

Application Bulletin

Von Interesse für: Organische Chemie; Pharmazie;
Biochemie, Biologie, Medizin

B 3, 4, 8

Polarographische Bestimmung von Cinchocain (Dibucain) in pharmazeutischen Präparaten

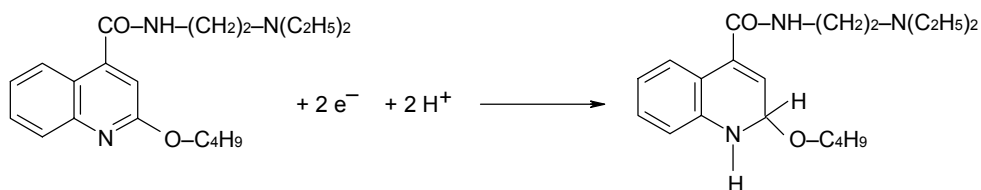
Zusammenfassung

Cinchocain (Dibucain) wird in Form von Salben oder Injektionslösungen als Lokalnarkotikum verwendet. Seine Base ist in Diethylether löslich, während sein Hydrochlorid darin nicht löslich, dafür aber gut wasserlöslich ist.

Das vorliegende Bulletin beschreibt die Bestimmung von Cinchocain in Salben, Cremes und Injektionslösungen unter Verwendung der Differential-Pulse-Polarographie. Als Grundelektrolyt dient dabei ein Acetatpuffer pH = 4,8. Die Bestimmungsgrenze und der lineare Arbeitsbereich des Verfahrens werden angegeben. Auf die notwendigen Probenvorbereitungsschritte wird ebenfalls eingegangen.

Theorie

In 0,1 mol/L Acetatpuffer pH = 4,8 wird Cinchocain durch Aufnahme von zwei Elektronen (sowie zwei H⁺-Ionen) reduziert. Dabei erhält man zwei ausgeprägte polarographische Reduktionspeaks. Der erste, der bei ca. -0,93 V auftritt, wird für die Konzentrationsbestimmung herangezogen. Der zweite Peak bei ca. -1,25 V ist häufig durch andere Substanzen oder durch die Wasserstoffabscheidung gestört und wird daher nicht verwendet. Die folgende Reaktionsgleichung verdeutlicht die am Quecksilbertropfen stattfindende elektrochemische Reduktion des Cinchocains:



Geräte und Zubehör

- VA Trace Analyzer 746 mit VA-Stand 747 oder VA Computrace 757
- Magnetrührer
- Zentrifuge
- Analysenwaage (Mindestauflösung 0,1 mg)
- Trockenschrank
- Exsikkator
- Scheidetrichter, Messkolben, Messzylinder, Mess- und Vollpipetten, Bechergläser

Reagenzien

Zur Herstellung der Lösungen werden nur Reagenzien von höchster Reinheit sowie Reinstwasser verwendet.

- Diethylether, mit für die HPLC geeignetem Reinheitsgrad
- Salzsäure $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/L}$
- Natronlauge $c(\text{NaOH}) = 2 \text{ mol/L}$
- Essigsäure $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 2 \text{ mol/L}$
- Grundelektrolyt: Acetatpuffer $\text{pH} = 4,7 \dots 4,8$:

Der Acetatpuffer enthält je 0,1 mol/L Natriumacetat und Essigsäure. Sein pH-Wert wird, falls erforderlich, mit $c(\text{NaOH}) = 2 \text{ mol/L}$ bzw. $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 2 \text{ mol/L}$ auf 4,8 eingestellt.

- Cinchocain-Standardlösungen:
 - Stammlösung der Konzentration 1000 ppm:

Eine ausreichende Menge Cinchocain-Hydrochlorid wird im Trockenschrank bei 80 °C während 5 h getrocknet; anschliessend lässt man im Exsikkator abkühlen. Man wiegt 500,0 mg der derart vorbereiteten Referenzsubstanz in einen 500-mL-Messkolben ein, löst in Reinstwasser und füllt zur Marke auf. Diese Lösung enthält 1000 ppm Cinchocain-Hydrochlorid bzw. 904 ppm Cinchocain-Base. Sie wird in einer dunklen Flasche an einem kühlen Ort aufbewahrt (Cinchocain ist lichtempfindlich) und ist mindestens einen Monat beständig.
 - Arbeitslösung der Konzentration 250 ppm:

50,0 mL der 1000-ppm-Stammlösung werden im Messkolben mit Reinstwasser auf 200 mL aufgefüllt. Diese Lösung enthält 250 ppm Cinchocain-Hydrochlorid bzw. 226 ppm Cinchocain-Base. Sie wird ebenfalls in einer dunklen Flasche an einem kühlen Ort aufbewahrt und ist ca. einen Monat beständig.

Probenvorbereitung

1. Injektionslösungen

Diese enthalten Cinchocain in gelöster Form und können demnach direkt für die Analyse verwendet werden.

2. Salben/Cremes, die Cinchocain-Base enthalten

Eine Extraktion mit Diethylether (für die nachfolgende UV-Bestimmung) ist in den meisten Pharmakopöen beschrieben. Mit $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/L}$ wird das Cinchocain als Hydrochlorid in die wässrige Phase rückextrahiert und darin bestimmt.

3. Salben/Cremes, die Cinchocain-Hydrochlorid enthalten

In ein Becherglas wiegt man 0,9 ... 1,1 g Probe ein, versetzt mit 20 mL $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/L}$ und gibt ein Rührstäbchen hinzu. Das Becherglas wird mit einem Uhrglas bedeckt und die Probe unter gutem Rühren 15 min bei 65 °C auf dem Magnetrührer «extrahiert». Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur gibt man 15 mL Reinstwasser zu, mischt nochmals kräftig und transferiert die Mischung dann in ein 50-mL-Zentrifugenglas. Die Probe ist 20 min lang bei mindestens 7500 U/min (besser 10 000 U/min) zu zentrifugieren und dann auf 5 °C abzukühlen (damit die folgenden Arbeitsschritte besser durchführbar sind). Nach dem Abkühlen wird die HCl-Phase mit einer Pipette mit fein ausgezogener Spitze abgesaugt (ohne die aufschwimmenden Bestandteile und den Bodensatz) und in einen 100-mL-Messkolben gegeben. Man spült nun die Pipette mit wenig Reinstwasser in das bereits benutzte Becherglas. Der Inhalt des Zentrifugenglases wird mit 10 mL $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/L}$ ebenfalls in dieses Becherglas gespült und dort ein weiteres Mal 10 min bei 65 °C «extrahiert». Anschliessend überführt man den Becherinhalt mit wenig Reinstwasser in das bereits benutzte Zentrifugenglas, zentrifugiert, saugt die HCl-Phase ab und vereinigt diese im 100-mL-Messkolben mit dem ersten Extrakt. Man füllt den Messkolben mit Reinstwasser zur Marke auf und mischt. Die Lösung ist meist noch leicht trübe, was die polarographische Bestimmung aber nicht stört. Starke Trübungen lassen sich entfernen, indem ein Teil der Probenlösung durch ein Papierfilter filtriert wird (Filter nicht spülen).

Analyse

1,00 mL Salbenextrakt bzw. eine entsprechende Menge Injektionslösung werden ins Polarographiegefäss gegeben, mit 19,0 mL Grundelektrolyt versetzt und 5 min mit Stickstoff entlüftet. Anschliessend nimmt man die Polarogramme unter folgenden Bedingungen auf:

Methode / Amplitude	DP / -25 mV
Elektrode	DME oder SMDE
U.start	-0,70 V
U.end	-1,20 V
Sweep rate	7,5 mV/s

Das Peakpotential des Cinchocains liegt bei ca. -0,93 V.

Die Konzentrationsermittlung erfolgt durch zweifache Standardaddition.

Bemerkungen

- Die Absolutmasse an Cinchocain im Polarographiegefäß sollte, inklusive der Standardadditionen, nicht mehr als 340 µg (Cinchocain-Base) bzw. 375 µg (Cinchocain-Hydrochlorid) betragen, da man sich sonst ausserhalb des linearen Arbeitsbereiches befindet.
- Die Bestimmungsgrenze liegt bei 2,8 µg Cinchocain-Base bzw. 3,1 µg Cinchocain-Hydrochlorid pro 20 mL. Dies ist hier aber kaum von Bedeutung, da die untersuchten pharmazeutischen Präparate relativ hohe Wirkstoffkonzentrationen aufweisen.
- Bei Verwendung von hochreinen Reagenzien erübrigt sich normalerweise die Aufnahme eines Chemikalienblindwertes (blank), da dieser im Vergleich zu den hohen Cinchocain-Gehalten der Proben nicht ins Gewicht fällt.
- Die polarographischen Bestimmungen an der DME und der SMDE ergeben gleichwertige Resultate. Bedingt durch die kleineren Quecksilbertropfen erhält man an der SMDE allerdings wesentlich geringere Signalhöhen. Dafür wird sehr viel weniger Quecksilber verbraucht.

Literatur

- US Pharmacopoeia XXI (1984) 310–312.
- J. Volke
Polarographic and voltammetric methods in pharmaceutical chemistry and pharmacology
J. Electroanal. Chem. 155 (1983) 7–23.

```

===== METROHM 693 VA PROCESSOR (5.693.0020) =====
Method Dibcream.mth          OPERATION SEQUENCE
Title Detn. of Dibucaine in Antiseptic Cream
    
```

	Instructions	t/s	Main parameters	Auxiliary parameters
1	SMPL/M		V.fraction 1.000 mL	V.total 0.1L
2	DOS/M		V.added 19.000 mL	
3	PURGE			
4	STIR	300.0	Rot.speed 3000 /min	
5	(ADD			
6	NOP	15.0		
7	SEGMENT		Segm.name pol	
8	ADD>M		Soln.name dibstd	V.add 0.100 mL
9	ADD>2			
10	END			

```

Method: Dibcream          SEGMENT
                          pol
    
```

	Instructions	t/s	Main parameters	Auxiliary parameters
1	(REP			
2	ØPURGE			
3	ØSTIR			
4	DME			
5	OPMODE		U.ampl -25 mV	t.meas 20.0 ms
			t.step 0.80 s	t.pulse 40.0 ms
6	SWEEP	69.6	U.start -700 mV	U.step 6 mV
			U.end -1200 mV	Sweep rate 7.5 mV/s
7	ØMEAS			
8	REP>1			
9	PURGE			
10	STIR		Rot.speed 3000 /min	
11	END			

```

Method: Dibcream          DOCUMENTATION
    
```

Auto form feed no

COPY Reports, Curves

TO Destination

Curve Smth Sbst:dibuc VR:**

Printer

Report Full

Printer

Report MethSpc

Printer

Abb. 1: Methode für die polarographische Bestimmung von Cinchocain in Creme (durchgeführt am VA Trace Analyzer 693): «Operation Sequence», Segment und Dokumentation.

Method: Dibcream

 SUBSTANCES
 dibuc - pol

Recognition		Display / Plot			
U.verify	-935 mV	I.scale	auto		
U.tol (+/-)	30 mV	U.div	50 mV/cm		
U.width min	10 mV	U.begin	-700 mV		
U.width max	200 mV	U.end	-1200 mV		
I.threshold	250 pA				
Baseline		Evaluation (for peaks only)			
Type	linear	Quantity	I.peak		
Scope	whole				
dU.front	auto				
S.front	auto				
dU.rear	auto				
S.rear	auto				
Calibration	94-01-14 14:33	Coefficients			
Technique	std.add.	Y.reg	-5.276e-08		
Curve type	linear	Slope	-2.111e-05		
		Nonlin.			
		Mean dev.	9.756e-10		
Additions					
Soln.name	dibstd				
Mass conc.	226 mg/L	g/L	g/L	g/L	g/L
Range min	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L
Range max	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L
M.conc./cm	g/L	g/L	g/L	g/L	g/L
Method: Dibcream	CALCULATION				
	max. 15 lines				

Quantity	Formula (R##, C##, A##)	Res.unit	Sig.dig.
dibuc	$R1000=MC:dibuc * Vtot * 100/90$	%	5

Abb. 2: Methode (Fortsetzung): Substanzen und Berechnung.

```

===== METROHM 693 VA PROCESSOR (5.693.0020) =====
Determ.      : 01141915      User:      Date: 94-01-14
Modified     : no           Run : 1       Time: 14:23:43
Sample table: -
    
```

```

-----
Pos.  Ident.1/S1  Ident.2/S2  Ident.3/S3  Method.call  Sample size/S0
-----
      nupercainal  1.000      1.0          1.0438 g
    
```

```

Method : Dibcream
Title  : Detn. of Dibucaine in Antiseptic Cream
Remark1 : Pharm. Prod. - Nupercainal Cream - 0.5% w/w Dibucaine
Remark2 : ca.1.0g-USP prepn.-aliquot 1.0 mL/100mL. 2adds/1rep.
    
```

```

Substance : dibuc
Mass conc. : 49.99 mg/L      Mass      : 49.99 ug
MC.dev.    : 0.803 mg/L (1.61%)  Add.mass : 22.6 ug
Cal.dev.   : -              Vol.sample: 1 mL
    
```

VR	U/mV	I/nA	I.mean	Std.dev.	I.delta	Comments
00	-926	-53.16	-52.80	0.5007		
01	-926	-52.45				
10	-927	-75.64	-76.15	0.7213	-23.35	
11	-927	-76.66				
20	-927	-99.47	-99.52	0.0710	-23.37	
21	-927	-99.57				

Substance	Techn.	Y.reg/offset	Slope	Nonlin.	Std.add.mass
dibuc	std.add.	-5.276e-08	-2.111e-05		22.6 ug

SOLUTIONS
max. 40

Soln.name	Pos.	Std.subst.	Mass conc.	Remark
dibstd	-	dibuc	226 mg/L	

C# Workg.com.var Remark

Final results	+/-	Res.dev.	%	Comments
dibuc =	0.47892	%	0.008	1.61

Abb. 3: Vollständiges Protokoll für die Bestimmung von Cinchocain in Creme.

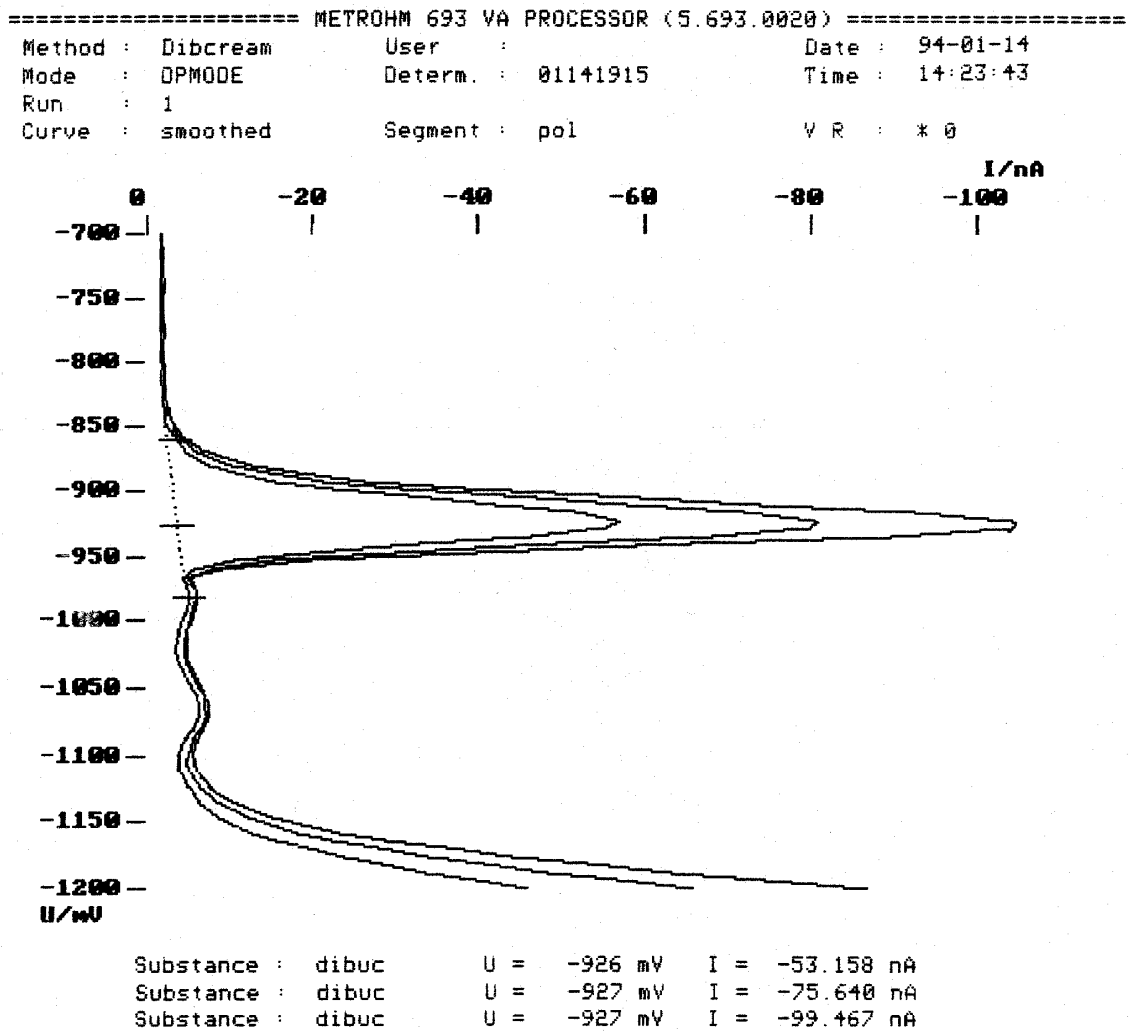


Abb. 4: Polarogramme für die Bestimmung von Cinchocain in Creme.