

## NOTE

SYNTHESE DE LA PENTAMETHYLMELAMINE (tetraméthyle  $^{14}\text{C}$ ), un nouvel agent antitumoral.

DO-CAO-THANG, NGUYEN-HOANG-NAM, H. HOELLINGER et L. PICHAT\*.

INSERM-Unité de Recherche de Toxicologie Expérimentale  
Hôpital Fernand Widal, 200 rue du Faubourg Saint-Denis  
75475 Paris Cedex 10, France.

\* Service des Molécules Marquées, CEN-Saclay  
91191 - Gif-sur-Yvette Cedex, France.

## SUMMARY

(tetramethyl- $^{14}\text{C}$ ) Pentamethylmelamine **6**, a new antitumor agent, was prepared by a three-step synthesis starting with ( $^{14}\text{C}$ ) $\text{CH}_3\text{I}$ . Toluene-*p*-sulphonamide was condensed with ( $^{14}\text{C}$ ) $\text{CH}_3\text{I}$  to give labelled *NN*-dimethyltoluene-*p*-sulphonamide.  $^{14}\text{C}$ -labelled dimethylamine was released from the dimethylamide by the action of 48%  $\text{HBr}$  and  $\text{NaOH}$ , then reacted with 2,4-dichloro-6-methylamino-1,3,5-triazine to afford **6**. After purification by silicagel column chromatography **6** was obtained in a 8.5% yield from ( $^{14}\text{C}$ ) $\text{CH}_3\text{I}$  and a radiochemical purity of 99%, specific activity : 78.5  $\text{mCi/mmole}$ .

Key Words : (tetramethyl-  $^{14}\text{C}$ ) Pentamethylmelamine, antitumor agent.

La pentaméthylmélamine (PMM), métabolite N-déméthylé de l'hexaméthylmélamine (HMM), a une activité antitumorale in vivo comparable à celle de l'HMM (1-2). Les différences de solubilité entre l'HMM qui est liposoluble et la PMM qui est hydro-soluble suggèrent que ces deux produits pourraient avoir des mécanismes d'action différents.

Dans le cadre de nos recherches coopératives sur les dérivés de la mélamine (3) et en vue d'étudier le mécanisme d'action de la PMM, nous avons préparé la PMM (noyau  $^{14}\text{C}$ -4,6) (4) qui a été soumise à l'étude biologique (5). Pour compléter certains résultats de cette étude, il est nécessaire de disposer de la PMM marquée au  $^{14}\text{C}$  sur les méthyles.

La PMM a été préparée par action de la méthylamine sur le chloro-2 bis-(diméthyl-amino-4,6)-*s*-triazine (6-7). Comme cette méthode ne permet de marquer qu'un seul méthyle, nous avons choisi d'adapter celle de Borkovec et DeMilo(7) qui ont obtenu

\* Ce travail a été effectué dans sa totalité au Service des Molécules Marquées, CEN-Saclay.

la N<sup>2</sup>,N<sup>4</sup>-diméthylmélamine par condensation de la méthylamine avec l'amino-2 dichloro-4,6-s-triazine.

Le schéma I de préparation de la N<sup>6</sup>-méthyl-N<sup>2</sup>,N<sup>2</sup>,N<sup>4</sup>,N<sup>4</sup> (tétraméthyl <sup>14</sup>C) mélamine ou PMM (tétraméthyle <sup>14</sup>C), à partir de l'iodure de méthyle <sup>14</sup>C, a été alors adopté.

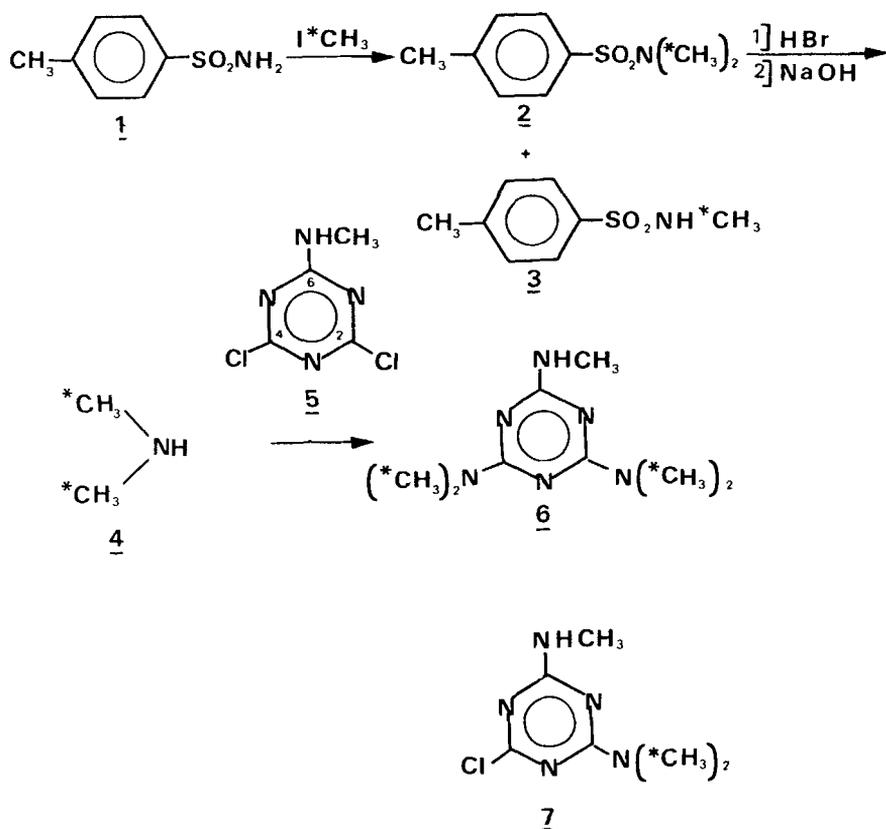


Schéma I

A la différence de Kühnau et Schütte (8) qui ont préparé en 2 étapes la (N,N-diméthyl <sup>14</sup>C)-p-toluène sulfonamide 2, produit intermédiaire conduisant à la diméthylamine <sup>14</sup>C 4, par action de l'iodure de méthyle <sup>14</sup>C sur la (N-méthyl <sup>14</sup>C)-p-toluène sulfonamide 3, nous avons condensé directement l'iodure avec la p-toluène sulfonamide 1.

Le mélange de 2 et 3 obtenu a été séparé par chromatographie sur colonne. On obtient ainsi 38% de dérivé diméthylé 2 et 6% de monométhylé 3 par rapport à I<sup>14</sup>CH<sub>3</sub>.

La diméthylamine <sup>14</sup>C 4, libérée du dérivé 2, réagit sur le dichloro-2,4-méthyl-

amino-6 triazine-1,3,5 5 pour donner un mélange de PMM (tétraméthyle  $^{14}\text{C}$ ) 6 et de chloro-2 méthylamino-6 (diméthyl  $^{14}\text{C}$ ) amino-4 triazine-1,3,5 7. L'analyse par chromatographie en couche mince du mélange brut donne 80% de 6 et 20% de 7. Ils sont séparés et purifiés par chromatographie sur colonne.

La PMM (tétraméthyle  $^{14}\text{C}$ ) 6 obtenue avec un rendement radiochimique de 8,5% par rapport à  $\text{I } ^{14}\text{CH}_3$ , a une activité spécifique de 78,5 mCi/mole, mesurée par spectrométrie de masse. Les puretés chimique et radiochimique ont été contrôlées par chromatographie en couche mince, par spectrométrie ultraviolette et de masse.

La structure du produit secondaire formé 7 est confirmée par son spectre de masse. Son activité spécifique (39,3 mCi/mole) étant la moitié de celle de 6 prouve que le produit est marqué au  $^{14}\text{C}$  sur deux méthyles au lieu de quatre.

### PARTIE EXPERIMENTALE

La chromatographie en couche mince (CCM) a été effectuée sur des plaques finies de gel de silice MercK 60 F 254. Les spectres ultraviolet (UV) ont été enregistrés sur un spectromètre Beckman DK-2A et les spectres de masse (SM), sur un appareil Varian CH 7 par introduction directe de l'échantillon dans la source.

TABLEAU I

C C M - Révélateur : U V

Produit	Solvants - Rf				
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
<u>1</u>	0,55				
<u>2</u>	0,82				
<u>3</u>	0,64				
<u>5</u>		0,64	0,88	0,84	
<u>6</u>		0,46	0,67	0,50	0,19
<u>7</u>		0,62	0,83	0,84	0,54

(a)  $\text{C}_6\text{H}_6$  - AcOEt 60:40 (b)  $\text{C}_6\text{H}_6$  - MeOH 90:10  
 (c) nBuOH-AcOH- $\text{H}_2\text{O}$  50:25:25 (d)  $\text{CHCl}_3$  - MeOH 95:5  
 (e)  $\text{CHCl}_3$  - AcOEt 70:30

(N-N-diméthyl  $^{14}\text{C}$ )p-Toluène sulfonamide 2 .

Dans un tube à sceller contenant 381 mg (2,2 mmoles) de p-toluène sulfonamide préparée selon (9), sont introduits 285 mg (5,08 mmoles) de potasse dissous dans 8 ml d'éthanol à 70% et 104 mCi d'iodure de méthyle  $^{14}\text{C}$  (4,2 mmoles, AS : 24,7 mCi/mole). On scelle le tube sous vide et chauffe le mélange à 75°C en agitant.

pendant 72 h. On ouvre le tube, évapore sous vide et reprend le résidu par 5 ml d'eau. L'extraction en continu à l'éther fournit 53 mCi de produit brut que l'on purifie par chromatographie liquide sur colonne à basse pression : gel de silice H 60 Merck, éluant : C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>-AcOEt 60:40. On recueille 39,5 mCi de 2 pur (38% par rapport à I<sup>14</sup>CH<sub>3</sub>) et 6,3 mCi de 3. CCM : tableau I.

Diméthylamine <sup>14</sup>C 4 :

Dans un ballon soudé à un réfrigérant et branché à la rampe à vide, on introduit 6,5 ml de HBr à 48% puis 39,5 mCi de 2. On chauffe le mélange sous courant d'azote à 110°C pendant 2h.30. Après refroidissement, on congèle le mélange réactionnel, fait le vide et traite avec 6 ml de NaOH à 50% en agitant. On recueille 0,55 mmole de 4.

N<sup>6</sup>-méthyl N<sup>2</sup>, N<sup>2</sup>, N<sup>4</sup>, N<sup>4</sup> (tétraméthyl <sup>14</sup>C) mélamine 6 :

54 mg (0,30 mmole) de dérivé dichloré 5 sont dissous dans 2 ml de toluène anhydre dans un tube puis on condense 0,55 mmole de 4. On scelle le tube sous vide et chauffe le mélange à 110°C avec agitation pendant 2h.30. Après refroidissement, le mélange brun-clair est repris par 10 ml d'eau et traité avec 15 ml de carbonate de potassium à 40% sous agitation. L'extraction en continu à l'éther donne 15,2 mCi d'un produit qui, analysé par CCM, contient environ 80% de 6 et 20% de 7. Après purification par chromatographie liquide à basse pression sur colonne de gel de silice H 60 Merck (éluant : CHCl<sub>3</sub>- MeOH 98:2), on recueille 8,84 mCi de 6 (8,5% par rapport à I<sup>14</sup> CH<sub>3</sub>) et 1,73 mCi de 7.

Contrôle de la pureté chimique et radiochimique de 6 :

La pureté radiochimique contrôlée par CCM (Tableau I) est supérieure à 99%.

La pureté chimique est déterminée par l'UV dans l'éthanol, λ<sub>max</sub> : 221 nm.

L'activité spécifique de 78,5 mCi/mmole est calculée d'après le SM et à partir du dosage UV et du comptage par scintillation.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement le Docteur Derry E.V. Wilman du Chester Beatty Research Institute, Institute of Cancer Research (Londres), qui nous a fait don du dérivé dichloré 5 et de la PMM.

#### REFERENCES

1. Lake L.M., Grunden E.E. et Johnson B.M. - Cancer Res., 35 2858 (1975).
2. Ruddy C.J. et Connors T.A. - Biochem. Pharmacol., 26 2385 (1977).
3. Ruddy C.J., Connors T.A., Nguyen-Hoang-Nam, Do-Cao-Thang et Hoellinger H. - Europ. J. Cancer, 14 713 (1978).

4. Do-Cao-Thang, Nguyen-Hoang-Nam, Hoellinger H. et Pichat L. - J. Labelled Comp. and Radiopharm., 18 1009 (1981).
5. Ratty C.J. - Institute of Cancer Research, Department of Biochemical Pharmacology, Sutton, Surrey (G.B.).
6. Cumber A.J. et Ross W.C.J. - Chem. Biol. Interactions, 17 349 (1977).
7. Borkovec A.B. et De Milo A.B. - J. Med. Chem., 10 457 (1967).
8. Kühnau H.H. et Schütte H.R. - Z. Chem., 9 Jg 231 (1969).
9. Vogel's Textbook of practical organic chemistry (4th Edition), Longman, London, 650, 1978.