

SYNTHESE DE LA PARA-AMINOCLOPIDINE TRITIEE* :
UN PUISSANT ALPHA ADRENOMIMETIQUE

B. ROUOT, J.D. EHRHARDT, G. LECLERC et J. SCHWARTZ

Institut de Pharmacologie E.R.A. 142 CNRS

F.R.A. 6 INSERM, 11 rue Humann 67000-STRASBOURG

SUMMARY

The preparation of a tritium labelled alpha-adrenergic agonist, 2-(4-amino-2,6-dichloro 3,5-ditritio-phenylimino)-imidazolidine, suitable for alpha-adrenergic receptor membrane binding studies, is described.

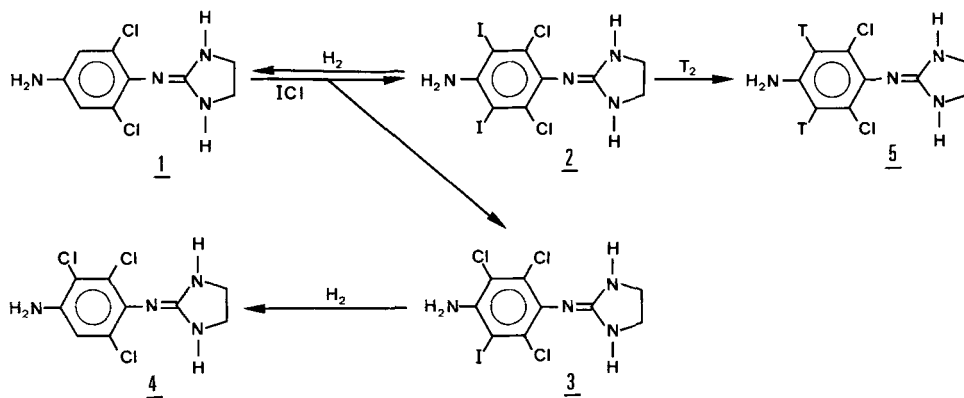
Keywords : Alpha-adrenergic agonist, Tritium, p-Aminoclonidine

* La tritiation a été effectuée par le Service des Molécules Marquées, CEA SACLAY.

La caractérisation des récepteurs alpha-adrénergiques présents dans différentes préparations membranaires a été réalisée par des études de "binding" utilisant plusieurs types de ligands; ce sont, en général, des composés tritiés possédant vis-à-vis du récepteur alpha-adrénergique des propriétés agonistes (1), antagonistes (1, 2) ou mixtes, agonistes-antagonistes (3). U'Prichard et Snyder ont montré que la ^3H -noradrénaline elle-même peut être employée dans ce but, mais en présence de fortes concentrations de pyrocatechol pour réduire les interactions spécifiques de la seule fonction catéchol.

Récemment nous avons décrit les propriétés pharmacologiques d'un puissant alpha-adrénomimétique, la para-aminoclonidine (5). In vitro, son pD_2 sur l'aorte de rat est de 11,2 contre 7,67 pour la clonidine; son K_i est de 1,3 mM alors que celui de la clonidine est de 8 mM. L'activité intrinsèque de cette molécule est identique à celle de la noradrénaline. De par sa très haute affinité pour les récepteurs alpha-adrénergiques, la para-aminoclonidine est un outil intéressant pour leur étude; nous rapportons ici la synthèse de la molécule tritiée.

Cette préparation, réalisée au départ de la p-aminoclonidine elle-même, implique l'introduction de deux atomes d'iode sur le noyau aromatique en position 3,5 qu'on substitue ensuite par du tritium (voir schéma).

Synthèses

L'iodation de la p-aminoclonidine en milieu acétique avec du monochlorure d'iode conduit à la formation d'un produit apparemment pur en chromatographie sur couche mince. Pourtant l'hydrogénation de ce produit fournit deux composés (1 et 4) indiquant, comme l'a confirmé la spectrométrie de masse, que l'iodation avait conduit à un mélange de 2 (M^+ 496) et 3 (M^+ 404) dans une proportion de 1 à 2. Par contre, la réaction d'iodation effectuée en milieu chlorhydrique (12,5%) permet d'obtenir le composé diiodé 2 avec une très faible quantité de 3.

Malgré la similitude des propriétés chromatographiques de ces deux dérivés, le passage du produit brut sur une colonne d'alumine (AcOEt - MeOH 99-1) permet de purifier le composé 2.

Le remplacement des atomes d'iode du composé 2 par du tritium est réalisé dans le dioxanne en présence de Pd/Al₂O₃ et K₂CO₃; l'activité spécifique obtenue est de 34 Ci/mM. La qualité du catalyseur est importante, car avec un lot, nous avons observé (par RMN de ³H) la formation en quantités plus ou moins importantes d'un produit résultant du remplacement simultané des deux atomes d'iodes et d'un atome de chlore, par du tritium.

Par ailleurs, la p-aminoclonidine tritiée pourrait après diazotation et réduction conduire à la 3,5 ditritio-clonidine; ce produit posséderait une activité spécifique supérieure à celle des clonidines marquées au ¹⁴C sur le cycle imidazolidine par Ehrhardt (6) et Stiasni et Stähle (7) ou au ³H en 4 du noyau aromatique par ces derniers auteurs.

La clonidine tritiée en 3,5 peut être utilisée avantageusement pour étudier son métabolisme, puisque la principale voie de dégradation, hydroxylation en 4, n'affecte pas l'activité spécifique des métabolites de la clonidine.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les points de fusion ont été mesurés à l'aide d'un banc Kofler. La CCM a été effectuée sur des plaques de gel de silice 60 F 254 Merck et sur alumine 60 F 254 Merck. Les spectres de RMN ont été enregistrés sur un appareil Perkin-Elmer R12 A à 60 MHz. La référence interne est le sel de sodium de l'acide triméthylsilyl-propionique-D₄. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm. La RMN du ³H a été effectuée à 60 MHz sur un appareil Bruker du C.E.A. Les spectres de masse ont été enregistrés sur un spectromètre Thomson THN-11.

(Amino-4, dichloro-2,6, diiodo-3,5) phénylimino-2 imidazolidine 2

4,9 g (20 mmoles) de 1 sont dissous dans 123 ml d'acide chlorhydrique à 12,5% et la solution est portée à 90°C. Une solution de 9,75 g (60 mmoles) de monochlorure d'iode dans 11 ml d'acide chlorhydrique à 25% est ensuite ajoutée goutte à goutte. Un précipité jaune se forme. Le mélange est agité magnétiquement pendant 5 heures à 90°C, puis refroidi au bain de glace. Le précipité est filtré et lavé avec de l'acide chlorhydrique N. Pour éliminer les impuretés, le solide est repris plusieurs fois dans le chloroforme, puis décanté. Le produit, dissous dans 100 ml d'acétone, cristallise au bout de quelques minutes. Le composé est filtré, repris dans l'eau bouillante (700 ml) et décoloré sur charbon. La solution refroidie est alcalinisée à la soude 25% et le précipité formé est filtré (4,1 g; Rdt 41%). Le produit brut est chromatographié sur colonne d'alumine neutre (90 activé Merck) avec un mélange AcOEt-MeOH (99-1). L'impureté 3 est éluée avec

les fractions initiales du produit 2. Les fractions finales sont rassemblées et évaporées à sec et le résidu (1,5 g) est recristallisé dans l'acétonitrile donnant 1 g de produit 2.

Amino-4-dichloro-2,6-di^[3H]-3,5 phénylimino-2 imidazolidine

A 4 ml de dioxanne fraîchement distillé sur LiAlH₄ sont ajoutés 20 mg (40 umoles) de 2, 8 mg Pd/Si₂O₃ (5%) et 84 mg K₂CO₃ anhydre. On tritie à pression atmosphérique et température ambiante pendant 4 h, filtre et évapore le dioxanne. Le résidu est repris dans 20 ml de méthanol-dioxanne et évaporé à sec; cette opération est répétée trois fois. Le produit est purifié par 3 chromatographies sur couche mince de silice.

On obtient de la p-aminoclonidine pure (1 seul pic en RMN de ³H) avec une activité spécifique de 34 Ci/mM.

C.C.M. Gel de silice AcOEt-MeOH-NHEt₂ (90-8-2) Rf=0,26

Alumine AcOEt-MeOH (92-8) Rf=0,09

Données RMN

Solvant DMSO-d₆

Référence (CH₃)₃-Si-CD₂-CD₂-CO₂Na.

	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>4</u>
Protons aromatiques	6,58 (2H, s)		6,95 (1H, s)
NH-imidazolidine	5,82 (2H, s)	6,19 (2H, s)	6,04 (2H, s)
NH ₂ aromatique	5,18 (2H, s)	5,19 (2H, s)	5,14 (2H, s)
CH ₂ imidazolidine	3,38 (4H, s)	3,38 (4H, s)	3,36 (4H, s)

BIBLIOGRAPHIE

1. U'PRICHARD, D.C., GREENBERG, D.A. et SNYDER, S.H., Mol. Pharmacol-
13 :454 (1977).
2. RUFFOLO, R.R., FOWBLE, J.W., MILLER, D.D. et PATIL, P.N.,
Proc. Natl. Acad. Sci., 73 : 2730 (1976).
3. WILLIAMS, L.T. et LEFKOWITZ, R.J., Science, 192: 791 (1976).
4. U'PRICHARD, D.C. et SNYDER, S.H., Life Sci., 20: 527 (1977).
5. ROUOT, B., LECLERC, G., BIETH, N., WERMUTH, C.G. et SCHWARTZ, J.,
C.R. Acad. Sci. (Paris), série D, 286 : 909 (1978).
6. EHRHARDT, J.D., Thérapie, 27: 947 (1972).
7. STIASNI, M. et STAHL, M., J. Labelled Compounds, 14: 51 (1978).