Samarra Journal of Pure and Applied Science

www.sjpas.com

p ISSN: 2663-7405
e ISSN: 2789-6838

تقدير هيدروكلوريد الثايمين بشكله النقي وفي مستحضره الصيدلاني بطريقة الاقتران التأكسدي

سهاد عبد المنعم ياسين[1*]، خلف فارس عطية[2]

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

2- قسم تقنيات المختبرات الطبية، كلية السلام الجامعة، بغداد، العراق

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

https://doi.org/10.54153/sjpas.2024.v6i2/2.635

معلومات البحث:

تأريخ الاستلام: 2023/07/13
تاريخ التعديل: 2023/08/10
تأريخ القبــول: 2023/08/20
تاريخ الـنشر: 2024/08/30

الكلمات المفتاحية:

فيتامين ب1، 4-Aminoantipyrene، potassium ferricyanide، K3Fe(CN)6، تفاعل الاكسدة واقتران، هيدروكلوريد الثايمين

معلومات المؤلف

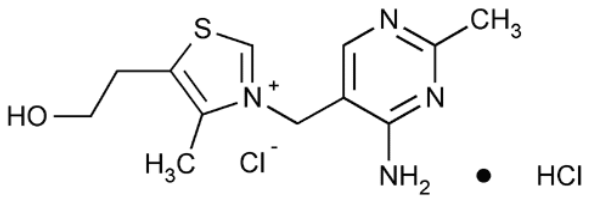
الايميل: suhadchemical@gamil.com
الموبايل:

الخلاصة:

طورت طريقة طيفية جديدة ودقيقة لتقدير هيدروكلوريد الثايمين (فيتامين B1) في شكله النقي وفي مستحضره الصيدلاني. تعتمد الطريقة على اكسدة فيتامينB1 باستخدام العامل المؤكسد سيانيد البوتاسيوم الحديديكي $K_3Fe(CN)_6$ وتسخين المحلول لحد الغليان لزيادة اكسدة فيتامين B1 وبعدها اضافة الكاشف 4-امينو انتي بايرين (4-AAP)، وتم قياس الامتصاص عند الطول الموجي الأعظم 634 نانومتر لكل محلول مقابل المحلول البلانك ، تم دراسة الظروف الفضلى لتكوين الناتج (نوع وحجم المؤكسد ،نوع وحجم الكاشف، درجة الحرارة الوقت، تاثير pH ، تسلسل الاضافة). تراوحت خطية الطريقة للمركب المكون من (20-100) مكغم/مل، وكان معامل الامتصاص المولاري 1011.9 لتر/مول. سم ودلالة ساندل 0.3333 مكغم /سم2 وحد الكشف وحد التقدير كانا 0.099 و0.33 مكغم/مل على التوالي. ونسبة الاسترجاعية المئوية Rec% بين (100.50-97.944) % ومعدل الانحراف المعياري النسبي RSD% بحدود 0.639- 4.894 % لخمس قراءات (n=5) ولجميع تراكيز منحني المعايرة في اليوم الواحد في حين تراوحت قيمة RSD% في أكثر من يوم ما بين 0.965 – 4.958 %. وتم تطبيق الطريقة بنجاح لتقدير الـ VitB1 في مستحضره الصيدلاني بالطريقة المباشرة وطريقة دراسة الاسترجاعية Recovery Study..

المقدمة:

الاسم النظامي لهيدروكلوريد الثايمين 3- -(2-((4-Amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl)-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium chloride [1]. صيغة الجزيئية $C_{12}H_{17}N_4OSCl{\bullet}HCl$ ووزنه الجزيئى 337.27 $g{\cdot}mol^{-1}$ وصيغة التركيبية كما في الشكل 1[2]



الشكل 1: الصيغة التركيبية لهيدركلوريد الثايمين فيتامين B1

فيتامين B1 هو عنصر غذائي أساسي لا يمكن أن يصنع في الجسم ويوجد في الطعام ويتم تصنيعه تجاريًا ليكون مكملًا غذائيًا أو دواء. هناك حاجة إلى أشكال فسفرة من الثيامين لبعض التفاعلات الأيضية [3]، بما في ذلك تكسير الجلوكوز والأحماض

الأمينية هو فيتامين قابل للذوبان في الماء وأول فيتامين ب يتم اكتشافه. توجد في مجموعة متنوعة من الأطعمة بما في ذلك لحم الخنزير ودقيق الشوفان والكبد والبيض والأرز البني والبطاطا والخضروات الأخرى[4].يشارك فيتامين B1 في العديد من العمليات الجسدية بما في ذلك إنتاج الطاقة ويستخدم جسمك فيتامين B1 لتحويل الكربوهيدرات إلى طاقة حيث توفر الكربوهيدرات الطاقة للجسم والدماغ وبقية الجهاز العصبي ويلعب فيتامين B1 أيضًا دورًا في توصيل الإشارات العصبية وتقلص العضلات [5].يمكن أن يؤدي نقص فيتامين B1 إلى العديد من الاضطرابات ، وفي الحالات الشديدة ، قد يؤدي إلى الوفاة. تشمل الاضطرابات التي يمكن أن يسببها نقص فيتامين B1 البري بري واعتلال الأعصاب البصرية [6]. استعملت العديد من الطرائق التحليلية في التقدير الكمي لهيدركلوريد الثايمين منها الطرائق الطيفية [13-7] والطرائق الكروماتوغرافية [14-16] وكذلك كهربائية [18,17].

ان الهدف من الدراسة هو استخدام طريقة طيفية جديدة لتقدير هيدروكلوريد الثايمين بالاقتران التاكسدي [19] باستخدام العامل المؤكسد سيانيد البوتاسيوم الحديديكي $K_3Fe(CN)_6$ والكاشف 4-امينو انتي بايرين .

المواد وطرائق العمل

الاجهزة والمواد الكيميائية المستعملة

استخدم العديد من الأجهزة في هذا البحث: ميزان حساس Sartorius- Germany، مقياس الطيف الضوئي UV-Vis LabTech،Double Beam, Shimadzu -1650- Japan – كوري المنشأ، واستخدمت مواد ذات نقاوة عالية وهي هيدركلوريد الثايمين (company-ChinaSouth china pharmaceutical)، ومؤكسد سيانيد البوتاسيوم الحديديكي $K_3Fe(CN)_6$ (BDH-U.K) ، وكاشف 4- امينو انتي بايرين (Fluka, Italy) .

تحضير المحاليل القياسية

المحلول القياسي لفيتامين B1 (1000 مكغم/مل)

تم تحضير محلول فيتامين B1 بأذابة 0.1 غم من فيتامين B1 القياسي في كمية من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية سعة 100 مل ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر.

تحضير محلول المستحضر الدوائي لفيتامين B1

تم اخذ 10 اقراص من المستحضر الدوائي كل قرص يحتوي على 100ملغم من هيدركلوريد الثايمين من انتاج الشركة Masom Natural تم طحن اقراص باستخدام هاون خزفي ومزجت جيدا وكان وزنها 3.5363 غم. ووزن منها ما يكافئ وزن حبة واحدة 0.3536 غم واذيبت في كمية من الماء المقطر في بيكر وحرك المحلول جيدا لإتمام اذابة كاملة لفيتامين B1 ، رشحت باستخدام ورق ترشيح نوع واتمان-42 للتخلص من الشوائب غير الذائبة واكمل الحجم لحد العلامة بالماء المقطر باستخدام قنينة حجمية سعة 100 مل ليكون تركيز لفيتامين B1 مساويا الى 1000 مكغم/مل في محلول المستحضر الدوائي

محلول المؤكسد والكاشف

حضر محلولي المؤكسد سيانيد البوتاسيوم الحديديكي $K_3Fe(CN)_6$ والكاشف 4-امينو انتي بايرين 4-AAP المستخدم وذلك بأذابة 0.1 غم من المؤكسد ومن الكاشف في كمية من الماء المقطر باستخدام قنينة سعة 100 مل واكمل الحجم لحد العلامة بالماء المقطر ليصبح التركيز النهائي 1000 مكغم/مل

اساس الطريقة

لوحظ عند مزج 1مل من محلول فيتامين B1 بتركيز 1000 مكغم/مل مع 1مل من محلول المؤكسد $K_3Fe(CN)_6$ ذي التركيز 1000 مكغم/مل وتسخين المحلول ثم اضافة 1 مل من الكاشف 4-امينو انتي بايرين ذي التركيز 1000 مكغم/مل يتكون مركب ذا لون اخضر وعند مزج المؤكسد مع الكاشف بدون فيتامين B1 (البلانك) يتكون محلول احمر فاتح ، اظهر الطيف اقصى امتصاص عند الطول الموجي 634 نانومتر.

الظروف المثلى التجريبية

اختيار أفضل عامل مؤكسد

استخدمت العديد من العوامل المؤكسدة لاختيار افضلها والذي يعطي افضل قمة وأعلى امتصاص واظهرت النتائج ان العامل المؤكسد الذي يعطي افضل النتائج هو سيانيد البوتاسيوم الحديديكي $K_3Fe(CN)_6$ عند تسخينه مع 0.5 مل من فيتامين B1 وبعدها اضافة 1مل من الكاشف 4- امينو انتي بايرين كما في الجدول 1

الجدول 1: اختيار أفضل مؤكسد

Oxidative reagent	λmax nm	Absorbance	Color of Blank	Color of oxidative reagent solution
Potassium ferricyanide $K_3Fe(CN)_6$	634	0.032	برتقالي	اخضر
Cesium Sulfate	508	-0.0292	احمر فاتح جدا	احمر فاتح جدا
Ferric Chloride $FeCl_3.6H_2O$	434	0.0209	اصفر فاتح جدا	اصفر فاتح جدا
Sodium persulfate $Na_2S_2O_8$	480	-0.03	برتقالي فاتح جدا	برتقالي فاتح جدا
potassium iodate KIO_3	504	-0.0441	احمر فاتح جدا	احمر فاتح جدا
N-Bromosuccinimide NBS	486	-0.0344	برتقالي فاتح جدا	برتقالي فاتح جدا

حجم العامل المؤكسد

تمت دراسة افضل حجم من محلول سيانيد البوتاسيوم الحديديكي $K_3Fe(CN)_6$ الذي يعطي افضل امتصاص فقد استعملت حجوم متزايدة تراوحت بين (1-2.5) مل من محلول العامل الموكسد و نقلها الى سلسلة قنينة حجمية سعة 10 مل و التي تحتوي 0.5 مل محلول فيتامين B1 و 1 مل من محلول الكاشف 4- امينو انتي بايرين بتركيز 1000 مكغم/مل ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر ، وتم قياس الامتصاص لكل حجم من الحجوم مقابل محلول البلانك الخاص به كما في الجدول.

الجدول 2: تاثير حجم العامل المؤكسد على الامتصاص

Vml of $K_3Fe(CN)_6$	Absorbance
1	0.0125
1.5	0.0362
2	0.0465
2.5	0.1459

ومن الجدول اعلاه تبين ان الحجم 2 مل هو أفضل حجم من للعامل المؤكسد لكونه اعطى اعلى امتصاص وافضل قمة.

اختيار أفضل كاشف اقتران

تم إجراء عدة تجارب لاختيار الكاشف الانسب الذي يعطي عنده الناتج المتكون اعلى امتصاص، فقد استعملت الكواشف جميعها بنفس التركيز 1000 مكغم/مل مع أفضل حجم من العامل المؤكسد وهو 2 مل من المحلول ذي التركيز 1000 مكغم/مل وكما هو موضح في الجدول3 .

الجدول 3: اختيار أفضل كاشف اقتران

Reagent	λ_{max}nm	Absorbance	Color of Reagent	Color of Blank	Color of Complex
Leishman	520	-0.007	ازرق	اخضر	اخضر
Erochite Black T	352	-0.0485	بنفسجي	اخضر فاتح	اخضرفاتح
Malachite green	354	-0.0491	ازرق	اخضر	اخضر

Toluene	356	-0.0636	شفاف	اصفر فاتح	اخضر فاتح
Para-Amino-Anlene	416	0.0162	شفاف	اصفر	اخضر
4-Aminoantipyrene	634	0.0629	اصفر فاتح	احمر فاتح	اخضر

وكما موضح اعلاه فان تبين ان 4-امينو انتي بايرين هو الأنسب لكونه أعطى اعلى امتصاص و أعلى طول موجي من الكواشف الاخرى لذلك تم اعتمادة في التجارب اللاحقة.

تأثير حجم الكاشف

اجريت دراسة لاختيار افضل حجم من محلول الكاشف 4-امينو انتي بايرين ذي التركيز 1000مكغم/مل، إذ استعملت حجوم متزايدة تراوحت بين 1-2.5 مل من محلول الكاشف حيث تم نقلها الى سلسلة قناني حجمية سعة 10 مل و التي تحتوي على 2 مل من العامل المؤكسد بتركيز 1000 مكغم/مل وعلى 0.5 مل من محلول فيتامين B1 بتركيز 1000 مكغم/مل ثم اكمل الحجم الى حد العلامة بالماء المقطر ، وتم قياس الامتصاص مقابل المحلول البلانك الخاص بكل قنينة كما في الجدول 4.

الجدول 4: تأثير حجم الكاشف على الامتصاص

Vml of 4-AAP	Absorbance
1	0.0464
1.5	0.0829
2	0.0901
2.5	0.0849

وكما موضح اعلاه ان الحجم 2 مل هو افضل حجم للكاشف لأنه اعطى اعلى امتصاص لأغلب التراكيز.

افضل درجة الحرارة

تم اجراء دراسة لمعرفة تأثير درجة الحرارة على امتصاص الناتج المتكون إذ تراوحت الدرجات بين 10مْ إلى ما بعد بدء الغليان بخمس دقائق حيث كان حجم فيتامين B1 0.5 مل كما موضح بالجدول 5.

الجدول 5: دراسة أفضل درجة حرارة على الناتج المتكون

Temperature ˚C	**Absorbance**
10	-0.0021
20	-0.0023
30	-0.0026
40	-0.0040
50	-0.0059
60	-0.003
70	0.017
80	0.054
90	0.079
100	0.095
After 5 min after boiling	0.081

وتبين ان أفضل درجة حرارة هي عند بداية غليان المحلول حيث اعطى اعلى امتصاص.

تاثير زمن الاكسدة على الناتج المتكون

تـم دراسة الزمن اللازم لأكسدة هيدروكلوريد الثايمين وذلك من لحظة التفاعل وحتى 14 دقيقة، اذا تـم اضافـة 0.5 مل مـن محلول فيتامين B1 فـي سلسلــة قناني حجميـة سعة 10 مـل ثم بعـد ذلك تـم اضافـة 2 مل من محلول العامـل المؤكسـد ذو التركـيز1000 مكغم/مل وبأزمنـة مختلفـة قبل اضافة 2 مل من الكاشف 4-AAP بتركيـز 1000مكغم/مل فقد لوحظ انه هناك تـأثير طفيف لزمن الاكسدة لذا اعتمدت الاضافة بعد دقيقتين في التجارب اللاحقة و كما موضح بالجدول 6.

الجدول 6: تأثير زمن الاكسدة على امتصاص الناتج المتكون

Time(min)	Absorbance
0	0.096
2	0.105
4	0.104
6	0.104
8	0.101
10	0.098
12	0.099
14	0.097

تأثير وسط التفاعل

أجريت دراسة تأثير الدالة الحامضية والقاعدية على الناتج وذلك بأخذ 0.5 مل من محلول فيتامين B1 بتركيز 1000 مكغم/مل فـي ساسلة قناني سعة 10 مل وإضافة 2 مل من المؤكسد و1 مل من حامض الهيدروكلوريك 0.1 مولاري لأحد القناني وقاعدة هيدروكسيد الصوديوم 0.1 مولاري لقنينة أخرى وبقيت الثالثة بدون حامض أو قاعدة قبل إضافة الكاشف كما أضيف 1مل من الحامض نفسة لقنينة تحتوي 0.5 مل من محلول فيتامين B1 بتركيز1000مكغم/مل و2 مل من المؤكسد و 2 مل من الكاشف وقنينة أخرى اضيف لها 1 مل من القاعدة نفسها مع 0.5 مل من محلول فيتامين B1 بتركيز1000 مكغم/مل و2 مل من المؤكسد و 2 مل من الكاشف وبقيت القنينة الثالثة بدون حامض أو قاعدة وأكمل حجم جميع القناني بالماء المقطر وتم التسخين جميع القناني لحد الغليان وتم تسجيل قيم الامتصاص للناتج المتكون لكل قنينة من هذه القناني مقابل البلانك الخاص بها و كما موضح في الجدول 7.

الجدول 7: تأثير الحامض والقاعدة على امتصاص الناتج

Effect of NaOH and HCl	λnm	Absorbance	Color of Blank	Color of compound
1ml of NaOH +1 ml of $K_3Fe(CN)_6$ +0. 5ml of VitB1	612	0.0	اصفر	اخضر فاتح جدا
1ml of NaOH +1 ml of $K_3Fe(CN)_6$ +0. 5ml of VitB1+1ml of 4-AAP	612	0.0	اصفر	اخضر فاتح جدا
1ml of HCl +1 ml of $K_3Fe(CN)_6$ +0. 5ml of VitB1	606	0.045	اصفر	اخضر فاتح
1ml of HCl +1 ml of $K_3Fe(CN)_6$ +0. 5ml of VitB1+1ml of 4-AAP	606	0.057	اصفر	اخضر فاتح
1 ml of $K_3Fe(CN)_6$ +0. 5ml of VitB1+1ml of 4-AAP	634	0.106	احمر فاتح	اخضر

يتضح من الجدول اعلاه ان الناتج يكون أفضل بدون حامض او قاعدة لان اعطى اعلى امتصاصية بالإضافة لوجود فرق واضح بين لون محلول البلانك ولون محلول المعقد الناتج.

تسلسل الاضافات

تـم اجراء العديد مـن التجارب المختبرية بتسلسل اضافات مختلفة للحصول على الترتيب الذي يعطي قيم الامتصاص الافضل للناتج المتكون، إذ تـم اضافة 0.5 مل من محلـول فيتامين B1 و2 مل من محلول العامل المؤكسد $K_3Fe(CN)_6$ بتركيز 1000 مكغم/مل مع 2 مل من محلول كاشف 4-AAP بتركيز1000 مكغم/مل وبتسلسلات مختلفة وبالاعتماد على ظروف التفاعـل المثلـى وتـم تسجيـل قيـم الامتصـاص لها عند الطول الموجي 634 نانومتر في كل حالة كما موضح بالجدول 8

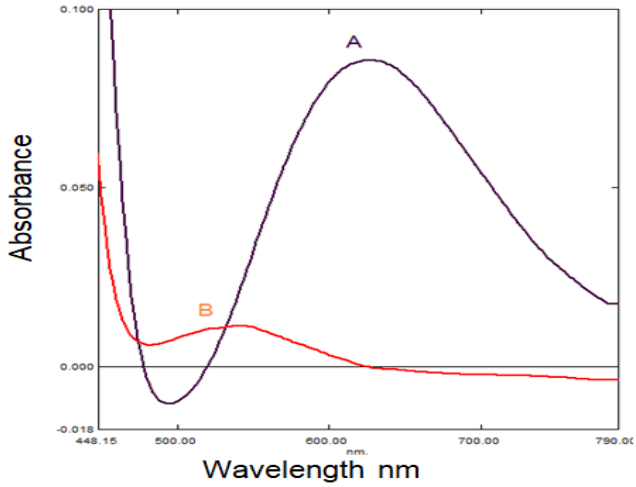
الجدول 8: تأثير تسلسل الاضافة على امتصاص الناتج

Order of addition	λ_{max} (nm)	Absorbance
D+O+R	634	0.109
D+R+O	634	-0.0116
R+O+D	634	0.002

ويتضح من الجدول اعلاه ان أفضل امتصاص للناتج المتكون هو الترتيب D+O+R اذ تمثل (D) العقـار و(O) العامـل المؤكسد و (R) الكاشـف، لذا تم اعتماده في التجارب اللاحقة.

طيف الامتصاص النهائي

تم تثبيت الظروف الفضلى وهي اضافة 0.5 مل من محلول فيتامين B1 بتركيز 1000 مكغم/مل و 2 مل من العامل المؤكسد $K_3Fe(CN)_6$ بتركيز 1000 مكغم/مل وتسخينهما لحد الغليان واضافة 2 مل من كاشف 4-AAP بتركيز1000 مكغم/مل و اكمال الحجم الى العلامة بالماء المقطر، تم تسجيل طيف الامتصاص النهائي للناتج المتكون عند الطول الموجي 634 نانومتر، بينما كانت λmax لطيف امتصاص محلول البلانك مقابل الماء 540 نانومتر وكما موضح بالشكل 2 ويوضح الشكل 3 صورة توضحيه للناتج المتكون والبلانك .



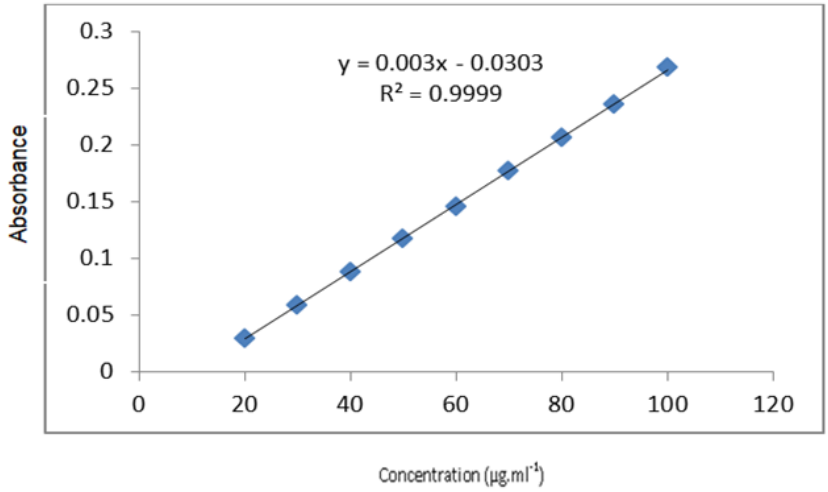
الشكل 2: يمثل (A) طيف امتصاص الناتج المتكون مقابل محلول البلانك ويمثل (B) طيف امتصاص محلول البلانك مقابل الماء المقطر

الشكل 3: صورة توضحيه للبلانك ومزيج الناتج

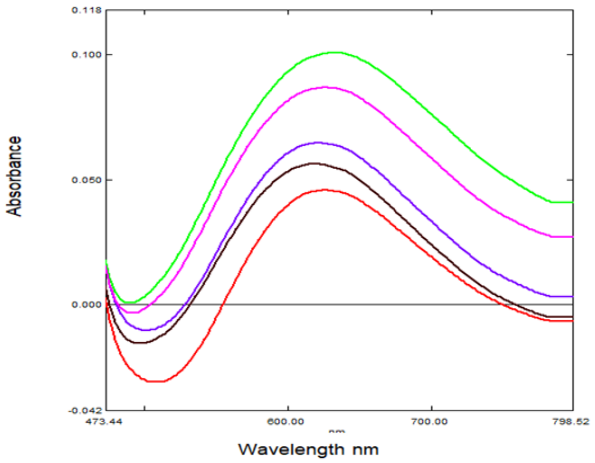
النتائج والمناقشة

بناء منحني المعايرة

بعد تثبيت الظروف الفضلى للناتج ، تم تحضير محلول منحني المعايرة وذلك بإضافة تراكيز متزايدة تراوحت بين 20-100 مكغم/مل من محلول فيتامين B1 بتركيز 1000 مكغم/مل الى سلسلة قناني حجمية سعة 10 مل ،ثم اضيف 2 مل من محلول العامل المؤكسد $K_3Fe(CN)_6$ ذي التركيز 1000مكغم/مل وسخن المحلول لحد الغليان وبعدها تم اضافة 2 مل من محلول كاشف 4-AAP ذي التركيز 1000مكغم/مل واكمال الحجم الى العلامة بالماء المقطر ، وتم قياس الامتصاص عند الطول الموجي 634 نانومتر لكل محلول مقابل المحلول البلانك كما في الشكل 4 والشكل 5 يمثل اطياف المزيج لمنحني المعايرة.



الشكل 4: منحنى المعايرة لفيتامين B1



الشكل 5: اطياف الامتصاص لمنحني المعايرة

حد الكشف والحد الكمي

تم حساب قيم حد الكشف LOD والحد الكمي LOQ على النحو التالي. [20]

$$LOD = (3.3\times\delta)/(S) \quad \text{--------} \quad 1$$

$$LOQ = (10\times\delta)/(S) \quad \text{---------} 2$$

حيث δ: الانحراف المعياري للبلانك

S: يمثل الميل في منحني المعايرة (Slop)

تم حساب حد الكشف وحد التقدير وكانا 0.099 و0.33 مكغم/مل على التوالي. وكان معامل الامتصاص المولاري 1011.9 لتر/مول.سم ودلالة ساندل 0.3333 مايكروغرام/سم^2 .

دقة وتوافق الطريقة

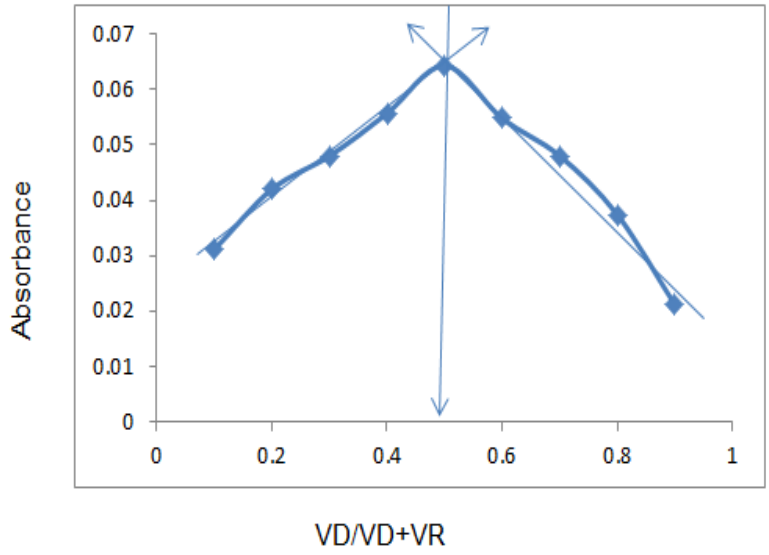
تم اختبار دقة وتوافق طريقة الاقتران التاكسدي المقترحة لتقدير فيتامين B1 استنادا إلى International Conference on Harmanizations (ICH) [21] وذلك من خلال حساب قيمة الاسترجاعية المئوية Rec% والانحراف المعياري النسبي RSD% على التوالي لتراكيز منحنيات المعايرة وبإجراء خمس تكرارات لكل عملية قياس، وبينت النتائج ان الطريقة ذات دقة وتوافق عاليين حيث كانت قيمة الاسترجاعية المئوية Rec% ما بين 97.944- 100.50 % وكانت قيمة الانحراف القياسي النسبي RSD% ما بين 0.639 – 4.894 % لخمس قراءات (n=5) ولجميع تراكيز منحني المعايرة في اليوم الواحد في حين تراوحت قيمه RSD% في أكثر من يوم ما بين 0.965 – 4.958 %. كما في جدول 9.

الجدول 9: دقة وتوافق الطريقة المقترحة لتقدير فيتامين B1

Conc µg/ml		RSD%		Rec%
Taken	Found	Intra-day	Inter-day	
20	20.1	1.480	1.528	**100.5**
30	29.766	2.905	3.213	99.222
40	39.433	2.388	2.534	98.583
50	49.433	2.890	3.015	98.866
60	58.766	1.292	1.426	**97.944**
70	69.1	**0.639**	**0.965**	98.714
80	79.1	2.681	2.987	98.875
90	88.766	4.717	4.825	98.629
100	99.433	**4.894**	**4.958**	99.433

نسبة تفاعل وارتباط المركبات

لغرض معرفة عدد المولات المتفاعلة من الكاشف مع فيتامين B1 فقد تم استعملت طريقة جوب للنسب المتغايرة وباستعمال تراكيز مولارية متساوية من العقار والكاشف، فقد تم نقل (0.1-0.9) مل من محلول هيدروكلوريد الثايمين القياسي ذي تركيز 0.00296 مولاري الى تسعة قنانٍ حجمية سعة 10 مل واضيف اليها حجوم معاكسة (0.9-0.1) مل من محلول الكاشف 4-AAP ذي التركيز 0.00296 مولاري. ثم اكمل الحجم لحد العلامة بالماء المقطر، وتم قياس الامتصاص لكل محلول عند الطول الموجي الأعظم 634 نانومتر مقابل محلول البلانك الخاص بكل قنينة وكما هو موضح في الشكل 6.



الشكل 6: منحني جوب لنسبة ارتباط فيتامين B1 بالكاشف 4-AAP.

يتبين من طريقة جوب ان الناتج المتكون تحت الظروف المثلى مكون من نسبة مولية 1:1 لكل من العقار والكاشف على التوالي.

تطبيق الطريقة

تم اخذ تركيزين وهما 20 و50 مكغم/مل من المستحضر الصيدلاني المحضر مسبقا وطبقت عليهما الطريقة المباشرة وطريقة الإضافة القياسية وكما يلي.

الطريقة المباشرة

تم التقدير بالطريقة المباشرة من خلال استخدام معادلة الخط المستقيم لمنحني المعايرة للتركيزين 20 و50 مكغم/مل من محلول المستحضر أعلاه وطبقت عليها طريقة العمل المقترحة وكانت قيمة Rec% 95.53 – 103.83% وقيمة RSD% في اليوم الواحد 0.7456 – 3.2258% وفي أكثر من يوم للمستحضر للتركيزين 20 و50 مكغم/مل على التوالي كما في الجدول 10.

الجدول 10: تطبيق الطريقة المباشرة لتقدير فيتامين B1

Pharmaceutical form	Conc µg/ml		RSD%		Rec%
	Taken	Found	Intra-day	Inter-day	
VitaminB1 100 mg	20	20.76667	3.2258	1.8865	103.83
	50	47.76667	0.7456	2.2487	95.53

دراسة الاسترجاعية

تم تطبيق طريقة Recovery Study للتركيز 20 مكغم/مل من المستحضر الدوائي حيث اضيفت له نسب مختلفة من التراكيز (50 ، 100 ، 150) % من محلول المادة القياسية لفيتامين B1 حيث بلغت Rec % 95.250 – 95.888 % بينما تراوحت قيم RSD% يوميًا بين 0.5742-1.3041، وفي أكثر من يوم واحد بين 0.9171-1.5602 كما موضح بالجدول 11

الجدول11: تطبيق طريقة Recovery Study

Standard% adde	Concentration µg/ml			RSD%		Rec%	
	Taken	Added%	found	Intra-day	Inter-day		Average%
50%	20	50	8.766	0.5742	1.1241	95.888	95.557
100%		100	18.1	1.3041	1.5602	95.250	
150%		150	27.76	0.7233	0.9171	95.533	

الخصائص التحليلية لطريقة الاقتران التأكسدي لتقدير فيتامين B1 ملخصة في الجدول 12.

الجدول 12: الخصائص التحليلية لتقدير فيتامين B1

λ_{max}nm	Linearity µg/ml	Slope	R^2	LOD µg/ml	LOQ µg/ml	ε L/mol.cm	Sandell's Index µg/cm^2
634	20-100	0.003	0.9999	0.099	0.33	1011.9	0.3333

اختبار T

تم اجراء اختبار T وتبين ان قيمة t المحسوبة 1.75 وهي أصغر من 2.132 والتي تمثل القيمة الجدولية عند الوثوقية 95% وعند درجات الحرية 5 مما يدل على ان الاخطاء المصاحبة لطريقة التحليل هي اخطاء عشوائية.

الاستنتاجات

تمَ استخدام طريقة طيفية جيدة ودقيقة لتقدير فيتامين B1 في مزائجه النقية وفي مستحضراته الصيدلانية ،تستند طريقة الاقتران التاكسدي على اضافة كمية من محلول العامل المؤكسد $K_3Fe(CN)_6$ ذي التركيز 1000 مكغم/مل الى محلول فيتامين B1 ذي التركيز 1000 مكغم/مل وتسخين المحلول لحد الغليان ثم اضافة كمية من محلول الكاشف 4-AAP ذي التركيز 1000 مكغم/مل، يتكون مركب ذا لون اخضر وعند مزج المؤكسد مع الكاشف بدون فيتامين B1 (البلانك) يتكون محلول احمر فاتح ، تم قياس الامتصاص عند الطول الموجي 634 نانومتر وكانت الطريقة على درجة من الدقة والتوافقية من خلال قيم الاسترجاعية والانحراف القياسي النسبي وقد طبقت الطريقة بنجاح على المستحضر الصيدلاني لفيتامين B1 .

References

1. Funk C. The etiology of the deficiency diseases. The Journal of State Medicine (1912-1937). 1912 Jun 1;20(6):341-68.

2. Mayes GA. Thiamine for Prevention of Warwick's Encephalopathy: A Reminder. Anesthesia & Analgesia. 1989 Sep 1;69(3):407-8.

3. Williams RR, Cline JK. Synthesis of vitamin B1. Journal of the American Chemical Society. 1936 Aug;58(8):1504-5.

4. Thiamin R. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline1 (1998): 60-15.

5. Bettendorff L, Mastrogiacomo F, Kish SJ, Grisar T. Thiamine, thiamine phosphates, and their metabolizing enzymes in human brain. Journal of neurochemistry. 1996 Jan;66(1):250-8.

6. Shin D, Kwon J, Kang HS, Suh J, Lee E. The presence of unauthorized ingredients in dietary supplements: An analysis of the risk warning data in Korea. Journal of Food Composition and Analysis. 2022 May 1;108:104462.

7. Al-Luhaiby RA, Alenizzi M. Spectrophotometric Determination of Thiamine hydrochloride Via Oxidative Coupling Reaction Using 4-Aminoantipyrine. Journal Of Education And Science. 2020 Dec 1;29(4):62-75.

8. Al-Hadi BA. Spectrophotometric determination of sulphite and thiamin hydrochloride using proton transfer reaction-application to water sample and pharmaceutical formation. Tikrit Journal of Pure Science. 2019 Mar 18;24(1):74-81.

9. Ahmad NR, Al-Qazzaz WA. Spectrophotometric Estimation of Thiamine in Tablet form Application to Content Uniformity Testing. Rafidain Journal of Science. 2019 Jun 1;28(2):146-51.

10. Amir R, Hadi H. Spectrophotometric determination of vitamin B1 in dosage forms using drugs compounds as reagents by normal and reverse flow injection methods. Current Pharmaceutical Analysis. 2022 Jan 1;18(2):218-27.

11. Amer R, Hadi H. Application of CTAB-coated magnetic nanoparticles for solid-phase extraction of thiamine hydrochloride from pharmaceutical formulations and urine samples. Arabian Journal for Science and Engineering. 2022 Jan;47(1):429-40.

12. Ibrahim MM, Elbashir AA. Spectrofluorometric Methods For Determination Of Thiamine (Vitamin B1) In Pharmaceutical Formulations. European Journal of Biomedical. 2022;9(6):01-7.

13. Saleem BA. Estimation of thiamine hydrochloride and sulphite using charge transfer complex reaction. Samarra Journal of Pure and Applied Science. 2020;2(3):49-61.

14. .Jiahang ZH, Yan LI, Jinfang ZH, Jiapei LI, Nuhuyifu B. Comparative Determination of Vitamin B1 in Mosquitoes Repellent Cream by HPLC and UV. Xinjiang Agricultural Sciences. 2020 Oct 20;57(10):1892.

15. Hossain MF, Rashid M, Sidhu R, Mullins R, Mayhew SL. A simplified, specific HPLC method of assaying thiamine and riboflavin in mushrooms. International journal of food science. 2019 Feb 3;2019.

16. Ullah Q, Mohammad A. Vitamins determination by TLC/HPTLC—a mini-review. JPC–Journal of Planar Chromatography–Modern TLC. 2020 Oct;33:429-37.

17. Huang L, Tian S, Zhao W, Liu K, Guo J. Electrochemical vitamin sensors: A critical review. Talanta. 2021 Jan 15;222:121645.

18. Hashemi SH, Yahyavi H, Kaykhaii M, Hashemi M, Mirmoghaddam M, Keikha AJ Spectrofluorometrical determination of vitamin B1 in different matrices using Box-Behnken designed pipette tip solid phase extraction by a carbon nanotube sorbent. ChemistrySelect. 2019 Mar 22;4(11):3052-7.

19. Ahmed AT, Abdulaziz MS. التقدير الطيفي للبروميثازين هيدروكلوريد في المستحضرات الصيدلانية بطريقة الاقتران التأكسدي. Samarra Journal of Pure and Applied Science. 2021;3(4).

20. IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8. https://doi.org/10.1351/goldbook.

21. Araujo P. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. Journal of Chromatography B. 2009 Aug 1;877(23):2224-2234.

IRAQI Academic Scientific Journals

Samarra Journal of Pure and Applied Science

SJPAS

www.sjpas.com

p ISSN: 2663-7405
e ISSN: 2789-6838

Determination of Thiamine hydrochloride in its pure form and in its pharmaceutical formulation by oxidative coupling method

Suhad Abdel Moneim Yassin[1*], Khalaf F AlSamarrai[2]

1- Department of Chemistry, College of Education, University of Samarra, Samarra, Iraq
2- Department of Medical Laboratory Technologies, Al Salam University College, Baghdad, Iraq

Article Information

Received: 13/07/2023
Revised: 10/08/2023
Accepted: 20/08/2023
Published: 30/08/2024

Keywords:

Vitamin B1, Aminoantipyrene-4, potassium ferricyanide $K_3Fe(CN)_6$, Oxidation reaction and coupling, Thimine hydrochloride

Corresponding Author

E-mail: suhadchemical@gamil.com
Mobile:

Abstract

Developed a new and accurate spectrophotometric method for the determination of thiamine hydrochloride (VitB1) in its pure form and in its pharmaceutical formulation. The method is based on adding increasing concentrations ranging from 20-100 µg/mL of VitB1 solution to a series of volumetric flask with a capacity of 10 ml, then adding 2 ml of the oxidizing agent potassium ferricyanide K_3Fe (CN) $_6$ at a concentration of 1000 µg/mL The solution was heated to the boiling point, and then 2 ml of 4-Aminoantipyrene (4-AAP) reagent was added at a concentration of 1000 µg / ml and the volume was perfected to the brand distilled, and the absorbance was measured for the length of each solution against the Planck solution at 634 nm. The optimal conditions for product formation (type and volume of reagent, temperature, effect of pH, sequence of additives) were studied. The linearity of the method for the compound ranged from (20-100) µg/mL, The molar absorption coefficient was 1011.9 L / mol.cm, the Sandell significance was 0.33 µg / cm^2, the detection limit was 0.099 µg/mL, and the quantitative limit was 2.93066 µg/mL. The recovery percentage ranged between (97.944 - 100.50) % The relative deviation rate RSD% in the range of 0.639 - 4.894% for five readings (n = 5) and for all concentrations of the calibration curve in one day, while the values of the RSD% ranged in more than one day Between 0.965 - 4.958%. The method was successful for the determination of VitB1 in its pharmaceutical preparation by the direct method and the retrospective study method.