

SYNTHÈSE D'UNE PYRIDAZINE D'INTERET THERAPEUTIQUE, MARQUEE AU CARBONE 14 :
DICHLORHYDRATE DE MORPHOLINOETHYLAMINO-3 METHYL-4 PHENYL-6 PYRIDAZINE ¹⁴C-6
(30,038 CB)

L. Pichat, J.P. Beaucourt

Service des Molécules Marquées, C.E.N.-Saclay
B.P. N° 2 - GIF SUR YVETTE

F. Krausz, C. Moulineau

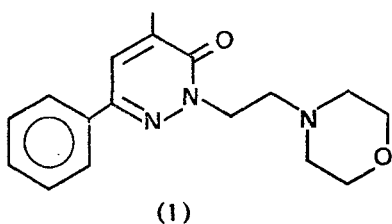
Centre de Recherches CLIN-MIDY
34082 MONPELLIER CEDEX

Received on October 3, 1975

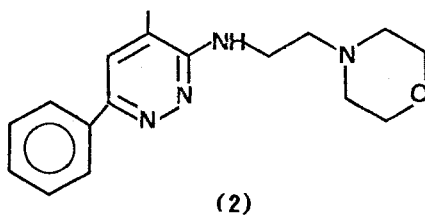
ABSTRACT

Benzoyl chloride-7-¹⁴C is condensed with tris(trimethylsilyl) 1-lithio-1,1,2 propane tricarboxylate, which after hydrolysis gives rise to a 68 % yield of 2-methyl-3-(benzoyl-7-¹⁴C) propionic acid. After cyclisation with hydrazine, followed by treatment with bromine in acetic acid, 3-hydroxy-4-methyl-6-phenyl pyridazine 6-¹⁴C is secured in a 77 % yield. This hydroxypyridazine treated with POCl₃ gave a 90 % yield of 90 % pure 4-methyl-6-phenyl-3-chloropyridazine 6-¹⁴C: The latter treated with 2-morpholino-1-aminoethane in presence of sodium iodide has given 3-morpholinoethylamino 4-methyl 6-phenylpyridazine 6-¹⁴C. The overall yield based on barium carbonate ¹⁴C is 16.7 % (specific activity 18.5 mCi/mMole).

Dès 1965, Wermuth (1) et Laborit (2)(3)(4) ont montré que la morpholinoéthyl-2 méthyl-4 phényl-6 pyridazone-3 ou Ag 246 : 1 était douée d'intéressantes propriétés analgésiques et psychotropes. Ce composé a été le point de départ de recherches de cette équipe sur la chimie des aryl-6 pyridazones-3, ainsi que sur les relations structure-activité dans ce groupe (5)(6)(7). Ces études ont abouti (8) à l'Ag 1240 ou 30. 038 CB : 2 morpholinoéthylamino-3 méthyl-4 phényl-6 pyridazine doué de propriétés psycho- et neuro-stimulantes.



Ag 246

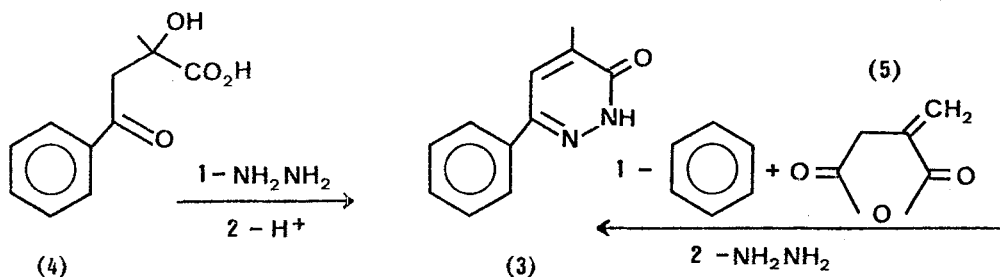


Agr 1240 ou 30.038 CB

Pour en préciser le mode d'action, le métabolisme et la pharmacocinétique, il s'est révélé nécessaire de synthétiser cette molécule, avec un marquage au carbone 14, de préférence dans le noyau pyridazine.

Les méthodes de synthèse du 30.038 CB passent par l'intermédiaire de la méthyl-4 phényl-6 pyridazone-3 : **3** sur laquelle on greffe la chaîne latérale.

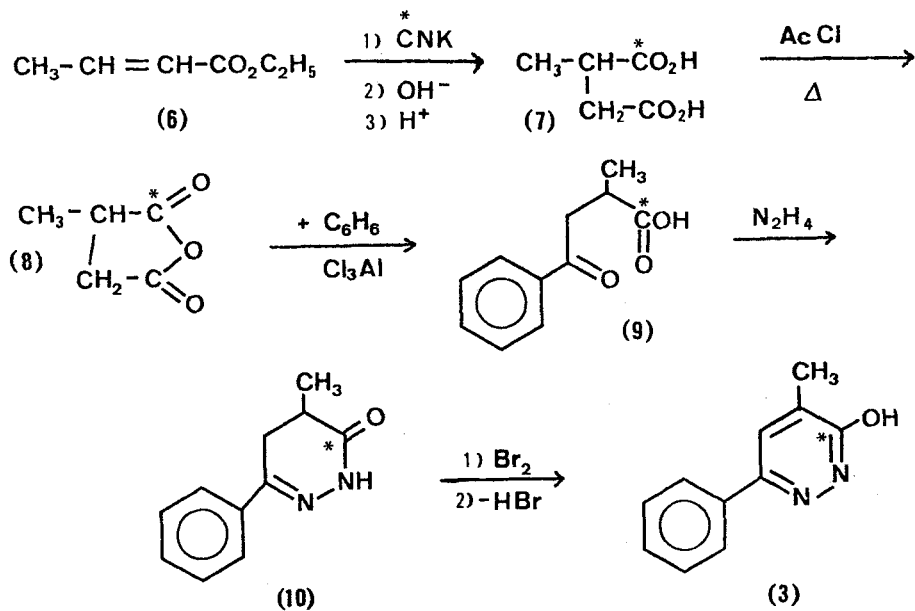
Classiquement, la pyridazone-3 : **3** est obtenue par cyclisation de l'acide α -méthyl β -benzoyllactique **4** avec l'hydrazine puis déshydratation de l'hydroxypyridazinone intermédiaire (1)(9).



Cette voie nous a paru inutilisable pour la synthèse du produit marqué au carbone 14 par suite des difficultés à préparer l'acide **4** marqué au carbone 14, à l'aide de réactifs marqués eux-mêmes coûteux (acétophénone ^{14}C ou acide pyruvique ^{14}C). Les mêmes considérations s'appliquent également à une variante (10) de cette méthode de préparation de **3**. La voie la plus récente décrite par Wermuth (11) consistant à cycliser avec l'hydrazine l'acide α -méthylène β -benzoylpropionique obtenu par réaction de Friedel-Crafts entre le benzène et l'anhydride itaconique **5** ne nous a pas paru applicable à notre but. En effet l'anhydride itaconique ^{14}C (12) est un réactif d'accès relativement peu aisé.

Nous avons étudié deux routes pour la synthèse du 30.038 CB, via la méthyl-4 phényl-6 pyridazone-3 :

Schéma 1

SYNTHÈSE DU 30.038 CB ¹⁴C-3

Voie A : méthyl-4 phényl-6 hydroxy-3 pyridazine-¹⁴C-3

L'addition de cyanure de potassium ¹⁴C sur le crotonate d'éthyle suivie d'une saponification fournit selon (13) l'acide α méthylsuccinique 7 avec un rendement de 69 %. Ce dernier est transformé en anhydride par chauffage à reflux avec le chlorure d'acétyle (14) avec un rendement de 75 %. L'anhydride 8 est condensé sur le benzène selon Friedel-Crafts, dans le nitrométhane (16) pour conduire à l'acide méthyl-2 benzoyl-3 propionique 9 avec un rendement de 81 %. Nous n'avons pas observé, tout comme S. DIXON et al. (15) et KHALAF (16) de formation de l'isomère β-méthyl. La cyclisation de 9 avec l'hydrazine selon DIXON et al. (15) a fourni l'oxo-3 méthyl-4 phényl-6 dihydro-2,3 pyridazine 10 avec un rendement de 80 %. La déshydrogénéation de 10 par action du brome dans l'acide acétique (15) a conduit à la méthyl-4 phényl-6 hydroxy-3 pyridazine 3 avec un rendement de 92 %.

Cette route n'a été explorée que dans des essais "à blanc". Bien que les rendements de chaque étape aient été satisfaisants elle a été abandonnée au profit de la voie B (schéma 2) plus courte, qui utilise l'acide benzoïque carboxyl ¹⁴C, facile à préparer (17) par carbonatation (¹⁴CO₂) du bromure de phénylmagnésium et qui permet le marquage du cycle pyridazine sur la position 6.

Les étapes suivantes sont identiques à celles de la voie A. Après cyclisation avec l'hydrazine et traitement au brome on obtient l'hydroxy-3 pyridazine ¹⁴C-6 : **12'** avec un rendement radioactif de 77 % pour ces deux opérations.

12' traité par POCl₃ (22)(23) a fourni la chloropyridazine **13** de pureté 90 % avec un rendement 90 %. La substitution nucléophile de la chloropyridazine **13** par le morpholino-2 amino-1 éthane employé en excès, est facilitée par l'addition d'iodure de sodium mais le rendement n'est toutefois que de 36 % après purification. Cette dernière est effectuée sur le 30.038 CB sous forme de base, par chromatographie sur colonne de silicagel. Le produit est ensuite transformé quantitativement en chlorhydrate. Le rendement global par rapport à Ba ¹⁴CO₃ a été de 16,7 %.

PARTIE EXPERIMENTALE

Acide benzoïque ¹⁴C

2,7 mMoles (150 mCi) de Ba¹⁴CO₃ (activité spécifique 56 mCi/mMole) sont traités par H₂SO₄ concentré. Le ¹⁴CO₂ obtenu est condensé à - 20° C sur 2,8 mM de bromure de phényl magnésium en solution étherée. Après hydrolyse, extraction et séchage, on obtient 140 mCi d'acide benzoïque ¹⁴C-7 (activité spécifique 56 mCi/mMole).

Chlorure de benzoyle ¹⁴C-7

L'acide benzoïque obtenu en solution dans 30 ml de benzène anhydre est traité par 5 ml de chlorure de thionyle fraîchement distillé, pendant 3 h à 80° C. Après refroidissement, le mélange est porté à sec à l'évaporateur rotatif. Il reste une huile qui est utilisée sans purification pour l'étape suivante.

Propanetricarboxylate 1,1,2 de tris(triméthylsilyle)

L'acide propane 1,1,2tricarboxylique est obtenu par saponification de l'ester éthylique correspondant (EGA-Chimie Allemagne) (10,7 g-40 mMoles) par 7,8 g (140 mMoles) de potasse en solution dans 30 ml d'un mélange eau-méthanol (50-50) pendant 2 h à 80° C. Après refroidissement, évaporation du méthanol, acidification à 0° C par HCl 10 % et extraction en continu à l'éther, on obtient (7g - 40 mMoles) d'acide libre sous forme d'un produit cristallisé blanc :

- Point de fusion : 166° C
- Spectre RMN (¹H) (dans l'acétone D₆)
 - δ = 9,80 ppm (s - 3 H - COOH)
 - δ = 3,82 ppm (d - J = 9,75 Hz - 1 H - CH)
 - δ = 3,50 ppm (m - J = 9,75 Hz et J = 6,75 Hz - 1 H - CH)
 - δ = 1,38 ppm (d - J = 6,75 Hz - 3 H - CH₃)

L'acide ainsi obtenu est solubilisé dans 50 ml d'éther anhydre et traité pendant 5 mn à la température ambiante par 20 ml de N-Bis(triméthylsilyl) acétamide. Le mélange est porté à sec à l'évaporateur rotatif puis séché à 100° C sous vide. Le résidu huileux obtenu avec un rendement quantitatif est caractérisé par RMN.

Spectre RMN (^1H) (sans solvant) :

$\delta = 3,75$ ppm (d - J = 9,75 Hz - 1 H - CH)

$\delta = 3,15$ ppm (m - J = 9,5 Hz et J = 6,74 Hz - 1 H - CHCOO)

$\delta = 1,35$ ppm (d - J = 6,75 Hz - 3 H - CH₃)

$\delta = 0,00$ ppm (s - 27 H - SiMe₃)

Lithio-1 propane 1,1,2 tricarboxylate de TMS : 12

L'ester silylé est mis en solution dans 50 ml d'éther anhydre et traité 15 mn à - 70° C par 9 mM de n-Butyllithium (Fluka-Suisse) en solution dans l'hexane (1,5 mMoles/ml).

Acide méthyl-2 (benzoyl- ^{14}C -7)-3 propionique : 11

A la solution précédente de 9 mMoles de dérivé lithié maintenue à - 70° C, on ajoute goutte à goutte 2,5 mMoles (140 mCi) de chlorure de benzoyle ^{14}C -7 en solution dans 50 ml de diméthoxy-1,2 éthane anhydre ("monoglyme"). Après fin d'addition, on laisse la température du bain remonter à la température ambiante puis on poursuit l'agitation pendant 15 heures. Le mélange réactionnel est ensuite hydrolysé par 30 ml d'eau. Après décantation, séparation de la couche organique, lavage de la couche aqueuse à l'éther, les phases organiques sont réunies et portées à sec. Le résidu est repris par 30 ml d'acétone. L'insoluble est filtré sur verre fritté n° 4.

L'acide 11 en solution dans l'acétone est purifié par chromatographie préparative sur plaque de gel de silice Merck 60 F 254 (20 x 40 cm). On utilise pour le développement le mélange de solvants : éther diisopropylique, acétate d'éthyle (9-1). Le Rf de 11 est dans ces conditions de 0,7. L'acide 11 est extrait du gel de silice par 250 ml du mélange : acétone, méthanol(9-1). Cette solution est concentrée à l'évaporateur rotatif jusqu'à un volume de 30 ml. On ajoute 30 ml d'acétone et on filtre sur filtre "Millipore". La solution contient 100 mCi (1,8 mMoles) d'acide méthyl-2 benzoyl-3 propionique 11 radiochimiquement pur sur gel de silice dans le système de solvants utilisé pour la purification.

Spectre RMN (acétone D₆)

$\delta = 1,38$ ppm (d - 3 H - CH₃)

$\delta = 3,0$ ppm à 4,05 ppm (m - 3 H - CH₂ - CH)

$\delta = 7,8$ ppm à 8,60 ppm (m - 5 H - aromatiques)

Oxo-3 méthyl-4 phényl-6 dihydro-2,3 pyridazine ¹⁴C-6 : 3

L'acide **11** est dilué par du composé "froid" de manière à ramener l'activité spécifique à 19 mCi/mMole. 100 mCi (5,3 mMoles) de **11** sont solubilisés à 60° C dans 5 ml de soude normale, puis traités à cette température par 700 mg (5,3 mMoles) de sulfate d'hydrazine solubilisé à chaud dans 5 ml de soude normale. Après fin d'addition, on chauffe encore 2 h à 100° C. On note l'apparition d'un précipité. Après refroidissement, on abandonne une nuit à 0° C. Le précipité blanc formé est recueilli sur filtre "Millipore" et repris au chloroforme. Cette solution contient 91 mCi (4,8 mMoles) de pyridazinone radiochimiquement pure sur plaque de gel de silice dans le système de solvants : éther diisopropylique, acétate d'éthyle (9-1) - Rf = 0,54.

Méthyl-4 phényl-6 hydroxy-3 pyridazine : 12'

La solution chloroformique de pyridazinone précédente est portée à sec et le résidu cristallisé est repris par 4 ml d'acide acétique et chauffé à 50° C. Après solubilisation totale, on ajoute très lentement (20 mn) à cette solution maintenue à 50° C, 2,6 ml d'une solution de 0,5 ml (4,6 mMoles) de brome dans 5 ml d'acide acétique. On chauffe ensuite pendant 30 mn à 100° C puis la solution chaude est versée avec précaution sur 20 ml du mélange : eau + glace. Un précipité se forme. On abandonne quelques heures à 0° C et on filtre sur filtre "Millipore". Le précipité est repris au chloroforme pour comptage et chromatographie. On obtient 77 mCi (4,1 mMoles ; Rdt = 85 %) de **12'** dont la pureté radiochimique est de 90 % en chromatographie sur plaque de gel de silice dans le système de solvants : éther diisopropylique, acétate d'éthyle (9-1) - Rf = 0,32.

Chloro-3 méthyl-4 phényl-6 pyridazine ¹⁴C-6 : 13

77 mCi (4,1 mMoles) de **12'** sont repris par 2 ml de POCl₃ fraîchement distillés et chauffés 2 h à 110° C. La solution chaude est ensuite versée sous agitation sur 150 ml d'eau froide. Après alcalinisation par addition de NH₄OH, le précipité qui s'est formé est extrait au chloroforme. On obtient ainsi 70 mCi (3,7 mM) du dérivé chloré **13** de pureté radiochimique 90 % comme le montre une radiochromatographie sur plaque de gel de silice dans le système de solvants : éther diisopropylique, acétate d'éthyle (9-1) - Rf = 0,84.

Morpholinoéthylamino-3 méthyl-4 phényl-6 pyridazine ¹⁴C-6 (30.038 CB) : 14

70 mCi (3,7 mMoles) de **13** sont dissous dans 10 ml de n-butanol. On ajoute 0,25 g (1,7 mMoles) d'iodure de sodium et 1,3 g (10 mMoles) de morpholino-2 amino-1 éthane et on chauffe 48 h à reflux. Le mélange réactionnel est ensuite porté à sec à l'évaporateur rotatif. Le résidu est repris par 30 ml de chlorure de méthylène et extrait plusieurs fois par HCl2N. Les solutions acides réunies sont lavées au chlorure de méthylène puis alcalinisées par NH₄OH. La solution

alcaline obtenue est extraite au chloroforme. La solution chloroformique contient 36 mCi. L'analyse chromatographique indique que environ 25 mCi sont sous forme de 30.038 CB base 14 .

Purification du 30.038 CB 14

Le 30.038 CB base 14 est purifié par chromatographie sur une colonne de gel de silice (L = 1 m ; ϕ = 2 cm), élution par le mélange chloroforme-éthanol (9-1). Fractions : 5 ml/tube. Le produit est recueilli entre les tubes 55 et 120. On obtient 25 mCi de 14 radiochimiquement pur. La purification est achevée par une recristallisation dans l'isopropanol.

Chlorhydrate du 30.038 CB : 14

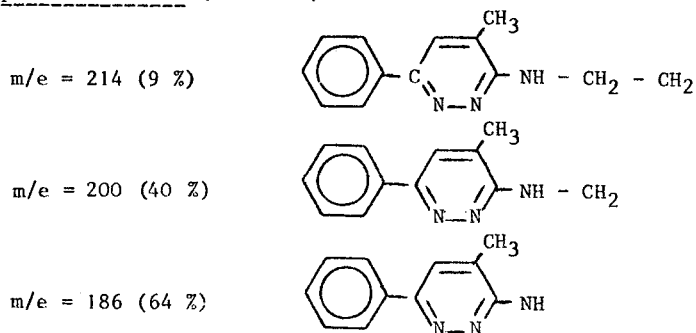
Une solution chloroformique de 25 mCi (1,33 mMoles) de 30.038 CB base 14 est bien agitée avec 0,4 ml de HCl concentré. La solution est ensuite portée à sec à l'évaporateur rotatif et le produit cristallisé obtenu est séché sous vide, puis séché à l'étuve à 90° C jusqu'à poids constant. On obtient finalement 25 mCi (1,33 mMoles - 514 mg) de 30.038 CB d'activité spécifique 18,5 mCi/mM (déterminée par spectrométrie de masse).

Contrôle de pureté

- Pureté chimique :

+ Spectre U.V. (dans l'éthanol) : λ_{\max} = 268 nm

+ Spectre de masse (à 110° C) :



- Pureté radiochimique :

Contrôlée par radiochromatographie sur plaques :

a) gel de silice Schleicher-Schüll LS 254

solvants : Chloroforme - éthanol : 9-1

Ether diisopropylique - acétate d'éthyle : 9-1

Benzène - dioxane - acide acétique : 90-23-4

Benzène - méthanol - acide acétique : 45-8-3

Méthyléthylcétone - diméthylformamide - ammoniacque :

13-1,9-0,1

b) cellulose Schleicher-Schüll LS 254

solvant : Ethanol - ammoniacque 20 % - eau : (80-20-10)

La pureté radiochimique est supérieure à 99 %.

BIBLIOGRAPHIE

1. C.G. WERMUTH, *Agressologie* 6, 401, (1965)
2. H. LABORIT, C.G. WERMUTH, B. WEBER, B. DELBARRE, C. CHEKLER, C. BARON, H. ROSENGARTEN, *Agressologie* 6, 415, (1965)
3. H. LABORIT, B. WEBER, B. DELBARRE, C. BARON, *Agressologie* 6, 483, (1965)
4. G. LABORIT, B. AGNES, C. PERREAUT, *Agressologie* 6, 505, (1965)
5. C.G. WERMUTH, G. LECLERC, *Chim. Thér.*, 243, (1970)
6. C.G. WERMUTH, G. LECLERC, P. MELOUNOU, *Chim. Thér.*, 141, (1970)
7. C.G. WERMUTH, G. LECLERC, J. SCHREIBER, *Chim. Thér.*, 109, (1971)
8. C.G. WERMUTH, A. EXINGER, *Agressologie* 13, 285 (1972)
9. G. LECLERC, C.G. WERMUTH, *Bull. Soc. Chimique*, 1307, (1967)
10. G. LECLERC, Thèse Docteur Es-Sciences - Strasbourg (520), (1969)
11. A. EXINGER, C.G. WERMUTH, *Synthesis*, 817 (1974)
12. H. COUSSE, B. BONNAUD, L. PICHAT, F. AUBERT, *J. Labelled compounds*, sous presse (1975)
13. G.B. BOSWORTH, *Organic Synthesis*, Editor E.C. HORNING, Coll. Vol. 3, 615, (1955)
14. F. MAYER, *Ber.*, 56, 1424 (1923)
15. S. DIXON, H. GREGORY, L.F. WIGGINS, *J. Chem. Soc.* 2139 (1949)
16. A.A. KHALAF, R.M. ROBERTS, *J. Org. Chem.*, 38, 1388, (1973)
17. C. BARET, L. PICHAT, *Bull. Soc. Chimique*, 18, 580, (1951)
18. L. PICHAT, J.P. BEAUCOURT, M. HERBERT, *Radioisotopy*, 12, 519, (1971)
19. L. PICHAT, J.P. BEAUCOURT, *Synthesis*, 573, (1973)
20. NGUYEN H-NAM, J.P. BEAUCOURT, H. HOELLINGER, L. PICHAT, *Bull. Soc. Chim.* 1367, (1974)
21. L. PICHAT, J.P. BEAUCOURT, F. KRAUSZ, J.C. BRELIERE
J. Labelled Compounds, sous presse (1975)
22. A. OPPENHEIM, *Ber.*, 34, 4231, (1902)
23. G. LECLERC; C.G. WERMUTH, *Bull. Soc. Chim.*, 1752, (1971)