

THERMOANALYTISCHE UNTERSUCHUNG ZYKLISCHER ANTIDEPRESSIVA

J. Boldvai, M. Götz und E. Posgay-Kovács

STAATLICHES INSTITUT FÜR PHARMAZIE, 1051 BUDAPEST, UNGARN

(Eingegangen am 20. September, 1982)

Imipramine hydrochloride, Trimipramine maleate, Clomipramine hydrochloride and Amitriptyline hydrochloride were studied comparatively by two thermal methods, with TAS (thermomicro, transfer, separation and charge treatment) and with a derivatograph. The substances decomposed 60–100° below their melting points. The sensitive TAS method was only capable of following the decomposition. During studies with the derivatograph, enthalpy changes could not be detected at temperatures below the melting range of the substances. The compounds are sensitive to oxidizing heat treatment, and the fission products formed are identical with those of thermal decomposition.

Die Kenntnis des thermischen Verhaltens von als Arzneimittel verwendeten organischen Substanzen erscheint sowohl vom unter dem Gesichtspunkt der Analytik als auch unter dem der Arzneimittelstabilität für wichtig. Ziel der vorliegenden Arbeit war die thermische Stabilität von vier Antidepressiva ähnlicher chemischer Struktur mit der von Stahl und Mitarb. [1] 1968 entwickelten TAS-Methode (Thermomikro-, Transfer-, Abtrenn- und Auftrageverfahren) und mittels Derivatographie zu untersuchen. Die untersuchten Verbindungen waren die Dibenzoderivate Imipraminhydrochlorid, Clomipraminhydrochlorid und Trimipraminmaleat sowie das Dibenzocycloheptadienderivat Amitriptilinhydrochlorid.

Zur Ergänzung der mit Dünnschichtchromatographie kombinierten TAS und derivatographischen Untersuchungen wurde auch die thermisch-oxydative Spaltung der Substanzen in wässrigen Lösungen vorgenommen. Ausserdem waren wir bestrebt, Methoden für die Isolation und die UV-spektrophotometrische Bestimmung der Hauptzersetzungsprodukte auszuarbeiten.

Die TAS-Methode wurde bei der Prüfung der Spaltungsvorgänge thermolabiler organischer Verbindungen (Alkaloide mit Esterbindung) in unserer früheren experimentellen Arbeit bereits verwendet [2].

In der Fachliteratur sind mehrere Spaltprodukte von Imipraminhydrochlorid erwähnt, deren Struktur geklärt ist: Desmethylimipramin [3], Didesmethylimipramin und Iminodibenzyl (im weiteren IDB) [4–6]. Die dünnschichtchromatographische Trennung der erwähnten drei Dibenzoderivate wurde schon früher gelöst [7]. Amitriptylinhydrochlorid, eine mit den obigen verwandte Verbindung wird zu Dibenzosuberone oxydiert (im weiteren DBS), dessen chemische Bezeichnung Dibenzo-(a:d)-1,4-zyklo-heptadienon-(5) ist [8]. Die Oxydation erfolgt in alkalischem Medium auch bei Einwirkung von Kaliumpermanganat [9]. Ausser dem DBS entstehen über N-Oxydation auch 2 bis 3 andere Spaltprodukte [10].

Experimenteller Teil

Es wurden folgende Pharmazeutika untersucht:

Imipraminhydrochlorid = 10,11-Dihydro-N,N-dimethyl-5*H*-dibenzo [*b, f*] azepin-5-propanaminium-chlorid;

Clomipraminhydrochlorid = 2-Chlor-10,11-dihydro-N,N-dimethyl-5*H*-dibenz [*b, f*] azepin-5-propanaminium-chlorid;

Trimipraminmaleat = 10,11-Dihydro-N,N-trimethyl-5*H*-dibenz [*b, f*] azepin-5-propanaminium-maleat;

Amitriptylinhydrochlorid = 3-(10,11-Dihydro-5*H*-dibenzo [*a, d*] cycloheptan-5-yliden-N,N-dimethyl-1-propanaminium-chlorid.

Untersuchungsmethoden

Thermoanalytisches TAS-Verfahren

Einwaage von jeder Versuchssubstanz 0.20 g. Die Substanzen wurden im festen Zustand bei stufenweiser Erhöhung der Temperatur bis zum Schmelzbereich untersucht.

Temperaturprogrammierung:

Imipraminhydrochlorid: 80, 110, 130, 150, 170°
(Schmp.: 170–174° [11])

Trimipraminmaleat: 80, 100, 120, 140, 150°
(Schmp.: 140–144° [11])

Clomipraminhydrochlorid: 80, 100, 130, 150, 190°
(Schmp.: 188–196° [11])

Amitriptylinhydrochlorid: 80, 100, 120, 150, 170, 190°
(Schmp.: 195–199° [12])

Die Substanzen wurden 10 Minuten lang den angegebenen Temperaturen ausgesetzt. Während der Aufheizperiode waren die Substanzen im Heizblock untergebracht, so dass der Dampfstrom unmittelbar auf die Schicht gelangte. Der Materialtransport wurde durch Zugabe von Pentan⁻ gefördert, wodurch die erwähnten Spaltprodukte im Laufe der TAS-Untersuchung in der Dünnschicht etwas angereichert nachgewiesen werden konnten.

Derivatographische Untersuchungen

Unsere Versuche wurden mit dem Gerät Typ MOM Q 1500 D in dynamischer Betriebsweise mit einer Aufheizgeschwindigkeit von 2.5°/min durchgeführt. Die Proben wurden in statischer Luftatmosphäre oder in einem geschlossenen, sog. Q-Platintiegel, d. h. also auch im luftarmen System aufgeheizt.

Einwaage: im offenen Tiegel 200–300 mg, im geschlossenen Tiegel 100 mg.

Das Temperaturprogramm wurde bei der Schmelztemperatur der Substanzen beendet. Die im Tiegel zurückgebliebenen Substanzen wurden mit Methanol – das Amitriptylinhydrochlorid mit Chloroform – gelöst und auf 10.0 ml ergänzt. Diese Lösungen wurden dünnschichtchromatographisch untersucht.

Bestimmung des Wassergehalts

Einwaage: 0.6–1.2 g. Die Substanzen wurden in einem Chloroform-Methanol Gemisch (9 + 1 Volumteile) gelöst und mit Karl-Fischer-Lösung bei biamprometrischer Endpunktanzeige titriert.

Bestimmung des Trocknungsverlustes

Der Trocknungsverlust der Substanzen wurde bei 60° und einem Druck von 0.7–1.3 kPa ermittelt.

Dünnschichtchromatographie

I. Laufgemisch: konzentrierte Essigsäure – Äthylacetat – 25%ige Salzsäure – Wasser (35 + 55 + 5 + 5 Volumteile).

I. Entwickler: 0.50 g Kaliumdichromat werden in 100 ml 20%iger Schwefelsäure gelöst.

Auswertung: im Licht von 254 nm Wellenlänge und nach Entwicklung im Tageslicht.

II. Laufgemisch: Benzol – Aceton – konzentriertes Ammoniak (40 + 20 + 5 Volumteile).

Die wässrige Phase wird im Scheidetrichter abgetrennt, die Chromatographie erfolgt mit der organischen Phase.

II. Entwickler: 96 Volumteile konzentrierte Schwefelsäure + 4 Volumteile konzentrierte Formaldehydlösung.

Auswertung: im Licht von 254 nm und nach Entwicklung bei 366 nm; Kammer-sättigungszeit: 120 Minuten; Frontabstand: 150 mm; Schicht: 120 Minuten lang bei 105° aktiviertes Kieselgel GF₂₅₄ und Kieselgel G.

Das chromatographische System I wurde für die Untersuchung von Imipraminhydrochlorid, Trimipraminmaleat und Clomipraminhydrochlorid, das System II für die Untersuchung von Amitriptylinhydrochlorid verwendet.

Thermisch-oxydative Spaltung

Die wässrigen 0.03 M Lösungen der Substanzen wurden mit 0.02 M Hydrogenperoxidlösung (pH = 4.0–5.0) unter Rückflusskühlung 30 Minuten lang gekocht, danach wurden die Siedeverluste ergänzt. Da festgestellt werden konnte, dass die Hauptsplattprodukte (IDB, DBS) in Pentan gut löslich sind, wurde aus den mittels thermischer

Oxydation gespaltenen Gemischen die Extraktion mit Pentan vorgenommen. Die organischen Phasen wurden in jedem Fall mit *N* Salzsäure extrahiert, um auch die geringe Menge der ungespaltenen Ausgangssubstanz zu entfernen. Die in den abgetrennten Phasen befindlichen Metabolite wurden dünnschichtchromatographisch untersucht und die im UV-Gebiet absorbierenden Spaltprodukte auch spektrophotometrisch identifiziert.

Untersuchungsergebnisse

Imipraminhydrochlorid

Im Chromatogramm der TAS-Untersuchung zeigten sich im Laufe der bei 80° beginnenden Temperaturprogrammierung bereits die Flecke der Substanz und der IDB-Verunreinigung, deren Menge bis 170° ständig zunahm. Von 110° beginnend erschienen auch die Flecke unbekannter Spaltprodukte (Abbildung 1, Startpunkt 1–5). Nach der oxydativ-thermischen Spaltung erhält man ein nahezu gleichen Chromatogramm. Das Hauptspaltprodukt, IDB, konnte durch Extraktion mit Pentan aus dem Gemisch isoliert und mittels Dünnschichtchromatographie identifiziert werden. Des weiteren gelang es, das aus der Lösung isolierte IDB Spaltprodukt UV-spektrophotometrisch quantitativ zu bestimmen. Das UV-Spektrum des IDB zeigt bei 284 + 5 nm ein Maximum (Abb. 3).

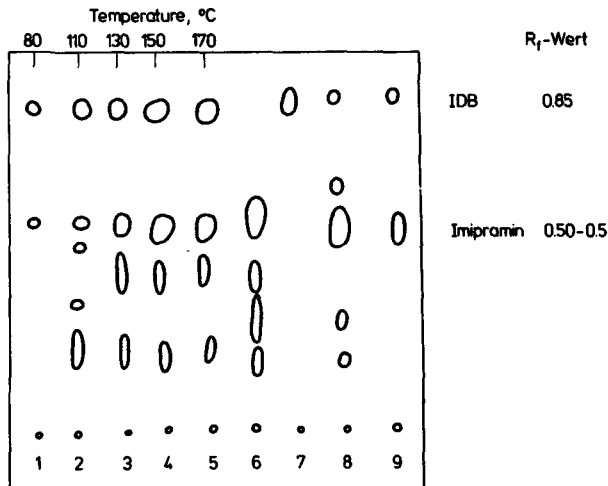


Abb. 1 Chromatogramm von Imipraminhydrochlorid 1–5: nach TAS-Prüfung, 6: nach thermisch-oxydativer Spaltung (in wässriger Phase), 7: nach thermisch-oxydativer Spaltung (in organischer Phase), 8: derivatographischer Rückstand, 9: Testsubstanzen

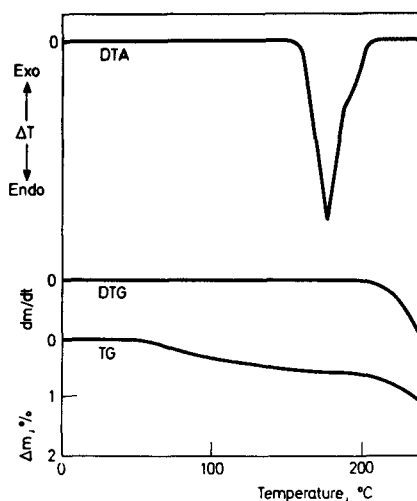


Abb. 2 TG, DTG und DTA Kurven des Imipraminhydrochlorids

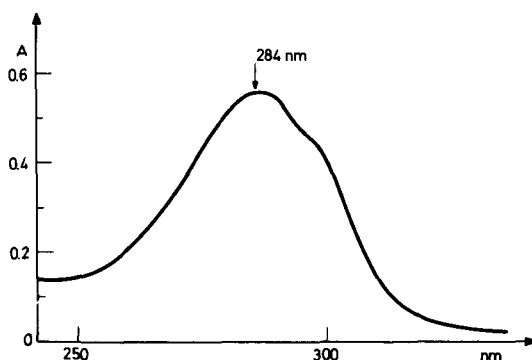


Abb. 3 Absorptionsspektrum von Iminodibenzyl

Im Chromatogramm des derivatographischen Rückstandes ist im UV-Licht über dem Fleck des Wirkstoffes auch der Fleck eines unbekanntes Metabolits sichtbar, der im vorhergehenden Chromatogramm nicht erschienen ist (Abb. 1, Startpunkt 6, 7).

Derivatographisch war bis zum Schmelzbereich der Substanz (170–174°) keine Enthalpieänderung festzustellen. Bei etwa 172° zeigte ein endothermer Peak in der DTA-Kurve den Schmelzpunkt an (Abb. 2). Der sich aus der TG-Kurve bis zum Schmelzbereich ergebende Gewichtsverlust betrug 0.60%; ein messbarer Wassergehalt lag nicht vor.

Trimipraminmaleat

Bei Prüfung des Chromatogrammes der TAS-Untersuchung im UV-Licht sind von 80° bis 150° die Flecke des IDB, der Grundsubstanz und eines unbekanntes Spaltproduktes sichtbar. Von 100° beginnend erscheinen in wachsender Menge neue unbekannte Spaltprodukte (Abb. 4, Startpunkt 1–5). Die Chromatogramme der thermisch-oxydativen Spaltung und des derivatographischen Rückstandes waren nahezu identisch (Abb. 4, Startpunkt 6, 7 und 8). Das IDB wurde, wie beim Imipraminhydrochlorid beschrieben, untersucht und die Ergebnisse quantitativ ausgewertet.

Derivatographisch wurde ein endothermer DTA-Effekt bei etwa 141° beobachtet (Abb. 5). Der sich aus der TG-Kurve ergebende Gewichtsverlust betrug bis zum Schmelzbereich (140–144°) 0.70%, der Wassergehalt 0.20%.

Clomipraminhydrochlorid

Im Chromatogramm der TAS-Untersuchung erschien im UV-Licht bereits bei 80° der Fleck des IDB, gemeinsam mit den Flecken eines unbekanntes Metabolit und der Grundsubstanz. Die Grösse der Flecke nahm mit dem Fortschreiten des Temperaturprogramms allmählich zu. Im Schmelzbereich erhält man ein an Spaltprodukten reiches Chromatogramm (Abb. 6, Startpunkt 1–6). Das Chromatogramm der thermisch-oxydativen Spaltung und des derivatographischen Rückstandes lieferte nahezu übereinstimmende Spaltprodukte (Abb. 6, Startpunkt 7, 8 und 9). Der Hauptmetabolit IDB wurde, wie beim Imipraminhydrochlorid beschrieben, identifiziert, isoliert und UV-spektrophotometrisch quantitativ bestimmt.

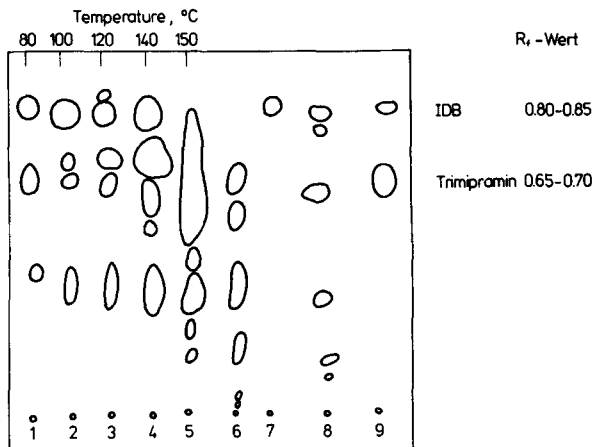


Abb. 4 Chromatogramm des Trimipraminmaleats 1–5: nach TAS-Prüfung, 6: nach thermisch-oxydativer Spaltung (in wässriger Phase), 7: nach thermisch-oxydativer Spaltung (in organischer Phase), 8: derivatographischer Rückstand, 9: Testsubstanzen

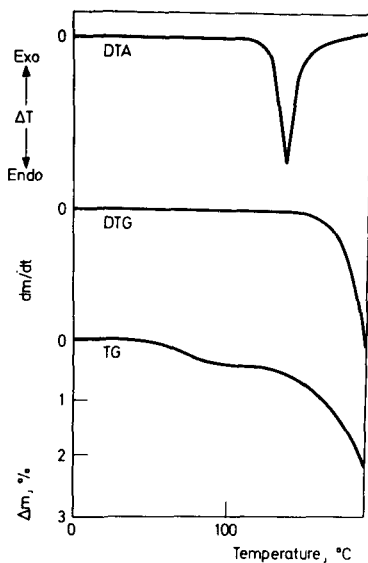


Abb. 5 TG, DTG und DTA Kurven des Trimipraminmaleats

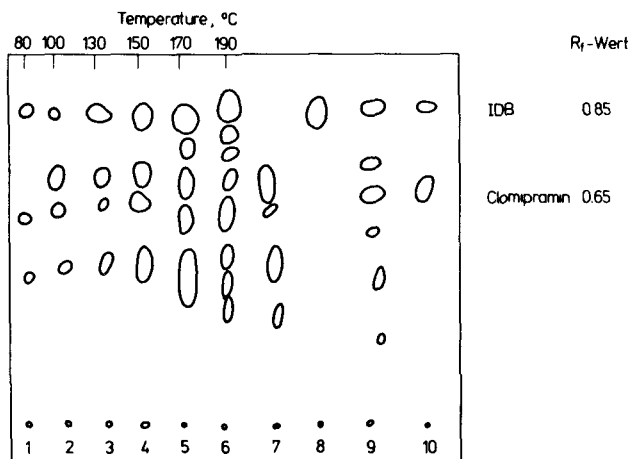


Abb. 6 Chromatogramm des Clomipraminhydrochlorids 1–6: nach TAS-Prüfung, 7: nach thermisch-oxydativer Spaltung (in wässriger Phase), 8: nach thermisch-oxydativer Spaltung (in organischer Phase), 9: derivatographischer Rückstand, 10: Testsubstanzen

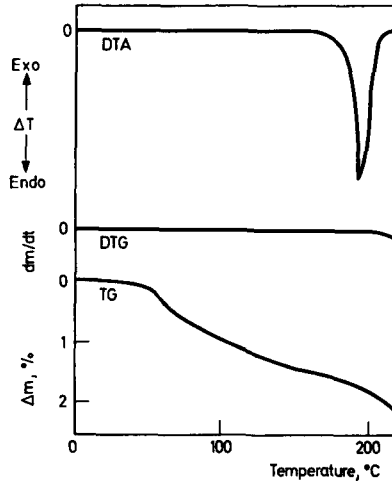


Abb. 7 TG, DTG und DTA Kurven des Clomipraminhydrochlorids

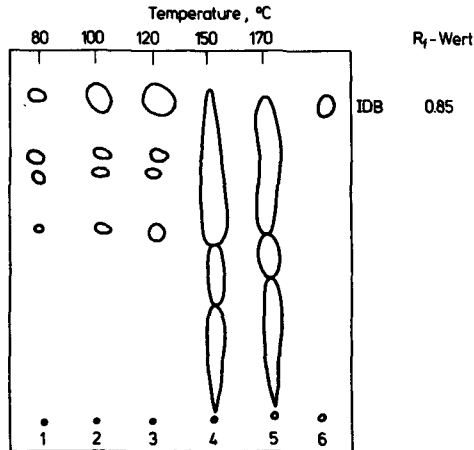


Abb. 8 Chromatogramm des Iminodibenzyls 1–5: nach TAS-Prüfung, 6: Testsubstanz

Im Laufe der derivatographischen Untersuchungen tritt nur im Temperaturbereich des Schmelzpunktes (188–196°) eine Enthalpieänderung auf. Ein endothermer Peak ist in der DTA-Kurve bei etwa 192° zu erkennen (Abb. 7). Der sich aus der TG-Kurve ergebende Gewichtsverlust bis zum Schmelzbereich betrug 1.5%, der gemessene Wassergehalt 0.60%.

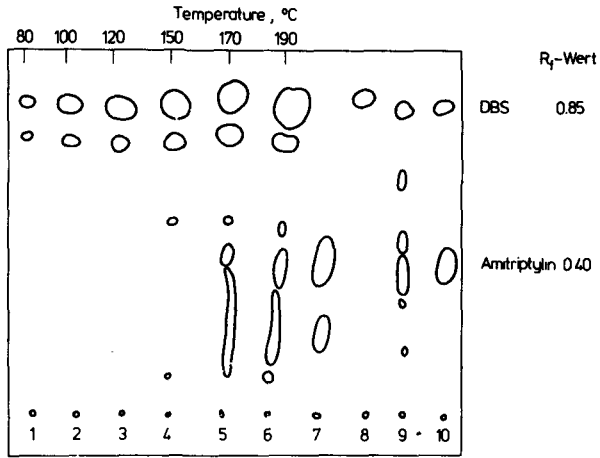


Abb. 9 Chromatogramm von Amitriptylinhydrochlorid 1–6: nach TAS-Prüfung, 7: nach thermisch-oxydativer Spaltung (in wässriger Phase), 8: nach thermisch-oxydativer Spaltung (in organischer Phase), 9: derivatographischer Rückstand, 10: Testsubstanzen

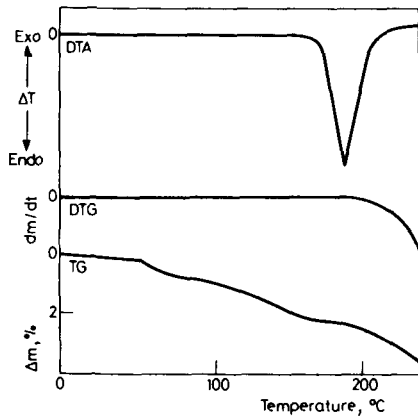


Abb. 10 TG, DTG und DTA Kurven von Amitriptylinhydrochlorid

Iminodibenzyl

Zwecks Beobachtung der weiteren Spaltungsvorgänge wurde eine TAS-Untersuchung auch mit der IDB Testsubstanz vorgenommen. Bereits bei 80° erschienen ausser dem Fleck der Substanz auch die Flecké von drei Spaltprodukten, deren Grösse mit Erhöhung der Temperatur ständig zunahm und die bei 150° ineinander flossen (Abb. 8). Mit diesem Versuch wurde die Thermolabilität des IDB nachgewiesen. Es ist somit anzunehmen, dass im Falle der vorangehend behandelten Substanzen ein Teil der im Laufe der TAS-Untersuchung bei Temperaturerhöhung entstehenden unbekanntenen Flecke thermischen Spaltprodukten des IDB zuzuschreiben sind.

Amitriptylinhydrochlorid

Bereits zu Beginn der TAS-Temperaturprogrammierung (80°) erschien im Chromatogramm zusammen mit einem unbekanntenen Spaltprodukt der Verunreinigungsfleck des DBS, dessen Grösse bis 190° allmählich zunahm. Von 150° beginnend bis zur Beendigung des Temperaturprogramms erschien zusammen mit den Flecken der bereits erwähnten zwei Spaltprodukte ein dritter Fleck einer ebenfalls unbekannter Substanz. Der Fleck der ungespaltenen Grundsubstanz zeigte sich bei 170° (Abb. 9, Startpunkt 1–6).

Für die Abtrennung des nach der oxydativen Wärmespaltung entstehenden DBS-Metabolits hat sich Pentan auch als am besten geeignet erwiesen. Nach der Trennung konnte in der Dünnschicht der Fleck der Grundsubstanz und der eines Spaltproduktes mit niedrigerem R_f -Wert nachgewiesen werden (Abb. 9, Startpunkt 7, 8). Die Zahl der Nebenflecke im Chromatogramm des derivatographischen Rückstandes stimmte mit derjenigen im Chromatogramm des TAS überein (Abb. 9, Startpunkt 9).

In der DTA-Kurve ist ein dem Schmelzvorgang (195–199°) zuzuordnender endothermer Peak bei etwa 195° zu erkennen (Abb. 10). Der Gewichtsverlust bis zum Schmelzbereich ergab sich aus der TG-Kurve zu 1.0%; der gemessene Wassergehalt betrug 0.40%.

Literatur

- | | |
|---|---|
| 1 E. Stahl und J. Fuchs, Dtsch. Apoth.-Ztg., 108 (1968) 1227. | 7 A. Viala und Mitarb., J. Chromatogr., 45 (1969) 94. |
| 2 M. Götz, J. Boldvai und E. Posgay–Kovács, Sci. Pharm., 49 (1981) 408. | 8 O. R. Henwood, Nature, 216 (1967) 1039. |
| 3 A. Danhier, J. Pharm. Belg., 19 (1964) 385. | 9 R. Bouche, J. Pharm. Sci., 61 (1972) 987. |
| 4 J. Marca und H. Mühlemann, Pharm. Acta Helv., 46 (1971) 558. | 10 R. P. Enever und Mitarb., J. Pharm. Sci., 64 (1975) 1497. |
| 5 G. Schneider, J. Chromatogr., 31 (1967), 612. | 11 K. H. Beyer und O. Bredenstein, Dtsch. Apoth.-Ztg., 113 (1973) 1562. |
| 6 G. Schneider, Z. Anal. Chem., 237 (1968) 38. | 12 United States Pharmacopeia, 1980. |

Zusammenfassung – Imipraminhydrochlorid, Trimipraminmaleat, Clomipraminhydrochlorid und Amitriptylinhydrochlorid wurden mit zwei thermischen Methoden – TAS (Thermomikro-, Transfer-, Abtrenn- und Auftrageverfahren) und Derivatographie – vergleichend untersucht. Es konnte festgestellt werden, dass die Substanzen bereits 60–100° unter ihrer Schmelztemperatur gespalten werden. Der Zersetzungsvorgang konnte nur mit der sich als empfindlicher erweisenden TAS-Methode verfolgt werden. Im Laufe der derivatographischen Untersuchung der Substanzen wurde bei Temperaturen unterhalb des Schmelzbereiches keine Enthalpieänderung beobachtet. Es wurde nachgewiesen, dass die Substanzen auch gegenüber oxydativer Wärmebehandlung empfindlich sind, und dass die gebildeten Spaltprodukte mit den thermischen Zersetzungsprodukten identisch sind.

Резюме – Имипрамингидрохлориды, тримипраминмалеаты, кломипрамингидрохлориды и амитриптилингидрохлориды, как антидепрессантные препараты, были изучены двумя сравнительными термическими методами – ТАС (термомикро, перенос, разделение и обработка загрузки) и с помощью дериватографа. Установлено, что эти вещества разлагаются при температурах на 60–100° ниже их точек плавления. Чувствительный ТАС метод позволил проследить только процесс разложения. При исследовании на дериватографе, изменения энтальпии не были обнаружены при температурах ниже области плавления этих веществ. Показано, что вещества чувствительны к окислительной тепловой обработке, а образующиеся при этом продукты расщепления были идентичны с таковыми при термическом разложении.