

## Importance pour l'identification du lorazépam de l'étude thermoanalytique et spectrale de son produit de dégradation la 6-chloro-4-(*O*-chlorophényl)2-formyl quinazoline

J. Kadoura <sup>a</sup>, A. Chauvet <sup>a</sup>, E. Torrelles <sup>b</sup> et J. Masse <sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Laboratoire de Chimie Générale et Minérale, Faculté de Pharmacie, 15, Avenue Charles Flahault, 34060 Montpellier (France)*

<sup>b</sup> *Laboratoire de Chimie Organique, URA 458 E.N.C.M., 8, Rue de l'Ecole Normale, 34053 Montpellier (France)*

(Reçu le 10 juin 1992)

### Résumé

Lorsque la dégradation d'une molécule ne se résume pas à la simple destruction de cette dernière mais à son réarrangement en une autre molécule, les phénomènes intervenant au cours du chauffage sont complexes et si la température de fusion de la molécule est très proche de celle de la dégradation alors l'identification de la molécule initiale peut se faire, dans ce cas particulier à partir de la molécule obtenue au cours de la décomposition.

Au cours de ce travail, outre le fait que nous confirmons l'obtention de la 6-chloro-4-(*O*-chlorophényl)2-formyl quinazoline à partir du lorazépam par les voies chimique et thermique, nous identifions dans chacun des deux cas le produit de dégradation, par des méthodes thermoanalytiques et spectrales (infrarouge, résonance magnétique nucléaire et par spectrométrie de masse et de diffraction de rayons X).

## Spectral and thermoanalytical study of the degradation product (6-chloro-4-(*O*-chlorophenyl)2-formyl quinazoline) of lorazepam, and its importance in the identification of lorazepam

### Abstract

When the degradation of a molecule does not merely amount to its destruction but to its rearrangement to another molecule, the phenomena occurring during the heating are

---

*Correspondant:* J. Masse, Laboratoire de Chimie Générale et Minérale, Faculté de Pharmacie, 15, Avenue Charles Flahault, 34060 Montpellier, France.

complex. If the melting point of the product is very close to that of the degraded substance, the initial molecule can be identified, in this particular case from the molecule obtained during the degradation.

Besides proving that 6-chloro-4-(*O*-chlorophenyl)2-formyl quinazoline is obtained from lorazepam by chemical and thermal routes, we identify in each of the two cases the degradation product by thermoanalytical and spectral studies (infrared, nuclear magnetic resonance, mass spectrometry and X-ray diffraction).

## INTRODUCTION

Nos travaux précédents, relatifs au polymorphisme et au pseudo-polymorphisme de benzodiazépines [1–3], ont montré que la température de fusion constituait dans la plupart des cas un critère d'identité pour ces molécules lorsque ces dernières sont stables dans leur domaine de fusion.

Les 1–4 benzodiazépines parmi lesquels l'oxazépam sont susceptibles de se dégrader: hydrolyse acide, décomposition thermique ou photochimique, comme l'ont montré divers auteurs [4–9]. Cependant le cas du lorazépam n'est pas envisagé.

Il nous a donc paru intéressant d'étudier cette molécule du point de vue de sa dégradation thermique. Le lorazépam ne diffère de l'oxazépam que par la présence d'un atome de chlore supplémentaire en C'2 et son comportement thermogravimétrique est proche de celui de l'oxazépam [5, 6] (Schéma 1).

Des auteurs ont suggéré, lors de l'étude HPLC, le réarrangement, après perte d'eau de la molécule de lorazépam, ce dernier interviendrait dans l'injecteur porté à 250°C et le taux de transformation dépendrait de la nature du solvant dans lequel le lorazépam est dissout [4].

L'étude du comportement thermique, au cours du chauffage a montré que ce principe actif subissait dans un premier stade, une fusion décomposition avec obtention d'une nouvelle molécule, la quinazoline carboxaldéhyde et non une dégradation (charbonnage). Ainsi l'accident endothermique obtenu en analyse calorimétrique différentielle, est

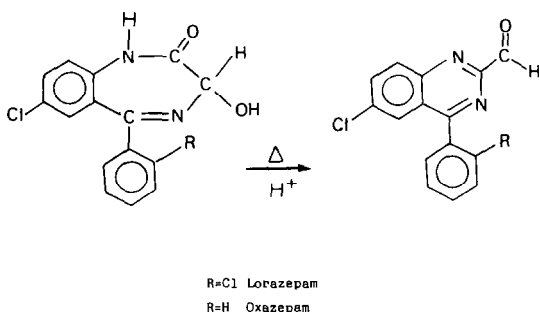


Schéma 1. Représentation de la transformation de benzodiazépines 1–4 en le carboxaldéhyde correspondant.

d'interprétation plus complexe que dans le cas d'une substance stable dans son domaine de fusion.

Dans le présent travail, il nous a semblé opportun, après avoir obtenu par deux méthodes différentes le carboxaldéhyde, de l'étudier par analyse calorimétrique différentielle, thermogravimétrie, et thermomicroscopie. L'identification a été complétée par l'utilisation de méthodes spectrales: diffraction de rayon X, spectroscopie infrarouge et résonance magnétique nucléaire.

## PARTIE EXPERIMENTALE

### *Appareils*

Nous avons utilisé:

(1) l'analyseur thermique différentiel Du Pont de Nemours 990 avec le module 951 pour l'analyse thermogravimétrique (TG); il permet en outre d'obtenir la courbe de thermogravimétrie dérivée (TGD);

(2) l'appareil Mettler FP 800 avec le module pour analyse calorimétrique différentielle FP 51 (ACD), et le programmeur FP5 couplé à l'enregistreur GA 11;

(3) le microscope polarisant Leitz SM POL, la platine chauffante FP 52 et le programmeur FP 5 sous le contrôle d'une vidéo caméra Sony DXC 101P avec le moniteur pour l'étude thermomicroscopique (TM);

(4) le spectrophotomètre infrarouge Perkin-Elmer 983 G (IR) (La position des bandes est donnée en  $\text{cm}^{-1}$ );

(5) l'appareil Varian EM 360 pour les spectres de résonance magnétique nucléaire protonique (RMN  $^1\text{H}$ );

(6) pour la diffraction de rayons X le goniomètre CGR avec monochromateur, le cuivre étant l'anticathode ( $K\alpha = 1,5505 \text{ \AA}$ );

(7) l'appareil de spectrométrie de masse MS LKB 2091 à haute résolution et double foyer à impact électronique IE.

### *Conditions opératoires*

Les courbes TG sont obtenues avec des prises d'essai comprises entre 5 et 10 mg, la vitesse de chauffage étant de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ . Toutes les manipulations sont effectuées sous atmosphère d'azote.

Pour l'ACD, les prises d'essai sont de l'ordre de 3 à 5 mg, la vitesse de chauffage étant de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ . Les manipulations sont réalisées en capsules serties non étanches. Les températures sont déterminées selon les recommandations de l'IUPAC, par mesure de la température au point d'intersection du prolongement de la ligne de base avec la tangente avec la plus grande pente du pic du côté des basses températures.

L'examen par TM est effectué sur l'échantillon avant fusion et au cours des cycles chauffage refroidissement.

Les spectres d'absorption IR ont été réalisés à partir d'une dispersion des échantillons dans le bromure de potassium (KBr).

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  ont été enregistrés à température ambiante en utilisant comme référence interne le tétraméthylsilane (TMS), le solvant étant le chloroforme deutéré ( $\text{CDCl}_3$ ). En général 75 mg de substance sont solubilisés dans 0,5 ml de  $\text{CDCl}_3$ . Les signaux sont désignés selon les conventions internationales par les lettres s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet) et les déplacements chimiques des signaux sont représentés en ppm.

Les diagrammes de diffraction de rayons X ont été réalisés avec une vitesse de  $15^\circ\text{h}^{-1}$ ; le réglage est vérifié au moyen de l'enregistrement des diagrammes fournis par un échantillon référence de gypse. La reproductibilité des mesures est de 2% sur l'ensemble du diffractogramme.

Les spectres de masse ont été obtenus avec l'énergie de 70 eV pour le rayon d'électron ionisé.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### Réactifs

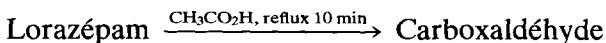
#### *Lorazépam*

Le lorazépam 7-chloro-5(2'-chlorophenyl)-1,3 dihydroxy-2H-1,4-benzodiazepine-2-one  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$ , de poids moléculaire 321,16, se présente sous forme d'une poudre blanche microcristalline, soluble dans les solvants organiques mais pratiquement insoluble dans l'eau. Il est inscrit à la Pharmacopée Britannique.

#### *Carboxaldéhyde*

Le carboxaldéhyde, 6-chloro-4-(O-chloro-phényl)2-formyl quinazoline de poids moléculaire 302,00, soluble dans les solvants organiques est insoluble dans l'eau.

*Par voie chimique.* L'aldéhyde a été préparé en suivant le protocole expérimental, de dégradation acide, établi par Bell et Childress [5].



La substance obtenue a été purifiée, par recristallisation dans l'acétonitrile, le rendement est de l'ordre de 70%. Elle se présente sous forme de poudre légèrement colorée en jaune.

*Par voie thermique.* Deux protocoles de préparation du carboxaldéhyde par voie thermique ont été suivis: d'une part refroidissement par ACD, puis chauffage après maintien à 120°C du lorazépam préalablement fondu; d'autre part et afin de mettre en évidence l'influence de la température sur la dégradation du lorazépam, différentes prises d'essai de ce principe actif ont été maintenues aux températures 130, 140, 150 et 160°C pendant une heure. Ces températures restent inférieures à la température de décomposition du carboxaldéhyde, à 130°C, le lorazépam est stable, alors qu'à 140°C et 150°C il est partiellement dégradé et ceci totalement à 160°C, cependant nous avons travaillé avec l'échantillon obtenu à température intermédiaire  $T = 140^\circ\text{C}$ ; pour lequel une cinétique de formation a indiqué la transformation totale de l'échantillon au bout de 4 h. Afin de suivre quantitativement et qualitativement l'élimination de l'eau, nous avons analysés par RMN  $^1\text{H}$  la quantité de carboxaldéhyde formé dans des prélèvements effectués au cours du temps, 1 h, 3 h, 4 h (Figs. 1 et 2).

Le pourcentage a été calculé en mesurant l'intégration du proton aldéhydique formé, par rapport à la totalité de ceux des noyaux aromatiques. Cela confirme le réarrangement de la molécule avec apparition d'un proton aldéhydique et formation de la carboxaldéhyde.

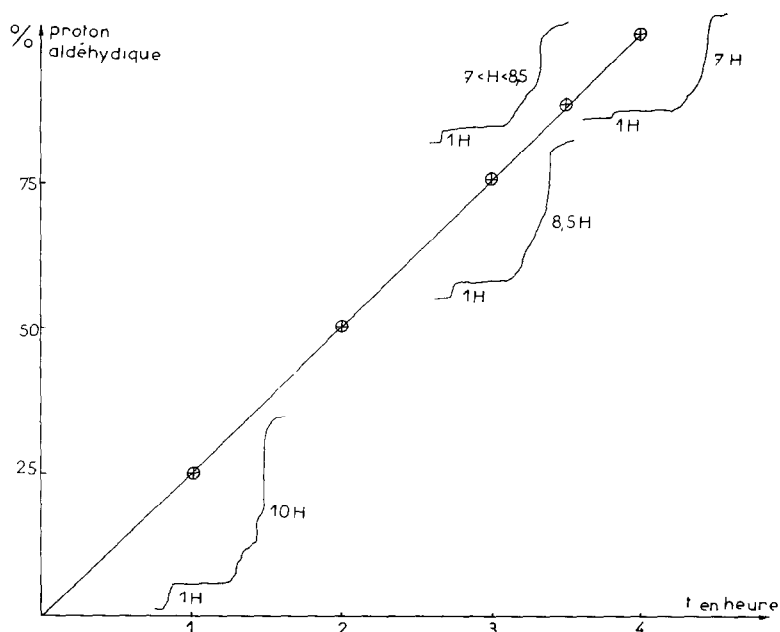


Fig. 1. Cinétique de formation au cours du temps du carboxaldéhyde par rapport du proton aldéhydique mesuré par l'intégration du spectre de RMN  $^1\text{H}$ .

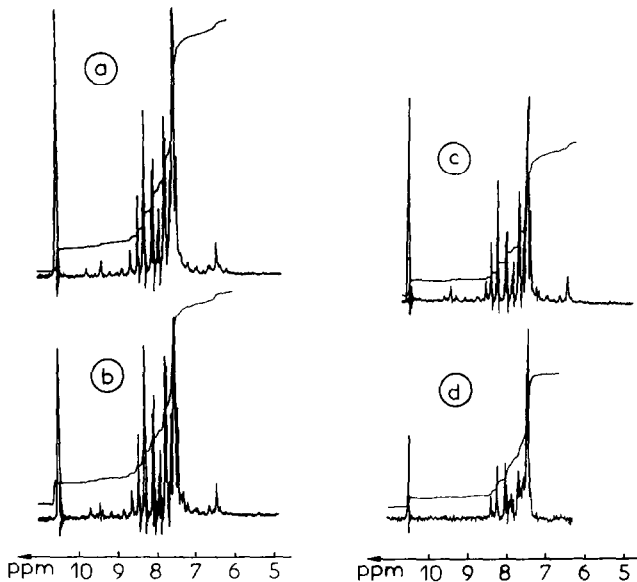


Fig. 2. Spectre de RMN  $^1\text{H}$  effectué à des temps différents du carboxaldéhyde: (a) après 1 h; (b) après 3 h; (c) après 3 h 30 min; (d) après 4 h.

### Identification du carboxaldéhyde

#### Analyse élémentaire

Les résultats de l'analyse élémentaire du carboxaldéhyde sont dans le Tableau 1.

TABLEAU 1

Résultats de l'analyse élémentaire <sup>a</sup> du carboxaldéhyde

	C	H	N	Cl
Calculé (%)	59,65	2,64	9,27	23,50
Trouvé (%)	59,82	2,63	9,26	23,33

<sup>a</sup> Les analyses élémentaires ont été effectuées au Laboratoire de Microanalyse du CNRS à l'ENSCM.

#### Etude thermoanalytique

La courbe d'analyse TG (Fig. 3, courbe a) du lorazépam [1] nous a permis d'évaluer les domaines de température correspondant aux différents stades de décomposition: perte d'eau et décomposition du carboxaldéhyde. Les courbes obtenues pour le carboxaldéhyde préparé par voies chimique et thermique sont représentées (Fig. 3, courbes b et c); les résultats sont indiqués dans le Tableau 2.

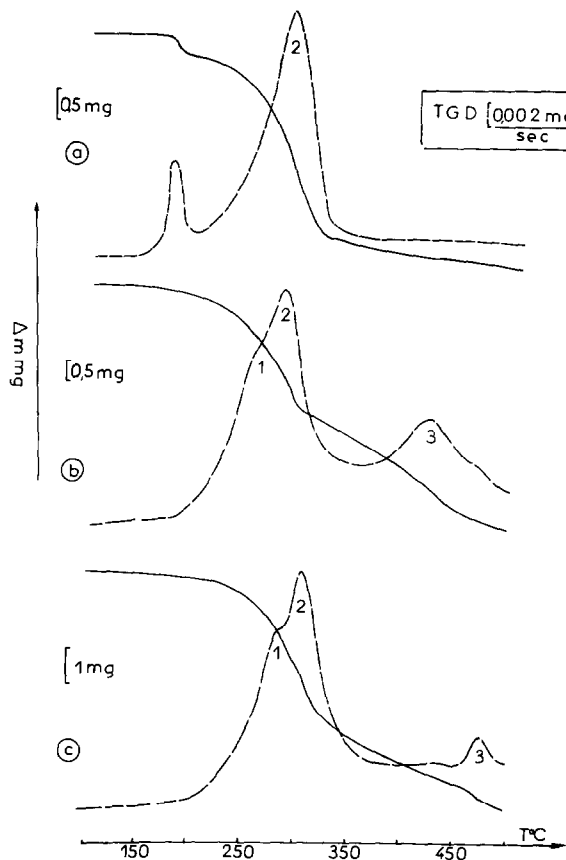


Fig. 3. Courbes TG et TGD: courbe a, lorazépam commercial; courbe b, carboxaldéhyde obtenu par traitement thermique; courbe c, carboxaldéhyde obtenu par voie chimique.

TABLEAU 2

Résultats de l'analyse thermogravimétrique du produit commercial et du carboxaldéhyde obtenu par voie thermique et chimique

Echantillon	Masse (mg)	Décomposition				
		Stade	Température (°C)		Perte de poids (%)	Cinétique (mg min <sup>-1</sup> )
			Début	Fin		
Commercial, lot 3826	7,50	1	180	205	5,60	0,19
	7,50	2	205	320	80,00	1,06
	7,50	3	320	440		0,03
Carboxaldéhyde (étuve)	10,000	1	155	270	33,49	0,31
	10,000	2	270	350	16,18	0,34
	10,000	3	350	494		0,28
Carboxaldéhyde (voie chimique)	8,00	1	150	285	38,79	0,06
	8,00	2	285	406	8,83	0,70
		3	406	494		0,24

Le stade 1 n'est pas visible car il chevauche le stade 2 sur la courbe a. Globalement les courbes b et c sont très proches l'une de l'autre.

Le stade 1 se retrouve dans le cas du carboxaldéhyde obtenu soit par voie thermique, soit par voie chimique, il est cependant mieux marqué dans le cas la courbe c, la synthèse permettant une obtention d'un carboxaldéhyde plus pur.

Parallèlement il est remarquable d'observer que d'une part l'accident 3 est progressivement plus visible sur les courbes, a, c et b, et que 66% du principe actif sont décomposés à 400°C pour le lorazépam contre 39% pour le carboxaldéhyde 3c ce qui peut s'expliquer par l'influence d'un traitement thermique préalable, soit chauffage jusqu'à 260°C, soit séjour à l'étuve, pour l'échantillon de lorazépam.

L'observation thermomicroscopique montre que la substance fondue se solidifie sous forme vitreuse par refroidissement et qu'elle ne donne pas lieu

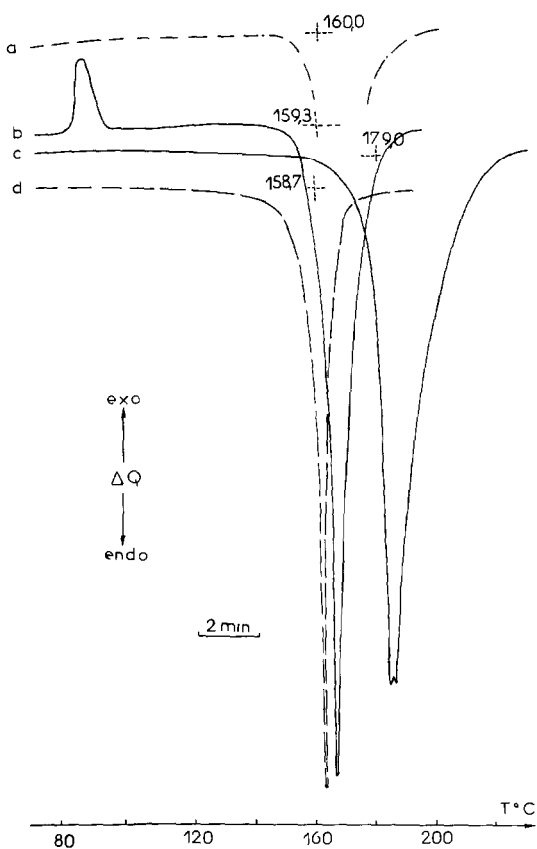


Fig. 4. Courbes ACD: courbe a, carboxaldéhyde par voie chimique; courbe b, carboxaldéhyde après cycle chauffage refroidissement du lorazépam; courbe c, carboxaldéhyde obtenu par voie thermique 1 h; courbe d, carboxaldéhyde obtenu par voie thermique après 3 h.



à une recristallisation au cours de cycles chauffage et refroidissement lents ou rapides.

Toutefois avec des conditions particulières: contact de cristaux de carboxaldéhyde avec le fondu la substance maintenue à 120° (30 min), recristallise, sa fusion intervient à 160°C. L'enthalpie obtenue par ACD, en prélevant le résidu sur la lame est de  $\Delta H = 32,60 \pm 1,35 \text{ kJ mol}^{-1}$ .

Dans le cas du carboxaldéhyde préparé par voie thermique les différences de températures en ACD montrent l'évolution au cours du chauffage, en effet une durée d'une heure est presque sans influence  $T_f = 179,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  et l'allure de la courbe est proche de celle du lorazépam.

Un chauffage de 3 h, s'il modifie considérablement la température de fusion montre la présence de lorazépam,  $T_f = 158,7 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

Enfin après un chauffage prolongé de 4 h, la température est légèrement inférieure à celle du carboxaldéhyde synthétisé, cela pourrait être lié à des traces d'impureté.

La thermomicroscopie nous a toujours montré au cours du chauffage un départ d'eau comme un préalable à la fusion du carboxaldéhyde qui fond au fur et à mesure qu'il se forme.

Les courbes ACD des 3 échantillons correspondant à l'obtention de la quinazoline carboxaldéhyde sont représentées Fig. 4. La température de fusion du carboxaldéhyde obtenu selon la voie chimique et thermique, par ACD sont proches l'une de l'autre, 159,3 et  $160,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  ainsi que les enthalpies  $31,86 \pm 1,45 \text{ kJ mol}^{-1}$  et  $\Delta H = 32,60 \pm 1,35 \text{ kJ mol}^{-1}$ .

### *Etude spectrale*

*Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire.* Les spectres de RMN  $^1\text{H}$  du carboxyaldéhyde (Fig. 2(d)) obtenus révèlent un singulet (s) et un multiplet (m) dont les déplacements chimiques sont respectivement (s: 1H: 10,5 ppm) (m: 7H: 8,7–7,4 ppm).

*Spectrométrie infrarouge.* Le spectre IR du composé (Fig. 5) montre la disparition de bandes caractéristiques du lorazépam dans la région  $3500\text{--}2700 \text{ cm}^{-1}$  et  $1700\text{--}800 \text{ cm}^{-1}$  caractéristiques respectivement des groupements NH et OH d'une part et  $\nu\text{C=O}$  (acétone) d'autre part et l'apparition de bandes nouvelles comme celle du groupement aldéhydique aromatique  $\nu\text{C=O}$  à  $1722 \text{ cm}^{-1}$  ou celles caractéristiques du carboxaldéhyde (3411, 2861, 1772, 1596, 1557, 1531, 1479, 1386,  $1344 \text{ cm}^{-1}$ ).

*Spectrométrie de masse.* Nous avons réalisé les spectres de masse du produit commercial (Fig. 6(a)) et du carboxaldéhyde obtenu par voie chimique le spectre de cette dernière est identique à celui de la voie thermique (Fig. 6(b)).

Les méthodes spectroscopiques permettent l'identification du carboxaldéhyde obtenu soit par voie thermique ou chimique et de préciser ses caractéristiques physicochimiques.

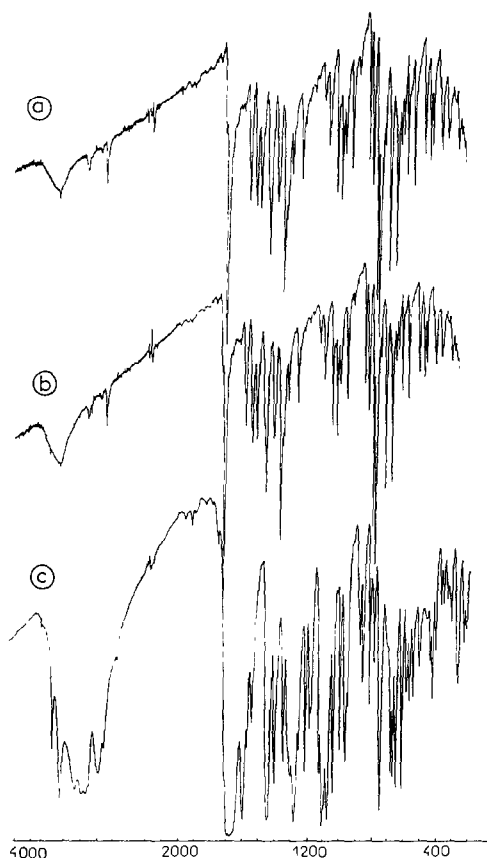


Fig. 5. Spectres IR: (a) carboxaldéhyde obtenu par voie thermique; (b) carboxaldéhyde obtenu par voie chimique; (c) du lorazépam **1**.

Dans le Tableau 3, nous avons indiqué l'abondance relative des différents fragments et leurs espèces correspondantes.

Le pic moléculaire à  $m/z$  302 est le pic de masse qui correspond au fragment le plus stable; le plus abondant  $m/z$  239 (100%) qui est caractéristique de  $(M^+ - COCl)$ .

*Diffraction de rayon X.* Les spectres sont rapportés Fig. 7. Les valeurs des angles de diffraction de rayons X pour le lorazépam ont été rapportées précédemment [1]. Celles obtenues pour le carboxaldéhyde préparé par voies thermique et chimique sont indiquées dans le Tableau 4.

## CONCLUSION

Connaissant le comportement thermique de la carboxaldéhyde quinazoline obtenue par voie chimique et par dégradation thermique nous pouvons mieux appréhender celui du lorazépam.

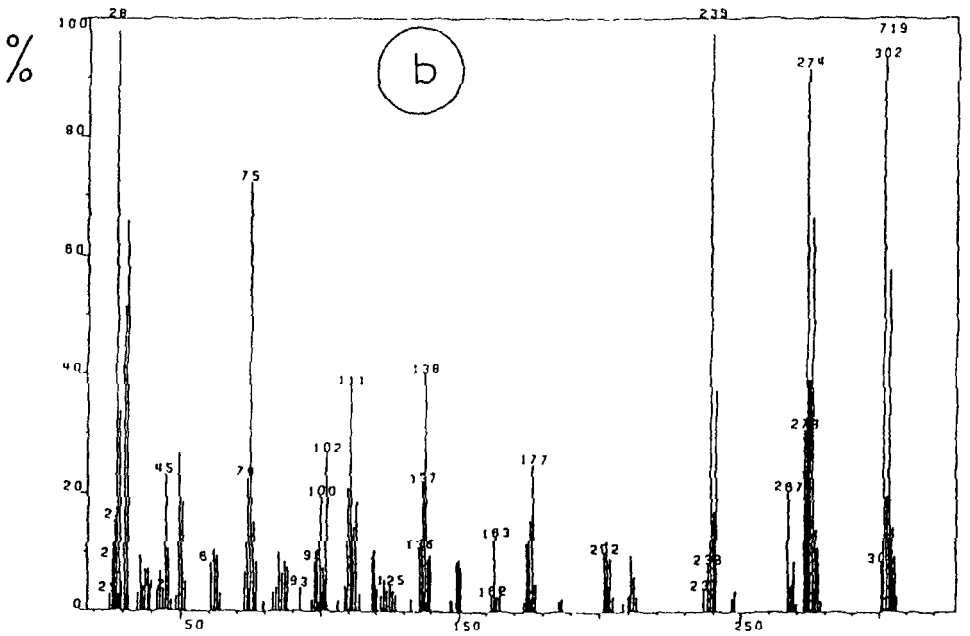
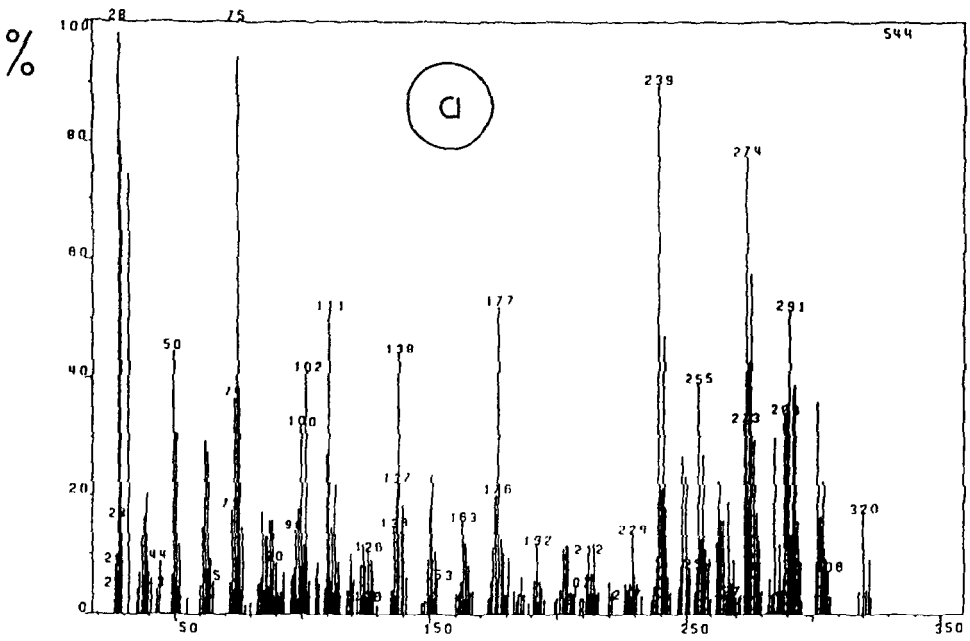


Fig. 6. Spectre de masse: (a) du lorazepam commercial; (b) du carboxaldehyde.

TABLEAU 3

Fragmentation en spectre de masse du carboxaldéhyde

$m/z$ <sup>a</sup>	Espèces	Abondance relative rapport (%)
302	$M^+$	51
304	$M^+ + 2$	17
306	$M^+ + 4$	10
274	$M^+ - CO$	53
239	$M^+ - COCl$	100
162	$M^+ - COCl - C_6H_5$	13
136	$M^+ - COCl - C_6H_5 - CN$	24
110	$M^+ - COCl - C_6H_5 - C_2N_2$	44
75	$M^+ - COCl - C_6H_5 - C_2N_2 - Cl$	88

<sup>a</sup>  $m/z$  rapport de la masse à la charge ( $m$ , masse de l'ion;  $z$ , charge de l'ion).

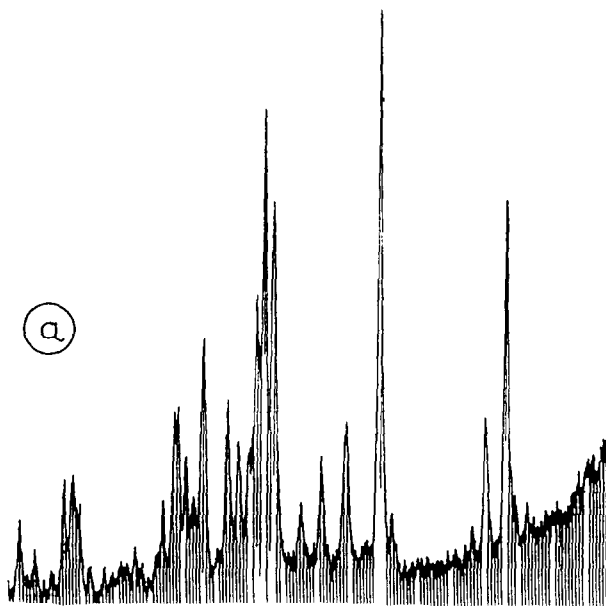


Fig. 7. Spectre de diffraction de rayons X: (a) carboxaldéhyde obtenu par voie thermique; (b) carboxaldéhyde obtenu par voie chimique.

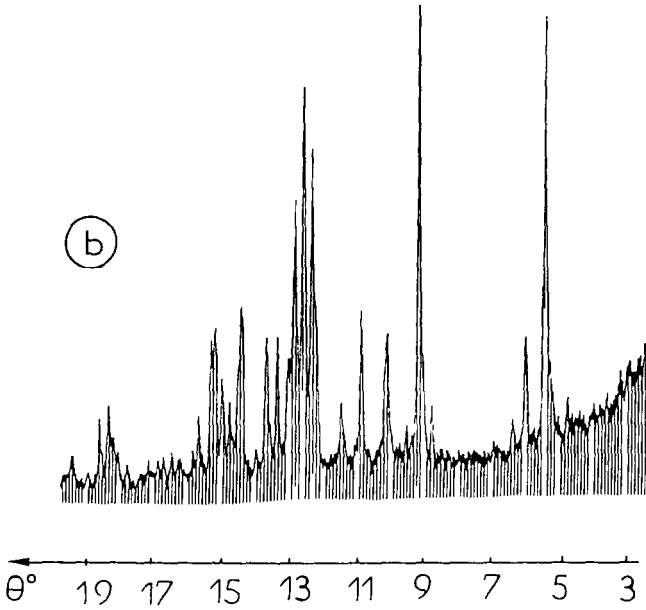


Fig. 7 (continued)

TABLEAU 4

Principaux angles et intensité relatives de diffraction de rayons X du carboxaldéhyde obtenu par voie thermique et chimique

Par voie chimique		Par voie thermique	
Degré $\theta$	$I/I_0$ (%)	Degré $\theta$	$I/I_0$ (%)
5,43	72	5,45	72
6,00	40	6,00	40
9,16	100	9,16	100
10,15	39	10,15	38
10,87	33	10,87	33
12,36	70	12,36	70
12,65	90	12,65	90
12,85	60	12,85	59
13,00	35	13,00	35
13,35	38	13,35	37
13,65	43	13,65	42
14,45	50	14,45	50
14,96	31	14,96	31
15,15	40	15,15	39
15,28	41	15,28	40
18,35	33	15,65	25
		18,35	33
		18,54	17

Le départ d'eau de la molécule de lorazépam se produit à une température supérieure à la température de fusion du carboxaldéhyde, ce dernier est donc à l'état liquide.

En conséquence pour certaines formes cristallines l'accident endothermique correspond essentiellement à la décomposition (perte d'eau) avec formation du produit de dégradation à l'état liquide.

Toutefois la thermogravimétrie et l'analyse calorimétrique différentielle au cours des cycles chauffage refroidissement permettent d'identifier le lorazépam à partir du carboxaldéhyde formé.

En tout état de cause la température de fusion du lorazépam semble difficile à déterminer sauf dans le cas de formes cristallines pour lesquelles elles interviennent avant la décomposition thermique ou avant la température de fusion du carboxaldéhyde.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions le Laboratoire Pharmastra pour la fourniture du lorazépam (lot 3826).

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 J. Kakoura, A. Chauvet, A. Terol et J. Masse, *Thermochim. Acta*, 179 (1991) 61.
- 2 J. Masse, A. Chauvet, G. de Maury et A. Terol, *Thermochim. Acta*, 96 (1985) 189.
- 3 A. Chauvet, J. Kadoura et J. Masse, *J. Therm. Anal.*, 38 (1992) 1593.
- 4 M.V. Stanojic, Z. Biagojevic, V.M. Varagic *Acta. Pharm. Jugosl.*, 28 (1978) 109.
- 5 S.C. Bell et S.J. Childress, *J. Org. Chem.*, 29 (1964) 506.
- 6 G. Kaupp et B. Knichala, *Chem. Ber.*, 118 (1985) 462.
- 7 J.G. Rutgers et C.M. Shearer, in K. Florey (Ed.), *Analytical Profiles of Drugs Substances*, Vol. 9, Academic Press, New York, 1980, p. 397.
- 8 R. Selkamaa, *Acta Pharm. Fenn.* 97 (1988) 37.
- 9 H. Schütz, *Benzodiazepines*, Springer-Verlag, Berlin, 1982.