

طريقة طيفية لتقدير عقار الايزونيازايد من خلال تكوين مركب آزوتي بشكله النقي وفي مستحضراته الصيدلانية

اسيل شاكر محمد

قسم علوم الاغذية - كلية الزراعة - جامعة الكوفة

E-mail: Aseel.alrubaye@uokufa.edu.iq

Abstract

The research demonstrates the development of spectrophotometric method for the determination of isoniazid (Antituberculosis drug) by formation of diazonium ion through drug reaction with nitrite in acid medium after that the produced ion coupled with Ethyl acetoacetate in basic medium to form azo dyes, which absorbance measured at 394 nm. Determining range is 2.5-15 ppm, the molar absorptivity is 12031.24 L. mol⁻¹.cm⁻¹ and detection limit is 0.1071. The percent recovery is 101.1610 % and relative standard deviation RSD is 0.0870. This method showed a good selectivity when the effect of interferences studied also it has been applied successfully to the determination of isoniazid in pharmaceutical tablets. The results obtained are in agreement with certified values.

Key words: Isoniazid, Ethyl acetoacetate, Spectrophotometric, Diazonium ion

الخلاصة

تناول البحث تطوير طريقة طيفية لتقدير عقار الايزونيازايد (مركب دوائي مضاد للعدوى) وذلك بتكوين ايون الديازونيوم من خلال تفاعل العقار مع النتريت في وسط حامضي، وازدواج الايون مع المركب Ethyl acetoacetate في وسط قاعدي لتكوين الصبغة الأزوتية، حيث اظهرت اعلى امتصاصية عند الطول الموجي ٣٩٤ نانوميتر. بلغت حدود التقدير ٢,٥-١٥ جزء من المليون ومعامل امتصاص مولاري (١٢٠٣١,٢٤) لتر/مول. سم وحده الكشف (٠,١٠٧١) ونسبة الاسترداد المنوية (١٠١,١٦١٠) وانحراف قياسي نسبي (٠,٠٨٧٠)، وقد تم دراسة تأثير المتداخلات واطهرت انتقائية جيدة. طبقت الطريقة بنجاح في تقدير عقار الايزونيازايد في الاقراص الدوائية، حيث وجد ان نتائج الطريقة تتفق مع تركيز المحتوى الاساسي من العقار في الاقراص الدوائية.

المقدمة

الايزونيازايد هو هيدرازين مشتق من حامض نيكوتينيك [1] وهو مركب عضوي، $(C_6H_7N_3O \text{ M.wt } 137.1 \text{ g/mol})$ m.p. 170-174 C) عبارة عن بلورات بيضاء ومسحوق ابيض سريع الذوبان في الماء وله القابلية على الذوبان في الكحول والكلوروفورم والاثير [2] وله عدة تسميات علمية منها: INAH، INH، isonicotinic acid hydrazide، isonicotinylhydrazide، tubazid و 4-pyridinecarboxylic acid hydrazide [3]. وهو عقار يستعمل كمضاد حيوي للبكتريا المسببة لمرض السل وانه يستعمل مع عقاري Rifampicin و Streptomycin لعلاج التدرن. سجل الايزونيازايد تأثيرا كبيرا على جميع الجوانب الايضية للبكتريا الفطرية اذ انه يثبط عملية بناء الاحماض الفطرية Mycolic acid (احماض دهنية ذات سلاسل طويلة مواقع الفا فيها متفرعة ومواقع البيتا هيدروكسيلية) [4,5]، ولاهمية هذا الدواء اجريت العديد من الابحاث لايجاد طرق تحليلية سريعة وحساسة لتقديره بشكله النقي وفي مستحضراته

الصيدلانية ومنها طرق طيفية [12-6] وطرق تفلورية [14,13] وطرق كهربائية [22-15] وطرق الحقن الجرياني مع البريق الكيميائي [28-23]، وطرق كروماتوغرافية [32-29].

تم تقدير الايزونيازايد في مستحضراته الدوائية باقترانه مع كاشف حامض السلفانيليك المؤزوت بتكوين صبغة ذات لون اصفر تمتص عند 410 نانوميتر وكانت حدود قانون بير بين 2×10^{-5} - 2.4×10^{-4} جزء من المليون والامتصاصية المولارية 9.5×10^3 لتر.مول⁻¹. سم⁻¹ [33]، وكذلك تم تقديره طيفيا في مستحضراته الصيدلانية بتفاعله مع Molybdenum(VI) كعامل مؤكسد بوجود حامض الكبريتيك المركز اذ يتكون محلول ازرق يمتص عند 695 نانوميتر بامتصاصية مولارية 4.25×10^3 لتر.مول⁻¹. سم⁻¹ وحدود قانون بير 1.5×10^{-5} - 2.5×10^{-4} مايكروغرام/مل [34]، وتم تقديره بتفاعله مع 1,2,4-aminonaphtholsulphonic acid في وسط قاعدي ليعطي ناتج برتقالي يقاس امتصاصه عند 475 نانوميتر [35]، وقدر طيفيا ايضا بمفاعله مع 2,3-dichloro-1,4-naphthaquinone في وسط ايثانولي وتم قياس امتصاص الناتج عند 640 نانوميتر [36]، وقدر ايضا بتفاعله مع 6-methyl-2-pyridine carboxaldehyde اذ تكون مشتق الهيدرازون الذي قيس امتصاصه عند 328 نانوميتر [37].

في هذا البحث تم تقدير عقار الايزونيازايد بتطوير طريقة طيفية تعتمد على تفاعل الازوتة بين الدواء والنتريت في وسط حامضي لتكوين ايون الديازونيوم والذي بدوره يزدوج مع Ethyl acetoacetate في وسط قاعدي بتكوين صبغة ازوتية وبظروف بسيطة وباستخدام مواد كيميائية متوفرة ورخيصة الثمن وتطبيق الطريقة في تقدير المركب الدوائي قيد الدراسة في مستحضراته الصيدلانية.

الجزء العملي

الاجهزة المستخدمة

مطياف الاشعة المرئية وفوق البنفسجية Shimadzo UV-160 لرسم الاطياف. مطياف الاشعة المرئية وفوق البنفسجية APEL PD-303 UV لقراءة الامتصاصات. خلايا كوارتز بسمك ١ سم. ميزان حساس نوع Sartorius للوزن.

المواد الكيميائية المستخدمة

كانت جميع المواد الكيميائية على درجة عالية من النقاوة.

- **محلول الايزونيازايد الاحتياطي بتركيز ١٠٠٠ جزء من مليون:** حضر هذا المحلول باذابة 0.1000 غم من الايزونيازايد النقي في الماء المقطر واكمل الحجم الى 100 مللتر بالماء المقطر باستخدام قنينة حجمية داكنة اللون وكان المحلول مستقرا لمدة عشرة ايام .
- **محلول الايزونيازايد العامل ذي التركيز ٥٠ جزء من المليون:** حضر المحلول من تخفيف 5 مللتر من المحلول الاحتياطي الى 100 مللتر بالماء المقطر باستخدام قنينة حجمية وحفظ في قنينة داكنة .
- **محلول نتريت الصوديوم ١,٥ %:** حضر باذابة 1.5 غم منه في 100 مللتر من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية سعة 100 مللتر .
- **محلول هيدروكسيد الصوديوم ٤ عياري:** حضر باذابة 16 غرام منه في 100 مللتر من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية سعة 100 مللتر .

• **محلول Ethyl acetoacetate ١٠ %** : حضر بسحب ١٠ مللتر منه في ١٠٠ مللتر من الكحول الايثيلي باستخدام قنينة حجمية سعة ١٠٠ مللتر.

• **محلول حامض الهيدروكلوريك المخفف ٣ مولاري**: حضر بسحب ١٠,٩٥ مللتر منه في ١٠٠ مللتر من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية سعة ١٠٠ مللتر.

طريقة العمل (تقدير الايزونيازايد طيفياً)

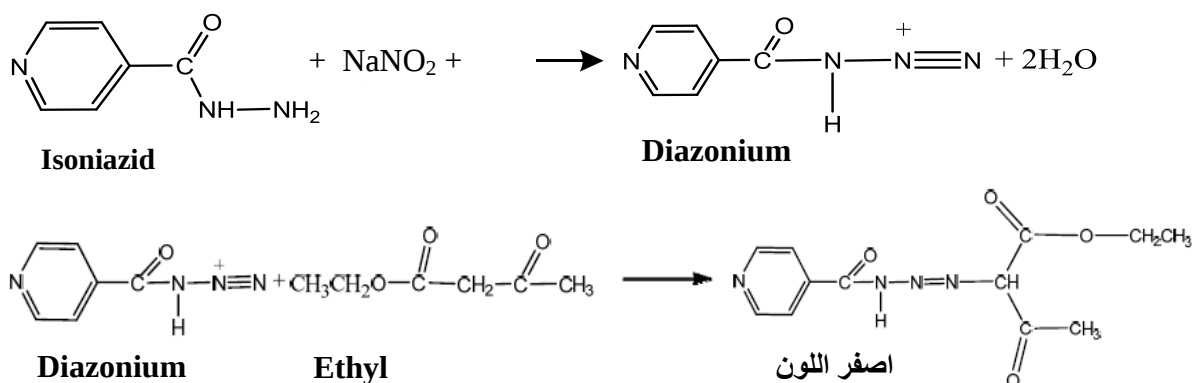
تم تحضير سلسلة من المحاليل في قناني حجمية سعة ١٠ مللتر تتضمن اضافة (٢,٥ - ١٥) جزء من المليون من محلول عقار الايزونيازايد ثم اضيف اليها ١ مل من محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز (٢,٥) مولاري يتبعها اضافة ١,٥ مللتر من نترت الصوديوم بتركيز ١,٥ % ثم تركت المحاليل مدة ٥ دقائق في درجة حرارة الغرفة [38-40] لاتمام عملية الديدزة ثم بعدها تم اضافة ١,٥ مللتر من مادة Ethyl acetoacetate بتركيز ١٠ % واطافة ١ مللتر من هيدروكسيد الصوديوم بتركيز ٤ عياري لغرض الازدواج وتكوين محلول اصفر اللون وإكمال الحجم الى ١٠ مللتر ثم قيس الامتصاص للمحاليل على الطول الموجي ٣٩٤ نانوميتر باستعمال محلول يتضمن نفس اضافة المواد المذكورة عدا عقار الايزونيازايد كمحلول صوري.

تقدير الايزونيازايد في الاقراص الدوائية

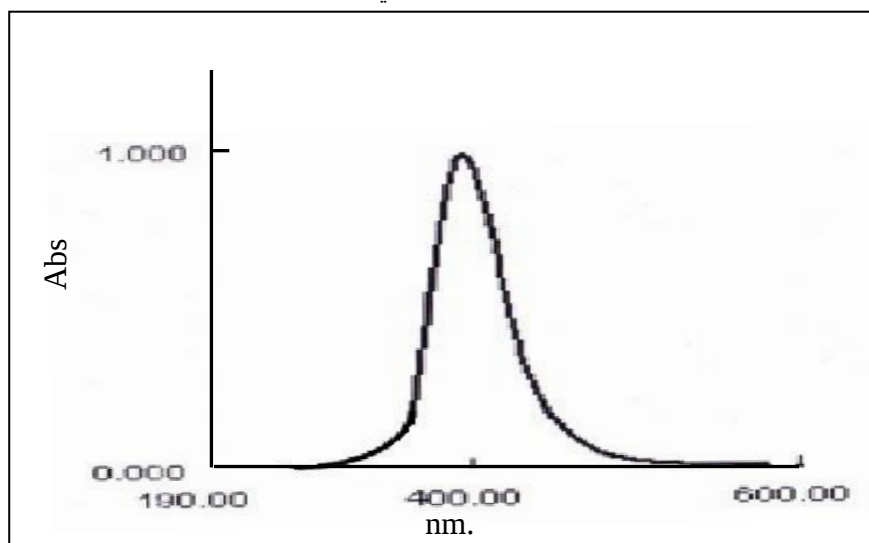
لغرض معرفة امكانية تطبيق الطريقة المقترحة في تقدير الايزونيازايد في مستحضراته الصيدلانية فقد طبقت الطريقة على اقراص الايزونيازايد الدوائية ، حيث وزنت ٥ اقراص دوائية تحتوي ١٠٠ ملغرام من الايزونيازايد النقي بدقة فكانت مجموع الاوزان (٥,٥٦) غرام وبعد سحقها ومزجها بشكل جيد وزن ما يعادل معدل اوزان الاقراص (٥,١٢٠) غرام واذيب في الماء المقطر ورشح ثم اكمل حجم الراشح الى ١٠٠ مللتر بالماء المقطر للحصول على محلول المستحضر وطبقت عليه الطريقة في المنحني القياسي.

النتائج والمناقشة

تعتمد الطريقة التحليلية المطورة في تقدير الكميات الضئيلة من عقار الايزونيازايد على خطوتين رئيسيتين :
اولاً: تكوين ملح الدايزانيوم من مفاعلة عقار الايزونيازايد مع نترت الصوديوم بوجود حامض الهيدروكلوريك .
ثانياً: عملية الازدواج مع محلول قاعدي للـ Ethyl acetoacetate لتكوين محلول ملون (اصفر) كما في المعادلات التالية:



وتم إجراء مسح طيفي للمركب الناتج باستعمال جهاز قياس الاطيف الالكترونية مزدوج الشعاع للمنطقة ما فوق البنفسجية والمرئية (٢٠٠-٨٠٠) الذي أعطى قمم الانتقال الالكتروني $\pi \rightarrow \pi^*$ وقمة الانتقال الالكتروني $n \rightarrow \pi^*$ عند الطول الموجي الاعظم ٣٩٤ نانوميتر والشكل ١ يمثل الطيف الالكتروني لخطوات تفاعل العقار.



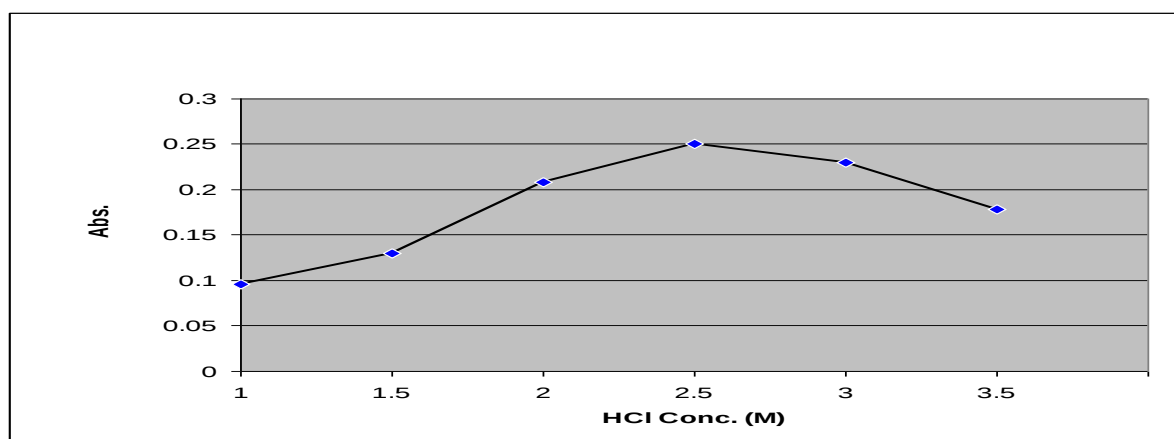
شكل ١: يوضح الطيف الالكتروني لعقار الايزونيازايد الموزوت

دراسة الظروف الفضلى لتقدير العقار طيفياً

تمت دراسة تأثير كل من تركيز حامض الهيدروكلوريك وحجم كل من نترتيت الصوديوم ١,٥ % وهيدروكسيد الصوديوم ٤ عياري و Ethyl acetoacetate ١٠ % كما موضح:

تأثير تركيز الحامض

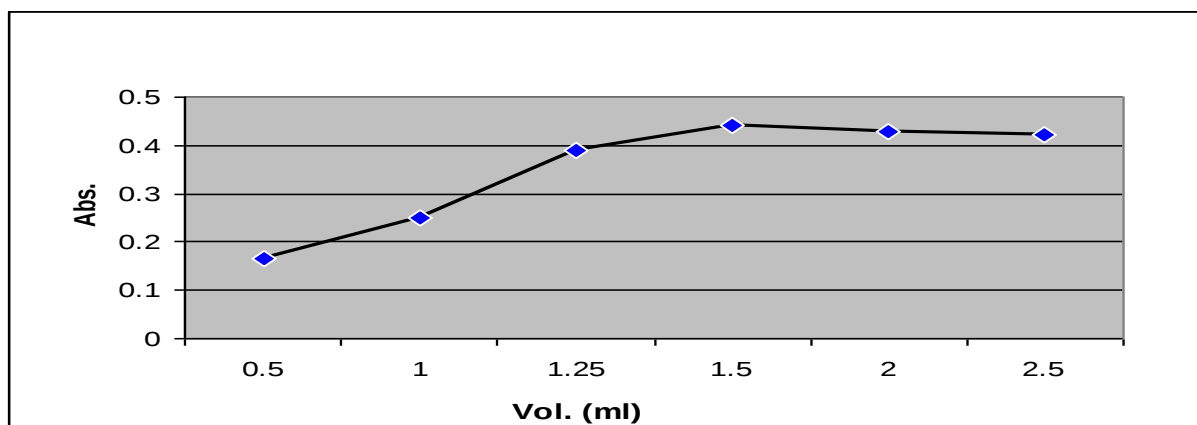
تم دراسة تأثير تركيز حامض الهيدروكلوريك على عملية الازوتة باستعمال تراكيز تراوحت بين (١-٣,٥) مولاري بحجم ١ مللتر من كل تركيز واطهرت النتائج ان افضل تركيز لاعطاء افضل شدة لونية (٢,٥) مولاري كما في الشكل ٢.



شكل ٢: يوضح التركيز الأمثل لحامض الهيدروكلوريك

تأثير كمية نترت الصوديوم

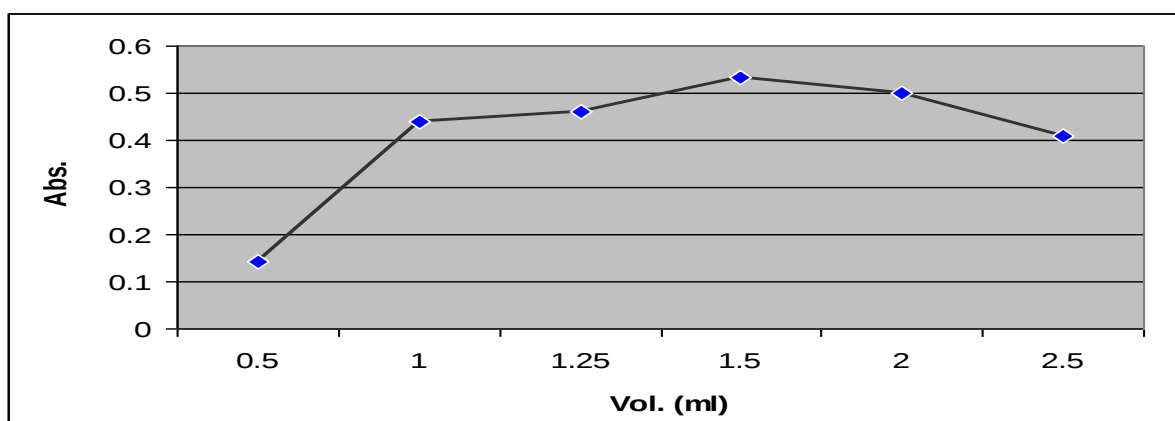
لغرض التعرف على الكمية اللازمة لتكوين ملح الدايازونيوم تم إضافة حجوم مختلفة من تركيز ١,٥ % من محلول نترت الصوديوم تراوحت بين (٢,٥-٠,٥) مللتر بينت النتائج انه إضافة ١,٥ مللتر تعطي أفضل حساسية للتفاعل كما موضح في الشكل ٣.



شكل ٣: يوضح الحجم الأمثل لنترت الصوديوم ١,٥ %

تأثير عامل الازدواج

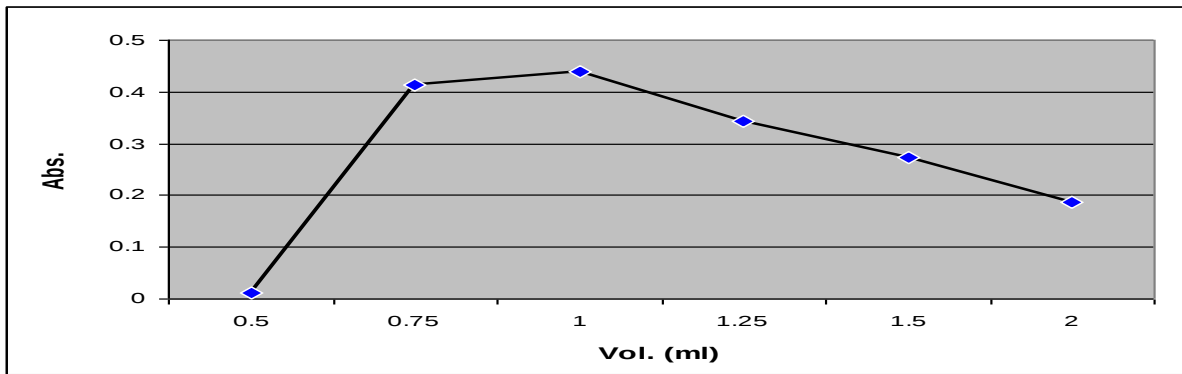
لغرض اكمال التفاعل مع ملح الدايازانيوم المتكون تم اختيار Ethyl acetoacetate كعامل مقترن للازدواج بتركيز ١٠ % في تقدير العقار وبحجوم تراوحت بين (٢,٥-٠,٥) مللتر . اظهرت نتائج المتفاعلات انه باستعمال حجم ١,٥ مللتر للتركيز المذكور يعطي افضل نتائج للطريقة الطيفية الشكل ٤ .



شكل ٤ : يوضح الحجم الأمثل لـ Ethylacetoacetate ١٠ %

تأثير اضافة القاعدة

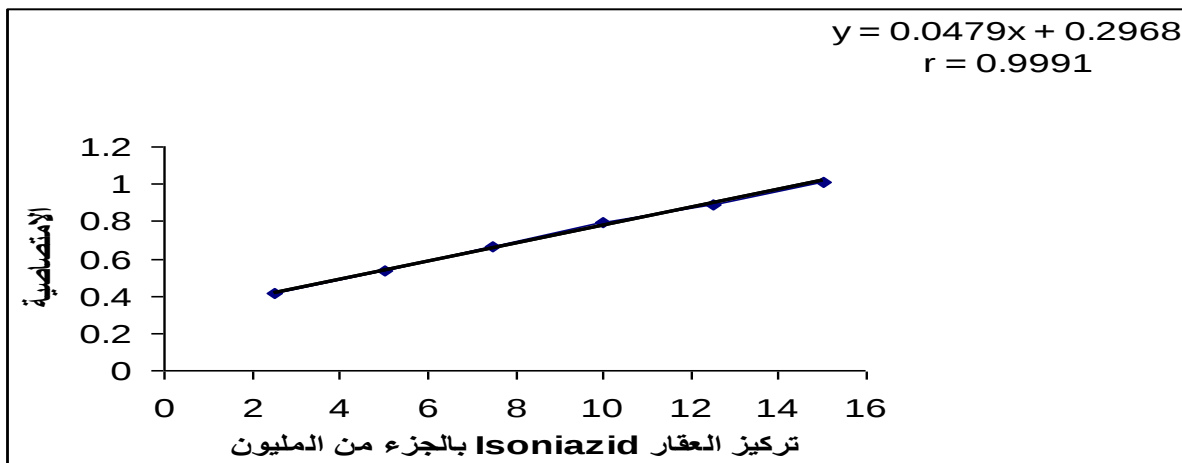
من اجل اتمام عملية الاقتران كان لا بد من اختيار الوسط المناسب فوجد ان استعمال قاعدة NaOH وبتركيز (٤) عياري ، تعطي الوسط المناسب ومن اجل الوصول الى حساسية عالية تم استعمال حجوم تراوحت بين (٢-٠,٥) مللتر. بينت النتائج ان استعمال (١) مللتر يعطي افضل النتائج شكل ٥.



شكل ٥: يوضح الحجم الأمثل لهيدروكسيد الصوديوم 4N

بناء منحنى المعايرة

الشكل ٦ يبين منحنى المعايرة للمحلول عند الطول الموجي ٣٩٤ نانومتر عند الظروف المثلى ومن الشكل يتبين ان حدود التقدير تتراوح لمدى من التراكيز يتراوح بين (١٥-٢,٥) جزء من المليون عند الطول الموجي اعلاه.



شكل ٦: منحنى المعايرة المباشرة لعقار الايزونيازايد المؤزوت عند الطول الموجي ٣٩٤ نانومتر

المعطيات التحليلية والإحصائية

يوضح الجدول ١ قيم كل من المدى الخطي للتركيز (LDR) و الانحراف القياسي النسبي المئوي (RSD%) وحد الكشف ومعامل الامتصاص المولاري ، كما يبين الجدول معادلة الخط المستقيم ومعامل الارتباط والانحراف القياسي للميل. ويلاحظ خطية منحنى المعايرة الجيدة والتي تراوحت بين (١٥-٢,٥) جزء من المليون والتي تشير الى امكانية التحليل لمدى واسع من التراكيز .

جدول ١: المعالجة الإحصائية لمنحني المعايرة المباشرة عند الطول الموجي ٣٩٤ نانوميتر لعقار الايزونيازايد الموزوت

مدى خطية التركيز	الانحراف النسبي المئوي (RSD%)	حد الكشف (D.L ppm)	الاسترادية المئوية (Rec %)	معامل الامتصاص المولاري (ε) L/mol.cm	معادلة الخط المستقيم $Y=a+bx$	معامل الارتباط (r)	الانحراف القياسي للميل (Sb)
١٥-٢,٥	٠,٠٨٧٠	٠,١٠٧١	١٠١,١٦١٠	١٢٠٣١,٢٤	$Y=0.2968+0.0479x$	٠,٩٩٩١	٠,٠٠٠٢٣

تأثير المتداخلات

يبين **الجدول ٢** قيم الخطأ النسبي المئوي (E %) لمجموعة من المتداخلات الموضحة في الجدول ادناه والتي تشير الى عدم وجود أي تداخل مما يدل على انتقائية الطريقة المستخدمة .

جدول ٢: نتائج تأثير المتداخلات على تقدير عقار الايزونيازايد

الخطأ النسبي المئوي	تركيز المتداخل (ppm)	المتداخل
-1.11	١	Glucose
-0.49	٢	
0.01	٣	
-1.12	١	Lactose
-0.50	٢	
0.01	٣	
-0.76	١	Dextrose
0.12	٢	
0.63	٣	
-0.48	١	Sorbitol
-0.15	٢	
0.12	٣	
0.06	١	Starch
0.31	٢	
0.87	٣	
0.01	١	Talc
0.85	٢	
0.55	٣	

تطبيقات على المستحضر الصيدلاني

يوضح **الجدول ٣** قيم الاسترادية المئوية و الانحراف القياسي النسبي المئوي (RSD%) لتطبيق الطريقة المستخدمة لتقدير عقار الايزونيازايد على المستحضر الصيدلاني Isoniazid بشكل اقراص دوائية مجهزة من قبل شركة ادوية

سامراء SDI/ Iraq. حيث يلاحظ قيمة جيدة للاستردادية والتي تشير الى عدم وجود اي تداخل للمكونات الداخلة في تركيبة الاقراص الدوائية للعقار.

جدول ٣: قيم الاستردادية والخطأ النسبي المئوي لتقدير عقار الايزونيازايد في المستحضر الصيدلاني بالطريقة المباشرة عند الطول الموجي ٣٩٤ نانوميتر

المستحضر الصيدلاني	نوع المستحضر	الشركة المصنعة	التركيز المدروس	التركيز الملاحظ	الاستردادية المئوية (Rec %)	الانحراف النسبي المئوي (RSD%)
Isoniazid	اقراص/100mg	SID/ IRAQ	٧,٥	٧,٤٨٩	١٠٠,٩٣٧	٠,٠٨٧٣

*حسب المعلومات المعطاة في العبوة من قبل الشركة المصنعة

References

- (1) Anderson P. [2002]: Hand Book of Clinical Drug Data.10th Edition. Mc-Graw Hill Company, NewYork, p.83.
- (2) British Pharmacopeia on Cd-Rom. [2000]: 3rd Edition. System simulation Ltd., The Stationary Office, London.
- (3) Negwer M & Scharnow H G. [2001]: Organic- Chemical Drugs and Their Synonyms. 8th Edition. Wiley-VCH, p 557-558.
- (4) Quemard A, Lacave C & Lanele G. [1991]: Isoniazid inhibition of mycolic acid synthesis by cell extracts of sensitive and resistant strains of *Mycobacterium aurum* Antimicrob. Agents Chemother., 35 (6), p 1035-39.
- (5) Takayama K, Wang L & David H L. [1972]: Effect of Isoniazid on the In Vivo Mycolic Acid Synthesis, Cell Growth, and Viability of *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob. Agents Chemother. 2 (1), p 29-35.
- (6) Nagaraja P, Srinivasa Murthy K C & Yathirajan H S. [1996]: Spectrophotometric determination of isoniazid with sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate and cetyltrimethyl ammonium bromide. Talanta. 43 (7), p 1075-80.
- (7) Mahfouz N M A & Emara K M. [1993]: Colorimetric determination of isoniazid and its pharmaceutical formulations. Talanta. 40 (7), p 1023-29.
- (8) Sastry C S P, Rao S G, Naidu P Y & Srinivas K R. [1998]: Rapid, Routine Method for the Analysis of Some Drugs with Bromate and Celestine Blue. Anal. Lett. 31 (2), p 263-273.
- (9) Karimi M A, Mazloun-Ardakani M, Mashhadizadeh M H & Banifateme F. [2009]: Simultaneous Kinetic Spectrophotometric Determination of Hydrazine and Isoniazid Using H-Point Standard Addition Method and Partial Least Squares Regression in Micellar Media. Croat. Chem. Acta. 82 (4), p 729-738.
- (10) Al-Hammoshi H M J. [2011]: Spectrophotometric Determination of Isoniazid (INH) Using 2,4-dinitro-1-fluorobenzene (DNFB) Application to Tablet. J. Edu. & Sci. 24 (4).

- (11) Elhagi A M, Ben Naji N R, Bensaber S M & Almog T K.[2013]: Microwaves assistant technique in spectrophotometric assay of Isoniazid using it's Schiff's base derivatives. I.J.P.S.R., 4(2), p 644-649.
- (12) Manure J Y, Naikwade N S, Pathade K S, Tamboli A M, Mulla M N & Pawar S S. [2013]: Difference Spectrophotometric Method For The Estimation Of Isoniazid (Inh) In Bulk Drug. Pharm. Analysis & Quality Assurance. Vol. 2013 , Article ID-ppaqa /876/13.
- (13) Garcia Bautista J A, Garcia Mateo J V & Calatayud J M. [1998]: Spectrofluorimetric Determination of Iproniazid and Isoniazid in a FIA System Provided with a Solid-Phase Reactor. Anal. Litt. 31 (7), p 1209-1218.
- (14) Tavallali H, Hamid Y & Tahmasebi A. [2011]: A selective and simple method for isoniazid Spectrofluorometric determination based on the oxidation by cerium(IV). Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research. 1(2), p 713-718
- (15) تقدير عقار الايزونيازايد باستخدام اقطاب انتقائية غشائية [2009] امين ، سهام توفيق و خليل ، علي ابراهيم و محمد ، اسيل شاكر. مصنعة، وقائع المؤتمر العلمي الاول / كلية العلوم – جامعة تكريت، ص ١٩٩-٢٠٦.
- (16) Sulaiman S T & Hameed Y O. [1988]: Differential-pulse polarographic determination of isonicotinic acid hydrazide, and analogous hydrazides in admixture. Anal. Chim. Acta. 206, p 385-390.
- (17) Shahrokhiana S & Asadiana E. [2010]: Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, acetaminophen and isoniazid using thionine immobilized multi-walled carbon nanotube modified carbon paste electrode. Electrochimica Acta. 55, p 666 -672.
- (18) Bergamini M F, Santos D P & Zanon M V B. [2010]: Determination of isoniazid in human urine using screen-printed carbon electrode modified with poly-L-histidine, Bioelectrochemistry. 77, p 133–138.
- (19) Karimi M A, Hatefi-Mehrjardi A, Mazloun-Ardakani M, Behjatmanesh-Ardakani R, Mashhadizadeh M H & Sargazi S. [2010]: Study of Electrocatalytic Oxidation of Isoniazid Drug Using Alizarin Red S as A Mediator on the Glassy Carbon Electrode. Int. J. Electrochem. Sci. 5, p 1634 – 1648.
- (20) Yan X, Bo X & Guo L. [2011]: Electrochemical behaviors and determination of isoniazid at ordered mesoporous carbon modified electrode. Sens. Actuators B Chem. 155, p 837–842.
- (21) Atta N F, Galal A & Ahmed R A. [2011]: Voltammetric Behavior and Determination of Isoniazid Using PEDOT Electrode in Presence Of Surface Active Agents, Int. J. Electrochem. Sci., 6, p 5097 – 5113.
- (22) Cheemalapati S, Palanisamy S & Chen S. [2013]: Electrochemical Determination of Isoniazid at Electrochemically reduced grapheme oxide modified Electrode. Int. J. Electrochem. Sci. 8, p 3953 – 3962.
- (23) Li B, Zhang Z & Liu W. [2001]: - Flow-injection system for automated dissolution testing of isoniazid tablets with chemiluminescence detection. Talanta. 54, p 697–702.
- (24) Halvatzis S A, Timotheou-Potamia M M & Calokerinos A C. [1990]: Continuous-flow chemiluminescence determination of isoniazid by oxidation with N-bromosuccinimide. Analyst. 115, p 1229-1234.
- (25) Zheng X & Zhang Z. [1999]: Flow-injection chemiluminescence determination of isoniazid using on-line electrogenerated BrO⁻ as an oxidant . Analyst. 124, p 763-766.

- (26) Hu L, Gao J, Wang Y & Xu G. [2011]: Electrochemiluminescence of tris(2,2'-hipyridyl)ruthenium(II) in the presence of hydrazine and its derivatives. *Anal. Methods*. 3, p 1786- 1789.
- (27) Liang Y D & Shen L H. [2011]: Electrochemiluminescence from Isoniazid Itself and Its Analytical Application. *Pharm Anal Acta*. 2(10), p 144.
- (28) Oliveira P R, Oliveira M M, Zarbin A J G, Marcolino-Junior L H & Bergamini M F. [2012]: Flow injection amperometric determination of isoniazid using a screen-printed carbon electrode modified with silver hexacyanoferrates nanoparticles. *Sens. Actuators B Chem*. 171– 172, p 795– 802.
- (29) Tsai I L, Liu H Y, Kuo P H, Wang J Y, Shen L J & Kuo C H. [2011]: Quantitative determination of isoniazid in biological samples by cation-selective exhaustive injection–sweeping micellar electrokinetic chromatography. *Anal Bioanal Chem*. 401, p 2205–2214.
- (30) Xiaomeng S, Guangxin Y, Lihua Z & Jingbo S. [2011]: Determination of isoniazid and isonicotinic acid contents in tablets by HPLC. *International Conference on Human Health and Biomedical Engineering (HHBE)*. *Pharm. Coll., Beihua Univ., Jilin, China*. P 324 – 327.
- (31) Ghosh C, Upadhyay A, Kasodekar S, Gupta V, Sanghvi K, Bhattacharya K & Chakraborty B. [2012]: Rapid determination of isoniazid in human plasma by HPLC-UV and its application to a bioequivalence study. *Global Journal of Analytical Chemistry*. 3(4), p 348-352.
- (32) Liu P, Fu Z, Jiang J, Yuan L, Lin Z. [2013]: Determination of isoniazid concentration in rabbit vertebrae by isotope tracing technique in conjunction with HPLC. *Biomed. Chromatogr*. 27(9), p 1150-1156.
- (33) Al-Irhayim A N. [2004]: Spectrophotometric Assay of Isoniazid in Tablets. M Sc. thesis, Chemistry Department, College of Science, Mosul University, p 10, 33.
- (34) Issopoulos P B. [1989]: Iso- and heteropolyanions of molybdenum (VI) as oxidizing agents in pharmaceutical analysis. I. Spectrophotometric determination of microquantities of isonicotinic acid hydrazide (isoniazid). *Pharm. Acta. Helv*. 64 (9-10), p 280-283.
- (35) Gomez S A. [1994]: Spectrophotometric determination of isoniazide with 1,2,4-aminonaftolsulphonic acid. *Acta Farm. Bonaerense*. 13 (1), p 53-59.
- (36) Devani M B, Shishoo C J, Patel M A & Bhalara D D. [1978]: Spectrophotometric determination of isoniazid in presence of its hydrazones. *J. Pharm. Sci*. 67 (5), p 661-663.
- (37) Khuhawar M Y, Rind F M A & Almani K F. [1998]: Spectrophotometric determination of isoniazid using 6-methyl-2-pyridine carboxaldehyde as a derivatizing reagent. *J. Chem. Soc. Pak*. 20 (4), p 260-263.
- (38) Krishna M V & Sankar D G. [2007]: New Diazo Coupling Reactions for Visible Spectrophotometric Determination of Alfuzosin in Pharmaceutical Preparations. *E-Journal of Chemistry*. 4(4), p 496-501.
- (39) Sinan R & Al-Uzri W A. [2011]: Spectrophotometric Method for Determination of Sulfamethoxazole in Pharmaceutical Preparations by Diazotization-Coupling Reaction, *Journal of Al Nahrain University (science)*. 14(3), p 9-16.
- (40) Revanasiddappa H D, Deepakumari H N, Mallegowda S M & Vinay K B. [2011]: Facile Spectrophotometric Determination Of Nimodipine And Nitrazepam In Pharmaceutical Preparations. *Analele Universității din Bucurestii – Chimie (serie nouă)*. 20(2), p 189 – 196.