

SYNTHÈSE DU METHYL-2 P-CHLOROPHENYL-4 PENTANE DIOL-2,4
(FENPENTADIOL) MARQUE AU ^{14}C *

J.P.Noël*, A.Benakis*, R.Valette**, M.Herbert***, L.Pichat***

Reçu le 19 juin, 1971.

Summary

Methyl-2 p-chlorophenyl-4 pentane diol 2,4 ^{14}C -4 (Rd 292 - Fenpentadiol), a psychotropic drug, was prepared by means of the action of methyl magnesium iodure on p-chlorophenyl-3 hydroxy-3 ethyl butyrate ^{14}C -3. The latter was obtained by means of the Reformatzki reaction between ethyl bromoacetate and p-chloroacetophenon ^{14}C O, which was obtained by the action of iodhydric acid on p-chlorophenyl diazoacetophenon ^{14}C O, resulting from the action of diazomethane on p-chlorobenzoyl ^{14}C chlorure. The necessary p-chlorobenzoic carboxyl ^{14}C acid was obtained through carbonation of p-chlorophenyl magnesium bromure, free from any isomere o or m. The total yield compared to $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ was 31 %. Specific activity : 25,3 mCi/mM.

* Ce travail a été effectué au Service des Molécules Marquées, CEN Saclay (France)

* Laboratoire du Métabolisme des Médicaments, Ecole de Médecine, Directeur : Prof. B.Glasson, Université de Genève (Suisse)

** Centre de Recherches des Laboratoires Albert Rolland, Chilly-Mazarin (France)

*** Service des Molécules Marquées, CEN Saclay (France)

Résumé

Le méthyl-2 p-chlorophényl-4 pentane diol 2,4 ^{14}C -4 (Rd 292 - Fenpentadiol[†]), médicament psychotrope, a été préparé par action de l'iodure de méthyle magnésium sur le p-chlorophényl-3 hydroxy-3 butyrate d'éthyle ^{14}C -3. Ce dernier a été obtenu par réaction de Reformatzki entre le bromoacétate d'éthyle et la p-chloroacétophénone ^{14}C O, elle-même préparée par action de l'acide iodhydrique sur la p-chlorophényl diazoacétophénone ^{14}C O résultant de l'action du diazométhane sur le chlorure de p-chlorobenzoyl ^{14}C . L'acide p-chlorobenzoïque carboxyle ^{14}C nécessaire a été obtenu par carbonatation du bromure de p-chlorophényl magnésium, exempt de tout isomère o, ou m. Le rendement global par rapport à ^{14}C O₃Ba a été de 31 %. Activité spécifique : 25,3 mCi/mM.

INTRODUCTION

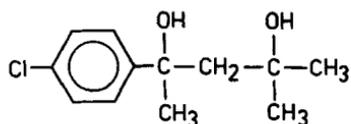
Un nouveau médicament psychotrope, le Rd 292 (Fenpentadiol) (I) méthyle p-chlorophényl 4 pentane diol 2,4, a été mis au point. Il s'agit d'un β diol bitertiaire doué de propriétés thymoanaleptiques de moyenne puissance.

Le Rd 292 lève progressivement l'inhibition contrairement à certains antidépresseurs d'action thymoanaleptique brutale et qui laissent présente l'anxiété.

Il est indiqué et utilisé, en particulier, dans les dépressions névrotiques et réactionnelles, dans les dépressions préséniles, les états névrotiques anxieux ainsi que dans les plaintes somatiques et les syndromes psychofonctionnels (1, 2, 3, 4).

[†] Produit spécialisé par les Laboratoires Rolland Hepatrol, sous le nom de TREDUM

En vue de son étude métabolique, nous avons marqué le Rd 292 par le ^{14}C sur le carbone 4 de la chaîne pentane diol de la molécule :



(I)

Ce produit est accessible par plusieurs voies de synthèse. La première (5) consiste en l'action du magnésien du p-chlorobromobenzène (II) sur le diacétone-alcool (III) (Schéma I).

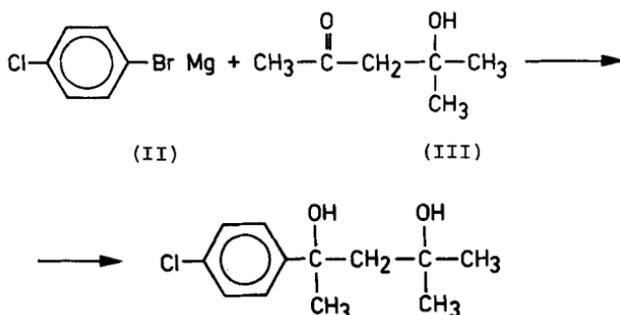


Schéma I

Il aurait fallu marquer le carbone cétonique du diacétone alcool, ce qui n'est pas aisément réalisable.

Une autre méthode utilise comme intermédiaire la p-chloroacétophénone (IV) (6). Cette dernière serait marquée selon le schéma 2, à partir de l'acétate de sodium (V) $\text{C}^{14}\text{-1}$:

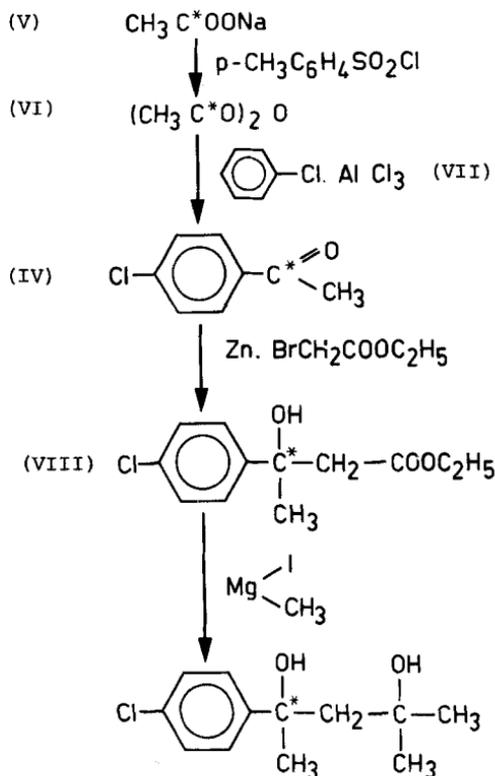


Schéma II

Nous avons adopté une troisième voie, qui permet d'obtenir la p-chloroacétophénone (V) à partir du chlorobromobenzène (schéma 3). Nous l'avons préférée, car dans le schéma 2, lors de la condensation de l'anhydride acétique avec le chlorobenzène (VII), il y a formation simultanée des isomères o, m et p. Les deux isomères

o et m sont difficilement séparables de l'isomère p-chloroacétophénone (IV).

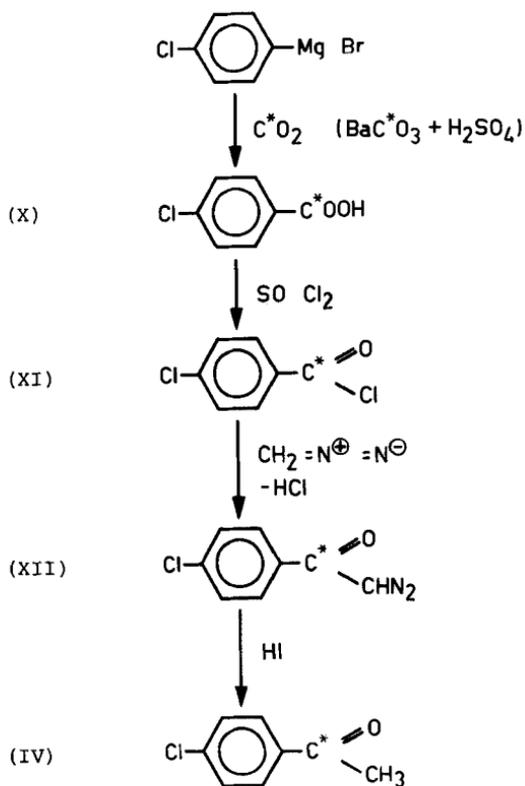
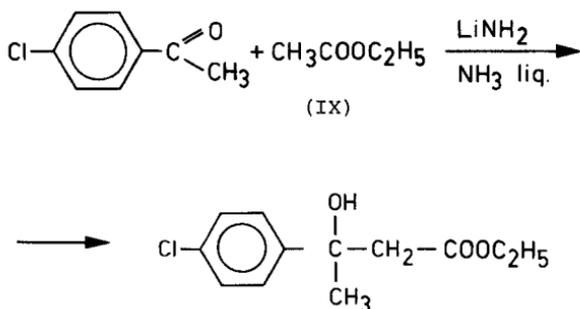


Schéma III

Pour la synthèse du β -hydroxyester (VIII), une autre méthode que celle de Reformatzki a été étudiée. Elle s'inspire de celle décrite par W.R. Dunavant et C.R. Hauser (1960) (7) et déjà utilisée avec succès dans un autre cas dans notre laboratoire (8) : condensation de l'acétate d'éthyle (IX) avec divers cétones ou aldéhydes en présence de deux équivalents d'amidure de lithium dans l'ammoniac liquide. Cette condensation a été effectuée avec la p-chloroacétophénone (IV) selon le schéma :



L'oxyester (VIII) a, au départ, été obtenu par cette voie, mais certaines difficultés sont apparues lors de l'essai traceur préliminaire. En effet, au cours de cet essai, l'iode provenant de la réaction précédente n'a pu être éliminé complètement de la p-chloroacétophénone et perturbe la réaction. De plus, il y a quelques difficultés pratiques lors de la synthèse marquée pour l'introduction de la p-chloroacétophénone dans l'ammoniac liquide. Cela nous a amenés à ne pas utiliser cette méthode pour la synthèse marquée. Nous avons, en conséquence, repris la méthode de Reformatzki.

Nous avons préparé l'acide p-chlorobenzoïque C^{14} (X) à partir du $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ par carbonatation du bromure de p-chlorophénylmagnés-

sium (II), selon la méthode et l'appareillage décrits par Baret et Pichat (9) pour la synthèse de l'acide benzoïque C^{14} . L'absence d'isomères ortho ou méta dans le p-chlorobromobenzène mis en oeuvre a été vérifiée par spectrométrie RMN.

Nous avons obtenu un spectre du type $\text{A}_2 \text{B}_2$ caractéristique de l'isomère para.

L'action du chlorure de thionyle sur l'acide p-chlorobenzoïque fournit le chlorure correspondant (XI).

La diazocétone (XII) est préparée par l'action du diazométhane sur XI, tandis que la p-chloroacétophénone (IV) est obtenue en faisant agir (10) l'acide iodhydrique sur la diazocétone (XII).

L'hydroxyester a été préparé, selon Reformatzki, par action du bromacétate d'éthyle sur la p-chloroacétophénone marquée.

Le produit final (I) (Fenpentadiol) a été obtenu par l'action d'iodure de méthylmagnésium sur l'hydroxyester. Cette réaction exige un excès de CH_3MgI , car il y a tout d'abord métallation de la fonction alcool par une mole de magnésien, avec dégagement d'une mole de méthane, suivie par la condensation de 2 moles de magnésien sur le groupe éthoxycarbone.

Après purification par chromatographie et cristallisation, le Fenpentadiol a été obtenu avec un rendement global de 31 % par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$. Sa pureté radiochimique a été contrôlée par radiochromatographie sur plaques dans divers systèmes de solvants. De plus, les spectres UV et de masse du produit préparé sont identiques à ceux d'un échantillon de référence non marqué.

PARTIE EXPERIMENTALEI - Acide p-chlorobenzoïque ¹⁴C

On fait réagir de l' H_2SO_4 concentré sur 0.505 g (2.58 mM) de $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ d'activité spécifique de 53,6 mCi/mM, soit au total 140 mCi. Le $^{14}\text{CO}_2$ dégagé est condensé sur le magnésien refroidi à -20°C . Le magnésien est utilisé à la concentration de 0,5 M avec le rapport $\text{ClPhMgBr}/^{14}\text{CO}_3\text{Ba} = 1.08$.

On hydrolyse avec de l'acide sulfurique normal à raison de 3 ml d'acide par mM de magnésien.

Après hydrolyse, trois extractions liquide-liquide sont effectuées en vue de la purification de l'acide p-chlorobenzoïque :

- extraction acide à l'éther pendant une nuit ;
- extraction basique : après évaporation, reprise par une solution de bicarbonate de sodium saturée et nouvelle extraction pendant 5 heures par l'éther ; une faible quantité d'acide passe dans cette fraction étherée. Elle est récupérée après évaporation de l'éther en le prenant par une solution de carbonate de sodium et en faisant successivement l'extraction basique et acide ;
- extraction acide : extraction par l'éther pendant une nuit de la solution carbonatée, après acidification par l'acide sulfurique 20 M.

L'éther est évaporé à sec : on obtient au total 116 mCi d'acide p-chlorobenzoïque ^{14}C . Rendement en activité : 83 %.

II - Chlorure de l'acide p-chlorobenzoïque ¹⁴C

L'acide précédent et 2 ml de chlorure de thionyle (fraichement

distillé successivement sur quinoléine et huile de lin) sont chauffés avec agitation magnétique au bain d'huile pendant 1 h $\frac{1}{2}$ à 90 °C dans un ballon de 50 ml équipé d'un réfrigérant surmonté d'un tube de garde à Cl_2Ca dans lequel on a précédemment évaporé l'éther contenant l'acide. Il y a une forte coloration brune. A trois reprises, on ajoute 10 cc de benzène anhydre et on évapore à sec, pour bien chasser le SOCl_2 .

III - Diazocétone

Le résidu de l'opération précédente est repris par 5 ml d'éther anhydre. Après refroidissement à 0 °C dans un bain de glace, on ajoute lentement et sous agitation, 20 ml de diazométhane en solution (0,23 M) dans l'éther préalablement séché sur KOH. Il y a dégagement d'azote. A la fin de l'introduction, la solution se colore en jaune par le diazométhane en excès. On maintient une agitation magnétique pendant 3 heures à la température ambiante.

IV - p-chloroacétophénone ^{14}C

La solution étherée de l'opération précédente est évaporée à sec, le résidu est repris par 10 ml de chloroforme. On ajoute lentement 2 ml de HI à 57 % (soit 15 mM environ). Il y a dégagement de N_2 et une forte coloration brune apparaît due à la formation d'iode.

La solution chloroformique est lavée dans une ampoule à décantier, à l'eau puis au thiosulfate (élimination de l'iode), puis de nouveau à l'eau. Le chloroforme coloré en jaune, est séché sur sulfate de Na. On évapore plusieurs fois afin d'éliminer le CHCl_3 . On reprend au benzène.

Cette solution est lavée successivement avec 15 ml d' H_2SO_4 à 10 % puis avec une solution de NaCl saturée additionnée de quelques gouttes de bisulfate de sodium puis avec une solution à 10 % de carbonate de sodium, jusqu'à ce que la solution de carbonate ne soit plus colorée, et de nouveau avec une solution de NaCl saturée, jusqu'à neutralité. Enfin, on sèche sur sulfate de sodium.

V - (p-chlorophényl)-3 hydroxy-4 butyrate d'éthyle (par la réaction de Reformatzki)

On effectue cette réaction sur environ 3 mM de p-chloroacétophénone ^{14}C (activité spécifique 30 mCi/mM) après dilution par de l'entraîneur. Dans un ballon à deux cols de 100 ml muni d'un réfrigérant surmonté d'une garde de chlorure de calcium pour qu'on puisse maintenir un courant d'azote sec et une agitation magnétique, on introduit 0,332 g (5,1 mM) Zn en poudre préalablement activé, et un cristal d'iode.

Dans un autre récipient, on prépare la solution de 0,420 g de p-chloroacétophénone ^{14}C et 0,527 de bromoacétate d'éthyle (préalablement distillé) dans 0,8 ml de mélange benzène/toluène (3-1). Cette solution est introduite sous agitation par petites fractions dans le ballon contenant le zinc.

On chauffe dans un bain d'huile à 95 °C. Le mélange prend une coloration brune. On chauffe à reflux pendant 1 heure. On hydrolyse dans une ampoule à décanter par 1,5 g de glace et 0,3 ml d'acide sulfurique concentré.

On opère les lavages comme pour le chloroacétophénone et on sèche par sulfate de Na.

On obtient au total 88 mCi d'hydroxyester.

Rendement en activité par rapport au carbonate de Ba : 63 %.

VI - "Fenpentadiol"

Dans un ballon de 100 ml équipé d'une ampoule à brome, et d'un réfrigérant muni d'un tube de garde à chlorure de Ca, on introduit l'hydroxyester (environ 3 mM) et 2 ml d'un mélange benzène/toluène. Le ballon est maintenu à une température de 8°C . On fait couler lentement 45 ml d'une solution étherée (0,5 N) d'iodure de méthyle magnésium.

On chauffe à reflux pendant 3 heures.

On hydrolyse, à 0°C , en versant la solution étherée dans un ballon contenant 4 g de glace, 1 g de chlorure d'ammonium et 1 g d'acide chlorhydrique concentré.

On agite pendant $\frac{1}{2}$ heure.

L'hydrolyse terminée, on lave jusqu'à neutralité. La solution étherée est séchée sur sulfate de sodium. On évapore l'éther et on reprend par le benzène.

PURIFICATION DU FENPENTADIOL

La chromatographie sur plaques a indiqué que le "Fenpentadiol" est accompagné d'environ 30 % d'impuretés radioactives. Le produit a été purifié par chromatographie sur colonne à gradient d'élution, et par cristallisation.

Chromatographie sur colonne.

On remplit une colonne ($h = 50\text{ cm}$; $\varnothing = 4\text{ cm}$) avec 300 g de silicagel Woëlm pour chromatographie de partage. On lave la co-

lonne pendant 2 heures avec du benzène. Le rapport du gradient est 800 ml d'une solution benzène/acétate d'éthyle 63/37 sur 800 ml de benzène. On peut construire la courbe théorique d'élu-tion en considérant un débit régulier de 10 ml par tube (11). 10 ml ont été recueillis toutes les 20 minutes. La radioactivité de chacun des tubes a été enregistrée et des essais ont été ef-fectués dans différents systèmes. Le produit est localisé dans les tubes 46 à 59. Les fractions de ces tubes sont rassemblées et évaporées. On reprend par le benzène.

Cristallisation.

La solution benzénique légèrement jaune est filtrée avec du noir animal sur filtre "Millipore". On évapore le benzène et on reprend à chaud par de l'hexane avec du noir animal. On filtre à nouveau sur Millipore à chaud, le produit cristallise à froid dans l'hexane.

La partie retenue sur le filtre a été extraite par l'éthanol à chaud et recristallisée dans l'hexane.

Données chromatographiques.

Plaque Schleicher et Schüll silicagel F, support plastique

Système chromatographique

Rf

acide p-chlorobenzoïque

ammoniaque : éthanol	10/90	0.66
----------------------	-------	------

diazocétone

benzène/acétate d'éthyle	90/10	0.64
--------------------------	-------	------

Système chromatographiqueRf

p-chloroacétophénone

benzène/acétate d'éthyle	90/10	0.69
--------------------------	-------	------

p-chlorophényl β -oxybutyrate d'éthyl

benzène/acétate d'éthyle	90/10	0.48
--------------------------	-------	------

"Fenpentadiol"

benzène/acétate d'éthyle	90/10	0.13
benzène/acétate d'éthyle	80/20	0.37
benzène/acétate d'éthyle	60/40	0.64
benzène/acétone	90/10	0.36
benzène/acétone	80/20	0.73
cyclohexane/éthanol	80/20	0.67
cyclohexane/acétate d'éthyle	70/30	0.44

Plaque "selecta" silicagel, support verre

cyclohexane/acétate d'éthyle	80/20	0.23
benzène/acétate d'éthyle/éthanol	89/10/1	0.41
benzène/acétate d'éthyle	90/10	0.22

Plaque Schleicher et Schüll cellulose

butanol/eau	90/10	0.98
-------------	-------	------

Spectre UV.

Dans l'hexane à une concentration de 0,57 mg par ml, maximum

λ_{max}	A	E_{max}
273	0.65	262
265	0.85	344
257	0.685	276

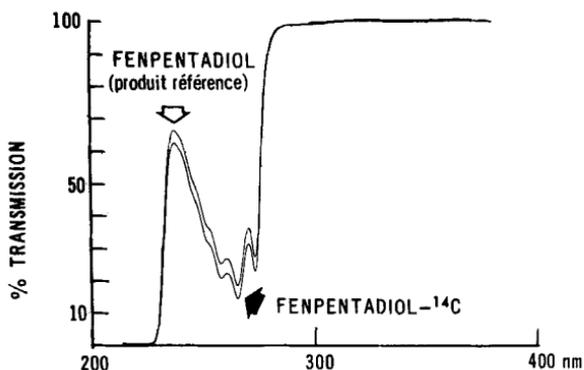


Fig. No 1

Spectres de masse.

Nous avons confirmé la structure de la molécule synthétisée en comparant les spectres de masse du produit de référence (Fig. No 2) avec celui obtenu pour le produit marqué (activité spécifique : 25,3 mCi/mM) (Fig. No 3)

La substance non marquée (Fig. No 2) a une masse moléculaire $M = 228-230$ (ions d'intensités respectives 3:1, dus à la présence d'un atome de Cl : $^{35}\text{Cl} = 75,5 \%$, $^{37}\text{Cl} = 24,5 \%$).

Cette séquence 3:1 se retrouve dans les groupes d'ions $m/e = 213$ et 215 ($M-\text{CH}_3$), 210 et 212 ($M-\text{H}_2\text{O}$), 195 et 197 ($M-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}$), 155 et 157 ($M-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}-\text{C}_3\text{H}_4$), 152 et 154 , 139 et 141 , 111 et 113 .

L'ion $m/e = 117$ est dû à l'élimination d'un radical chlorophényl par l'ion moléculaire.

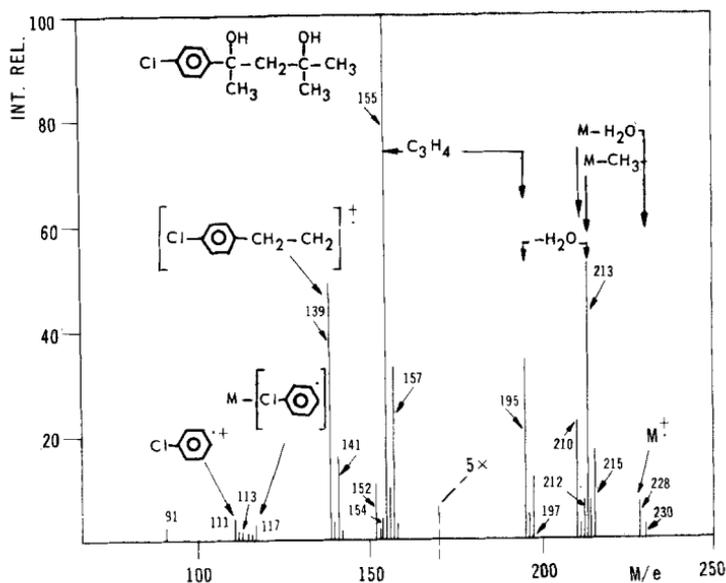


Fig. No 2

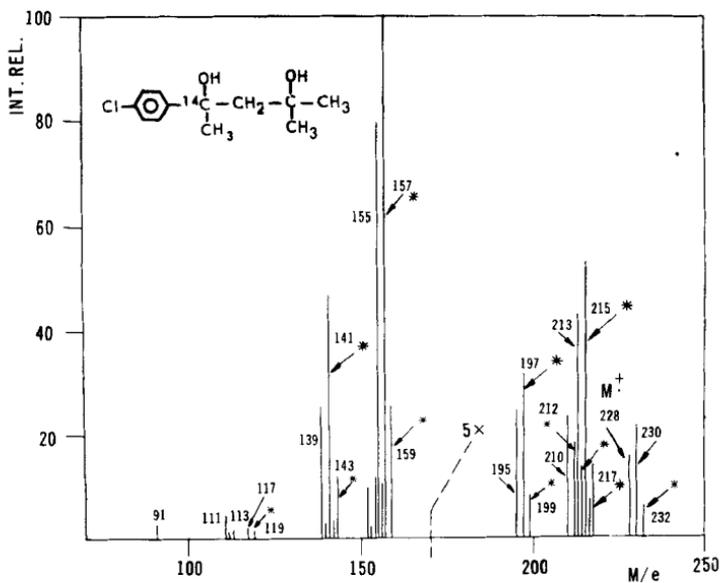


Fig. No 3

La même substance, où l'un des ^{12}C a été remplacé par un ^{14}C , donnerait, évidemment un spectre semblable, mais décalé de 2 unités de masse pour tous les fragments contenant le ^{14}C . La substance qui a été synthétisée donne un spectre (Fig. No 3) qui est la superposition des spectres des substances non marquées et marquées.

En effet, la région de l'ion moléculaire présente un groupe de 3 ions : $m/e = 228$ ($^{35}\text{Cl} + ^{12}\text{C}$), $m/e = 230$ ($^{37}\text{Cl} + ^{12}\text{C}$ et $^{35}\text{Cl} + ^{14}\text{C}$), $m/e = 232$ ($^{37}\text{Cl} + ^{14}\text{C}$). Cette séquence de 3 ions (fragments contenant du ^{14}C indiqué par un astérisque : *) d'intensité relative environ 0,8 : 1 : 0,25 (correspondant à $\sim 48\%$ de ^{14}C (calculé pour la région 155-157-159) se retrouve dans les mêmes positions que dans la substance non marquée, confirmant l'identité des deux substances.

L'ion $m/e = 117$ est dédoublé en $m/e = 117$ et 119, tandis que le doublet 111-113 reste inchangé (fragment ne contenant pas l'atome ^{14}C).

CONTROLE DE LA PURETE CHIMIQUE ET RADIOCHIMIQUE DU FENPENTADIOL

Les systèmes chromatographiques indiqués dans le tableau précédent ont été établis pour vérifier la pureté chimique et radiochimique du produit, après purification.

Le produit est visible en UV sur plaque fluorescente.

Les plaques sont également révélées à l'aide d'acide phosphomolybdique à 3,5 % puis à l' H_2SO_4 à 80 °C.

La radioactivité a été localisée par autoradiographie et par enregistrement à l'aide d'un compteur proportionnel Berthold

(L.B. 2721).

Dans tous les systèmes utilisés, le "Fenpentadiol", après purification, ne compte qu'une seule tâche radioactive de même Rf qu'un échantillon témoin.

La comparaison du spectre UV du produit de référence et du Fenpentadiol marqué indique une parfaite identité (Fig. No 1).

Détermination de l'activité spécifique.

La valeur de la radioactivité a été mesurée par scintillation liquide, tandis que la concentration a été déterminée par spectrométrie UV ; elle est de 25,3 mCi/mM.

Activité totale obtenue : 44,5 mCi.

Rendement : des 6 étapes de synthèse sur la base du carbonate de barium initial mis en oeuvre : 31,8 %.

Nous remercions le Centre de Spectrographie de masse de l'Université de Genève pour les enregistrements de spectres (Madame F. Kloeti) et le Professeur A. Buchs pour l'aide qu'il nous a apportée dans leur interprétation.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) Volmat R., Beaudon J.L., Allers G., Vittouris N.- Compte-rendu Congrès de Psychiatrie et Neurologie de Langue Française, LXIVe session, Grenoble, 1966, p. 1142-1150.

- 2) Mouren P., Guidicelli S., Peragut J.C., Gitenet P., Pelessier J.F. - Marseille Médical, 6 (1969)
- 3) Saillant Klein H., Saillant Cl., Masanes P. - Gazette Médicale 16 (1969)
- 4) Masquin A., Veuillard P. - Cahiers Médicaux Lyonnais, 1969, tome 45, No 20, p. 2197-2203.
- 5) Brevet français No 1.248.420.
- 6) Valette R. et al. - Bull. Chim. Thérap., 4 : 296 (1968)
- 7) Dunnavant W.R. et Hauser C.R. - J. Org. Chem., 25 : 503 (1960)
- 8) Pichat L., Blagow B., Hardoura J.C. - Chimie Thérapeutique, 11 : 4489 (1968).
- 9) Baret C. et Pichat L. - Bull. Soc. Chim. Fr., 18 : 580 (1951)
- 10) Wolfron and Brown - J. Am. Chem. Soc., 65 : 1516 (1943)
- 11) Lederer E. - Chromatographie, 19, 1, 91.