

SYNTHÈSE DU N-[(ÉTHYL-1 PYRROLIDINYL-2) METHYL] METHOXY-2 SULFAMOYL-5  
BENZAMIDE (SULPIRIDE) MARQUE AU  $^{14}\text{C}$ ,

J.P.Noël<sup>\*</sup>, A.Benakis<sup>\*</sup>, M.Herbert<sup>\*\*</sup>, L.Pichat<sup>\*\*</sup>, M.Thominet<sup>\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup> Laboratoire du Métabolisme des Médicaments, Ecole de Médecine,  
(Directeur Prof. B.Glasson), Université de Genève (Suisse)

<sup>\*\*</sup> Service des Molécules Marquées du C.E.A. Saclay (France)

<sup>\*\*\*</sup> Centre de Recherche de S.E.S.I.F., Longjumeau (92) (France)

Reçu le 30 juin 1972.

Summary

Sulpiride : N-[(éthyl-1 pyrrolidiny] méthyl] méthoxy-2 sul-  
famoyl-5 benzamide, has been labelled with carbon 14 in the carbonyl group by a five step synthesis from barium carbonate  $^{14}\text{C}$ .

The specific activity of the final product is 37.6 mCi/mM  
(110  $\mu\text{Ci/mg}$ ), and the radiochemical purity 99.5 %.

UV- and mass spectrometry confirm the identity of the labelled compound with the reference material, as well as the position labelled with  $^{14}\text{C}$ .

---

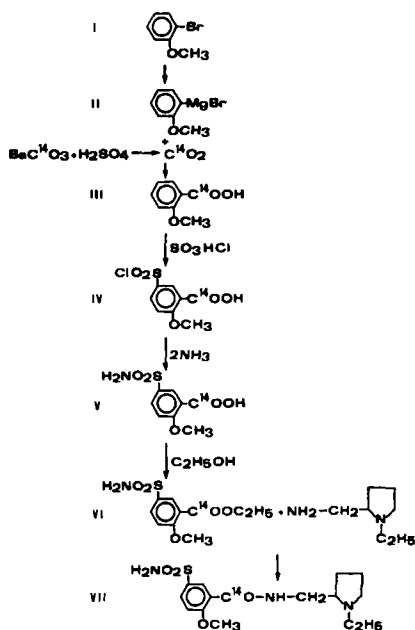
Un nouveau médicament, le Sulpiride (DOGMATIL<sup>®</sup>) N-[(éthyl-1 pyrrolidiny] méthyl] méthoxy-2 sulfamoyl-5 benzamide, défini cliniquement comme un "régulateur du comportement", possède à la

---

DOGMATIL<sup>®</sup> : Laboratoires DELAGRANGE, Paris, France

fois des propriétés neuroleptiques et antidépressives (1, 2, 3).

En vue de son étude métabolique, nous avons marqué le "Sulpiride" par le  $^{14}\text{C}$  sur le groupe carbonyle. Cette synthèse a été réalisée selon le schéma :



Nous avons préparé l'acide méthoxy-2 benzoïque (III) par carbonatation avec  $^{14}\text{C}$  du bromure d'o-méthoxy phényl magnésium (II), lui-même préparé à partir du o-bromo anisole (I), selon la méthode et l'appareillage décrits par Baret et Pichat (4).

La présence de p-bromo-méthoxy-benzène dans l'o-bromo méthoxy benzène conduit également à la formation d'acide p-méthoxy ben-

zoïque qui a été éliminé ensuite lors de la purification de l'acide o-méthoxy benzoïque.

L'action de la chlorydrique sulfurique sur l'acide o-méthoxy benzoïque permet d'obtenir le sulfochlorure (IV).

L'action directe de l'ammoniaque fournit l'acide méthoxy-2 sulfamido-5 benzoïque (V).

Le méthoxy-2 sulfamido-5 benzoate d'éthyle (VI) a été préparé par estérification de (V) par l'éthanol.

Enfin le produit final (VIII) (Sulpiride) est obtenu par action de l'éthyl-1 amino méthyl-2 pyrrolidine sur VI.

Après purification par chromatographie sur colonne de silicagel, le rendement radioactif global de la synthèse du Sulpiride est de 22 % par rapport au  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$  mis en oeuvre.

La pureté radiochimique, contrôlée par chromatographie sur plaque et sur papier dans divers systèmes de solvants, est de 99,5 %. Le spectre UV mesuré sur le chlorhydrate de Sulpiride est identique à celui d'un échantillon du produit non marqué.

Le spectre de masse confirme l'identité du produit marqué avec le produit de référence et la position du marquage par le  $^{14}\text{C}$ .

## PARTIE EXPERIMENTALE

### Acide o-méthoxy benzoïque (III)

L'o-bromo anisole\* (I) servant à la préparation du magnésien est distillé sur une colonne à bande tournante (2000 tr/mn pression 1 mm de Hg).

La fraction recueillie entre 88 et 88,5 °C contient environ 0,3 % d'impuretés. Le contrôle a été effectué par chromatographie en phase vapeur.

Le magnésien est obtenu en faisant réagir sur 1,2 g de magnésium ajouté d'un cristal d'iode, 50 mM de bromoanisole en solution étherée. L'ensemble est porté à 60 °C pendant 1 h ½.

### Carbonatation

On fait réagir l'acide sulfurique concentré sur 563 mg de Ba<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> (155 mCi - activité spécifique 54,2 mCi/mM).

Le C<sup>14</sup>O<sub>2</sub> est condensé sur 3,2 mM de magnésien (II) refroidi dans l'azote liquide. La carbonatation s'effectue sous agitation pendant 40 minutes à 20 °C.

Le complexe est hydrolysé avec de l'acide sulfurique.

Le rendement de la carbonatation est de 80 %.

### Purification

Une suite d'extractions : acide-basique, permet de purifier partiellement le produit. Après chromatographie sur une colonne de silicagel d'absorption (h 40, Ø 2,5) avec un solvant benzène/acétate d'éthyl (80/20), le produit contient environ 4 % d'impuretés. Les impuretés sortent en tête de colonne tandis que l'acide sort ensuite. Les différentes fractions sont recueillies et évaporées.

---

\* Fluka AG, Buchs (Suisse)

Acide méthoxy-2 sulfochlorure-5 benzoïque (IV)

L'acide o-méthoxy benzoïque (298 mg, 196 mM) de l'opération précédente est placé dans un tube à centrifuger. Par évaporation de l'éther, on obtient un produit blanc.

On ajoute très lentement sous agitation, à la température de la glace fondante, 1 ml (15,2 mM) de chlorure sulfurique fraîchement distillée.

Une forte coloration brune apparaît. L'addition de la chlorure achevée, on laisse revenir à la température ambiante puis on chauffe au bain d'huile pendant 3 heures à  $90^\circ\text{C}$ .

Le sulfochlorure ainsi obtenu est utilisé directement pour l'étape suivante.

Acide méthoxy-2 sulfamido-5 benzoïque (V)

On ajoute lentement sur l'acide méthoxy-2 sulfochlorure-5 benzoïque (IV) maintenu dans un bain à  $-10^\circ\text{C}$ , 4,4 ml (80 mM) d'ammoniaque à 30 %, préalablement refroidie dans un bain à la température de la glace fondante.

Il y a une abondante formation de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  et de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

On agite pendant 1 h  $\frac{1}{2}$  à température ambiante. En fin d'agitation, un léger trouble persiste. Il est éliminé par centrifugation.

L'acide méthoxy-2 sulfamido-5 benzoïque est dilué par 5 ml d'eau et précipité par l'HCl concentré. On obtient un précipité brun. On centrifuge, on reprend le précipité par 5 ml d'eau et on renouvelle l'opération. Finalement, le produit est repris par la pyridine. Les eaux de centrifugation sont réunies. Elles contiennent une importante quantité d'acide. Elles sont évaporées à sec et on reprend par la pyridine. Elles sont filtrées sur

filtre "Millipore". Une grande partie du chlorure et du sulfate d'ammonium est ainsi éliminée. La pyridine est ensuite évaporée et le résidu est repris à l'eau. L'acide cristallise. L'acide ainsi obtenu est joint à la fraction principale.

On obtient ainsi 72 mCi. Le rendement, à partir de l'acide o-méthoxy benzoïque, est de 70 %.

#### Méthoxy-2 sulfamido-5 benzoate d'éthyle (VI)

L'acide précédent (V) (229 mg, 1,29 mM), placé dans un tube de centrifugation muni d'un réfrigérant ascendant, est estérifié par 5 ml d'un mélange  $C_2H_5OH - H_2SO_4$  (20/1 en poids).

On chauffe à reflux de l'alcool pendant 6 heures.

On ajoute chaque heure 1 ml de mélange estérifiant.

L'estérification est suivie de chromatographie en couche mince.

A la fin de l'opération, 10 % d'acide ne sont pas transformés. L'alcool est distillé sous vide. Le résidu est repris par 5 ml d'eau.

L'ester précipite. On neutralise par du carbonate de sodium jusqu'à pH 8. L'ester est centrifugé, lavé à l'eau et de nouveau centrifugé. L'ester est repris à l'éthanol.

On obtient 58 mCi d'ester (VI), soit un rendement d'estérification de 80 %.

#### N- $\bar{e}$ thyl-1 pyrrolidyl-2 méthyl/ méthoxy-2 sulfamoyl-5 benzamide (VII) (Sulpiride)

A la solution éthanolique d'ester (VI) radioactif, on ajoute

100 mg (0,386 mM) de ce même ester non actif, comme entraîneur.

Après l'évaporation du solvant, on obtient 350 mg (1,46 mM) d'ester. On ajoute 4 ml d'éthylène glycol et chauffe à 90 °C. Afin de dissoudre l'ester, on abaisse la température. On ajoute 0,3 ml (2,08 mM) d'éthyl-1 aminométhyl-2 pyrrolidine. On chauffe ensuite 64 heures à 55 °C. Par refroidissement, le "Sulpiride" cristallise dans la solution réactionnelle. On achève la cristallisation dans un bain glacé pendant 5 heures.

Le produit est centrifugé, repris à l'eau et de nouveau centrifugé.

Le "Sulpiride" (42 mCi) est mis en solution dans l'acide acétique à 10 %.

Le rendement de la condensation est de 72,5 %.

#### PURIFICATION DU SULPIRIDE

La purification s'effectue par chromatographie sur une colonne (h, 40 cm, Ø, 2,5 cm) de silicagel de partage.

Solvant d'élution : propanol/acide acétique/eau 50/25/25 v/v. Elution à raison de 10 ml par tube, débit de 50 gouttes/min.

Les premiers 140 ml contiennent des impuretés, par exemple le sulfamido-5 benzoate d'éthyle, l'acide méthoxy-2 sulfamido-5 benzoïque et autres, représentant environ 50 % des impuretés séparées.

Les tubes suivants, jusqu'à 250 ml, contiennent le "Sulpiride" encore impur.

Afin de purifier ces fractions, on précipite le "Sulpiride" de la solution acétique à 10 % avec de l'ammoniaque à 20 %. Le produit est centrifugé pendant 10 min. à 6000 t/mn. Il est lavé

une fois à l'eau, centrifugé, à nouveau lavé et repris à la pyridine.

En solution dans la pyridine, le produit se trouve sous forme de base libre ; il se conserve très mal et jaunit rapidement. La pyridine est évaporée sous vide et le "Sulpiride" est repris par une solution d'acide acétique à 10 %. On filtre en présence de noir animal sur filtre "Millipore". La solution acétique du "Sulpiride" reste incolore.

Le rendement de purification est de l'ordre de 82 %.

Le rendement global de la synthèse, après purification, est de 22 %.

La pureté du produit à ce stade, est de 99,5 %, contrôlée par chromatographie sur papier.

#### CHROMATOGRAPHIE

Le "Sulpiride" et les intermédiaires marqués ont été chromatographiés sur papier et sur couche mince. Les résultats sont consignés dans le tableau No 1.

La radioactivité des chromatogrammes a été enregistrée par un compteur de radioactivité de type proportionnel.

Les secteurs radioactifs ont été mis en évidence par autoradiographie pour les chromatogrammes sur couches minces (CM).



Tableau No 1

Composition des solvants vol./vol.	Type chromatogra- phie	Rf produits			
		III	V	VI	"Sulpiride"
benzène-acétone (80-20)	CM	0,3	-	-	-
benzène-acétate d'éthyle (60-40)	CM	0,33	-	-	-
benzène-acétate d'éthyle (70-30)	CM	0,32	-	-	-
éthanol-ammoniaque (90-10)	CM	-	0,66	-	-
benzène-acétone (70-30)	CM	-	-	0,47	-
benzène-acétone (50-50)	CM	-	-	-	0,06
BuOH-AcOH-eau (50-50-25)	CM	-	-	-	0,22
n-PrOH-AcOH-eau (50-50-25)	CM	-	-	-	0,32
Pyridine-N-PrOH-AcOH-eau (30-30-5-25)	CM	-	-	-	0,48
CH <sub>3</sub> CN-AcOH-eau (50-25-25)	CM	-	-	-	0,67
n-PrOH-NH <sub>4</sub> OH (90-10)	CM	-	-	-	0,68
n-BuOH saturé HCl IN	P	-	-	-	0,28
n-PrOH-eau-pyridine (70-20-10)	P	-	-	-	0,58
n-BuOH-AcOH-eau (60-20-20)	P	-	-	-	0,63
n-BuOH-AcOH-eau (50-25-25)	P	-	-	-	0,70
n-BuOH-pyridine-eau-ammoniaque (30-50-30-10)	P	-	-	-	0,91

P = chromatographie descendante sur papier Whatman No 1.

CM = chromatographie sur couche mince Silicagel F Schleicher-Schüll, support plastique

SPECTRE U.V.

Le spectre U.V. a été mesuré sur le chlorhydrate de Sulpiride  $^{14}\text{C}$  (Fig. No 1) avec une concentration de 22,8  $\mu\text{g/ml}$ , calculée en Sulpiride base. Ce spectre présente une parfaite identité avec le produit de référence inactif.

Les valeurs du chlorhydrate sont les suivantes :

max (eau) : 290 nm, A 0,17,  $\epsilon_{\text{max}}$  2560

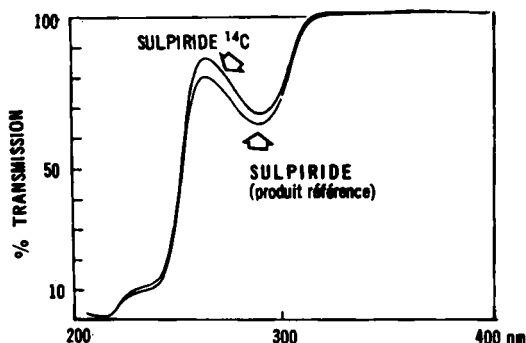


Figure No 1

SPECTRE DE MASSE

La substance non marquée présente 6 à 7 ions caractéristiques:  $m/e = 341$  (M), 326, 214, 199, 111, 98, 70 (Figure No 2a)

Dans le spectre de la substance marquée (activité spécifique 37,6  $\text{mCi/mM}$ ), tous les ions contenant encore le  $^{14}\text{C}$  sont dédoublés : doublets à  $m/e$  : 341-343, 326-328, 199-201 (Figure No 2b).

Le spectre de masse de la molécule marquée non seulement confirme l'identité de la molécule marquée avec le produit de réf-

rence, mais localise le  $^{14}\text{C}$  dans la position prévue de la molécule.

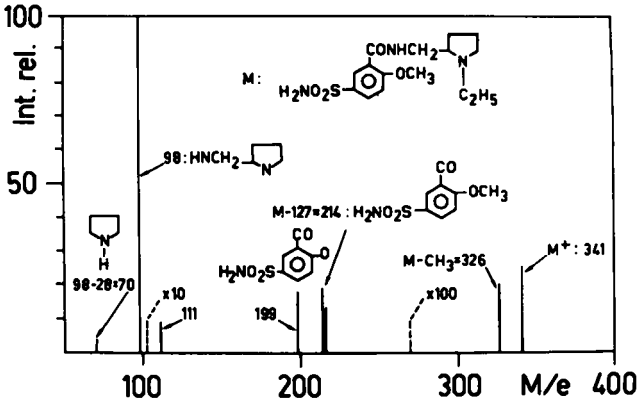


Figure No 2a

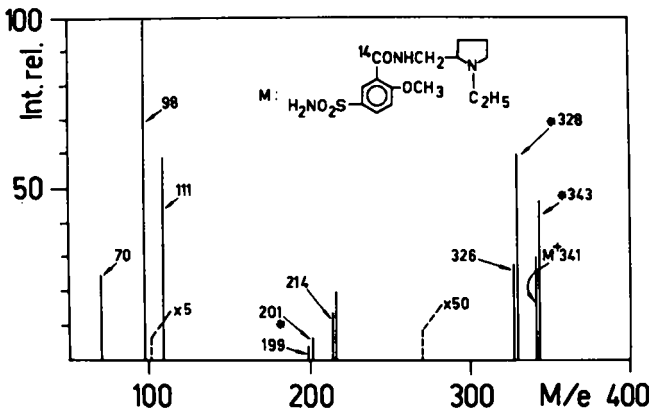


Figure No 2b

### DETERMINATION DE L'ACTIVITE SPECIFIQUE

L'activité spécifique déterminée par les mesures de la radio-activité par "Bremsstrahlung" (6) et de la concentration par U.V., est de 37,6 mCi/mM.

### REMERCIEMENTS

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. Justin-Besançon L. et coll. - CR Acad. Sci. Paris, 265: 1253-54 (1967)
2. Champion C. - Thèse Méd., Paris, 304 p. (1969)
3. Laville C. et Margarit J. - Path. Biol. 17 (1-2): 71-75 (1969)
4. Pichat L. et Carbonnier P. - Rapport CEA France 1148 (1959)
5. Audinot M., Baret C., Herbert M. et Pichat L. - Bull. Inf. Scient. Techniques, 118: 72 (1967)
6. Baret C. et Pichat L. - Bull. Inf. Scient. Techniques 118: 86-87 (1967)