

APLICACION DE LA POLAROGRAFIA IMPULSIONELLE  
AUX SUBSTANCES AVEC ACTIVITE NEUROLEPTIQUE. ETUDE DU pH

V. López, P. Gonzalo et A. Arevalillo  
Universidad Autónoma de Madrid  
Departamento de Química, C-II  
Cantoblanco  
28049 MADRID (SPAIN)

SYNTHESE

Parmi les substances neuroleptiques possédant en commun un hétérocycle central à 7 atomes avec un groupement amidine semi-cyclique nous avons choisi le Loxapine.

Loxapine a été étudié pour la technique de polarographie impulsionnelle, extrêmement sensible, à différentes valeurs de pH et à une concentration constante. Le potentiel de pic dans la gamme de pH étudié oscille entre 906 mV et 1240 mV.

PULSE DIFFERENTIAL POLAROGRAPHY: APPLICATION TO  
NEUROLEPTIC SUBSTANCES. STUDY OF pH

SUMMARY

Between a number of neuroleptics structurally related, with piperazinyl side chain associated to a tricycle ring system, we have selected the Loxapine. The pulse polarography has been applied to know the variation of pic potential at different values of pH.

INTRODUCTION

Le traitement clinique des tumeurs avec nouvelles molécules synthétiques exige la mise en œuvre de techniques d'analyse en vue de leur détermination dans des milieux biologiques complexes.

Le comportement électrochimique de plusieurs dérivés de antracyclines ont été décrits dans la littérature (1,2).

Les substances biologiquement actives existent souvent en mélange ou en présence d'excipients. L'intérêt de la polarographie en général et de la dpp. en particulier est qu'elles permettent souvent de réaliser un dosage de ces différences substances par simple dilution dans un électrolyte. Dans certains cas plus complexes, une extraction préalable par un solvant ou par chromatographie sera nécessaire. De plus, la généralisation à l'heure actuelle du montage à trois électrodes permet l'utilisation d'une grande gamme de solvants organiques pour solubiliser les substances actives.

Le choix de l'électrolyte de support est important. Il faut l'utiliser de manière à obtenir la meilleure définition possible du pic polarographique. Le problème le plus important, en polarographie organique, est probablement le choix des conditions de pH. En effet, une variation du pH

peut induire des profondes modifications dans le comportement polarographique d'une substance. Ceci peut être démontré par les exemples fournis dans la figure 1. La polarographie organique demande donc l'utilisation de milieux tamponés. Dans un certain nombre de cas, il est nécessaire de travailler dans un milieu totalement exempt d'eau. Dans ce cas, le problème réside dans le fait que les courants de diffusion observés sont plus faibles qu'en milieu aqueous. Ceci résulte en partie de la plus grande viscosité des solvants organiques, ce que diminue le coefficient de diffusion. Le changement dans la nature et dans la taille de

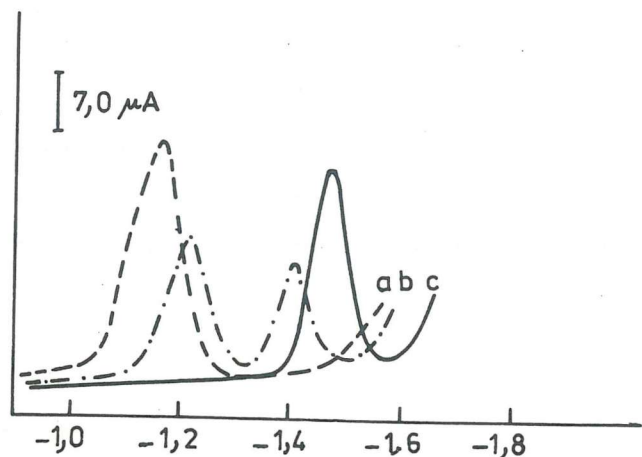


Fig. 1.- Effect du pH sur le polarogramme dpp du kétoprofène  $5 \cdot 10^{-4}$  M dans différentes tampons de Eriton-Robison (Ref. 6) a: pH= 6.0; b: pH= 7.0; c: pH= 11.0

l'espèce solvatée reductible peut aussi jouer un rôle. Il est nécessaire d'avoir recours à l'expérimentation pour déterminer les conditions optimales (1-7)

Parmi les multiples applications à des substances anticancéreuses, nous allons citer: Cis-platine dichlorodiamine et Carboplatine.

Cis-platine dichlorodiamine (8)

C'est cancérostatique très efficace présentant néanmoins une importance toxicité.

Le dosage par ddp. est une alternative de la Spectroscopie. Il se réalise en présence d 0.15 M de KCl ou NaCl. Le pic apparaît à -0.12 v vs. E.C.S., et est proportionnel à la concentration entre  $1.5 \cdot 10^{-5}$  et  $2 \cdot 10^{-7}$  M. Il provient de la réduction du platine de la molécule. Il est à noter que les produits précurseurs de la synthèse comme  $K_2(PtCl_4)$  et  $K_2(PtCl_6)$  ne donnent pas de pics gênants. Cette méthode permet d'étudier les interactions de cette substance avec des molécules de grande importance biologique tel que les ADN, les ARN et les protéines. On peut obtenir une idée de l'importance de la liaison de ces substances avec le cis-platine dichlorodiamine en observant la diminution de hauteur du pic polarographique de ce dernier. On a étudié par

dpp. les effets conjugués du cis-platine dichlorodiamine et des radiations gamma sur les ADN (9).

#### Carboplatine

Cet antitumoral peut être dose dans les milieux biologiques par HPLC en inversion de phase (10,11).

La détection peut être réalisée par des techniques spectrophotométriques (11,12) ou en utilisant la ddp (13).

On utilise une colonne en  $C_{18}$  et une solution de perchlorate de sodium comme éluant. C'est le groupement cyclobutane qui par ses caractéristiques hydrophobes est responsable de l'interaction avec la colonne.

La réduction de la substance donne un pic à -1.77 V vs. Ag/AgCl/KCl. Elle es due au platine contenu dans la molécule.

La détection du carboplatine a été réalisée dans l'urine et dans des ultrafiltrats de plasma. Les limites de détection sont de 1nm/1 dans le premier cas et de 0.1 nm/1 dans le second.

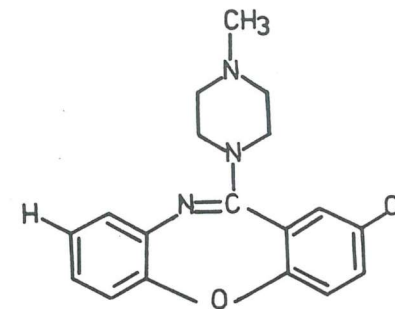
La technique a été utilisée pour déterminer le profil pharmacocinétique de la substance chez un patient après une injection intraveineuse.

#### APPLICATION

Le but de ce travail est l'application de la polarographie impulsionnelle différentielle à l'étude du comportement de Loxapine en fonction du pH.

Apparentée aux médicaments tricycliques, la Loxapine (2-chloro - 11 (4 - méthyl - 1 - piperazimil) - dibenzo - (b,f) - 1.4 oxazepine) est une dibenzoxazépine susceptible de développer une intensive activité neuroleptique (14,15).

Structurellement apparentées aux médicaments tricycliques, le molécule étudiée possed un hétérocycle central à 7 atomes avec un groupement amidine semicyclique (Fig. 2)





### Partie expérimentale

#### a) Appareillage

Les polarographies impulsionnelles différentielles (DDP) ont été effectuées à l'aide d'un ensemble polarographique Tacussel type P.R.G. 34.

Sauf indication contraire, les paramètres suivants ont été utilisés:

- amplitude de l'impulsion: 20 mV
- durée de l'impulsion: 40 msec.
- retard à l'impulsion: 1 sec. 90
- temps de chute de la goutte: 0.5 sec.
- vitesse de balayage: 50 mV/sec.
- fréquence: 50 Hz

Les mesures de pH ont été réalisées dans un pH metro Beckman Expandomatic 55-2. La température a été maintenue à 25°C de manière constante avec un ultrathermostat Colora M.E. Pour éliminer l'oxygène préalable à chaque mesure, on a fait passer du nitrogène fortement purifié à travers la cellule employée dans l'expérience, et cela pendant un temps de 15 minutes.

#### b) Reactifs

La Loxapine a été utilisée sans purification préalable. Les solutions neuves, renouvelées chaque jour, sont préparées dans l'éthanol à 25%. Le pH est contrôlé par tampons constitués de  $H_2PO_4 + AcH$  0.05 M tous produits de qualité "Pour analyse".

### RESULTS ET DISCUSSION

Une fois analysées les conditions adéquates pour réaliser les expériences du Loxapine, on a étudié la variation de pH à une valeur de la concentration de Loxapine égale à  $10^{-4}$  M.

L'étude polarographique impulsionnelle différentielle (DDP) de Loxapine dans une gamme de pH s'étendant de 1,55 à 6,50.

Dans le fig. 3 on a représenté deux polarogrammes à deux pH diverses. On peut observer en eux comment varie la  $E_p$  au fur et à mesure qu'augmente la valeur de pH. Le potentiel de pic, dans la marge de pH déjà étudié, oscille entre -906 mV et -1240 mV.

On a déterminé également les valeurs de  $i_p$  = intensité de pic et  $\Delta$  = la largeur de pic.

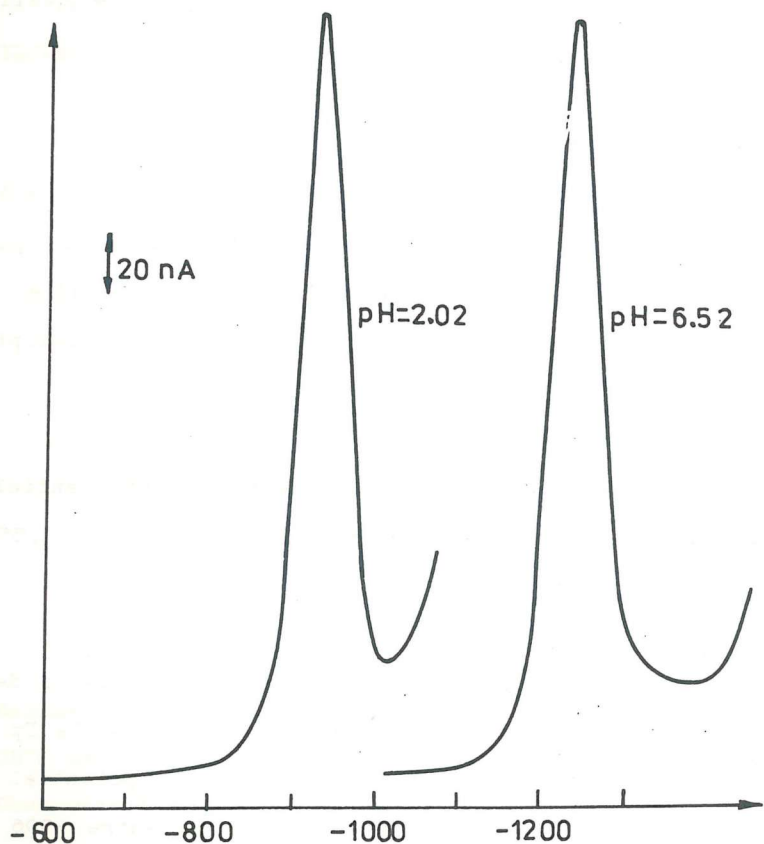


Fig. 3.- Polarogramme dpp de Loxapine à pH= 2,02 et pH = 6,52

Dans le Tableau I on résume les valeurs de  $E_p$ ,  $i_p$  et  $A$ .

TABEAU I

Loxapine =  $10^{-4}$  M: 25% CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>OH

pH	$E_p/mV$	$i_p/mA$	$A_a/mV$	$A_c/mV$
1,55	-906	374	39,2	39,2
2,02	-933	362	42,4	42,4
2,81	-1000	344	45,7	45,7
3,09	-1020	332	45,7	45,7
3,56	-1055	332	49,0	49,0
4,09	-1100	336	45,7	45,7
4,59	-1128	344	45,7	52,2
5,00	-1155	348	42,4	55,5
6,01	-1215	344	45,7	55,5
6,52	-1240	356	45,7	45,7

$A_a$  = largeur de pic anodic

$A_c$  = " " " catodic

Variation de la largeur du pic vs. pH

On a calculé pour chaque valeur de pH la largeur du pic anodic et catodic. On a observé dans quelques polarogrammes que la largeur du pic anodic ne coïncide pas avec la largeur

du pic catodique. Dans le zone de pH= 1,55 et pH= 4,09 il y a petites différences entre eux. La valeur demi calculée démontre que la largeur des pics, mesurée à mi-hauteur a été calculée en fonction du nombre d'électrons échangés dans la réaction. On trouve une valeur demi 45 mV, c'est à dire le nombre de électrons est deux.

Variation de  $E_p$  vs. pH

On a représenté graphiquement  $E_p$  vs. pH (fig. 4)

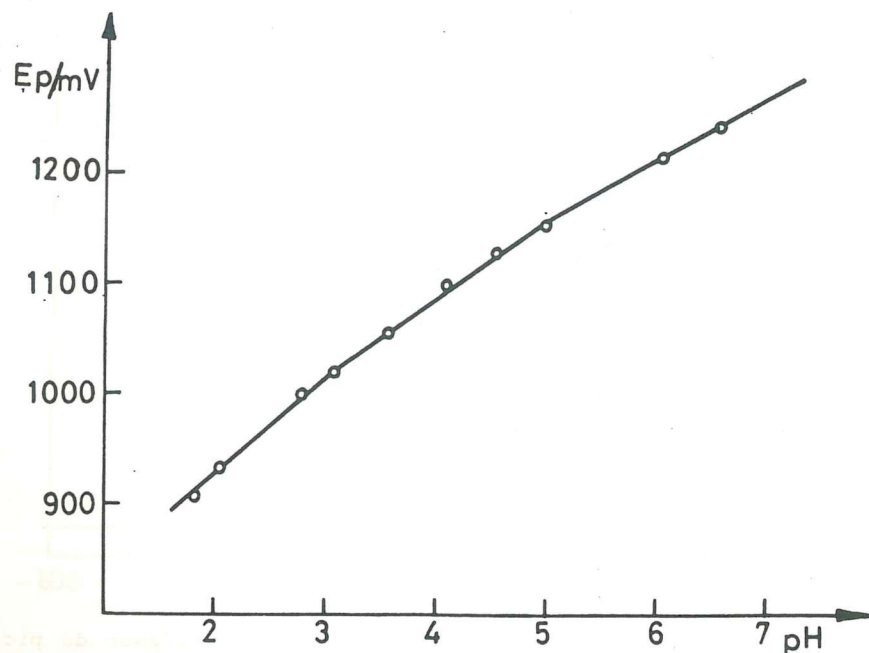


Fig. 4. - Variation de pH vs.  $E_p$ .

L'évolution du diagramme indique que la fixation de deux protons est sous la dépendance du pH et associée à la réduction de la fonction azométhane de l'hétérocycle central.

Cette réduction est cependant influencée par la présence du noyau pipérazine qui, bien qu'étant électroinactif, peut fixer deux protons, ainsi que l'ont établi des travaux antérieurs en milieu aqueux et non-aqueux (18).

L'azote distal de ce noyau pipérazine, dont le  $pK$  est compris entre 7,2 et 7,8 (19), n'influence pas la réduction de la fonction azométhane, mais la protonation de l'azotepipérazine voisin de cette fonction (et donc le  $pK$  est compris entre 2 et 5) (19) perturbe le processus électrochimique. Dans le zone de pH.3 et 5,5 le potentiel se déplace vers les valeurs plus négatives en raison de la déprotonation progressive de cet atome d'azote. Un tel comportement s'observe fréquemment en polarographie organique lors de la réduction irréversible d'une fonction voisine d'un groupement électroinactif protonable et a été discuté en détail par M. Heyrowsky et al. (20-21).

Le comportement polarographique de la Loxapine est très semblable à celui observé lors de l'étude de la clothiapine et de la clozapine (17). Il peut néanmoins être perturbé par les phénomènes d'adsorptions. Les phénomènes de surfaces gênants dans le cas de la Loxapine pouvant être attribués à la formation de structures à hauts poids moléculaires insolubles dû à des réactions de dimérisation et de polymérisation à partir du radical neutre  $N-CH_2$  (22).

BIBLIOGRAPHIE

- 1.- G.J. Patriarche, J.C. Vire, J.M. Kauffmann, J.L. Vadenbalk, M.G. Chateau-Gosselin, "Polarographie", dans "Syllabus d'electrochimie-electroanalyse-applications aux médicaments".
- 2.- J.B. Flato, Anal. Chem. 44 (11) (1972) 75A.
- 3.- G.J. Patriarche, M. Chateau-Gosselin, J.L. Vandenbalck, and P. Zuman. "Polarography and related electroanalytical techniques in pharmacy and pharmacology", in A.J. Bard "Electroanalytical Chemistry". M. Dekker, New York (1979) Vol. 11.
- 4.- L. Meites, "Polarographic techniques", 2 and ed., Interscience, New York (1965).
- 5.- J.C. Vire, Bulletin de Pharmacie (A. Pha. Br.), 3-4 (1977-78).
- 6.- J.C. Vire, J.M. Kauffmann, G.J. Patriarche. Analytical Letters 15 (B 16) (1982) 1331.
- 7.- L. Amankwa, L.G. Chatten, Analyst, 109 (1) (1984) 57.
- 8.- G. Horn, Pharmacie, 39 (1984) 715.

- 9.- O. Vrana, V. Brabec, Stud. Biophys. 114 (1-3) (1986) 209.
- 10.- C. Gooijer, A.C. Veltkamp, R.A. Baumann, N.H. Velthorst. R.W. Frei, J. Chromatogr. 312 (1984) 337.
- 11.- K.C. Marsh, L.A. Sternson, A.J. Repta: J. Anal. chem. 56 (1986) 491.
- 12.- F. Elferink, W.J.F. Van der Vijgh, I. Klein, H.M. Pinedo. Clin. Chem. 32 (1986) 641.
- 13.- F. Elferink, W.J.F. Van der Vijgh. Anal. Chem. 56 (1986) 2293.
- 14.- A. Wolpert, L. Suggerman et colab. J. Clin. Pharmacol, 10 (1975), 175.
- 15.- J. Coupet, C.E. Rauh, European J. Pharmacol. 55 (1979) 215.
- 16.- J.M. Kauffmann, G.J. Patriarche, G.D. Christian, Anal. Letters. 12 (B 11), (1979) 1217.
- 17.- J.M. Kauffmann, G.J. Patriarche. Analytical Letters (1982), 331.



- 18.- J.M. Kauffmann, G.J. Patriarcho. Anal. Letters. 12 (B 11) (1979), 1217.
- 19.- J. Schmutz, Forsch (Drug. Res.), 25 (1975) 712.
- 20.- M. Heyrovsky, S. Vavricka, J. Electroanal. Chem. 36 (1972) 203.
- 21.- M. Heyrovsky, S. Vavricka, J. Electroanal. Chem. 36 (1972) 223.
- 22.- G. Bidan, M. Genies et R. Renaud. Electrochim. Acta 26 (1981) 275.

(Received, 13 February 1989.  
Revised form, 20 Juni 1989)

THE EFFECT OF PULSES AND OTHER EXPERIMENTAL PARAMETERS ON KALOUSEK  
POLAROGRAPHIC WAVES OF CHLORHEXIDINE

M.A. Nuñez-Flores, C. Monleón and F. Vicente\*

Departamento de Química Física. Facultad de Química. Burjassot-  
Valencia (Spain).

*Summary*

*Pulse amplitude, frequency, drop time, concentration, buffer strength, ionic strength, pH and temperature effects on the morphology of chlorhexidine waves have been studied. It has been proved that the irreversibility of the waves decreases the height of polarograms with respect to the theoretical polarograms which should correspond in a reversible process. The cathodic and anodic values of the transfer coefficients are explained by means of an electroodic model in which the protonation steps are alternated with electronic transfer steps in the reduction and reoxidation of four azomethinic groups of the adsorbed protonated chlorhexidine.*

\*) To whom correspondence should be addressed.