb

جهاز قياس الدالة الحامضية نوع Jenway3310

ميزان حساس نوع Sartorius BL 210S

المواد الكيميائية المستخدمة

جميع المواد الكيميائية المستخدمة كانت على درجة عالية من النقاوة كما هي موضحة في الجدول رقم 1.

جدول رقم (1) المواد الكيميائية المستخدمة

Chemicals	Chemical Structure	Company
Isoniazid	$C_6H_7N_3O$	SDI
Salicylaldehyde	$C_7H_6O_2$	Fluka
Ammonium hydroxide	NH_4OH	BDH
Hydrochloric acid	HCl	Fluka

محاليل المواد المستخدمة

• محلول الايزونيازايد القياسي 1000 مايكروغرام/ مل (10×7.29 مولاري³⁻)

حُدِّرَ هذا المحلول بإذابة 0.1000 غرام من مسحوق الايزونيازايد بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مل وأكمل الحجم بملّي حدّ العلامة وتم تخفيف المحاليل من المحلول القياسي 1000 مايكروغرام

امتصاص المحاليل عند الطول الموجي 360 نانومتر مقابل المحلول الصوري باستخدام خلايا عرض 1 سم .

اختيار أفضل كاشف اقتران

أُستُخدمَ حجم 2 مل من محاليل ذي تراكيز 10×10^{-2} مولي

لجميع الكواشف المستخدمة وتم رسم الاطياف من 200-600

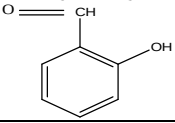
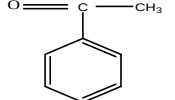
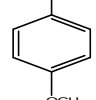
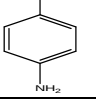
نانومتر مقابل محاليلها الصورية والنتائج مدونة في الجدول رقم 2 .

مل تكون ناتجاً أصفر اللون حال إتمام الإضافات وبعد إكمال الحجم إلى الحد العلامة تمَّ قياس طيف امتصاص هذا الناتج الملون مقابل محلوله الصوري، وجدَّ أنَّه يعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي 360 نانومتر .

دراسة ضبط الظروف المثلى

تمَّ إجراء التجارب اللاحقة باستخدام 2 مل من محلول الايزونيازيد ذي التركيز 300 مايكروغرام/ مل النقي في حجم نهائي 25 مل وتمَّ قياس

جدول رقم (2) اختيار أفضل كاشف اقتران

Reagent $1 \times 10^{-2} M$	Variable	Colour	λ_{max} nm	$\Delta\lambda$ nm	Abs.	ϵ $L.mol^{-1}cm^{-1}$
Salicylaldehyde 	SB	Yellow	361.0	42	0.746	4262.45
	BW	Colourless	319.0		2.014	
	BW*	-----	361.0		0.100	
Acetophenone 	SB	Colourless	305.0	8.5	0.121	691.78
	BW	Colourless	296.5		0.390	
	BW*	-----	305.0		0.000	
4- methoxybenzaldehyde 	SB	Colourless	348.5	44	0.170	971.33
	BW	Colourless	304.5		0.067	
	BW*	-----	348.5		0.000	
4-aminoacetophenone 	SB	Colourless	313.0	12	0.057	325.40
	BW	Colourless	301.0		1.315	
	BW*	-----	313.0		0.000	
3- nitrobenzaldehyde 	SB	Colourless	345.5	23	0.051	152.91
	BW	Colourless	322.5		0.499	
	BW*	-----	345.5		0.000	

0.2	0.289	0.738	2.30
0.5	0.256	0.718	2.29
1.0	0.255	0.670	2.26
1.5	0.247	0.631	2.19
2.0	0.233	0.607	2.11
2.5	0.230	0.600	2.04

تبيَّن من الجدول أعلاه أنَّ الكاشف الساليسيلديهايد قد أعطى قيمة للامتصاصية المولارية إذ بلغت 4262.45 لتر.مول⁻¹.سم⁻¹ لذا تمَّ اختياره كأفضل كاشف اقتران في التجارب اللاحقة .

تأثير الحامض

تمَّت هذه الدراسة بإضافة أحجام مختلفة (0.2 - 2.5 مل) من حامض الهيدروكلوريك ذي التركيز 0.1 مولاري إلى 2 مل من محلول الايزونيازيد ذي التركيز 300 مايكروغرام / مل و 2 مل من الساليسيلديهايد ذي التركيز 10×10^{-2} مولي تمَّ قياس امتصاص المحاليل عند الطول الموجي 360 نانومتر والنتائج مدونة في الجدول رقم 3 .

جدول رقم (3) تأثير الحامض

ml of acid 0.1M	Abs.		pH
	BW	SB	
0.0	0.331	0.747	2.31

تبيَّن من الجدول أعلاه أنَّ طبافه الحامض يؤدي إلى نقصان في امتصاص الناتج الملون لذا تمَّ تجنب استعماله في التجارب اللاحقة .

تأثير القاعدة

تمَّت هذه الدراسة بإضافة أحجام مختلفة (1- 5 مل) من محلول هيدروكسيد الامونيوم 0.05 مولاري إلى 2 مل من محلول الايزونيازيد ذي التركيز 300 مايكروغرام / مل و 2 مل من محلول الساليسيلديهايد ذي التركيز 10×10^{-2} مولي ، تمَّ قياس امتصاص المحاليل عند الطول الموجي 360 نانومتر والنتائج مدونة في الجدول رقم 4 .

جدول رقم (4) تأثير القاعدة

pH	Abs.	
	BW	SB
2.3	0.331	0.747
2.4	0.377	0.731
2.6	0.381	0.718
3.0	0.397	0.703
3.1	0.405	0.687

تَبَيَّنَ من الجدول أعلاه أنَّ إضافة 3مل من المحاليل المنظمة يُوْدي إلى نقصان في امتصاص الناتج الملون مع زيادة امتصاص محلوله الصوري لذا تم تجنبها في التجارب اللاحقة.

• تأثير كمية كاشف الاقتران

مَتَّ دراسة تأثير كمية كاشف الاقتران بأخذ حجوم مختلفة (0.5-4

مل) من الساليسيلديهايد ذي التركيز 10×10^{-2} مولاري مع حجوم

مختلفة (1-4 مل) من محلول الايزونيازايد ذي التركيز 300

مايكروغرام / مل ثم قياس امتصاص المحاليل عند الطول الموجي

360 نانومتر مقابل المحلول الصوري لكل منها والنتائج مدونة في

الجدول رقم 6.

ml of NH ₄ OH 0.05M	Abs.		pH
	BW	SB	
0.0	0.331	0.748	2.31
1.0	0.291	0.730	2.37
2.0	0.268	0.729	2.39
3.0	0.244	0.728	2.40
4.0	0.231	0.717	2.41
5.0	0.215	0.693	2.44

تَبَيَّنَ من الجدول أعلاه أنَّ طبافة محلول القاعدة يُوْدي إلى نقصان في امتصاص الناتج الملون لذا تمَّ تجنُّبها في التجارب اللاحقة.

• تأثير المحلول المنظم

تَمَّ دراسة تأثير المحلول المنظم، فثلاث البوتاسيوم الهيدروجينية -

حامض الهيدروكلوريك باستخدام دالات حامضية مختلفة (2.3 - 3.1

) وحجم 3 مل وملاحظة مدى تأثيرها على امتصاص الناتج المتكون

والنتائج مدونة في الجدول رقم 5 .

جدول رقم (5) تأثير المحاليل المنظمة

جدول (6) تأثير كمية كاشف الاقتران

ml of Reagent 1×10^{-2} M	Abs./ INH 300 µg/ml Conc., of					R ²	Slope
	BW	12	24	36	48		
0.5	0.141	0.341	0.551	0.826	1.091	0.995	0.020
1.0	0.209	0.368	0.608	0.885	1.135	0.999	0.021
1.5	0.287	0.401	0.697	0.917	1.195	0.997	0.021
2.0	0.329	0.421	0.742	0.993	1.257	0.997	0.023
2.5	0.393	0.453	0.768	1.043	1.321	0.998	0.024
3.0	0.420	0.405	0.696	0.981	1.263	0.999	0.023
3.5	0.485	0.381	0.627	0.921	1.187	0.998	0.022
4.0	0.546	0.354	0.601	0.875	1.113	0.999	0.021

• تأثير درجة الحرارة مع الزمن

مَتَّ دراسة تأثير درجة الحرارة مع الزمن في امتصاص الناتج الملون المتكون باستخدام درجات حرارية تتراوح بين 10-50 درجة مئوية مع مدة زمنية تتراوح بين 5 - 60 دقيقة والنتائج مدونة في الجدول رقم 7.

اذ أنَّ BW امتصاص المحلول الصوري مقابل الماء المقطر .

لُوحِظَ من الجدول أعلاه أنَّ حجم 2.5 مل من الكاشف الساليسيلديهايد ذي التركيز 10×10^{-2} مولاري أعطى أعلى قيمة للميل بلغت 0.024 وقيمة عالية لمعامل التقدير بلغت 0.998 لذا تمَّ اعتمادها في التجارب اللاحقة .

جدول رقم (7) تأثير درجة الحرارة مع الزمن

Temp., °C		Abs. /min. standing time											
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
10	BW	0.388	0.393	0.381	0.387	0.390	0.388	0.381	0.377	0.383	0.376	0.385	0.373
	SB	0.633	0.623	0.647	0.638	0.635	0.631	0.630	0.632	0.581	0.577	0.560	0.555
20	BW	0.383	0.385	0.387	0.388	0.381	0.385	0.380	0.376	0.370	0.373	0.371	0.363
	SB	0.651	0.670	0.681	0.677	0.678	0.666	0.671	0.633	0.620	0.617	0.609	0.600
25	BW	0.389	0.389	0.383	0.379	0.380	0.381	0.377	0.371	0.377	0.376	0.370	0.369
	SB	0.785	0.783	0.783	0.781	0.780	0.777	0.775	0.768	0.729	0.717	0.696	0.687
30	BW	0.400	0.397	0.387	0.388	0.383	0.380	0.386	0.377	0.370	0.365	0.366	0.363
	SB	0.787	0.782	0.783	0.780	0.781	0.780	0.778	0.765	0.730	0.709	0.703	0.683
40	BW	0.403	0.406	0.395	0.390	0.393	0.385	0.387	0.380	0.383	0.371	0.377	0.370
	SB	0.583	0.581	0.596	0.580	0.573	0.570	0.569	0.573	0.519	0.504	0.501	0.481
50	BW	0.419	0.423	0.415	0.398	0.399	0.405	0.407	0.414	0.405	0.398	0.405	0.401
	SB	0.548	0.551	0.558	0.557	0.563	0.541	0.531	0.482	0.471	0.433	0.427	0.404

تَبَيَّنَ من الجدول أعلاه أنَّ درجة الحرارة المثلى تتراوح بين 25 - 30 درجة مئوية .

• استقرارية ناتج التفاعل

العلامة بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 250، وُجِدَ أنَّ

المحلول يبقى مستقرًا لمدة 35 دقيقة بعد التخفيف والنتائج مدونة في الجدول رقم 8.

عند إضافة حجم 2.5 مل من محلول الكاشف السالسيديهايد إلى

حجوم مختلفة من محلول الايزونيازايد هي (1 - 4 مول %) وُجِدَ أنَّ

التفاعل يحتاج إلى 5 دقائق لكي يكتمل التفاعل بعد التخفيف إلى حدِّ

جدول رقم (8) استقرارية ناتج التفاعل

INH 300 µg/ml	BW	Abs./ min. standing time											
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
12	0.387	0.483	0.481	0.483	0.480	0.479	0.477	0.473	0.469	0.417	0.382	0.373	0.350
24	0.390	0.790	0.788	0.791	0.785	0.783	0.777	0.769	0.768	0.731	0.717	0.693	0.680
36	0.388	1.065	1.063	1.062	1.060	1.061	1.058	1.055	1.053	1.007	0.967	0.953	0.942
48	0.393	1.345	1.344	1.344	1.338	1.335	1.327	1.325	1.288	1.267	1.247	1.228	1.208

• تأثير المذيب

لِكُلِّ محلول مقابل محلوله الصوري والنتائج مدونة في الجدول رقم 9

والشكل رقم 2 يوضح ذلك .

تَمَّتْ دراسة تأثير بعض المذيبات على ناتج التفاعل الملون المتكون

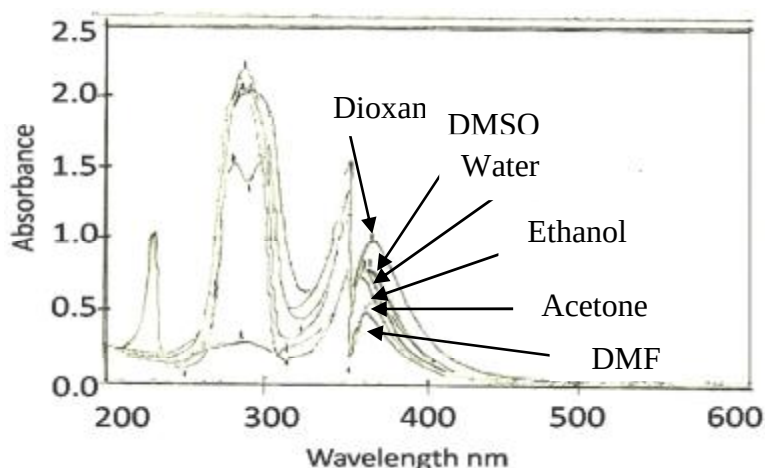
من تفاعل الايزونيازايد مع السالسيديهايد ، ثم أُخِذَ طيف الامتصاص

جدول رقم (9) تأثير المذيب

Solvent	Abs.	$\lambda_{max}(nm)$
Dioxan	0.990	363.0
DMSO	0.803	359.0
Water	0.800	361.5
Ethanol	0.773	358.0
Acetone	0.569	365.0
DMF	0.448	360.0

عند أطوال موجية مختلفة ونظرا لتوفر الماء ورخصه لذا تم استخدامه كأفضل مذيب.

لُوحِظَ من الجدول أعلاه أنَّ المذيبات ثنائي مثيل سلفوكسايد والدايوكسان والماء أعطت امتصاصات عالية مقارنة بالمذيبات الأخرى

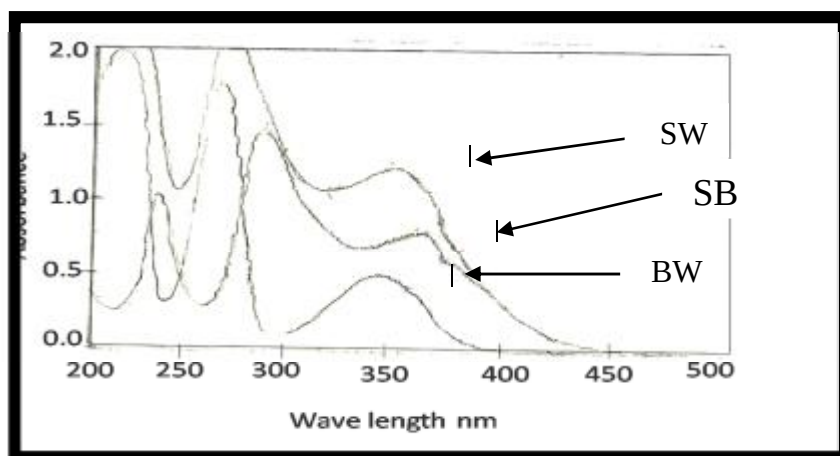


الشكل رقم (2) تأثير المذيب .

25 مل بالماء المقطر وجد أنه يعطي أعلى امتصاص عند الطول الموجي 360 نانومتر والشكل رقم 3 يوضح ذلك .

• طيف الامتصاص النهائي

من خلال قياس امتصاص الناتج الأصفر اللون المتكون بعد 5 دقائق من إتمام الإضافات والتخفيف إلى حد العلامة في قنينة حجمية سعة



الشكل رقم (3) طيف الامتصاص النهائي.

مل (أي تتراوح بين 6-42 مايكروغرام/مل) ثم إضافة 2.5 مل من محلول الساليسيلديهايد ذي التركيز 10×10^{-2} مولاري ثم التخفيف إلى حد العلامة بالماء المقطر، وتركه لمدة 5 دقائق لإتمام التفاعل، ثم تم قياس امتصاص المحاليل عند الطول الموجي 360 نانومتر مقابل المحلول الصوري، كما موضح في الشكل 4 منحنى المعايرة والشكل رقم 5 طيف الامتصاص لتراكيز مختلفة من الأيزونيازايد.

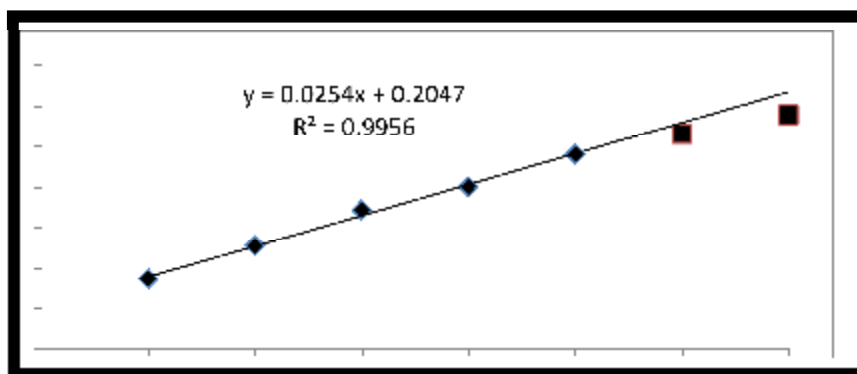
إِنْ SW يعني طيف امتصاص الأيزونيازايد في التفاعل مقابل الماء المقطر .

SB طيف امتصاص الأيزونيازايد مقابل المحلول الصوري .

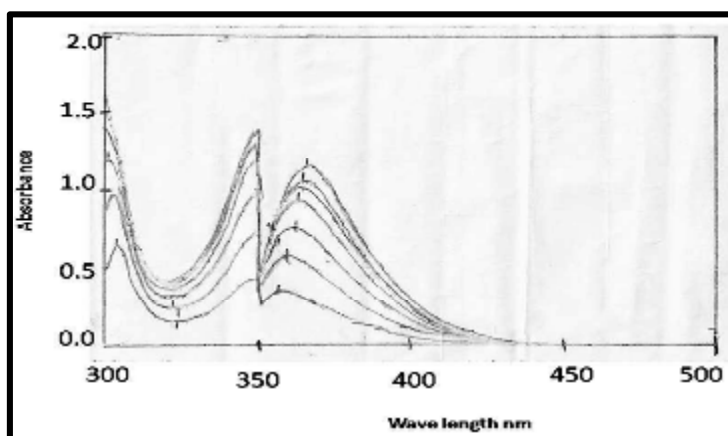
BW طيف امتصاص المحلول الصوري مقابل الماء المقطر .

• طريقة العمل المعتمدة ومنحنى المعايرة

في سلسلة قناني حجمية سعة 25 مل تم أخذ أحجام مختلفة (0.5-3.5 مل) من محلول الأيزونيازايد ذي التركيز 300 مايكروغرام/



شكل رقم (4) منحنى المعايرة لتقدير الأيزونيازايد بتكوين قواعد شيف باستخدام الكاشف سالسيلديهايد



شكل رقم (5) طيف الامتصاص لتراكيز من 6-42 مايكروغرام/ مل من الأيزونيازايد.

- **الدقة والتوافقية** - تَبَيَّنَ من الشكل أعلاه أن منحنى المعايرة يتبع قانون بير في حدود 6-30 مايكروغرام / مل ويحدث انحراف عنه في تركيز أعلى من 30 مايكروغرام / مل وقد بلغت قيمة معامل التقدير 0.995 وقيمة الامتصاصية المولارية 3428.25 لتر. مول⁻¹ . سم⁻¹ وقيمة دلالة ساندل 0.04 مايكروغرام . سم⁻².
- **الدقة والتوافقية** - تمَّ ايجاد دقة منحنى المعايرة وتوافقيته لثلاثة تراكيز مختلفة لمحلول الأيزونيازايد ضمن حدود قانون بير في منحنى المعايرة والنتائج مدونة في الجدول رقم 10 .

جدول رقم (10) الدقة والتوافقية

INH Conc., µg/ml	RE*, %	Recovery*, %	Average recovery*, %	RSD*, %
6.0	+0.575	100.57	99.971	1.313
18	-0.759	99.242		1.414
30	+0.103	100.103		0.458

*Average of five determinations

- **د د الكشف** - تَبَيَّنَ من الجدول أعلاه أن منحنى المعايرة ذو دقة وتوافقية عاليتين فقد تراوحت قيمة الخطأ النسبي من -0.759 الى +0.575 % وبلغت قيمة معدل الاسترجاعية 99.971% أمَّا قيمة الانحراف القياسي النسبي ليس أكثر من 1.414 %.
- **د د الكشف** - تمَّ حساب د د الكشف من خلال قياس امتصاص 11 محلول لأدنى تركيز في منحنى المعايرة (6 مايكروغرام/ مل) تحت الظروف المثلى والنتائج مدونة في الجدول رقم 11.

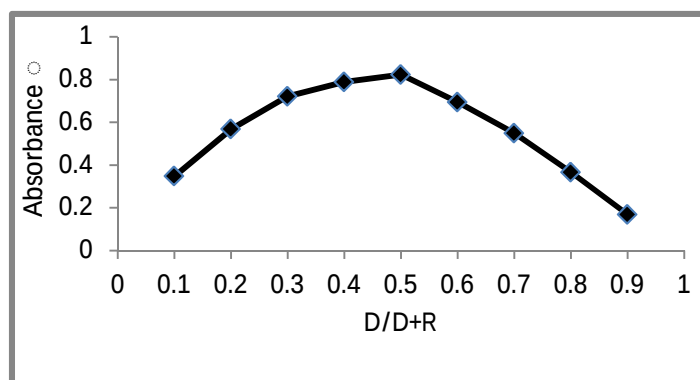
جدول رقم (11) د د الكشف

Conc., INH µg/ ml	$\bar{X}$	S	D.L., µg/ml
6.0	0.34718	0.0028572	0.14813

• طبيعة الناتج المتكون

لمعرفة طبيعة الناتج الأصفر اللون المتكون ونسبة ارتباط العقار مع الكاشف طبقت طريقة جوب وطريقة النسبة المولية . في كلا الطريقتين يكون كلاً من العقار والكاشف في المولاري نفسه وهو $10 \times 2.18 \times 10^{-3}$ مولاري .

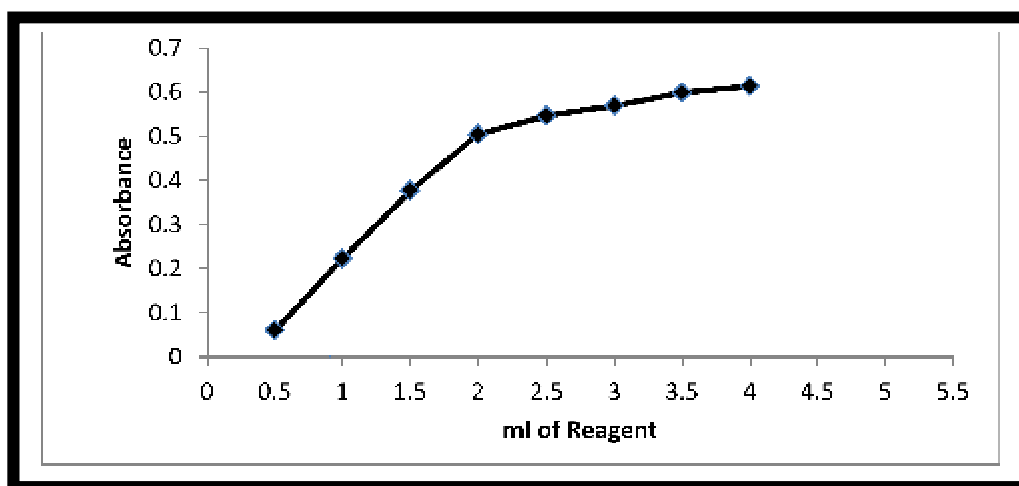
في طريقة جوب تم وضع أحجام مختلفة من محلول الأيزونيازايد 1 - 9 مل وأضيفت إليها كميات هذه الأحجام إلى حجم 10 مل من محلول الكاشف السيلديهايد ثم التخفيف إلى حد العلامة بالماء المقطر ثم تم الانتظار لمدة 5 دقائق لاكتمال التفاعل ثم قياس امتصاص هذه المحاليل عند الطول الموجي 360 نانومتر مقابل المحلول الصوري لكل منها والشكل 6 يوضح نسبة الارتباط 1:1.



الشكل رقم (6) طريقة جوب للتغيرات المستمرة لتقدير الأيزونيازايد بتكوين قواعد - شيف

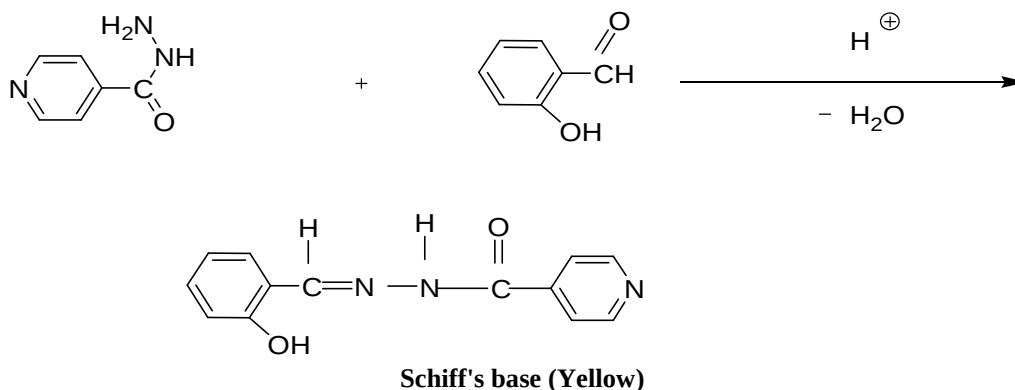
لهذه المحاليل عند الطول الموجي 360 نانومتر، وجد أن النسبة المولية تتفق مع طريقة التغيرات المستمرة وتحقق النسبة 1 : 1 والشكل رقم 7 يوضح ذلك .

وفي طريقة النسبة المولية تم وضع 2 مل من محلول الأيزونيازايد في سلسلة قناني حجمية سعة 25 مل وأضيف إليها محلول السيلديهايد بأحجام 0.5 - 4 مل واكمل الحجم إلى حد العلامة بالماء المقطر، ثم ترك المحلول لمدة 5 دقائق لكي يكتمل التفاعل وتم قياس الامتصاص



شكل رقم (7) طريقة النسبة المولية لتقدير الأيزونيازايد بتكوين قواعد - شيف.

وعليه تكون معادلة التفاعل المقترحة كالآتي

**التطبيقات**

مايكروغرام/ و تم قياس امتصاص هذه المحاليل عند الطول الموجي

الطريقة المباشرة تم تحضير ثلاثة تراكيز مختلفة هي 6 و 18 و 30 مايكروغرام/ مل من محلول المستحضر الصيدلاني ذي التركيز 300 360 تم تم حساب الاسترجاعية لها والنتائج مدونة في الجدول رقم 12.

جدول رقم (12) الطريقة المباشرة

Drug	Type of pharmaceutical	Conc., of INH µg/ml	RE*, %	Recovery*, %	Average recovery*, %
INH	Tablet	6.0	-2.415	97.58	96.646
		18	-3.670	96.33	
		30	-3.965	96.03	

*Average of five determinations

قنينة حجمية سعة 100 مل وأخذ 20 مل من المحلول المستحضر وأضيف إليه 100 مل من الماء المقطر و 20 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز و 0.2 غرام من مسحوق بروميد البوتاسيوم النقي ثم أضيف إليه 0.05 مل من ليل المثل الأحمر وسُحِّحَ مقابل محلول 0.0167 مولاري من برومات البوتاسيوم إلى أن يختفي اللون الوردي للمحلول. أن كل 1 مل من المحلول يكافئ 3.429 مليغرام من الأيزونيازايد و تم تطبيق اختباري t و F والجدول رقم 13 يوضح ذلك.

النتائج الموضحة في الجدول أعلاه تدلّ على نجاح الطريقة المقترحة ودقتها في تقدير الأيزونيازايد في المستحضر الصيدلاني في معدل الاسترجاعية 96.646 %.

• **الطريقة القياسية**

تم تحضير محلول الأيزونيازايد المستخدم في الطريقة القياسية لتقدير الأيزونيازايد وحسب مامثبت في دستور الأدوية البريطاني (3) كما يأتي: إذابة 0.250 غرام من مسحوق مستحضر الأيزونيازايد في كمية معينة من الماء المقطر ثم إكمال الحبل حتى د العلامه في

الجدول رقم (13) المقارنة مع الطريقة القياسية

Drug	Pharmaceutical preparation	Recovery*, %		t.exp	F.exp
		present method	British pharmacopeia method		
INH	Tablet	100	101.95	0.566	0.111

*Average of five determinations

الكاشف سالسليديهايد عند دالة حامضية مقدارها 2.3 يتكون ناتجاً اصفر حال إتمام الإضافات يظهر له أعلى امتصاص عند الطول الموجي 360 نانومتر ومستقر لمدة زمنية تبلغ 35 دقيقة. الطريقة لا تحتاج إلى استخدام مذيبات عضوية أولى عملية استخلاص. و تم تطبيق الطريقة بنجاح في تقدير الأيزونيازايد في مستحضراته الصيدلانية بشكل أقرص.

تدلّ من الجدول أعلاه إمكانية تطبيق الطريقة المقترحة في تقدير الأيزونيازايد في القرص الدوائي وأنها طريقة دقيقة ومتفقة بشكل جيد مع الطريقة القياسية.

الاستنتاج

تم تطوير طريقة طيفية سهلة وسريعة وغير مكلفة لتقدير الأيزونيازايد وتستند الطريقة إلى تكوين قواعد- شيف حيث يقترن الأيزونيازايد مع

المصادر

- 1- R. C. Atclins and F. A. Cary , "Organic chemistry", Mc Graw- Hill, Inc ., New York , 1990, 219
- 2- S. A. Abbas , M . Munir , A. Fatima , S. Naheed and Z . Llyas "Synthesis and analytical studies of sulphadimidine – amine Schiff's complexes Ni(II) and Cu(II)", E-Journal of Life Sciences , 2010, 1(2), 37- 40.
- 3- British Pharmacopeia , The Requirements of the 5th Ed . of the European Pharmacopoeia , 2005 , CD – Rom.
- 4- British Pharmacopeia , The Requirements of the 3rd Ed. of the European Pharmacopoeia , 2001 , CD – Rom.
- 5- The Merck Index , 12th Copyright by Merck Co. , Inc. Whiteho , 2000, CD- Rom.
- 6- B . N. Barsoum , M . S. Kamel and M . M .A . Diab , "Spectrophotometric determination of Isoniazid and rifampicin from pharmaceutical preparation and biological fluids", Res.J.Agric. Biol. Sci., 2008, 4(5), 471-484
- 7 - H. Tavallali , Y. Hamid and A .Tahmasebi , "A selective and simple method for isoniazid spectrofluorometric determination based on the oxidation by Cerium (IV)", Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research, 2011, 1(2), 713-718
- 8 - P.Nagaraja , K . Sunitha , R .Vasnth and H .Yathirajan , " Novel method for the spectrophotometric determination of isoniazid and ritodrine hydrochloride", Turk J.Chem ., 2002, 26, 743-
- 9 - Dept of medicinal chemistry and Quality Control , "Spectrophotometric determination of isoniazid in pure and pharmaceutical formulation using vanillin", international Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2010, 2(1), 55-58
- 10- A. Safavi , M .A . Karimi and M . R . H. Nezhad , " Flow –injection determination of Isoniazid using N-bromosuccinimide and N-chlorosuccinimide luminol chemiluminescence systems", J. Pharm. Biomed. Anal., 2003, 30(5), 1499-1506.
- 11- H . Behzad and B. Somayyeh , "flow injection chemiluminescence determination of isoniazid using luminal and silver nanoparticles", Microchem. J., 2010, 95(2), 192-197.
- 12- X. Zheng and Z. Zhang , " Flow –injection chemiluminescence determination of Isoniazid using on-line electrogenerated BrO⁻ as an oxidant", Analyst, 1999, 124, 763-766.
- 13- P. F. Fang , H. L. Cai , H. D. Li , R. H. Zhum , Q. Y. Tan , W. Gao , P. Xu , Y. P. Liu , W. Y. Zhanng , Y. C. Chen and F. Zhang , "Simultaneous determination of Isoniazid , rifampicin in mouse tissues and plasma by high performance liquid – tandem mass spectrometry", J.Chromatogr.B, 2010, 878, 2286-2291.
- 14- D. Garbulej and V. Dorneanu , "Development of a HPLC for the determination of isoniazid in rat plasma", Bulletin UASVM, Veterinary Medicine, 2009, 66(1), 373-367.
- 15- N. F. Atta, A. Galal and R. A. Ahmed , "Voltammetric behavior and determination of isoniazid PEDOT electrode in presence of surface active agents", Int.J.Electrochem.Sci., 2011, 6, 5097-5112.
- 16- H. Y. Xia and X. Y. Hu , "Determination of isoniazid using a gold electrode by differential pulse voltammetry", Anal. Lett., 2005, 38(9), 1405-1414.

Spectrophotometric Determination of Isoniazid by Schiff's base Formation

Mohsin Hamza Bakir and sabreen Shakir Mahmood

Chemistry Department , Education College , University of Tikrit , Tikrit , Iraq.

Abstract

This research includes simple, sensitive and rapid Spectrophotometric method for determination of isoniazid in aqueous solution. The method is based on the Schiff's base formation which is completed by coupling of isoniazid with salicylaldehyde at pH 2.3 to yield a yellow colour product exhibiting maximum absorbance at 360 nm . Beer's law is obeyed in the concentration range 6 - 30 µg/ml of isoniazid , with a molar absorptivity 3428.25 L.mol⁻¹.cm⁻¹ and sandell index of 0.04 µg.cm⁻² . The average recovery is 99.971% , relative standard deviation 0.458-1.313% and D.L of 0.1481 µg/ml . This method has been applied successfully to determination of isoniazid in pharmaceutical preparations .