إستخدام تفاعل ملابراد والتفاعلات التكبيرية لتقدير فيتامين C تسحيحياً في الأقراص الدوائية

محسن حمزة بكر

قسم الكيمياء، كلية العلوم، جامعة تكريت، تكريت، جمهورية العراق

(استلم ٢ / ٩ /٢٠٠٧ ، قبل ٢١ / ١٠ /٢٠٠٧)

الملخص:

تم تطوير طريقة تسحيحية إنتقائية وحساسة لتقدير حامض الأسكوربيك بتطبيق تفاعلي ملابراد وليبرت . تعتمد الطريقة على أكسدة حامض الأسكوربيك بوساطة البيريودات من خلال تفاعل ملابراد ، وبعد حجب الزيادة من البيريودات بوساطة المولبيدات عند دالة حامضية 3 تم تقدير اليودات المتكونة تكبيرياً بتفاعلها مع اليوديد في وسط حامضي لتحرير كميات مكافئة من اليود (ليبرت) الذي يُسحَّح مع ثايوكبريتات الصوديوم باستخدام النشا دليلاً. أمكن تقدير كميات 50 – 500 مايكروغرام من حامض الأسكوربيك (بتكبير 12 مرة) في المحلول المائي بنسبة إسترجاع تراوحت بين 97.45 % و 102.67 % وإنحراف قياسي نسبي أقل من 4%.

تم تطبيق الطريقة في تقدير حامض الأسكوربيك في الأقراص الدوائية، وكانت النتائج متفقة مع المحتوى الأصيل للمادة وكذلك مع الطريقة القياسية المعتمدة في دستور الأدوية البريطاني.

كلمات المفتاح:تقدير فيتامين C ، تفاعل ملابراد ، التفاعلات التكبيرية.

المقدمة:

حامض الأسكوربيك (Ascorbic acid, AA, $C_6H_8O_6$): ويسمى أيضاً فيتامين C ، وزنه الجزيئي 176.13 ، وهو مادة بيضاء بلورية لامعة درجة إنصهارها 190 – 192°م وكثافتها 1.65 غم/سم^3 ، يذوب في الماء والكحول وعديم الذوبان في الإيثر والكلوروفورم والبنزين. وهو عامل مختزل قوي ومستقر تجاه الهواء في الحالة الصلبة بينما تتأكسد محاليله المائية بسرعة عند تعرضها للهواء. مصادره الغذائية هي الحمضيات والبطاطا والفلفل والقرنابيط وغيرها. إن حامض الأسكوربيك ضروري في تكوين الأساس البروتيني للعظام والأسنان وإعادة بناء العضلات والجلد وله تأثير على نشاط غدة الأدرينالين، أما نقصه يؤدي إلى الإصابة بمرض الإسقربوط وإلى أعراض مرضية أخرى. يُعطى حامض الأسكوربيك للمرضى على شكل أقراص وحقن[1-3].

أمكن تقدير حامض الأسكوربيك بالتسحيح مع كبريتات السيريوم الرباعي الأمونياكي بوجود حامض الكبريتيك بإستخدام الفيروين (ferroin) دليلاً [3]. وكذلك بالتسحيح مع اليود بوجود حامض الكبريتيك بإستخدام النشا دليلاً [4] ، كما أمكن تقديره تسحيحياً إعتماداً على تفاعل ليبرت، إذ تمت أكسدته بماء البروم [5]، وكذلك أمكن تقديره بأكسدته باليود [6].

أمكن تقدير حامض الأسكوربيك في المستحضرات الصيدلانية طيفياً عند 265نانوميتر بتقنية التحليل بالحقن الجرياني[2]. وأمكن تقديره طيفياً بطريقة ليبرت وذلك بأكسدته بماء البروم ثم قياس معقد اليود–النشا الناتج عند 595 نانوميتر [5]. كما أمكن تقديره في الأغذية والمستحضرات الطبية والعينات البايولوجية وذلك بمعاملته مع محلول اليوديد–اليودات في وسط حامضي لتحرير ثلاثي اليوديد، الذي يتفاعل مع ليوكو كريستال البنفسجي لتكوين صبغة لها أعلى إمتصاص عند 590 نانوميتر [7]. وأمكن تقديره في عصير الفواكه وذلك بتفاعله مع الكاشف ثنائي ميثوكسي ثنائي كوينون في وسط الدايوكسان[8]. وأمكن تقديره في المستحضرات الصيدلانية بإختزاله Ce^{+4} إلى Ce^{+3} الذي يكوّن معقداً أزرق اللون مع الكاشف آرسين آزو III [9]، وكذلك بإختزاله Fe^{+3} إلى Fe^{+2} الذي يكوّن معقداً وردي اللون مع حامض البيكولينيك الذي يتم استخلاصه بمحلول ثلاثي أوكتيل أمين بالكلوروفورم [10] ، أو بمفاعلة Fe^{+2} الناتج مع 10،1 فينانثرولين وبروموبايروكالول الأحمر والسيتافلون [11]. وأمكن تقديره بإقترانه مع كاشف 4 –نيتروأنيلين الموزوت في وسط مائي متعادل لتكوين صبغة آزوية صفراء [12].

أُستخدمت طرائق كهربائية لتقدير حامض الأسكوربيك منها تقديره في المستحضرات الصيدلانية مجهادياً بوساطة تقنية التحليل بالحقن الجرياني [13] والفولتامتري الحلقي [14] باستخدام قطب عجينة الكاربون[15] وقطب الكاربون الزجاجي[16] . وكذلك أمكن تقديره في عصير الفواكه أمبيرومترياً[17 - 19] وتم تقديره بتقنية كروماتوغرافيا السائل العالي الأداء[20].

أُستخدم تفاعل ملابراد[21-23] (الأكسدة الإنتقائية بالبيريودات Malaprade reaction,) في تقدير بعض المركبات العضوية متعددة الهيدروكسيل على ذرات الكاربون المتجاورة (الفايس دايول ,Vic-diol) مثل الترترات[24] والسكريات[25] والكحولات الأمينية والسيرين والثريونين [26-28] وبعض المركبات الدوائية[29]، إذ اعتمدت أغلب هذه الطرائق على اليودات الناتجة من الأكسدة التي يتم تكبيرها بتفاعل ليبرت (Liepert) ثم تقديرها تسحيحياً أو طيفياً.

إن استخدام هذين التفاعلين يضمن انتقائية (طريقة ملابراد) وحساسية عالية (التفاعلات التكبيرية) في التقدير، علاوة على كون إجراء التفاعل في المحلول المائي، والمواد الكيميائية المستخدمة متوافرة ورخيصة الثمن، والطريقة بسيطة وسريعة، لذا تم في هذا البحث استخدام هذين التفاعلين قي التقدير التسحيحي لحامض الأسكوربيك في هذا البحث.

الجزء العملي:

المواد والمحاليل المستخدمة: جميع المواد الكيميائية المستخدمة كانت بأعلى نقاوة ممكنة.

- محلول حامض الأسكوربيك 1000 مايكروغرام/مللتر: حضر بإذابة 0.1000 غرام في 100 مللتر من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية، ومن هذا المحلول تم تحضير محلول 100 مايكروغرام/مللتر بالتخفيف باستخدام قنينة حجمية سعة 100 مللتر.
- محلول بيريودات البوتاسيوم 5×10^{-3} مولاري: حضر بإذابة 0.1149 غرام منه في 100 مللتر من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية.
- محلول موليبدات الصوديوم 0.01 مولاري: حضر بإذابة 0.2420 غرام من $Na_2MoO_4.2H_2O$ في 100 مللتر من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية، وتم ضبط الدالة الحامضية إلى 3.0 بإستخدام محاليل مخففة من كل من HCl و NaOH.
- المحلول المنظم، محلول كلوروخلات الصوديوم 0.5 مولاري : حضر بإذابة 5.825 غرام منه في 100 مللتر من الماء المقطر، وتم ضبط الدالة الحامضية إلى 3.0 بإستخدام محاليل مخففة من كل من HCl و NaOH [25].
- محلول يوديد البوتاسيوم 10 %: حضر بإذابة 10.00 غرام منه في 100 مللتر من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية ويحفظ في قنينة ذات لون داكن بعيداً عن الضوء.
- محلول ثايوكبريتات الصوديوم 0.01 عياري: حضر بإذابة 2.4820 غرام من $Na_2S_2O_3.5H_2O$ في لتر واحد من الماء المقطر باستخدام قنينة حجمية ، ثم حضِّر منه محلول0.001 عياري بالتخفيف باستخدام قنينة حجمية. وتمت معايرة كل من المحلولين مع تراكيز مماثلة من يودات البوتاسيوم القياسي .
- محلول النشا 1.0 % : حضر بمزج 1.00 غرام من النشا بقليل من الماء المقطر كعجينة، وأذيبت بأقل من 100 مللتر من الماء المقطر المغلي، ثم برِّد المحلول وأكمل الحجم بالماء المقطر في قنينة حجمية سعة 100 مللتر.

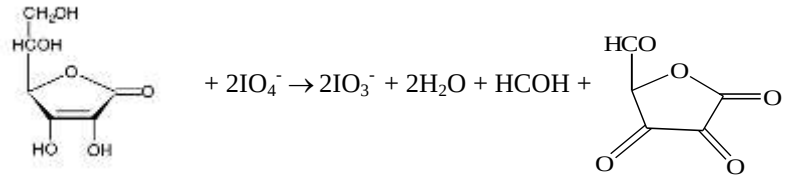
طريقة العمل:

يوضع في دورق مخروطي سعة 100 مللتر حجم 0.5 – 5.0 مللتر من محلول 100 مايكروغرام/مللتر حامض الأسكوربيك (أي ما يعادل 50 – 500 مايكروغرام) ، يضاف إليها 0.5 مللتر من محلول بيريودات البوتاسيوم " لكل 50 مايكروغرام من حامض الأسكوربيك" ، ويترك لمدة 15 دقيقة لإتمام الأكسدة. ثم يضاف 0.2 مللتر من محلول موليبدات الصوديوم " لكل 50 مايكروغرام من حامض الأسكوربيك" لحجب البيريودات الفائضة. ثم يضاف 1.0 مللتر من المحلول المنظم و0.5 مللتر من محلول يوديد البوتاسيوم ، يُسَّد غطاء الدورق ويُترك المحلول لمدة ثلاث دقائق. ثم يُسحَّح المحلول الناتج مع محلول ثايوكبريتات الصوديوم القياسي باستخدام النشا دليلاً. يتم إجراء محلول صوري (blank) بنفس الطريقة ويطرح قيمته من القراءات. تحسب كمية حامض الأسكوربيك بإستخدام العلاقة الآتية:

1 ml of 0.01Nthiosulphate ≡ 146.775 µg of Ascorbic acid

النتائج والمناقشة:

يُعد حامض الأسكوربيك من المواد المُختزِلة إذ يتحول إلى ديهيدروحامض الأسكوربيك (dehydroascorbic acid)[30] فيستهلك مولاً واحداً من البيريودات وينتج مولاً واحداً من اليودات وجزيئة ماء ، علاوةً على ذلك فهو يحتوي على مجموعتي هيدروكسيل مرتبطتين بذرتي كاربون متجاورتين جانبيتين (خارج الحلقة) ، إذ أن مثل هذه المركبات تتأكسد انتقائياً بالبيريودات (تفاعل ملابراد) [29،21] يتم فيها كسر آصرة كاربون – كاربون فتستهلك مولاً واحداً من البيريودات وتنتج الفورمالديهايد ومولاً واحداً من اليودات ونواتج أخرى ، وبذلك تكون المحصلة استهلاك مولين من البيريودات وتكوين مولين من اليودات كما في المعادلة الكيميائية الآتية:



Ascorbic acid

تمت دراسة الظروف المثلى لطريقة التقدير ، إذ دُرست كمية البيريودات اللازمة للأكسدة وزمن الأكسدة والدالة الحامضية المناسبة للأكسدة، وكمية الموليبدات اللازمة لحجب البيريودات الفائضة، وكمية يوديد البوتاسيوم والدالة الحامضية المناسبة والزمن اللازم لتكوين اليود وبذلك تم التوصل إلى طريقة العمل المتبعة . تتم الأكسدة في وسط حامضي بدالة حامضية 3–5 وبزمن 15 دقيقة باستخدام 0.5 مللتر من محلول 5×10^{-3} مولاري بيريودات البوتاسيوم لكل 50 مايكروغرام من حامض الأسكوربيك، بعد تفاعل ملابراد يتم حجب البيريودات الفائضة بالموليبدات عند دالة حامضية 3 وذلك بتكوين معقد هكسا–موليبدوبيريودات (hexa-molybdoperiodate) الذائب في الماء[25,26,31] إذ كانت 0.2 مللتر من محلول الموليبدات بتركيز 0.01 مولاري كافية لحجب البيريودات الفائضة. ثم تمت مفاعلة اليودات الناتجة من الأكسدة (مولين لكل مول من حامض الأسكوربيك) بتفاعل ليبرت وذلك مع وفر من اليوديد في محيط حامضي لتكوين اليود [24,25] باستخدام 1.0 مللتر من المحلول المنظم (كلوروخلات الصوديوم–حامض الهيدروكلوريك) بدالة حامضية 3 و0.5 مللتر من 10 % محلول يوديد البوتاسيوم. يكون التكبير ست مرات لكل مول من اليودات الناتجة ، وبما أنه ينتج مولين من اليودات من أكسدة مول واحد من حامض الأسكوربيك لذلك تكون المحصلة تكبيراً قدره 12 مرة.

تم تقدير اليود الناتج بالتسحيح مع ثايوكبريتات الصوديوم بإستخدام النشا دليلاً. إذ تم تقدير كميات 50 – 500 مايكروغرام من حامض الأسكوربيك في المحلول المائي حسب طريقة العمل المتبعة والنتائج موضحة في الجدول (1).

الجدول (1): تقدير حامض الأسكوربيك بتفاعل ملابراد والتفاعلات التكبيرية

taken, µg	Found*, µg	Recovery, %	RSD, %
50	51.34	102.67	2.78
100	99.00	99.00	0.73
200	199.68	97.45	1.26
300	306.55	102.18	2.94
400	407.75	101.93	1.56
500	492.83	98.56	3.22

* average of six determinations.

يظهر من النتائج في الجدول دقة وتوافقية الطريقة وبذلك يمكن استخدام الطريقة الحالية لتقدير حامض الأسكوربيك في المحلول المائي، إذ تراوحت قيم الإسترجاعية بين 97.45% و102.67 % والإنحراف القياسي النسبي أقل من 4%.

تطبيقات الطريقة في تحليل الأقراص الدوائية:

تم وزن 10 أقراص بدقة من كلٍ من الأقراص الصيدلانية المدونة مواصفاتها في الجدول (2) وسحقت ومزجت جيداً، وأُخِذ من كل منها ما يكافئ وزن قرص واحد وأذيب في كمية من الماء المقطر، وتم ترشيح كل محلول، وأُكمل الحجم بالماء المقطر إلى حد العلامة في قنانٍ حجمية سعة 250 مللتر ، ثم حُضِّر من كلٍ منها محلولاً بتركيز 100 مايكروغرام/مللتر حامض الأسكوربيك ، وأُخذ من كلٍ منها حجوم مختلفة للحصول على كميات 100، 200، 300 مايكروغرام من حامض الأسكوربيك ، ثم تمت معاملتها وفق طريقة العمل المتبعة لتقدير حامض الأسكوربيك. وكانت النتائج كما في الجدول (3) حيث أظهرت دقة طريقة حامض الأسكوربيك في الأقراص الصيدلانية بالمقارنة مع المحتوى الأصيل المثبت من قبل الشركة المصنِّعة، إذ تراوحت قيم معدلات نسبة الإسترجاع بين 99.6 و101.5 % .

الجدول (2): مكونات المستحضرات الصيدلانية ومناشئها

Pharmaceutical preparation	Content	Company
Samavit C (tablet)	250 mg ascorbic acid	S.D.I
Flu – out (tablet)	350 mg paracetamol + 100mg ascorbic acid + 2mg chlorpheniramine maleate	S.D.I
Hayanil (tablet)	0.25 mg dexamethasone + 2mg dexchlorpheniramine maleate + 75mg ascorbic acid	Ibn Hayyan Pharm., Syria

الجدول (3): تطبيق الطريقة في تحليل حامض الأسكوربيك في الأقراص الدوائية

Pharmaceutical preparation	Certified value (mg)	Drug content found* (mg)	Recovery,%	Average recovery,%
Samavit C (tablet)	250 mg AA	257.5	103.0	100.9
		239.4	95.8	
		260.1	104.0	
Flu – out (tablet)	100 mg AA	95.6	95.6	101.5
		103.2	103.2	
		105.7	105.7	
Hayanil (tablet)	75 mg AA	73.2	97.6	99.6
		78.4	104.5	
		72.5	96.7	

* Average of six determinations

المقارنة مع الطريقة القياسية المعتمدة:

من أجل إثبات أن الطريقة المطوّرة خالية من التداخلات فقد تم تطبيق الطريقة القياسية المعتمدة في دستور الأدوية البريطاني[4] لتحليل حامض الأسكوربيك. إذ تم تحليل أقراص حامض الأسكوربيك وذلك بإذابة بما يعادل 0.1500 غرام منه في مزيج من 80 مللتر من الماء المقطر و10 مللتر من حامض الكبريتيك (1 مولاري) ثم التسحيح مع 0.05 مولاري من محلول اليود بإستخدام 1 مللتر من 1% من النشا دليلاً لحين ظهور اللون الأزرق البنفسجي.

يتبين من الجدول (4) النتائج التي تم الحصول عليها ويظهر قيم نسب الإسترجاع للطريقة الحالية مقارنةً بطريقة دستور الأدوية البريطاني لتقدير حامض الأسكوربيك حيث تراوحت بين 99.6 و 101.5% دلالةً على أن الطريقة الحالية مُرضِية وخالية من التداخلات ومتفقة مع نتائج الطريقة القياسية. وقد تم إجراء اختباري t و F (t test, F test) لغرض مقارنة الطريقة الحالية مع الطريقة القياسية المعتمدة لخمس درجات حرية عند مستوى ثقة 95% وأظهرت النتائج أن القيم التجريبية أقل من القيم الجدولية مما يدل على أن الأخطاء الناجمة هي أخطاء عشوائية ولا يوجد فرق معنوي بين الطريقتين ، علما أن قيمتي t و F الجدوليتين هما 2.57 و5.05 على التوالي عند مستوى ثقة 95% ولخمس درجات حرية.

الجدول(4): تحليل الأقراص الصيدلانية لحامض الأسكوربيك

Pharmaceutical preparation	Drug content, AA, (mg)*	Drug content (mg)** found		t test value (exp.)	F test value (exp.)
		present method, it's recovery	British pharmacopoeia method, it's recovery		
Samavit C (tablet)	250 mg	252.3 mg, 100.9%	251.8 mg, 101.24%	1.39	3.62
Flu – out (tablet)	100 mg	101.5 mg, 101.5%	97.8 mg, 98.73%	2.15	4.81
Hayanil (tablet)	75 mg	74.8 mg, 99.6.%	74.2 mg, 101.53%	2.46	4.70

* Certified value

** Average of six determinations

المصادر:

1. The Merck Index, version 12:3, Chapman & Hall/CRC, (2000), CD-ROM.
2. J. Fernandes, G. Neto and L. Kubota, Anal. Chim. Acta, 366(1-3), (1998), 11-22.
3. "British Pharmacopoeia" Version 5.0, The Stationary Office Ltd., (2001), CD-ROM.
4. "British Pharmacopoeia", Her Majesty's Stationary Office, Cambridge, England, (1980). p39
5. D. H. Mohammed, M.Sc. Thesis, University of Mosul, (1996), p3, 4,61-87.
6. D. Amin, Microchem. J., 28, (1983), 174-17.
7. J. Das, V. Gupta and M. Rai, Chem. Anal., 43(1), (1998), 85-92.
8. S. P. Arya, M. Mahajan and P. Jain, Anal. Sci., 14, (1998), 889-895.
9. S. P. Arya, P. Jain and M. Mahajan, Acta Pharm., 52, (2002), 45-51.
10. S. P. Arya, M. Mahajan and P. Jain, Chem. Anal., 43(2), (1998), 231-239.
11. B. Huang, Z. Luo, Y. Fang and J. Lin, Huaxue Shijie, 40(6), (1999), 319-321; Chem. Abst., 131(19), (1999), 256435y.
12. S. G. Geeso, M.Sc. Thesis, University of Mosul, (1991), p95-114.
13. J. Fernandes, L. Rover, L. Kubota and G. Neto, J. Brazil. Chem. Soc., 11(2), (2000), 182-186.
14. P. Janda, J. W. L. Dunsch and A. B. P. Lever, Anal. Chem., 68, (1996), 960-965.
15. L.S.Silva,T.N.Oliveira,M.A.Ballin and C.R.M.Peixoto, Ecl Quim. Sao Paulo, 31(4), (2006), 39-43.
16. M. KHORASANI-MOTLAGH and M. Noroozifar Turk J Chem , 28, (2004), 369-378.
17. G. Zhang, X. Wang, X. Shi and T. Sun, Talanta, 51(5), (2000), 1019-1025.
18. Y. Dilgin, Z. Dursun, and G. Nisli, Turk. J. Chem., 27, (2003), 167-180.
19. Y. Dilgin and G. Nişli , Anal. Lett., 39, (2006), 457-465.
20. R. Helmut, Z. Lebensm. Unters. Forsch., 171(5), (1980), 357-359; Anal. Abst., 40(6), (1980), 6F30.
21. G. Dryhurst, "Periodate Oxidation of Diol and other Functional groups: Analytical and structural applications", Pergamon press Ltd., Oxford, (1970). p116
22. M. Q. Al-Abachi, Ph.D. Thesis, Birmingham University, (1977), p196-367.
23. T. S. Al-Ghabsha, Ph.D. Thesis, Birmingham University, (1979), p83-131.
24. G. Nisli and A. Townshend, Talanta, 15, (1968), 1480-1483.
25. G. Nisli and A. Townshend, Talanta, 15, (1968), 1377-1384.
26. Besada and Y. A. Gawargious, Talanta, 21, (1974), 1247-1252.
27. N. J. Al-Shaheen, Ph.D. Thesis, University of Mosul, (1999), p.36, 53&80.
28. T. S. Al-Ghabsha and N. J. Al-Shaheen, J. Edu. Sci., 51, (2001), p101-112.
29. M. H. Bakir , Ph.D. Thesis, University of Mosul, (2004), 47.
30. D. A. Skoog, D. M. West and F. J. Holler, Fundamentals of Analytical Chemistry 7th ed. Harcourt Asia Pte Ltd. Delhi, India, (2001), p 485.
31. M. Pumera, I. Jelinek, J. Jindrich, P. Coufal and J. Horsky, Journal of Chromatogr., 891, (2000), 201-206.

The Use of Malaprade Reaction and Amplification Reactions for Titrimetric Determination of Vitamin C in Tablets

Mohsin Hamza Bakir

Department of Chemistry, College of Science, University of Tikrit, Tikrit, Iraq
E- mail: dr_mohsin_analchem@yahoo.com

Abstract:

Selective and sensitive titrimetric method has been developed for the determination of ascorbic acid via Malaprade reaction and Leipert reaction. Ascorbic acid was oxidized by periodate (Malaprade reaction), excess periodate was masked by molybdate at pH 3, then the produced iodate reacted with iodide in acidic medium to produce iodine, which was titrated with standard sodium thiosulphate solution using starch as indicator (amplification reaction). 50-500 µg of ascorbic acid (12 fold amplification) was determined in aqueous solution, recovery was between 97.45% and 102.67%, and RSD was less than 4%.
The method has been applied successfully to the analysis of pharmaceutical tablets. The results obtained were in agreement with the certified values and also with the British pharmacopoeia method.

key words: Vitamin C Determination, Malaprade reaction, Amplification reactions.