

Note

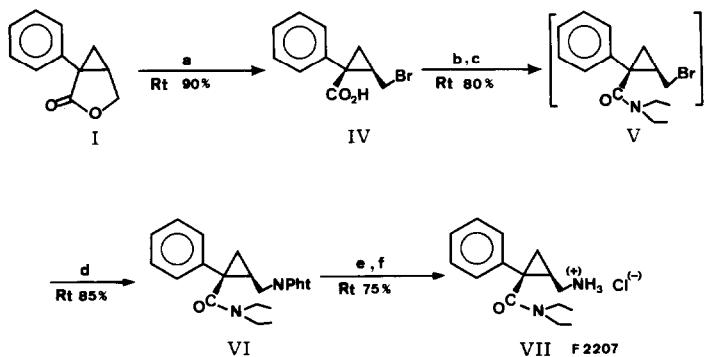
Séparation d'amides diastéréoisomères par chromatographie liquide haute performance préparative et analyse d'énanthiomères par chromatographie sur support chiral

BERNARD BONNAUD*, FRANCIS CALMEL, JEAN-FRANÇOIS PATOISEAU, N-THIEN N'GUYEN et HENRI COUSSE

Centre de Recherches Pierre Fabre, 17 avenue Jean Moulin, 81106 Castres (France)

(Reçu le 1 octobre 1984)

La lactone cyclopropanique I^{1,2} est un intermédiaire de synthèse conduisant à des molécules douées d'activité antidépressive, en particulier le F 2207 VII^{3,4} préparé suivant le Schéma 1.



*HBr. AcOH 33%, ^bSOCl₂, ^cHNEt₂.Et₂O, ^dK Phtalimide.DMF, ^eN₂H₄.H₂O.EtOH, ^fHCl.EtOH

Schéma 1. Synthèse du F 2207 VII.

Dans le but d'étudier le profil pharmacologique des deux énanthiomères *d*-VII et *l*-VII, nous avons été conduits à séparer les deux isomères optiques de la lactone I. Ce dédoublement a été effectué en ouvrant la lactone I par une amine chirale, la *R*(+) phényl-1 éthylamine, donnant ainsi deux amides diastéréoisomères. Après séparation par chromatographie liquide et libération des lactones dédoublées, la chromatographie analytique sur phase stationnaire chirale⁵ nous a permis de suivre la pureté chimique et énanthiomérique aux différents stades de synthèse.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Dérivatisation (Schéma 2)

La lactone *dl*-I (104.5 g, 0.6 mole) et la *R*(+) phényl-2 éthylamine (145.4 g,

1.2 mole) sont portés sous agitation à $125^\circ \pm 5^\circ\text{C}$ pendant 10 h. Le mélange refroidi est dissous dans l'acétate d'éthyle, lavé à l'acide chlorhydrique dilué puis à l'eau. Après séchage sur sulfate de sodium, le solvant est évaporé sous vide.

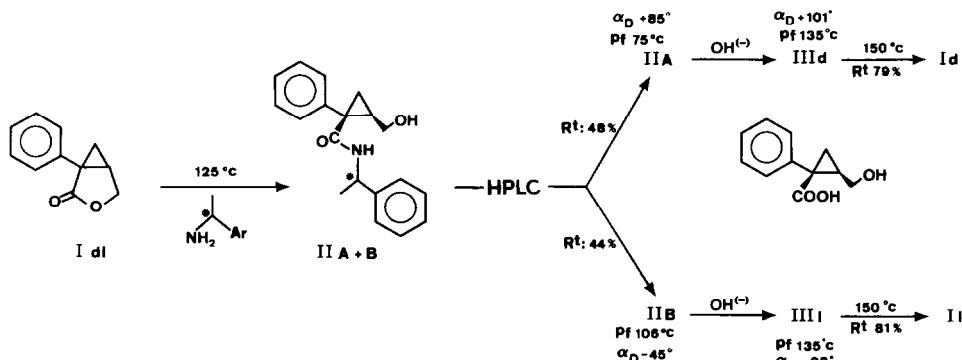


Schéma 2. Dédoubllement de la lactone I par dérivation avec la *R*(+) phényl-1 éthylamine.

Après séparation par chromatographie liquide haute performance (HPLC) préparative des amides diastéréoisomères, les acides dédoublés sont obtenus par saponification par la soude en milieu hydroalcoolique au reflux pendant 8 h. Par chauffage à 150°C , les acides se cyclisent en lactone correspondante (*d*-I et *I*-I).

Chromatographie analytique

Appareillage. Un système de chromatographie liquide isocratique composé d'une pompe 6000 A, un injecteur U6K et un détecteur UV à longueur d'onde variable Lambda Max 481 (Waters Assoc.) a été utilisé pour les séparations analytiques. Les chromatogrammes des différents produits, détectés par leur absorption dans l'ultra-violet ont été enregistrés sur un appareil Bryans 28000 et les temps de rétention et intégrations obtenus à l'aide d'un intégrateur Shimadzu CR 1B.

Colonnes. La séparation des diastéréoisomères a été réalisée sur colonne de silice garnie avec du LiChrosorb 10 μm . La séparation des énantiomères (mesure de la pureté optique) a été effectuée sur colonne Pirkle covalent phenyl glycine (Spherosorb S5 NH modifié. Regis Chemical, Morton Grove, IL, U.S.A.).

Chromatographie préparative

Nous avons utilisé un chromatographe Prep LC 500 équipé d'un réfractomètre différentiel et muni d'une cartouche de silice Prep Pack 500 (Waters Assoc.).

RESULTATS ET DISCUSSION

Séparation des amides diastéréoisomères (Fig. 1)

Cette séparation a été réalisée à l'échelle préparative. La chromatographie analytique (colonne de silice) nous a servi à définir les conditions chromatographiques (solvant, débit) et à effectuer le contrôle des effluents (Fig. 2) provenant de la séparation préparative.

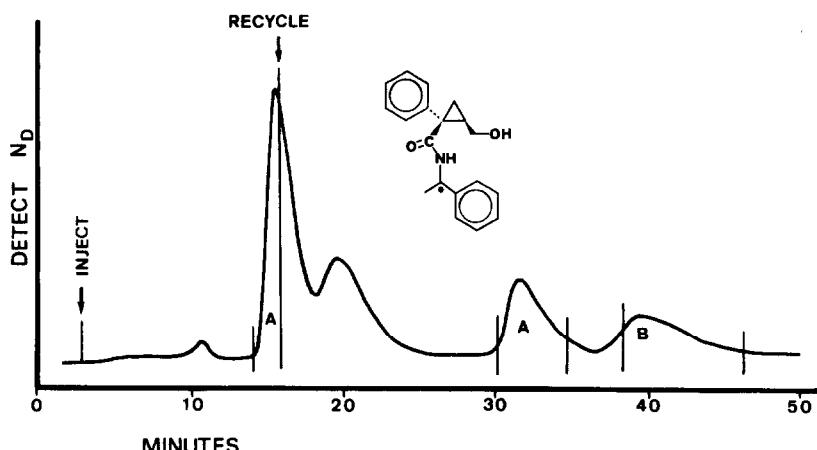


Fig. 1. Séparation de 5 g de mélange d'amides diastéréoisomères II sur colonne de silice. Hexane-acétate d'éthyle (40:60); 100 ml/min (recyclage après élution de la moitié du pic A).

Dans les conditions définies [éluant: acétate d'éthyle-hexane (60:40), débit: 100 ml/min], le rapport des k' ($\alpha = 1.48$) est satisfaisant pour obtenir une séparation en chromatographie préparative compte tenu d'une charge de 5 g et d'un recyclage (contrôle des fractions IIA et IIB: Fig. 2).

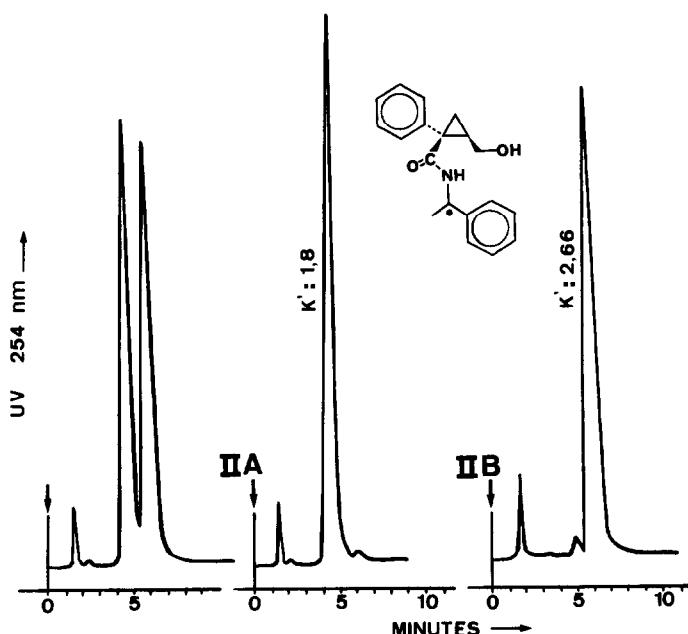


Fig. 2. Séparation des amides diastéréoisomères IIA et IIB sur colonne de silice. Hexane-acétate d'éthyle (40:60); 2 ml/min.

Séparation de dérivés énantiomères sur colonne chirale

Lactones cyclopropaniques et dérivés. Les lactones *d*-I et *l*-I (obtenues selon le Schéma 2) ont pu être chromatographiées sur colonne chirale avec une bonne résolution permettant d'évaluer leur pureté respective (Tableau I).

TABLEAU I

CONSTANTES DES PRODUITS OBTENUS SELON LES SCHÉMAS 1 ET 2

| No. | Formule | α_D concentration 1.5 ethanol | Point de fusion (°C) | k' | α | Phase mobile* | Pureté énantiomérique (%) |
|---------------|---------|--|----------------------------|--------|----------|------------------|---------------------------------|
| <i>d</i> -I | | + 79° | 59 | 18.7 | 1.08 | 1 | 88 |
| <i>l</i> -I | | - 77° | 58 | 20.3 | | 1 | 88.5 |
| <i>d</i> -VII | | + 56° | 205** | 6.3*** | 1.17 | 2 | 87.5 |
| <i>l</i> -VII | | - 55° | 205** | 7.4*** | | 2 | 90 |

* (1) Hexane à 1% d'isopropanol; (2) hexane à 10% d'isopropanol.

** Chlorhydrate.

*** Après acétylation (20 mg + 0.2 ml pyridine + 0.1 ml anhydride acétique).

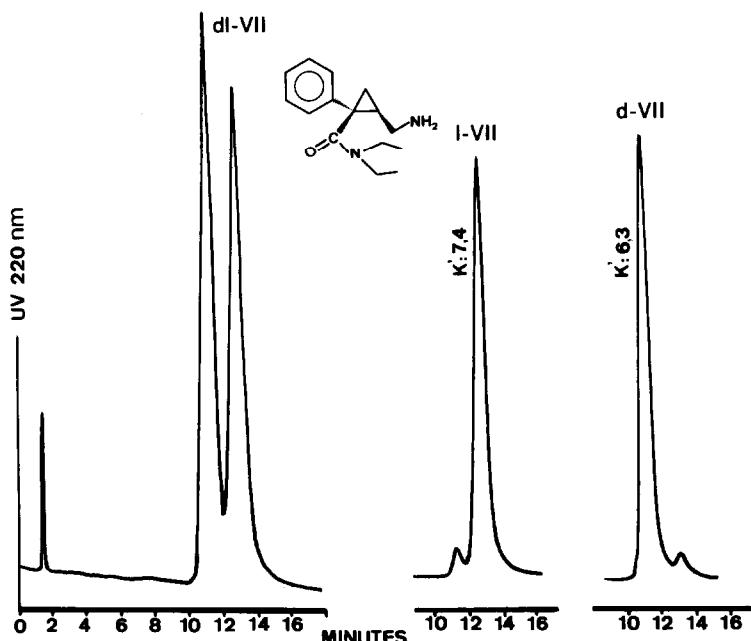


Fig. 3. Séparation des deux énantiomères *d*-VII et *l*-VII après dérivation par acétylation sur colonne chirale. Hexane à 10% d'isopropanol 2 ml/min (le premier pic est le toluène ajouté comme marqueur du temps de rétention).

TABLEAU II

SÉPARATION D'ÉNANTIOMÈRES SUR COLONNE CHIRALE (PIRKLE COVALENT PHENYL GLYCINE)

UV 220 nm; 2 ml/min.

| No. | Formule | k'_1 | k'_2 | α | Phase mobile* |
|------|---------|--------|--------|----------|---------------|
| VIII | | 14.8 | 14.8 | 1.00 | 1 |
| IX | | 14.2 | 14.6 | 1.03 | 1 |
| X | | 6.2** | 6.2** | 1.00 | 2 |
| XI | | 5.4 | 6 | 1.11 | 2 |
| XII | | 14.4 | 14.4 | 1.00 | 2 |
| XIII | | 7.93** | 9.4** | 1.18 | 2 |
| XIV | | 17.3** | 18.5** | 1.07 | 2 |
| XV | | 7.6** | 7.6** | 1.00 | 2 |

* (1) Hexane à 1% d'isopropanol; (2) hexane à 10% d'isopropanol.

** Après dérivatation par acétylation.

A partir de ces lactones et selon le procédé de synthèse décrit (Schéma 1), nous avons pu obtenir et analyser les dérivés *d*-VII et *l*-VII (Tableau I; Fig. 3), permettant ainsi leur étude pharmacologique. Ces deux produits ont une pureté énantiomérique voisine de 90%, comparable à celle des lactones dont ils sont issus indiquant ainsi que la synthèse utilisée n'est pas racémisante. Il est à noter que la lactone *d*-I fournit le dérivé *l*-VII et *l*-I le dérivé *d*-VII.

Autres dérivés. L'application de cette technique chromatographique à l'évaluation de la pureté chimique et énantiomérique a été étendue à l'étude d'autres dérivés structuralement voisins (Tableau II).

Cette série de résultats montre des séparations plus ou moins satisfaisantes ($1 \leq \alpha \leq 1.18$). Ainsi des structures relativement proches donnent des résultats différents. L'exemple des dérivés VII et XV où la perte du cyclopropane entraîne une perte de la rigidité de la molécule met en évidence l'importance de la géométrie de la molécule sur la "liaison diastéréoisomérique" substrat-molécule chirale et donc sur l'importance de la séparation.

CONCLUSION

Ces méthodes nous ont permis d'obtenir les dérivés *d*-VII et *l*-VII en quantité et pureté optique suffisantes pour poursuivre les essais pharmacologiques. Les techniques de préparation de phases stationnaires chirales à l'échelle préparative⁶ nous permettent d'envisager une séparation directe d'énantiomères cyclopropaniques sans recours à la dérivation.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 H. Cousse, G. Mouzin et B. Bonnaud, *Brevet Fr.*, 2.302.994 (1975).
- 2 G. Mouzin, H. Cousse et B. Bonnaud, *Synthesis*, 4 (1978) 304.
- 3 G. Mouzin, H. Cousse, B. Bonnaud, M. Morre et A. Stenger, *Brevet EP*, 68.999 (1983).
- 4 H. Cousse, G. Mouzin, B. Bonnaud, M. Briley, A. Stenger et J. P. Couzinier, *Poster XIX Rencontres Internationales de Chimie Thérapeutique, Pamplona, 7-10 septembre 1983*.
- 5 W. H. Pirkle, D. W. House et J. M. Finn, *J. Chromatogr.*, 192 (1980) 143.
- 6 W. H. Pirkle et J. M. Finn, *J. Org. Chem.*, 47 (1982) 4037.