

SYNTHESE D'UN DIURETIQUE MARQUE AU CARBONE 14 :
 ACIDE DICHLORO-2,3 [THENOYL-2 ($^{14}\text{C} = \text{O}$)]-4 PHENOXY ACETIQUE
 (D.C.I. ACIDE TIÉNILIQUE)

M.HERBERT, L. PICHAT
 Service des Molécules Marquées - C.E.N.-SACLAY
 B.P. N° 2 - GIF SUR YVETTE 91190 F

Received on February 13, 1976

Abstract

2-Thenoic acid ($^{14}\text{C} = \text{O}$) 1 is prepared in 75 % radioactive yield by carbonation with $^{14}\text{CO}_2$ of 2-thienyl-magnesium bromide. Boiling of 1 with oxalyl chloride gives rise to 2-thenoylchloride (^{14}C) which is not isolated and is condensed with 2,3 dichloroanisole under Friedel-Crafts conditions. Ketone 3 is demethylated with AlCl_3 in benzene to give rise to 4- 2-thenoyl ($^{14}\text{C} = \text{O}$) -2,3-dichloro phenol 4. The sodium derivative of 4 is condensed in D.M.F. with sodium chloracetate to lead to the title compound with an overall yield of 16 % based on $^{14}\text{CO}_2$ - Tienilic acid - ^{14}C , specific activity : 50 mCi/mMole, has been found to be sensitive to self-irradiation decomposition in the dry state at -25°C . Radiation decomposition is minimized at 24 mCi/mMole in methanol solution.

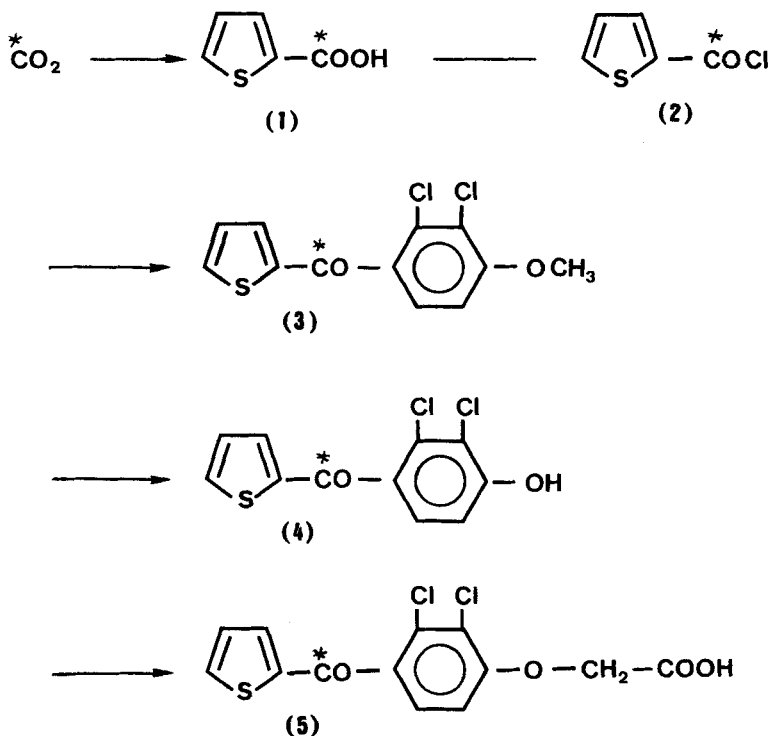
L'acide dichloro-2,3(thénoyl-2)4 phénoxyacétique (D.C.I : Acide tiénilique*) 5 est un diurétique apparenté à l'acide étacrynique, aux propriétés pharmacologiques intéressantes (1)(2). Pour en préciser le métabolisme, le mécanisme d'action et la pharmacocinétique (3), il a été nécessaire de synthétiser cette molécule marquée au ^{14}C . La position de marquage choisie est la fonction carbonyle. La synthèse a été réalisée à partir de $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ en 6 étapes selon le schéma 1, à une activité spécifique de 54,5 mCi/mMole.

La carbonatation avec $^{14}\text{CO}_2$ du bromure de thiényl-2 magnésium a fourni l'acide thénoïque (carboxyl ^{14}C) avec un rendement radioactif de 75 %. Pour la transformation en chlorure de thénoyle (^{14}C) nous avons dû avoir recours à l'action du chlorure d'oxalyle. Le chlorure de thionyle utilisé en excès, dans des essais préliminaires, est difficile à éliminer du chlorure de thénoyle assez volatil, et gêne l'opération

* Synthèse réalisée à la demande des Laboratoires ANPHAR
 91380 CHILLY-MAZARIN

Schéma 1

ACIDE TIENILIQUE



suivante qui ne se fait alors qu'avec un faible rendement. Par contre, le chlorure d'oxalyle ne gêne pas la réaction de Friedel-Crafts du chlorure 2 - qu'il n'est pas nécessaire d'isoler - avec le dichloro-2,3 anisole. La thiényl-2 (dichloro-2,3 méthoxy-4) phényl cétone 3 contenant environ 10 % de cétone déméthylée 4 est isolée avec un rendement radioactif global de 90 % par rapport à l'acide thénofque 1. Nous n'avons pas observé de formation d'isomère de position. Ce mélange a été déméthylé en cétone 4 par action du chlorure d'aluminium dans le benzène au reflux. Des essais préliminaires ayant montré que le rendement de l'opération suivante dépendait de la pureté de cette cétone 4, celle-ci a été purifiée par chromatographie sur colonne de silicagel.

La condensation du monochloracétate de sodium \sim sur le dérivé sodé de 4 dans la D.M.F. à 100° C exige l'emploi d'un excès notable de 6 ; lorsque cet excès est trop important apparaît la formation d'une impureté polaire que nous n'avons pas identifiée.

Le rendement global par rapport à $^{14}\text{CO}_2$ a été de 16 % après purifications (voir partie expérimentale). L'activité spécifique trouvée a été de 50,6 mCi/mMole par suite d'une légère dilution isotopique au

stade de la carbonatation initiale.

De manière inattendue, l'acide thiénylique d'activité spécifique : 50,6 mCi/mMole est radiosensible. Conservé à sec, sous vide, à -25°C il donne lieu à la formation de 8 % d'impuretés en 6 semaines. Deux de ces impuretés n'ont pas été identifiées, et on a noté l'apparition de petites quantités de phénol 4 .

Après purification sur une colonne de "Séphadex LH 20" l'activité spécifique a été ramenée à 24 mCi/mMole par addition d'entraîneur. L'acide thiénylique a alors été conservé en solution dans le méthanol (0,5 mCi/ml) à -25°C . Dans ces conditions la décomposition radiochimique a été de 3 % en 5 mois. Les impuretés formées sont alors différentes : elles ne peuvent être séparées par chromatographie sur "Séphadex LH 20". Nous avons dû avoir recours à une chromatographie sur colonne de silice H (Merck-Darmstadt), solvant d'élution : benzène, acétate d'éthyle, acide acétique (20 : 40 : 1).

PARTIE EXPERIMENTALE

Abréviations : C.C.M. = chromatographie en couche mince
R.M.N. = résonance magnétique nucléaire
D.M.F. = diméthylformamide

Acide thénolique (carboxyle ^{14}C) : 1

Le bromure de thiénylmagnésium (0,5 M) préparé dans l'éther est carbonaté à -20°C avec $^{14}\text{CO}_2$ dégagé de 20 mCi de $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ (activité spécifique : 54,5 mCi/mMole). Après les traitements habituels et purification par sublimation, on obtient 2,8 mMoles - 155 mCi - d'acide thénolique .

Thiényl-2 (dichloro-2,3 méthoxy-4) phényl cétone ^{14}C : 3

A l'acide précédent, on ajoute 0,5 ml (6 mMoles) de chlorure d'oxalyle puis chauffe la solution à reflux pendant une nuit. Le mélange est refroidi, dilué avec 10 ml de chlorure de méthylène puis on ajoute successivement 715 mg (4 mMoles) de dichloro-2,3 anisole et 665 mg (5 mMoles) de chlorure d'aluminium. Le mélange est agité magnétiquement pendant 3 jours à la température ambiante. On hydrolyse par addition de glace. La CCM (silicagel Merck F 254 ; solvants : chloroforme et benzène) montre que le mélange réactionnel contient 10 % d'acide 1 , 80 % de cétone 3 et de 10 % de cétone 4 .

Le mélange réactionnel est alcalinisé à la soude puis extrait à l'éther. On obtient 139 mCi de mélange 3 et 4 (Rendement 90 %).

L'acidification de la phase aqueuse, suivie d'une extraction à l'éther permet de récupérer 13 mCi d'acide thénolique 1 .

[Thénol]-2 ($^{14}\text{C} = 0$)]-4 dichloro-2,3 phénol : 4

Le mélange 3 + 4 précédent, mis en solution dans le benzène (10 ml) avec 610 mg de AlCl_3 (4,5 mMoles) est chauffé à reflux pendant 15 heures. A ce stade, une C.C.M. montrant que la déméthylation est incomplète, on ajoute environ 500 mg de AlCl_3 et poursuit le chauffage à reflux.

Après hydrolyse à la glace, extraction à l'éther on obtient 132 mCi de phénol 4 brut. On purifie par chromatographie sur une colonne de silicagel (Woelm adsorption) ($\varnothing = 2$ cm, $h = 50$ cm) avec élution au benzène. On récupère 127 mCi de phénol 4 radiochimiquement pur dont le spectre RMN est identique à celui d'un échantillon témoin.

Acide dichloro-2,3 [thénol]-2 ($^{14}\text{C} = 0$)]-4 phénoxy acétique (acide tiénilique) : 5

Une fraction du phénol 4 (84 mCi - 1,55 mMoles) en solution dans la DMF anhydre (10 ml) est traitée par 1,9 mMoles de NaH, à la température ambiante. Après fin de réaction, à la solution colorée en jaune, on ajoute 2 mMoles de monochloracétate de sodium puis on chauffe à 100°C pendant 18 heures. Après hydrolyse on extrait la solution alcaline à l'éther puis, à nouveau après acidification à l'acide sulfurique 6 N. Cet extrait acide (83 mCi) analysé en CCM contient environ 60 % de phénol 4 non transformé. La solution étherée est alors extraite par une solution saturée de NaCO_3H , qui laisse le phénol 4 dans la phase étherée. La phase bicarbonate, analysée en CCM contient 1-2 % de 4 et 2-3 % d'une impureté très polaire, non identifiée.

Une deuxième fraction de phénol 4 (43 mCi - 0,9 mMoles) est traité de manière identique mais en portant à 1,8 mMoles les quantités de NaH et de monochloracétate de sodium. On a obtenu 25 mCi de 5. Toutefois la proportion d'impureté polaire a augmenté (10 %).

L'acide tiénilique a été purifié par chromatographie sur colonne ($\varnothing = 2$ cm, $h = 80$ cm) de "Séphadex LH 20" avec élution par le méthanol. On a obtenu 32 mCi de ANP 3624.

La pureté radiochimique contrôlée par CCM (Plaques Merck silicagel F 254) dans les solvants ci-dessous, est de 99 %.

Ether-Acide acétique (50 : 50)	-	$R_F = 0,73$
Ethanol-Ammoniaque (95 : 5)	-	$R_F = 0,70$
Benzène-Acétate d'éthyle-Acide acétique (15 : 60 : 5)	-	$R_F = 0,47$

Les spectres RMN et UV sont identiques à ceux d'un échantillon

témoin. L'activité spécifique mesurée par spectrophotométrie UV et scintillation liquide est de 50,6 mCi/mMole.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Mesdames G. THUILLIER et J. LAFOREST (Laboratoires ANPHAR) pour les informations qu'elles nous ont fournies sur la préparation de l'acide tienilic et pour la fourniture généreuse de composés intermédiaires.

REFERENCES

- 1 - Brevet français n° 2.068.403 (12.03.73)
- 2 - G. THUILLIER, J. LAFOREST, B. CARIOU, P. BESSIN, J. BONNET et J. THUILLIER
"Dérivés hétérocycliques d'acides phénoxyacétiques - Synthèse et étude préliminaire de leurs activités diurétique et uricosurique".
Eur. J. Med. Chem. - Chimica Therapeutica, 1974, 9 (6), 625-633
- 3 - Y. DORMARD, J.C. LEVRON, P. ADNOT et T. LEBEDEFF
"Pharmacokinetic study of 2,3-dichloro-4-(2-thienyl-keto ^{14}C) phenoxy acetic acid (Tienilic acid) in animals. I. Localisation, distribution and elimination of ^{14}C tienilic acid in animals.
Eur. J. Drug Metabolism (à paraître).