

Application Bulletin

D'intérêt pour: Chimie organique; Industrie pharmaceutique;
Biochimie, biologie, médecine

B 3, 4, 8

Détermination polarographique de la cinchocaïne (dibucaïne) dans les préparations pharmaceutiques

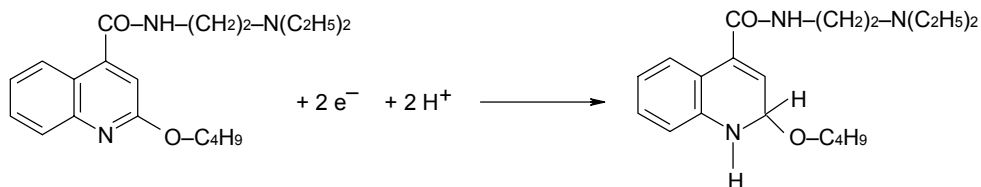
Résumé

La cinchocaïne (dibucaïne) s'emploie comme anesthésique local sous forme de pommades ou de solutions à injecter. Sa base est soluble dans l'éther diéthylique alors que son hydrochlorure ne l'est pas; par contre, celui-ci se dissout bien dans l'eau.

Le présent bulletin décrit la détermination de la cinchocaïne dans les pommades, les crèmes et les solutions à injecter par polarographie à impulsion différentielle (polarographie «differential pulse»). Un tampon d'acétate de pH = 4,8 est utilisé comme électrolyte de base. La limite de détermination et la gamme de linéarité de la méthode sont indiquées, tout comme les phases de préparation de l'échantillon qui sont nécessaires.

Théorie

Dans 0,1 mol/L tampon d'acétate de pH = 4,8 la cinchocaïne est réduite par absorption de deux électrons (ainsi que de deux ions H^+). On obtient alors deux pics de réduction polarographiques marqués. Le premier qui survient à environ $-0,93$ V sert à déterminer la concentration. Le deuxième pic à environ $-1,25$ V est souvent perturbé par d'autres substances ou par la déposition d'hydrogène et n'est donc pas utilisé. L'équation de réaction ci-après illustre la réduction électrochimique de la cinchocaïne qui a lieu sur les gouttes de mercure:



Appareils et accessoires

- VA Trace Analyzer 746 avec Poste VA 747
ou
VA Computrace 757
- Agitateur magnétique
- Centrifugeuse
- Balance pour analyses (résolution minimale 0,1 mg)
- Étuve
- Dessiccateur
- Entonnoir à séparation, ballons gradués, éprouvettes graduées, pipettes graduées et pipettes volumétriques, béchers

Réactifs

Pour la préparation des solutions, seuls des réactifs de très grande pureté et de l'eau extra-pure sont utilisés.

- Éther diéthylique, d'un degré de pureté approprié pour la HPLC
- Acide chlorhydrique $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/L}$
- Soude caustique $c(\text{NaOH}) = 2 \text{ mol/L}$
- Acide acétique $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 2 \text{ mol/L}$
- Électrolyte de base: tampon d'acétate $\text{pH} = 4,7 \dots 4,8$:

Le tampon d'acétate contient 0,1 mol/L d'acétate de sodium et 0,1 mol/L d'acide acétique. Si nécessaire, sa valeur pH est ajustée à 4,8 avec $c(\text{NaOH}) = 2 \text{ mol/L}$ ou $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 2 \text{ mol/L}$.

- Solutions standards de cinchocaïne:
 - Solution de base d'une concentration de 1000 ppm:
Sécher une quantité suffisante d'hydrochlorure de cinchocaïne dans une étuve à 80 °C pendant 5 h, puis laisser refroidir la substance dans le dessiccateur. Peser 500,0 mg de la substance de référence ainsi préparée dans un ballon gradué de 500 mL, les dissoudre dans de l'eau extra-pure et compléter à la marque. Cette solution contient 1000 ppm d'hydrochlorure de cinchocaïne ou 904 ppm de base de cinchocaïne. Elle doit être conservée au frais, dans un flacon opaque (la cinchocaïne est photosensible), et est stable pendant au moins un mois.
 - Solution de travail d'une concentration de 250 ppm:
Placer 50,0 mL de la solution de base de 1000 ppm dans un ballon gradué de 200 mL et compléter à la marque avec de l'eau extra-pure. Cette solution contient 250 ppm d'hydrochlorure de cinchocaïne ou 226 ppm de base de cinchocaïne. Elle doit elle aussi être conservée au frais, dans un flacon opaque, et est stable pendant environ un mois.

Préparation de l'échantillon

1. Solutions à injecter

Celles-ci contiennent la cinchocaïne sous forme dissoute et peuvent donc être utilisées directement pour l'analyse.

2. Pommades/crèmes qui contiennent de la base de cinchocaïne

La plupart des pharmacopées décrivent une extraction avec de l'éther diéthylique (pour la détermination UV subséquente). La cinchocaïne est réextraite sous forme d'hydrochlorure dans la phase aqueuse avec $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/L}$ et puis déterminée.

3. Pommades/crèmes qui contiennent de l'hydrochlorure de cinchocaïne

Placer 0,9 ... 1,1 g d'échantillon dans un bécher et ajouter 20 mL de $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/L}$ ainsi qu'un barreau agitateur. Couvrir le bécher avec un verre de montre et le placer sur l'agitateur magnétique pour ainsi «extraire» l'échantillon en agitant vivement pendant 15 min à 65 °C. Après refroidissement à température ambiante, ajouter 15 mL d'eau extra-pure et mélanger encore une fois vivement, puis transvaser le mélange dans un verre de centrifugeuse de 50 mL. L'échantillon doit être centrifugé pendant 20 min à une vitesse de rotation d'au moins 7500 min^{-1} (mieux encore $10\,000 \text{ min}^{-1}$) puis refroidi à 5 °C (pour faciliter les opérations suivantes). Après refroidissement, aspirer la phase d'HCl avec une pipette à pointe élancée (éviter les particules flottantes et le dépôt) et la verser dans un ballon gradué de 100 mL. Rincer maintenant la pipette avec un peu d'eau extra-pure dans le bécher déjà utilisé. Le contenu du verre de centrifugeuse est également rincé dans ce bécher avec 10 mL de $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/L}$ et puis «extrait» une autre fois pendant 10 min à 65 °C. Transvaser ensuite le contenu du bécher avec un peu d'eau extra-pure dans le verre de centrifugeuse déjà utilisé, le centrifuger, aspirer la phase d'HCl et la joindre au premier extrait dans le ballon gradué de 100 mL. Compléter le ballon gradué à la marque avec de l'eau extra-pure et mélanger. La solution est la plupart du temps encore légèrement trouble ce qui cependant n'interfère pas lors de la détermination polarographique. Pour éliminer des turbidités très fortes, il suffit de filtrer une partie de la solution d'échantillon à travers un filtre en papier (ne pas rincer le filtre).

Analyse

Pipetter 1,00 mL de l'extrait de pommade ou une quantité correspondante de la solution à injecter dans le récipient de polarographie, ajouter 19,0 mL d'électrolyte de base et purger avec de l'azote pendant 5 min. Enregistrer ensuite les polarogrammes dans les conditions suivantes:

Méthode / amplitude	DP / -25 mV
Electrode	DME ou SMDE
U.start	-0,70 V
U.end	-1,20 V
Sweep rate	7,5 mV/s

Le potentiel de pic de la cinchocaïne est à environ -0,93 V.

La concentration est déterminée par addition standard double.

Remarques

- La masse absolue de cinchocaïne dans le récipient de polarographie ne doit pas être de plus de 340 µg (base de cinchocaïne) ou 375 µg (hydrochlorure de cinchocaïne), y compris les additions standards, étant donné qu'on se trouverait sinon au-delà de la gamme de linéarité.
- La limite de détermination est à 2,8 µg de base de cinchocaïne ou 3,1 µg d'hydrochlorure de cinchocaïne par 20 mL. Mais cela est ici quasiment sans importance étant donné que les concentrations de substance active des préparations pharmaceutiques étudiées sont assez élevées.
- En cas d'utilisation de réactifs très purs, il n'est normalement pas nécessaire de déterminer des valeurs à blanc étant donné que, comparée aux fortes teneurs en cinchocaïne des échantillons, celles-ci ne comptent pas du tout.
- Les déterminations polarographiques avec la DME et la SMDE donnent des résultats similaires. À cause des gouttes de mercure plus petites de la SMDE, on obtient des hauteurs de pic nettement plus faibles. Par contre, cette électrode consomme beaucoup moins de mercure que la DME.

Littérature

- 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 Dibucaïne 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

Fig. 1: Méthode pour la détermination polarographique de la cinchocaïne dans une crème (réalisée avec le VA Trace Analyzer 693): «Operation Sequence», Segment et Documentation.

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
Range min	g/L	g/L	g/L
Range max	g/L	g/L	g/L
M.conc./cm	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

Fig. 2: Méthode (suite): Substances et Calcul.

```

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

```

-----
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	

Fig. 3: Rapport complet pour la détermination de la cinchocaïne dans une crème.

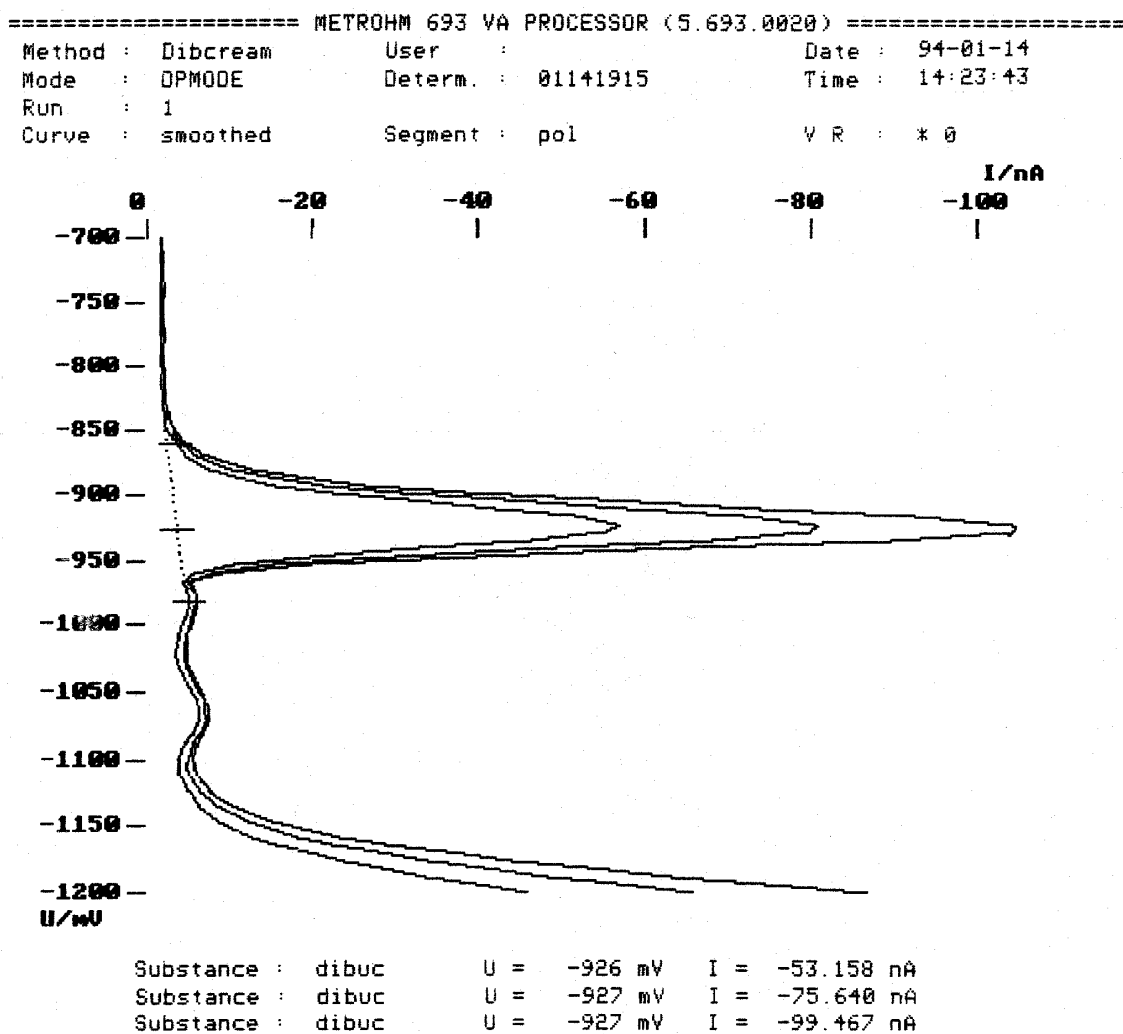


Fig. 4: Polarogrammes pour la détermination de la cinchocaïne dans une crème.