

## ANIONS COMPLEXES DU CHROME EN ANALYSE ET LE CONTROLE DES MEDICAMENTS. DETERMINATION DE LA RIFAMPICINE

**Ion Ganescu, George Bratulescu, Bianca Lilea, Anca Ganescu**

*Université de Craiova, Faculté de Chimie, 13 A. I. Cuza, 1100 Craiova, Roumanie*

**Alin Barbu**

*Université de Médecine et Pharmacie de Craiova, Faculté de Pharmacie, 94 Bdl. I. Antonescu, 1100 Craiova, Roumanie*

*Received 01-10-2001*

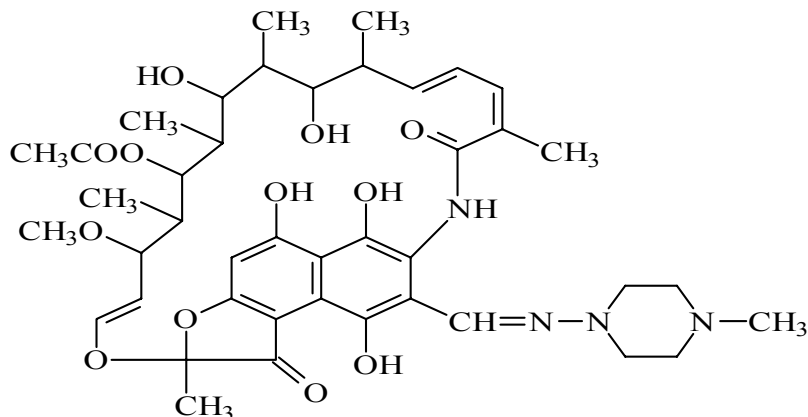
### Abstract

Some new gravimetric, oxidimetric and spectrometric methods for the rifampicine determination as complex salts of the Rifampicine  $H_2[Cr(SCN)_4(pilocorpine)_2]_2$  and Rifampicine  $H_2[Cr(SCN)_4(scopolamine)_2]_2$  have been described. The results were statistically evaluated.

### Introduction

Rifampicine (Rifaldazine, Rifadine, Rimactan, Rifoldine, Sinerdol) constitue l'un des médicaments les plus actives connus ayant une action antituberculeuse et antistaphylocoque. La rifampicine est un antibiotique de semisynthèse avec une structure macrolide. Cette substance présente un point de fusion élevé 183-188 °C, est colorée rouge – orange, sa solubilité dans l'eau à pH=7 est réduite, pourtant la solubilité dans les solvants comme le chloroforme et le méthanol<sup>1</sup> est crûe.

La rifampicine ou 5,6,9,17,19,21-hexahydroxy-23-méthoxy-2,4,12,16,18,20,22-heptaméthyl -8- [N- (4- méthyl-1- pipérazinyl) formimidoyl]-2,7-(époxy-pentadéca [1,11,13]trienimino)-naphto[2,1-b]furan-1,11(2H)-dione-21- acétoxy possède la structure suivante.<sup>2,3</sup>



Pour obtenir la rifampicine<sup>2-3</sup> on commence avec la condensation de la 3- formyl-rifampicine (rifomicine ou AF) avec la 1- amino –4 –méthyl – pipérazine en milieu de tétrahydrofuranne.

Dans la littérature scientifique sont mentionnés des études sur le comportement de la rifampicine vis-à-vis des ions métalliques souvent utilisés en chimie analytique<sup>4</sup> et aussi la détermination iodométrique indirecte de ce médicament.<sup>5</sup>

Dans le dernier temps, à cause du spectre vaste d'action antimicrobienne et les effets adverses que la rifampicine provoque par administration orale, les prescription médicales avec ce médicament sont de plus en plus avec la rifampicine sous forme des dispersions liquides ou des onguent destinés aux applications locales.<sup>6-10</sup>

Nous avons observé que les anions complexes du chrome du type  $[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{amine})_2]^-$  précipitent quantitativement avec la rifampicine en milieu acide. A partir de ces observations nous avons réalisé de nouvelles méthodes de détermination quantitative de la rifampicine.<sup>11-13</sup>

### Partie expérimentale. Résultats et discussion

Les absorbances des solutions ont été mesurées s à l'aide d'un spectromètre Spekol Carl-Zeiss Jena.

Les réactifs employés à la détermination de la rifampicine sont synthétisés par la méthode de Ganescu à partir de  $\text{K}_3[\text{Cr}(\text{SCN})_6]$  anhydre et la base organique respective : aniline, p- toluidine, pyridine, hexaméthylentétraamine, imidazole, pilocarpine, scopolamine etc. Le produit brut est dissout dans le méthanol puis il est ajouté successivement dans une solution saturée de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  lorsqu'il précipite le composé  $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{amine})_2]$  qui est l'analogue du sel de Reinecke  $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{NH}_3)_2]$ .

**Détermination gravimétrique de la rifampicine après la précipitation sous forme de Rifampicine· $\text{H}_2[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{pilocarpine})_2]_2$  (A), respectivement Rifampicine· $\text{H}_2[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{scopolamine})_2]_2$  (B).**

2,4-24 mg de Rifampicine acidulée avec 5 mL de HCl à 1N, on dilue avec 50 mL d'eau distillé et précipite avec les réactifs analytiques complexes du Cr(III) dans une solution hydroalcoolique à 3%. Il résulte des précipités de couleur rouge – violette qu'on filtre à l'aide d'un entonnoir à plaque de verre fritté G<sub>4</sub>, lave avec de l'eau

distillée jusque les précipités demeurent incolores. Les précipités sont séchés dans une étuve à une température de 80-100° C pour éviter la décomposition des complexes. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Détermination gravimétrique de la rifampicine après précipitation sous forme de de Rifampicine·H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(pilocarpine)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (A), respectivement Rifampicine·H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(scopolamine)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (B)

N	Rifampicine [mg] prise	Forme de détermination							
		A				B			
		G [mg] complexe trouvé	Rifampicine trouvé [mg]	Erreur		G [mg] complexe trouvé	Rifampicine trouvé [mg]	Erreur	
[mg]	[%]			[mg]	[%]				
1	2,4	6,53	2,41	+0,01	0,42	7,56	2,38	-0,02	0,83
2	4,8	13,04	4,82	+0,02	0,42	15,19	4,82	+0,02	0,42
3	7,2	19,42	7,18	-0,02	0,28	22,53	7,15	-0,05	0,63
4	9,6	25,89	9,57	-0,03	0,31	30,16	9,57	-0,03	0,31
5	12,0	32,55	12,03	+0,03	0,25	15,19	12,04	+0,04	0,33
6	14,4	38,88	14,37	-0,03	0,21	45,61	14,47	-0,07	0,49
7	18,0	48,81	18,04	+0,04	0,22	56,57	17,95	-0,05	0,28
8	24,0	64,80	23,95	-0,05	0,21	75,86	24,07	+0,07	0,29

$M_A=2226,7$ ;  $f_A=0,3696$

$8=14,41$

$s^2=6,33 \cdot 10^{-4}$

$s=2,52 \cdot 10^{-2}$

$t=0,40$

$t_{n-1,\alpha}=2,37$ ;  $\alpha=95\%$

$8 - ts < A < 8 + ts$

$14,39 < 14,40 < 14,41$

$M_B=2594$ ;  $f_B=0,3173$

$8=18,01$

$s^2=5,78 \cdot 10^{-4}$

$s=2,40 \cdot 10^{-2}$

$t=0,42$

$t_{n-1,\alpha}=2,37$ ;  $\alpha=95\%$

$8 - ts < A < 8 + ts$

$17,99 < 18,00 < 18,01$

**Détermination oxydimétrique de la rifampicine après précipitation sous forme de Rifampicine·H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(pilocarpine)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (A), respectivement Rifampicine·H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(scopolamine)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (B)**

2,4-18 mg de Rifampicine dissoute dans le méthanol est traitée avec du HCl à 20%, ensuite, on ajoute 50 mL de l'eau et précipite avec les réactifs analytiques rappelés auparavant. Les précipités sont lavés 2 à 3 fois avec 10 mL d'eau distillée et filtrés au vide à l'aide d'un entonnoir type Büchner (diamètre de 5 cm). L'ensemble précipité –

papier filtrante est portés dans un bêcher de 500 mL, ensuite lavés l'entonnoir avec 10 mL d'eau distillée et, puis, avec 10 mL de NaOH à 5%.

Le précipité de  $\text{Cr}(\text{OH})_3$  résultant est solubilisé dans l'acide chlorhydrique, de sorte que la concentration du HCl libre dans chaque échantillon soit environ 1,7-2 N. On ajoute 5 mL de  $\text{CCl}_4$  et 10 gouttes de solutions de ICl, puis, le mélange est titré avec une des solutions 0,1 N de  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{KBrO}_3$  ou  $\text{KIO}_3$  sous permanente agitation jusqu'à la décoloration de la couche de  $\text{CCl}_4$ . Les résultats expérimentaux sont portés dans le tableau 2.

**Tableau 2.** Détermination oxydimétrique de la rifampicine sous forme de Rifampicine $\cdot\text{H}_2[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{pilocarpine})_2]_2$  (A), respectivement Rifampicine $\cdot\text{H}_2[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{scopolamine})_2]_2$  (B)

Rifampicine [mg] prise	Nr. dét.	Moyenne dét. 8	s	$t_a$	$t_b$	$t_{n-1,\alpha}, \alpha=95\%$
Détermination permanganométrique						
2,4	10	2,409	$2,33\cdot 10^{-2}$	$26,16\cdot 10^{-4}$	$18,01\cdot 10^{-2}$	2,57
12,0	10	12,009	$2,33\cdot 10^{-2}$	$38,41\cdot 10^{-4}$	$18,59\cdot 10^{-2}$	2,57
Détermination bromatométrique						
7,2	10	7,208	$2,71\cdot 10^{-2}$	$16,83\cdot 10^{-4}$	$18,36\cdot 10^{-2}$	2,57
18,0	10	18,01	$2,40\cdot 10^{-2}$	$31,66\cdot 10^{-4}$	$18,61\cdot 10^{-2}$	
Détermination iodométrique						
4,8	10	4,807	$2,85\cdot 10^{-2}$	$16,00\cdot 10^{-4}$	$17,46\cdot 10^{-2}$	2,57
14,4	10	14,409	$2,52\cdot 10^{-2}$	$25,97\cdot 10^{-4}$	$17,96\cdot 10^{-2}$	2,57

1 mL de solution 0,1 N ( $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{KBrO}_3$ ,  $\text{KIO}_3$ ) est équivalent à 1,714 mg de rifampicine

### Détermination spectrométrique de la rifampicine après précipitation sous forme de Rifampicine $\cdot\text{H}_2[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{pilocarpine})_2]_2$

2,2-30,8 mg de Rifampicine est acidulée avec 1-2 mL de HCl à 1N, ensuite précipitée avec les réactifs cités antérieurement. Il résulte des précipités rouges – violacés qu'on filtre à l'aide d'un entonnoir à plaque de verre fritté G<sub>4</sub>, lave 3 à 4 fois avec 10 mL d'eau distillée, puis on les dissout dans l'acétone et les solutions résultantes sont portées dans des fioles jaugées de 25 mL et complétés avec de l'acétone. On détermine l'absorbance des solutions à 535-540 nm. Les résultats expérimentaux sont indiqués dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Détermination spectrométrique de la rifampicine sous forme de Rifampicine·H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(pilocarpine)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>

Nr.	x[mg]	x <sup>2</sup>	y	y <sup>2</sup>	x·y	x+y	(x+y) <sup>2</sup>
1	2,2	4,84	0,1339	0,0179	0,29458	2,3339	5,4471
2	4,4	19,36	0,2678	0,0717	1,17832	4,6678	21,7884
3	8,8	77,44	0,5357	0,2870	4,71416	9,3357	87,1553
4	13,2	174,24	0,8035	0,6456	10,6062	14,0035	196,0035
5	17,6	309,76	1,0713	1,1477	18,85488	18,6713	348,6174
6	22,0	484,00	1,3391	1,7932	29,4602	23,3391	544,7136
7	26,4	646,96	1,6070	2,5824	42,4248	28,0070	784,3920
8	30,8	948,64	1,8748	3,5149	57,74384	32,6748	1067,6426
Total	125,4	2715,24	7,6331	10,0604	165,27698	133,0331	3055,8544

A partir des données du tableau 3 nous pouvons passer au contrôle des calculs effectués<sup>14-15</sup> :

$$\Sigma(x+y)^2=3055,8544$$

$$\Sigma x^2 + \Sigma y^2 + 2\Sigma xy=3055,85436$$

Nous constatons que les deux valeurs sont très proches ce qui prouve que la méthode proposée par nous est reproductible et précise.

Les déviations standards  $\sigma_x$ ,  $\sigma_y$  et le coefficient de régression  $r$  sont donc les suivants :

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{\Sigma x^2}{n} - \xi^2} = 2,7974 ; \xi = 15,675 ; \bar{y} = 0,9541$$

$$\sigma_y = \sqrt{\frac{\Sigma y^2}{n} - \bar{y}^2} = 0,5893$$

$$r = \frac{[\frac{1}{n} \Sigma xy] - \bar{x}\bar{y}}{\sigma_x \sigma_y} = 1,00001 \cong 1$$

La valeur de  $r \cong 1$  nous prouve que les résultats obtenus à travers cette méthode sont reproductibles et l'erreur est négligeable.

Les équations déduites par régression linéaire qui reproduisent le meilleur la dépendance entre l'absorbance et la concentration du produit dans l'échantillon sont par conséquence les suivantes:

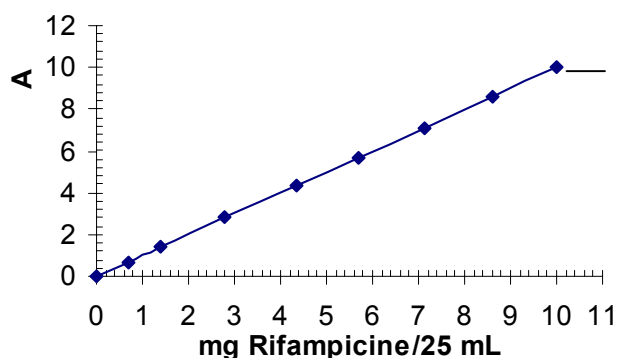
$$1) y - \bar{y} = r \frac{\sigma_y}{\sigma_x} (x - \bar{x})$$

$$y = 0,0613956x - 0,0082760$$

$$2) \quad x - \bar{x} = r \frac{\sigma_x}{\sigma_y} (y - \bar{y})$$

$$x = 16,2878y + 0,13481$$

Le domaine des concentrations dont est valable la loi de Lambert-Beer est aux alentours 0,028-0,400 g/L de rifampicine.. Le coefficient d'absorption molaire est  $\epsilon = 3388,5 \text{ Lcm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  (Fig.1).



**Fig.1.** Détermination spectrophotométrique de la rifampicine sous forme de Rifampicine·H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(pilocarpine)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>

### Conclusions

Nous avons élaboré de nouvelles méthodes gravimétriques, oxydimétriques et spectrophotométriques pour la détermination de la rifampicine après sa précipitation sous forme de Rifampicine·H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(pilocarpine)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> respectivement Rifampicine·H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(scopolamine)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>. L'interprétation statistique des données expérimentales obtenues nous a relevé que les réactifs analytiques complexes du Cr(III) n'apportent pas d'erreurs systématiques et aussi les méthodes créées par nous sont très précises comparativement aux autres méthodes mentionnées dans la Pharmacopée Roumaine ou dans les autres revues de spécialité.

### Références

1. Zotta, V. *Chimie Farmaceutica*, Ed. Medicala, Bucarest, **1985**, pp 201-203.
2. Oniscu, C. *Chimia si tehnologia medicamentelor*, Ed. Tehn., Bucarest, **1988**, pp 162-164.
3. \*\*\**Farmacopeea Româna*, Ed.X, Ed. Medicala, Bucarest, **1993**, 967-970.
4. Paraschiva, B. *Farmacia*, Bucarest, **1972**, 8, pp 499-503.
5. Paraschiva, B. *Farmacia*, Bucarest, **1973**, 2, pp 121-125.

6. Fürst, W. ; Neubert, R. ; Boehm, W., *Pharmazie* **1984**, 39(6), pp 401-407.
7. Neubert, R. ; Fürst, W. ; Bergman, P. *Pharmazie* **1987**, 42(5), pp 309-312.
8. Tanabe, S. *Anal.Sci.*, **1987**, 31, pp 69 ; cf. *Chem.Abstr.* **1987**, 106,79323t.
9. Pignard, P. *Ann.Biol.Chim.* **1962**, 3-4, pp 325-239.
10. Ban, P. et coll. *Farmacia* **1989**, XXXVII (1), pp 53 et pp 61-64.
11. Ganescu, I. ; Varhelyi Cs. *Rev.Roum.Chim.* **1987**, 33, pp 136-141.
12. Ganescu, I. et coll. *Farmacia (Bucharest)*, 2000, pp 71-74.
13. Ganescu, I. et coll. *Rev.Chim.* **2000**, 9, pp 697-602.
14. Batuner, L.; Pozin, M. *Metode matematice in tehnica*, Ed.Acad.,Buc., **1956**, pp 486-488.
15. Steinbach, M. *Prehucrarea statistica in medicina si biologie*, Ed. Acad.Buc., **1961**, pp 233-235.

### Povzetek

Opisane so nove gravimetrične, oksidimetrične in spektrometrične metode za določanje rifampicina v obliki kompleksnih soli: rifampicin $\cdot$ H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(pilocorpin)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> in rifampicine H<sub>2</sub>[Cr(SCN)<sub>4</sub>(skopolamin)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>. Rezultate smo statistično ovrednotili.