

MARQUAGE PAR LE  $^{14}\text{C}$  DU CHLORHYDRATE DE DIPHENYL ACETATE DE  
NN DIETHYL AMINO-2 ETHYLE OU ADIPHENINE

Jean-Claude MADELMONT et Josette MICHELOT  
INSERM. Unité de Recherche U 71, Etude métabolique  
des molécules marquées, 63005 Clermont-Ferrand  
Cedex, France.

SUMMARY

Adiphenin was labelled on two positions by  $^{14}\text{C}$   
- on the amino ethanol part by means of  $^{14}\text{C}$   
ethanol amine.  
- on the carboxylic group by means of  $^{14}\text{C}$   
carbon dioxide

RESUME

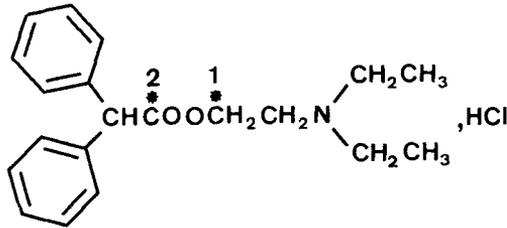
L'adiphénine a été marquée en deux positions par  $^{14}\text{C}$   
- sur la partie éthanol amine par l'intermédiaire  
d'éthanolamine  $^{14}\text{C}$   
- sur le groupe carboxyle à l'aide de dioxyde de  
carbone  $^{14}\text{C}$ .

Le chlorhydrate de diphenyl acétate de NN-diéthyl  
amino-2, éthyle ou adiphénine est un atropinique de synthèse qui possède  
par ailleurs d'intéressantes propriétés thyro-stimulantes.

Récemment un groupe de chercheurs a montré que ce composé possède une activité stimulante "in vivo" sur la captation de l'iode radioactif (1) et sur la concentration plasmatique en TSH (2). Des études de son mécanisme d'action sur la sécrétion de TSH ont été entreprises comparativement à l'action du stimulateur physiologique, la TRH (3).

Nous nous sommes proposés de marquer l'adiphénine par le  $^{14}\text{C}$  afin, dans un premier temps, d'en effectuer l'étude pharmacocinétique et métabolique.

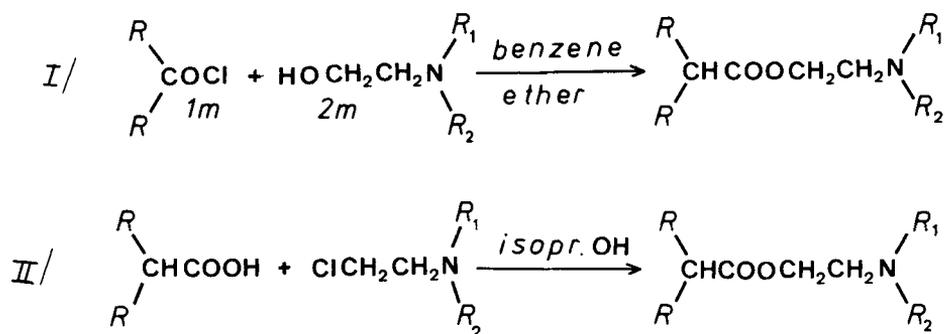
La formule de ce composé est la suivante :



Compte tenu de la structure du produit nous avons envisagé deux positions de marquages : l'une sur le carbone 2 de la N,N di éthanol amine, l'autre sur le carboxyle de l'acide diphenyl acétique de manière à suivre le devenir de chacun des groupements de l'ester.

Les synthèses d'alkyl amino esters d'acides aryl acétique sont décrites dans la littérature depuis 1943 (4 à 7).

Les deux méthodes suivantes sont généralement proposées (schéma n° 1).



$R = \text{aryl.} \quad R_1, R_2 = \text{alkyl.}$

(Schéma n°1)

Pour le premier marquage nous avons écarté la première méthode en raison d'une part de son faible rendement (14 à 45 %) et du fait que l'on travaille en excès d'amino alcool d'autre part (2 moles d'amine pour 1 mole d'acide).

La seconde parait meilleure puisqu'elle permet d'atteindre 60 à 70 % d'esters dans certains cas (4).

Nous avons donc travaillé la deuxième voie de synthèse de manière à optimiser les rendements.

Cette technique présente cependant deux inconvénients :

- pour le premier marquage, nous devons opérer avec la chloro-2 éthyl N,N-diéthylamine que l'on prépare à partir de la N,N-diéthyl éthanol amine. Cela implique une étape radioactive supplémentaire. Il faut donc que la chloruration ainsi que l'estérification soient optimales.

- il existe un risque non négligeable d'estérifier le solvant (isopropanol) ce qui entrainerait une baisse de rendement qu'il faut éviter surtout dans le cas du second marquage. De fait, les essais non radioactifs réalisés dans ce milieu ont montré que l'on isolait une proportion importante (jusqu'à 50 % calculé par rapport à l'acide diphényl acétique) de diphényl acétate d'isopropyle.

Nous avons étudié la réaction dans d'autres solvants (éther, THF, benzène, acétonitrile) et nous avons retenu l'acétonitrile.

Marquage n°1.

Nous avons opéré selon le schéma suivant : (Schéma n°2)

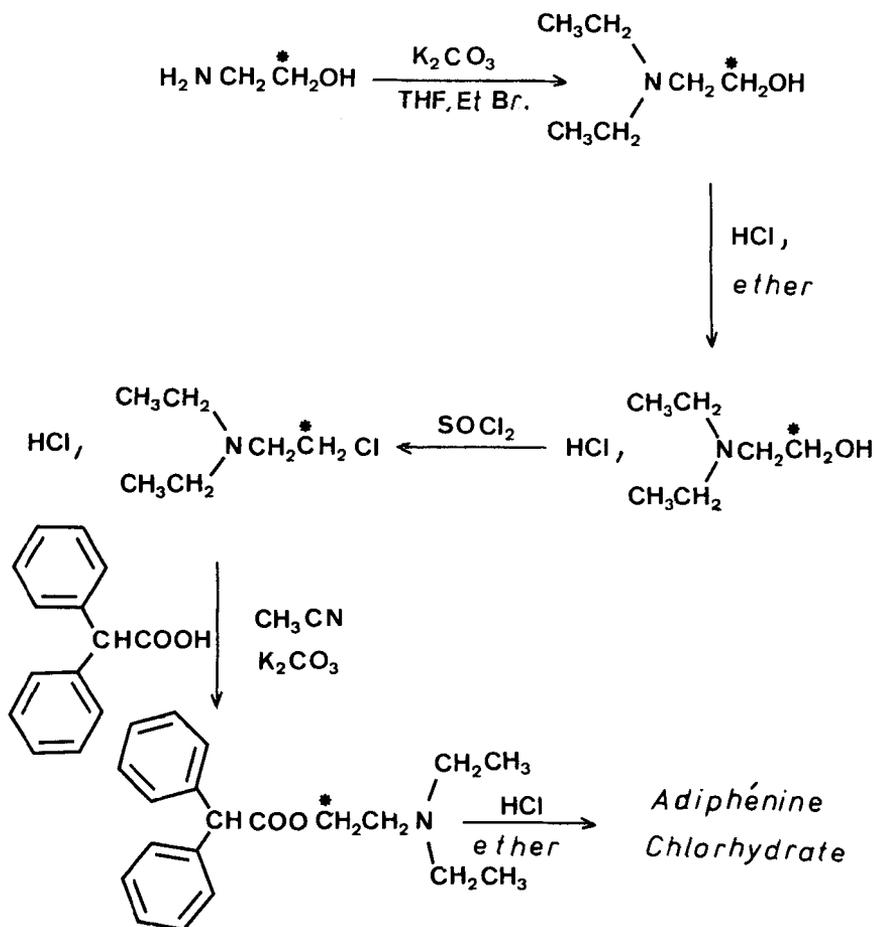


Schéma n°2

La 2,<sup>14</sup>C, éthanolamine est alkylée dans le THF pour donner la 2,<sup>14</sup>C N,N-diéthyléthanolamine dont le chlorhydrate traité par SOCl<sub>2</sub> permet d'obtenir la 2,<sup>14</sup>C, chloro-2, éthyl NN-diéthylamine. La réaction d'estérification est effectuée dans l'acétonitrile en présence de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. A partir de l'adiphenine base, on prépare le chlorhydrate qui est la forme utilisée pour les études biologiques.

Dans ce schéma la radioactivité est introduite dès la première étape et les difficultés résident dans la manipulation des éthanolamines (très hydrosolubles) et des chloroéthylamines (très réactives). Afin d'éviter les pertes de radioactivité nous effectuons le minimum de purification sur les étapes intermédiaires (voir partie expérimentale).

Cette synthèse nous a permis d'obtenir le chlorhydrate d'adiphénine avec un rendement radiochimique de 50 %.

### Marquage n°2.

Il a été conduit selon le processus suivant (schéma n°3).

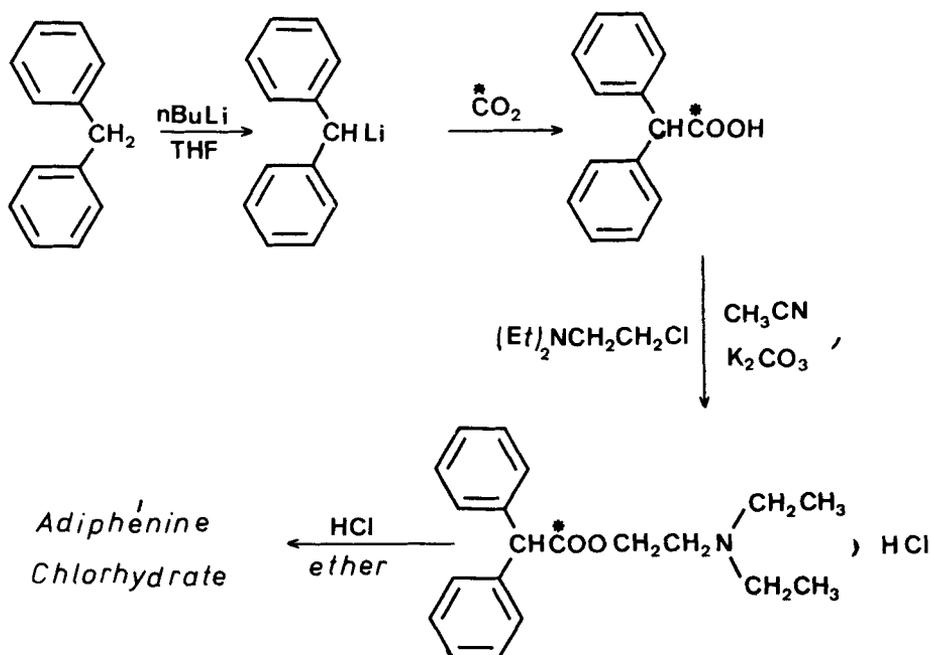


Schéma n°3

La préparation du lithien du diphényl méthane dans le THF suivie de la carbonatation radioactive permet d'obtenir l'acide diphényl acétique avec un rendement de 70 % (calculé par rapport au  $^{14}\text{CO}_2$ ).

La suite du schéma est identique au précédent et nous isolons le chlorhydrate d'adiphénine marqué avec un rendement radiochimique de 50 %.

## PARTIE EXPERIMENTALE

## - Indications Générales

Les spectres infrarouges ont été réalisés sur un spectrophotomètre Perkin Elmer 257.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire ont été effectués sur un appareil JEOL C 60 HL, en utilisant le TMS, en référence interne.

La position des bandes est donnée en valeur de  $\delta$ .

Les points de fusion sont pris sur un banc KOFLER.

Les mesures de radioactivité spécifique sont réalisées sur un scintillateur liquide modèle Mark II Nuclear Chicago par la méthode du standard externe.

Les chromatographies de produits radioactifs sont analysées sur un dérouleur de chromatogramme PANAX équipé d'un détecteur type Geiger-Müller sans fenêtre.

## I/ Marquage 1

1) Chlorhydrate de chloro-2, éthyl NN - diéthyl amine :

A une solution d'éthanolamine de 5 mM (305 mg)  $2,^{14}\text{C}$  (5 mCi) dans 30 cm<sup>3</sup> de tétrahydrofuranne (THF) on ajoute 7,8 mM (1,10 g) de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> et 20 mM de bromure d'éthyle. On chauffe 12 heures à reflux puis filtre le THF. Le filtrat est traité par une solution d'acide chlorhydrique anhydre dans l'éther jusqu'à précipitation totale du chlorhydrate de NN, diéthyl éthanolamine. On évapore le THF sous pression réduite et isole 725 mg (95 %) de chlorhydrate de NN, diéthyl éthanol amine. Ce composé est traité à 40°C pendant 10 minutes par une solution de 5 cm<sup>3</sup> de SOCl<sub>2</sub> fraîchement distillé dans 10 cm<sup>3</sup> de THF. Le solvant et le SOCl<sub>2</sub> en excès sont distillés sous pression réduite, le résidu obtenu trituré par l'éther conduit au chlorhydrate de chloro-2, éthyl NN, diéthylamine.

Le composé est utilisé sans autre purification pour la suite de la réaction.

- Il est possible de purifier ce produit (F = 210°C) en le relarguant d'une solution alcoolique par un mélange éther-THF, mais les pertes s'élèvent dans ces conditions à 20 %.

Remarque : Il est indispensable d'opérer en milieu anhydre et sur les amines bloquées par les chlorhydrates si l'on veut éviter de perdre le produit soit dans l'eau soit sous forme de goudrons (polymères).

## 2) Estérification

A la solution du chlorhydrate de chloro-2, éthyl NN, diéthyl amine dans  $40\text{ cm}^3$  d'acétonitrile on ajoute  $7,5\text{ mM}$  d'acide diphényl acétique ( $1,55\text{ g}$ ) et  $7,5\text{ mM}$  de carbonate de potassium ( $1,10\text{ g}$ ). On chauffe sous agitation à reflux pendant 12 heures, évapore le solvant sous vide extrait par l'éther en milieu ammoniacal, sèche sur  $\text{Mg SO}_4$ , puis filtre et évapore l'éther sous pression réduite.

Le résidu obtenu est chromatographié sur colonne (silice Merck 243-400 mesh) par un mélange chloroforme éthanol (75-25). Les fractions contenant l'adiphénine sont réunies. Après évaporation du solvant, on obtient  $850\text{ mg}$  (55 %) d'adiphénine. Le produit est solubilisé dans l'éther  $10\text{ cm}^3$  puis traité par la quantité stoechiométrique d'HCl anhydre dans l'éther. Le chlorhydrate précipite puis cristallise.

On isole  $860\text{ mg}$  de chlorhydrate, rendement 50 % par rapport à l'éthanol amine.

Activité spécifique  $2,9\ \mu\text{Ci}/\text{mg}$        $1\ \text{mCi}/\text{mM}$

$F = 114^\circ\text{-}115^\circ\text{C}$ , Litt<sup>(4)</sup>  $112^\circ\text{-}116^\circ\text{C}$

II/ Marquage 2

### 1) Préparation de l'acide diphényl acétique marqué.

A une solution de  $15\text{ mM}$  de diphényl méthane ( $2,50\text{ g}$ ) dans  $30\text{ cm}^3$  de THF on ajoute  $2,5\text{ cm}^3$  de n BuLi dans l'hexane à 25 % (soit  $10\text{ mM}$ ) et chauffe à reflux pendant 3 heures.

On transvase ensuite à l'aide d'une rampe à vide et sous boîte à gants  $5\text{ mM}$  de  $^{14}\text{CO}_2$  ( $14\ \text{mCi}$ ) sur le lithien et laisse carbonater une nuit sous agitation. Au cours de la réaction la température s'élève lentement de  $-90^\circ\text{C}$  à  $20^\circ\text{C}$  -

On hydrolyse en milieu acide, extrait par l'éther sèche sur  $\text{Mg SO}_4$ . Après évaporation du solvant on purifie l'acide diphényl acétique par chromatographie sur colonne de silice (Merck 243-400 mesh : éluant EtOH/ $\text{HCl}_3$  10/90) et obtient  $740\text{ mg}$  de produit Rendement : 70 % ( $3,5\text{ mM}$ )

F = 144°C

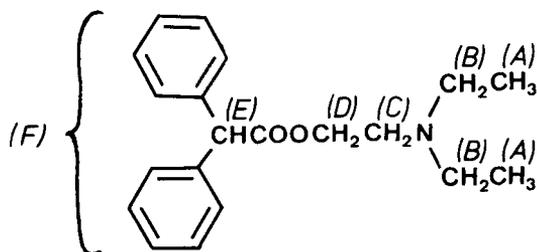
Activité spécifique 13  $\mu$ Ci/mg      2,75 mCi/mM2) Estérification

Elle est conduite dans le même milieu et isolé selon les mêmes techniques que pour le premier marquage. On utilise les quantités suivantes 3,5 mM d'acide diphenyl acétique 5 mM de chlorhydrate de chloro-2 éthyl NN diethyl amine 4 mM de  $K_2CO_3$ . On obtient 850 mg de chlorhydrate d'adiphénine. Rendement 50 % par rapport au  $^{14}CO_2$

Activité spécifique 7,85  $\mu$ Ci/mg      2,73 mCi/mMIII/ Identification et contrôle de pureté.

F = 114, 115°C      Litt (4) 112, 116°C

I R 3080 $cm^{-1}$	CH aromatique
2800, 2970 $cm^{-1}$	CH aliphatique
1740 $cm^{-1}$	C = O ester
1600 $cm^{-1}$	C = C aromatique

RMN ( $CCl_4$ )

Rapport d'intensité

0,90	A (t)	6
2,20 - 3,70	B + C (m)	6
4,15	D (t)	2
4,95	E (s)	1
7,10 à 7,50	F (m)	10

- Chromatographie CCM (silice Merck)

Homogène dans les systèmes éthanol chloroforme (1-3 - 1-9)  
méthanol chloroforme (1-8) éthanol benzène (3-7)

L'analyse est effectuée sur dérouleur de radiochromatogramme  
par autoradiographie par UV (254 nm) et par chauffage après traitement  
par  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

BIBLIOGRAPHIE

1. R. MORNEX, J. TOURNAIRE, M.F. FALCONNET et H. DURAND,  
Ann. Endocr., 1966, 27, 484-489.
2. R. MORNEX, H. DURAND, F. BERTHEZENE, J. TOURNAIRE,  
B. ROUSSET and D. JOURDAN, Métab, 1973, 22, 859.
3. JORDAN D , G. PONSIN , R. MORNEX, M. FEVRE, C. PONCET and  
A. ROSTAGNAT, Eur. J. Pharmacol., 1977, 41, 53-58.
4. R.R. BURTNER, J.W. CUSIC, JACS, 1943, 65, 262.
5. A.A. LARSEN, A.W. RUDDY, B.E. and M. MAC MULLIN, JACS, 1949,  
71, 532.
6. H.E. ZAUGG, B.W. HORROM , JACS, 1950, 72, 3004.
7. P.N. CRAIG, I.H. WITT, E. MACKO, J.G. DACANAN, E. J. FELLOW  
and G. E. ULLYOT. JACS, 1951, 73, 1339.