

COMPORTEMENT ELECTROCHIMIQUE ANODIQUE DE DIVERS NEUROLEPTIQUES EN MILIEU AQUEUX ET NON-AQUEUX

J.-M. KAUFFMANN, G. J. PATRIARCHE*

Université Libre de Bruxelles, Campus Plaine 205/6 Boulevard du Triomphe, B-1050 Bruxelles, Belgium

et

M. GENIÈS

Laboratoires de Chimie-Laboratoire E.O.A., Département de Recherche Fondamentale, C.E.N.G., 85 X,
F. 38041 Grenoble cedex, France

(Reçu le 2 juillet 1981)

Résumé—Les propriétés électrochimiques d'une série de neuroleptiques possédant en commun un hétérocycle central à 7 atomes avec un groupement amidine semi-cyclique, en milieu aqueux et non-aqueux ont été examinées à l'aide de la voltampérométrie sur électrodes à disque de platine poli, de carbone vitreux et de pâte de carbone, de la voltammétrie cyclique, et de la coulométrie à potentiel contrôlé.

Le comportement oxydatif des trois molécules envisagées en milieu neutre aqueux et non-aqueux dénote l'oxydation irréversible du groupement commun pipérazinyl dibasique, l'oxydation conduisant à des composés perturbant l'analyse électrochimique probablement par formation de composés à structure polymérique.

En milieu non-aqueux, l'addition de deux équivalents gramme d'acide perchlorique par molécule provoque la protonation du groupement dibasique. De ce fait, les courbes d'oxydations observées en milieu neutre disparaissent. Seule la clozapine diprotonée reste oxydable, mais à un potentiel plus positif, son comportement étant voisin de celui observé en milieu aqueux acide, l'oxydation se porte alors au niveau du système tricyclique.

Ces résultats sont appuyés par des mesures obtenues en spectrométrie infra-rouge (*ir*), *uv*, visible et spectrométrie de masse.

Abstract—The electrochemical properties of a number of neuroleptics structurally related, with a piperaziny side chain associated to a tricyclic ring system in aqueous and non-aqueous media have been examined by voltammetry at rotating platinum, vitreous carbon and carbon paste disc electrodes, cyclic voltammetry and controlled potential coulometry.

In neutral aqueous and non-aqueous media an irreversible oxidation is observed for the three compounds, probably giving rise to polymeric structures disturbing the electrochemical analysis.

In non-aqueous media, in the presence of two equivalents of perchloric acid per molecule, the piperaziny group is protonated and no oxidation peaks are observed. Only the clozapine molecule biprotonated remains oxidizable but at a more anodic potential, the behavior is then the same as in aqueous acidic media; the oxidation is located on the tricyclic ring. The results observed are confirmed by infra-red (*ir*), *uv* visible, and mass spectrometric techniques.

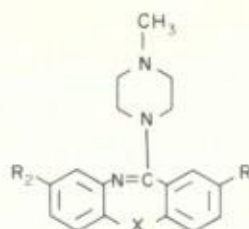
INTRODUCTION

Une étude antérieure consacrée à l'électrochimie d'une série de neuroleptiques tricycliques nous a permis d'établir les conditions opératoires idéales permettant le dosage et l'identification de trois de ces médicaments[1]. Il s'agit de la 8-chloro-11 (4-méthyl-1-pipérazinyl)-5H-dibenzo [b, c]-1,4-diazépine (clozapine); de la 2-chloro-11-(4-méthyl-1-pipérazinyl)-dibenzo [b, f]-1,4-thiazépine (clothiapine), et de la 2-chloro-11-(4-méthyl-1-pipérazinyl)-dibenzo [b, f], -1,4-oxazépine (loxapine). Le succès des oxydations électrochimiques appliquées à l'analyse de ces composés nous a incité à étendre nos travaux et essayer d'interpréter les mécanismes oxydatifs qui peuvent se développer au niveau d'électrodes solides couramment

utilisées. En effet un intérêt considérable réside dans le fait de tenter d'établir des corrélations entre les phénomènes d'oxydation électrochimique et le processus de biotransformation des médicaments. La littérature comporte à ce sujet plusieurs exemples[2-5] qui soulignent à juste titre la contribution des techniques électrochimiques à l'analyse biochimique et biologique. Récemment Patriarche *et al.* ont décrits en détails les travaux concernant l'électrochimie des composés à activité pharmacologique et en particulier les antidépresseurs et tranquillisants[6]. Mis à part les travaux de Volke *et al.*[7] il n'existe pas à notre connaissance de publications relatives à l'oxydation électrochimique de substances neuroleptiques possédant un hétérocycle central à 7 atomes.

Structurellement apparentées aux médicaments tricycliques, les trois molécules étudiées possèdent en commun un hétérocycle central à 7 atomes avec un groupement amidine semi-cyclique (Fig. 1).

* à qui toute correspondance sur le sujet doit être adressée.



	X	R ₁	R ₂
Clozapine	N	H	Cl
Clothiapine	H	Cl	H
Loxapine	O	Cl	H

Fig. 1.

PARTIE EXPERIMENTALE

L'appareillage de même que les réactifs utilisés pour les mesures effectuées en milieu aqueux sont identiques à ceux décrits antérieurement. En ce qui concerne les milieux non-aqueux, toutes les expériences réalisées par voltampérométrie ont été effectuées dans une cellule Tacussel RM 04, protégée de l'atteinte de l'humidité atmosphérique par un courant d'argon "U" après passage de ce gaz dans une série de trois gardes tubulaires contenant respectivement du sicapent, des pastilles de soude et du tamis moléculaire. Ces gardes sont destinées à garder le milieu aussi anhydre que possible. En finale le gaz transite par un saturateur à acétonitrile purifié. Le solvant utilisé est de l'acétonitrile de provenance Touzart et Matignon, préalablement purifié par distillation[8]. L'électrolyte indifférent est du perchlorate de lithium anhydre (G. Frederick Smith Chemical Co.). La solution constituée du solvant et du perchlorate de lithium (0,1 M) est stockée sur tamis moléculaires Linde 4 Å.

L'électrode indicatrice de platine poli est une électrode tournante à disque de marque Tacussel EDI Ø 2 mm. La surface active de l'électrode est régénérée après chaque tracé par polissage sur papier métallographique (Carbinet 600 Buehler Ltd, Evanston, Illinois, U.S.A.).

L'électrode de référence Ag/Ag^+ 10^{-2} M et l'électrode auxiliaire de platine sont isolés de la solution d'électrolyse par deux disques de verre fritté. Le montage électronique comporte de plus, deux unités PAR 175 et 176 associées à un enregistreur XY Sefram T.G.M. 164. Les électrolyses ont été réalisées sur une électrode de platine de grande surface (surface = 6 cm^2) dont le potentiel est fixé à la valeur désirée à l'aide d'un potentiostat Tacussel ASA 100 associé à un intégrateur Tacussel type LG.5.

Les spectres *uv* et visible ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre Beckman DB-T. Les spectres *ir* ont été déterminés au moyen d'un spectrophotomètre Infrarouge Beckman type 4240. Les spectres de masse ont été obtenus sur un spectromètre AEI-MS50.

Obtention des perchlorates des cations phosphoniums

Les électrolyses sont réalisées dans l'acétonitrile en milieu neutre non tamponné renfermant le perchlorate de lithium. L'oxydation des trois molécules (100 mg) s'effectue en présence d'un excès de triphénylphosphane ($\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$) (300 mg) à un potentiel correspondant au deuxième pic d'oxydation. La solution après ce stade d'électrolyse est concentrée à petit volume à l'aide d'un évaporateur rotatif. Elle est ensuite traitée par de l'eau bidistillée qui solubilise le perchlorate de lithium,

puis par l'éther qui lui agit dans le même sens sur le triphénylphosphane. Le résidu insoluble dans l'éther et l'eau est lavé abondamment à l'eau puis à l'éther, séché puis caractérisé par spectroscopie *ir* et spectrométrie de masse.

L'oxydation de la clozapine fournit dans ces conditions un produit d'addition avec un rendement chimique voisin de 100% calculé sur base de la quantité de produit de départ et avec une efficacité de rendement en courant également voisin de 100%. En ce qui concerne les deux autres molécules, les rendements observés sont par défauts, respectivement de 80% et de 85%. Ceux-ci s'expliquent par un recouvrement de la surface de l'électrode, phénomènes de perturbations également observés lors des enregistrements voltampérométriques sur l'électrode de platine tournante (Fig. 5).

Dans les trois cas, les sels obtenus comportent en spectroscopie *ir*, les deux bandes dues à l'ion perchlorate (1100 cm^{-1} et 600 cm^{-1}) et les pics caractéristiques des cations phosphoniums[13]. Leurs spectres de masse enregistrés après pyrolyse à 200°C comportent les ions caractéristiques de la partie phosphorée de la molécule: $\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$, $\text{OP}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$, $\text{CH}_3\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ et les fragments de la partie aromatique;

—clozapine: *m/e* 326, 269, 213, 199

—clothiapine: *m/e* 343

—loxapine: *m/e* 327, 270, 199.

L'hydrolyse alcaline des trois produits d'addition en présence de carbonate de sodium libère la molécule de départ ainsi que l'oxyde de triphénylphosphine identifiées par chromatographie sur couche mince.

RESULTATS DE L'ETUDE EN MILIEU AQUEUX

Lors de travaux antérieurs en milieu aqueux, nous avons pu constater que le processus électrochimique de réduction à l'électrode à goutte de mercure correspondait au transfert de deux électrons et de deux protons au niveau du site azoméline ($\text{C}=\text{N}-$) commun aux trois molécules et ce à tous les pH envisagés. Il était également possible d'en réaliser la séparation et le dosage par polarographie impulsionnelle différentielle[9].

En ce qui concerne les phénomènes oxydatifs observés sur les électrodes solides, ceux-ci se sont révélés plus complexes selon le pH du milieu réactionnel[1]. La clozapine, aisément oxydable en solution aqueuse présente un comportement réversible en milieu acide. Il faut toutefois noter qu'une augmentation de pH de

la solution entraîne l'apparition progressive d'un caractère irréversible.

La voltammétrie cyclique ainsi que l'évolution des potentiels d'oxydation en fonction du pH indiquent que dans le cas de la clozapine, il se produit un changement de mécanisme réactionnel à partir de pH 5 (Fig. 2).

L'oxydation de la clothiapine et de la loxapine est difficilement réalisable en solution aqueuse, les mesures effectuées sur platine dénotent uniquement un léger épaulement situé à des potentiels proches de l'oxydation du solvant.

L'utilisation des électrodes de carbone vitreux et de pâte de carbone permet cependant l'étude de l'oxydation de ces deux molécules, grâce à leurs domaines d'exploration de potentiels plus étendus. Ces deux dérivés se caractérisent par la présence d'un pic d'oxydation irréversible en voltammétrie cyclique, ainsi que par un profil potentiel-pH similaire (Fig. 3).

L'analyse de l'allure des tracés obtenus en milieux aqueux nous a permis d'accumuler un certain nombre de données relatives à la nature des processus intervenant à l'électrode. L'interprétation de ces derniers intervenant au sein du milieu réactionnel nécessite une électrolyse préparative sur électrode de grande surface. En ce qui concerne la clothiapine et la loxapine, une électrolyse à potentiel contrôlé est inopérante sur platine, par suite de l'oxydation du solvant. La clozapine par contre fournit un bilan global correspondant au passage de deux Faradays mol^{-1} aux différents pH envisagés. Dans ce cas précis, l'établissement d'un mécanisme s'avère complexe, la réaction électrochimique proprement dite s'accompagne de diverses réactions chimiques secondaires dont la nature est liée au pH du milieu réactionnel [1].

L'utilisation de solvants anhydres, inertes dans un large domaine d'électroactivité nous a permis d'élargir

les données relatives aux comportements oxydatifs de ces composés pharmacologiquement actifs.

RESULTATS DE L'ETUDE EN MILIEU ORGANIQUE

Comportement sur l'électrode tournante

Clozapine. La clozapine dans l'acétonitrile neutre non tamponné renfermant le perchlorate de lithium 0,1 M présente sur l'électrode tournante de platine une courbe voltampérométrique comportant deux vagues successives dont les potentiels de demi-palier se déplacent légèrement vers des valeurs positives lorsque la vitesse de rotation de l'électrode augmente. Au niveau des courants limites, toutes deux correspondent à un phénomène oxydatif contrôlé par la diffusion, selon les critères établis par Levich [10], dans l'intervalle des vitesses de rotation ($500\text{--}3,500 \text{ t min}^{-1}$). Le rapport des courants limites (deuxième vague/première vague) est voisin de 2 et indépendant de la vitesse de rotation. La transformée logarithmique des deux vagues montre une réaction électrochimique globale plus rapide pour la seconde vague que pour la première, les pentes des deux droites sont respectivement de 88 mV et du 52 mV par unité logarithmique.

L'évolution des courbes voltampérométriques au cours d'une électrolyse effectuée sur la première vague puis sur la seconde (Fig. 4) confirme l'apparition de systèmes redox à processus lents. De plus, la comparaison des courants des paliers d'oxydation et de réduction au début et à la fin de l'électrolyse montre que les espèces obtenues en solution sont instables, une étude spectroélectrochimique s'avère nécessaire et sera réalisée ultérieurement. Une coulométrie réalisée à un

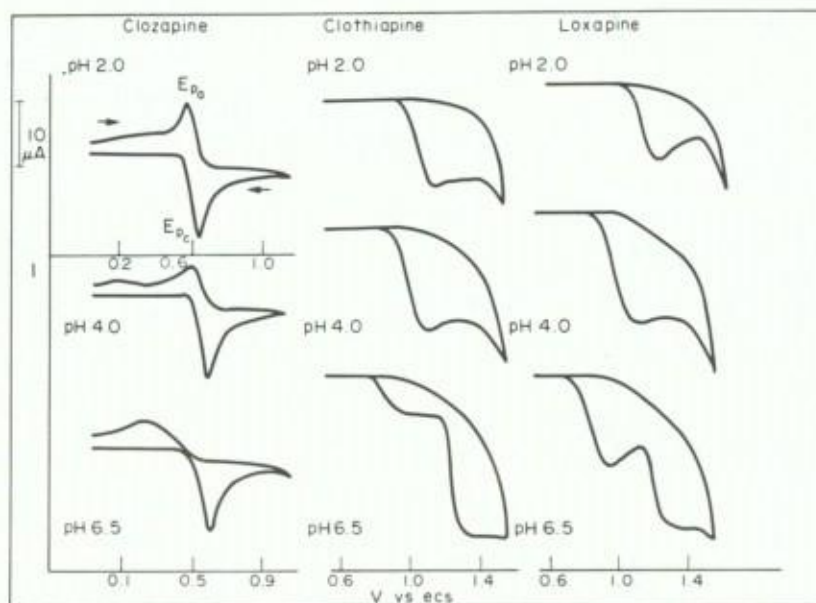


Fig. 2. Voltammétrie cyclique des différents composés en milieu aqueux à une concentration 5.10^{-4} M , électrode de travail: pâte de carbone, tampon phosphate, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

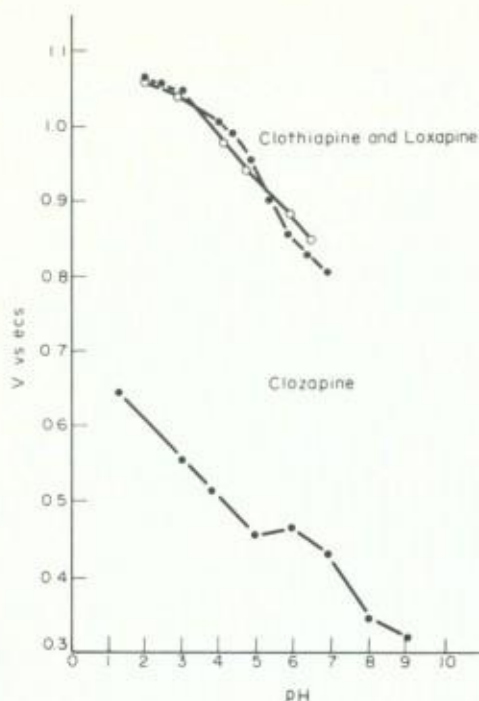


Fig. 3. Evolution des potentiels d'oxydations en milieu aqueux en fonction du pH; potentiels $E_{p,1}$ sur l'électrode de carbone vitreux stationnaire, électrode de référence au calomel saturé, tampon phosphate, vitesse d'enregistrement: $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$.

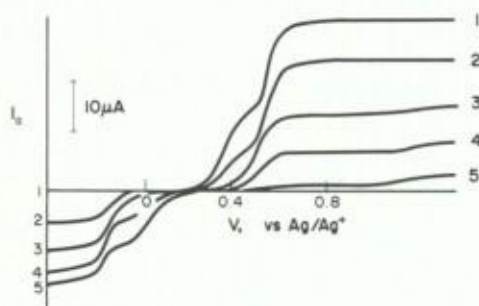


Fig. 4. Déformation de la courbe intensité-potential tracée à l'électrode tournante à disque de platine (1000 t min^{-1}) d'une solution de clozapine 10^{-3} M dans l'acétonitrile au cours d'une oxydation à $+0,8 \text{ V vs Ag/Ag}^+$ courbe 1; clozapine 10^{-3} M , courbe 2; après passage de 0,5 Faraday par mole, courbe 3; après passage de 1 Faraday par mole, courbe 4; après passage de 1,5 Faradays par mole, courbe 5; après passage de 2 Faradays par mole.

potentiel situé sur le palier de diffusion de la deuxième vague ($+0,7 \text{ V vs Ag/Ag}^+$) montre le passage de deux Faradays par mole de clozapine.

Clothiapine et loxapine. Les deux molécules fournissent sur électrodes tournantes des courbes intensité-potential inutilisables aux faibles vitesses d'enregistrement utilisées (5 mV s^{-1}) (Fig. 5). On dénote une chute brutale du courant d'oxydation en cours d'enregistrement. De tels phénomènes résultent d'un recouvrement de l'électrode par les produits

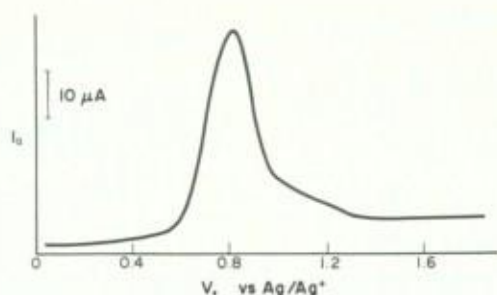


Fig. 5. Courbe voltampérométrique sur l'électrode tournante de platine (3.500 t min^{-1}) pour une solution de clothiapine 10^{-3} M dans l'acétonitrile; $v = 4 \text{ mV s}^{-1}$.

d'oxydations qui inhibe le transfert électronique. Ce phénomène d'interface explique les valeurs par défauts obtenues lors des mesures coulométriques effectuées à l'anode de platine (le nombre d'électrons trouvés varie entre 1 et 2).

Voltammétrie cyclique des dérivés étudiés

Comportement en milieu neutre non tamponné. Les trois molécules fournissent sur électrode stationnaire de platine deux pics d'oxydations auxquels correspondent deux pics de réductions caractéristiques de systèmes oxydoréducteurs lents. La courbe représentant la variation de l'intensité du premier pic d'oxydation en fonction des vitesses de balayage comprises entre $0,01 \text{ V s}^{-1}$ et 1 V s^{-1} ($ip/V^{1/2}$ en fonction $V^{1/2}$) est linéaire et indépendante de la vitesse de balayage, caractéristique d'un processus contrôlé par la diffusion de l'espèce électroactive. Par contre le deuxième pic voit son intensité diminuer par rapport au premier lorsque l'on augmente la vitesse de balayage. Le graphique de $ip/V^{1/2}$ en fonction de $V^{1/2}$ indique en effet une diminution linéaire lorsque V augmente.

Effet de l'addition d'acide perchlorique. Un dosage coulométrique préalable nous a permis de constater que chaque molécule fixe exactement deux protons, et ce vraisemblablement au niveau du groupement pipérazinyl dibasique [11]. La Fig. 6 illustre les enregistrements obtenus en voltammétrie cyclique et permet de

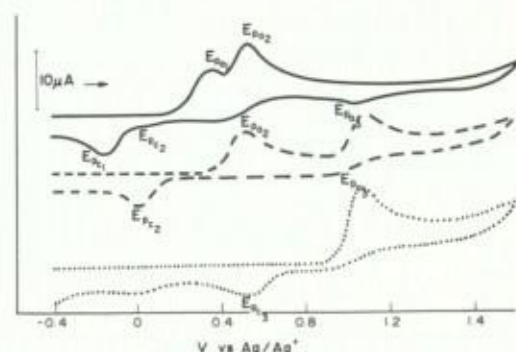


Fig. 6. Voltammétrie cyclique à l'électrode à disque de platine poli pour une solution 10^{-3} M en clozapine. —: Acétonitrile + LiClO_4 $0,1 \text{ M}$, milieu neutre non tamponné. - - - -: Acétonitrile + LiClO_4 $0,1 \text{ M}$, en présence d'un équivalent de HClO_4: Acétonitrile + LiClO_4 $0,1 \text{ M}$, en présence de deux équivalents de HClO_4 .

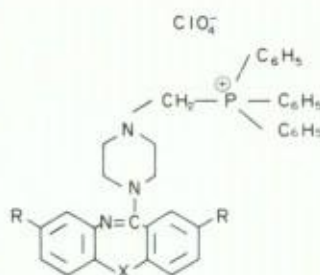
démontrer la variation de comportement des trois composés lors de l'addition d'acide perchlorique.

Pour la clothiapine et la loxapine, l'addition d'un équivalent gramme d'acide perchlorique par molécule de constituant provoque la disparition du premier pic d'oxydation E_{pa_1} et du pic de réduction E_{pc_1} . En présence de deux équivalents gramme d'acide perchlorique le deuxième pic d'oxydation disparaît ainsi que le pic de réduction correspondant (E_{pc_2}). Cela s'explique parce que la forme diprotonée de la clothiapine et de la loxapine sont électroinactives.

Pour ce qui concerne la clozapine, l'addition de deux équivalents d'acide perchlorique provoque également la disparition des deux pics d'oxydation et des pics de réduction correspondants. La molécule reste cependant électroactive, mais à un potentiel plus positif, un pic d'oxydation supplémentaire E_{pa_3} apparaissant à $+1,095 \text{ V vs Ag/Ag}^+$ son pic de réduction se situe à $+0,550 \text{ V vs Ag/Ag}^+$ (E_{pc_3}).

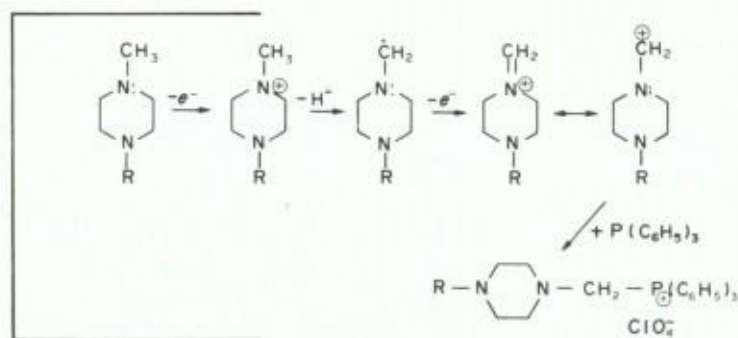
Action des bases. L'addition progressive de collidine-2, 4, 6 considérée comme une base relativement forte et non nucléophile dans l'acétonitrile[12] provoque une déformation caractéristique des courbes $I-E$ qui ne présentent plus qu'une seule vague. Pour une concentration suffisante en collidine-2, 4, 6, l'oxydation des trois molécules s'effectue directement par perte de deux électrons.

dérivés d'additions stables et facilement identifiables[13] avec les intermédiaires électrophiles cationiques issus des oxydations électrochimiques. Dans les trois cas, l'électrolyse conduit aux sels dont la formule est reprise ci-dessous:



Il est donc possible de conclure que les trois molécules subissent en milieu non-aqueux non tamponné une oxydation électrochimique conduisant à un cation iminium au niveau du groupement pipérazinyl dibasique.

Le schéma décrit ci-dessous correspond à l'oxydation des amines tertiaires[14] en cation iminium qui est piégé par le triphénylphosphane



Electrolyses en présence d'un agent nucléophile. Afin de localiser avec certitude le groupement de la molécule sur lequel s'effectue le premier transfert électronique, nous avons réalisé l'électrolyse des trois molécules envisagées en milieu neutre non tamponné en présence d'un composé à caractère nucléophile. Notre choix s'est porté sur le triphénylphosphane qui est connu comme étant un agent nucléophile qui permet souvent d'obtenir des

DISCUSSION

En possession des différents résultats expérimentaux observés en milieu non-aqueux et aqueux, nous pouvons dès lors établir un mécanisme oxydatif commun aux trois molécules.

Dans l'acétonitrile neutre non tamponné, le premier pic observé résulte de l'oxydation de la forme basique neutre de la molécule en cation iminium.

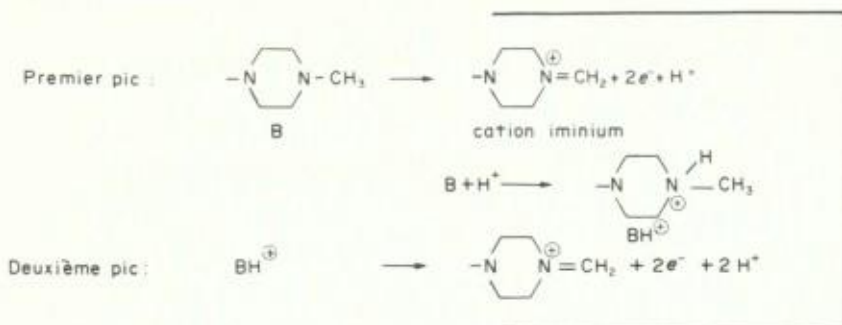
Tableau 1. Potentiels des pics anodiques et cathodiques observés par voltammétrie cyclique à l'électrode à disque de platine poli. Solution 10^{-3} M des trois molécules dans l'acétonitrile neutre non tamponné, électrode de référence: Ag/Ag^+

	E_{pa_1}	E_{pa_2}	$E_{pa_3}^*$	E_{pc_1}	E_{pc_2}	$E_{pc_3}^*$
Clozapine	+0,350	+0,520	+1,095	-0,150	+0,025	0,550
Clothiapine	+0,680	+0,990	—	+0,050	+0,200	—
Loxapine	+0,675	+0,995	—	+0,050	+0,200	—

* En présence de deux équivalents de HClO_4

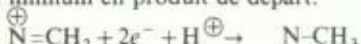
Le second correspond à l'oxydation de la forme monoprotonée BH^+ qui s'est formée en raison de la libération du proton qui accompagne le premier pic.

aromatiques tel que la diphenylamine[16] et des dérivés à structure carbazole[17, 18]. L'oxydation électrochimique conduit au radical cation $BH^{\cdot+}$



La forme biprotonée BH_2^{2+} de la clothiapine et de la loxapine n'étant plus oxydable.

Le pic de réduction E_{pc1} correspond à la réduction du cation iminium en produit de départ:



Le pic de réduction E_{pc2} correspond à la réduction de l'amine protonée:



Dans le cas de la clozapine, le troisième pic d'oxydation E_{pa3} correspond à l'oxydation de la forme diprotonée de la clozapine, l'oxydation se portant sur le système tricyclique, le comportement électrochimique est alors voisin de celui des amines

(Fig. 7) qui se dimérise en position para de l'azote avec libération de deux protons[19]. Le dimère obtenu qui se trouve être plus facilement oxydable que le molécule de départ est oxydé en forme diquinonique colorée en rouge-orange (λ_{max} 465, 365, 305 nm) après l'échange de deux électrons. Cette forme diquinonique est responsable du pic de réduction E_{pc3} .

Par ailleurs si l'on traite ce dernier produit par une base insoluble (Na_2CO_3) qui relibère le reste électroactif pipérazinyl, on assiste à une décoloration qui correspond à une réaction d'oxydo-réduction interne donnant naissance au dimère mono ou di-iminium. Ces derniers cations di-iminium pouvant également être piégé par le triphénylphosphane.

L'apparition d'un nouveau couple redox lorsque le

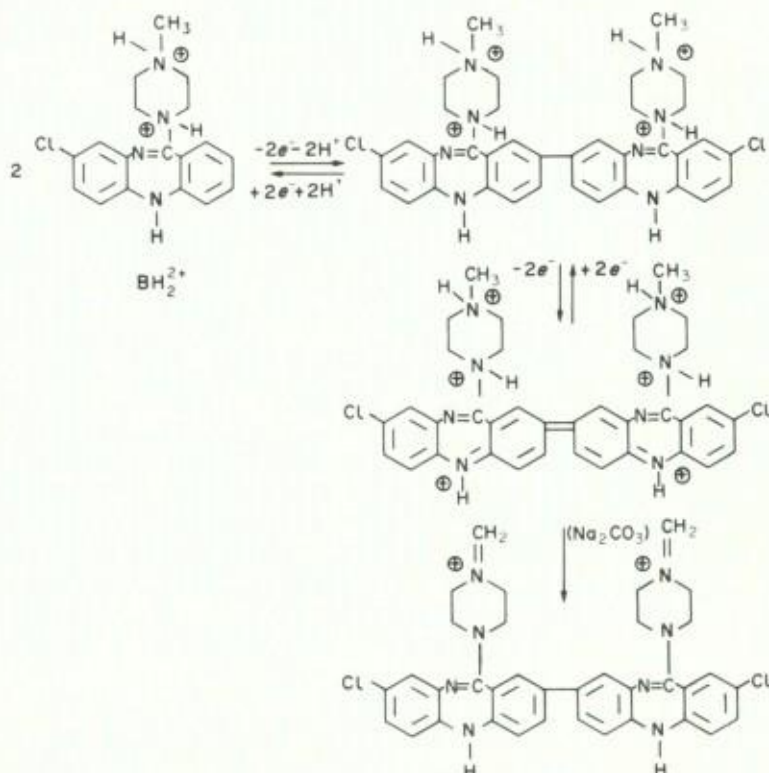


Fig. 7. Equations globales des réactions d'oxydations de la clozapine observées dans l'acétonitrile en présence de deux équivalents d'acide perchlorique.

