

## NOTE

### SYNTHESE ET MARQUAGE DU TETRAMETHYL-CYCLEN

Jean-François PILICHOWSKI, Michèle BOREL et Josette MICHELOT  
Unité INSERM U 71 : Etude métabolique des molécules marquées  
B.P. 184 63005 Clermont-Ferrand Cedex France.

#### SUMMARY

*The synthesis of a new product representative of polyamines macrocyclic compounds is described. [ $^{14}\text{C}$ ]-Tetramethyl-cyclen obtained by Eschweiler-Clarke's method is purified through its copper complexe.*

#### RESUME

*On décrit la synthèse d'un nouveau produit représentatif de la classe des polyamines macrocycliques. Le Tétraméthyl- $^{14}\text{C}$ -cyclen obtenu par la méthode d'Eschweiler et Clarke est purifié par l'intermédiaire de son complexe au cuivre.*

KEY WORDS :  $^{14}\text{C}$ , Polyazamacrocycle, tetramethyl-cyclen, purification through copper complexe.

#### INTRODUCTION

Les polyamines macrocycliques sont d'excellents complexants des métaux de transition <sup>(1)</sup>. Il est surprenant de constater que cette classe de composés, très étudiée sur le plan physico-chimique <sup>(2)</sup> n'ait pas donné lieu à des études dans le domaine biomédical. L'utilisation de ces

structures nouvelles en thérapeutique offrirait un certain nombre d'avantages par rapport aux complexants polyvalents utilisés généralement en clinique (EDTA, DTPA...) à des fins de décorporation des métaux indésirables. Cette décorporation s'accompagne, en général de l'élimination massive des métaux essentiels à l'équilibre biologique.

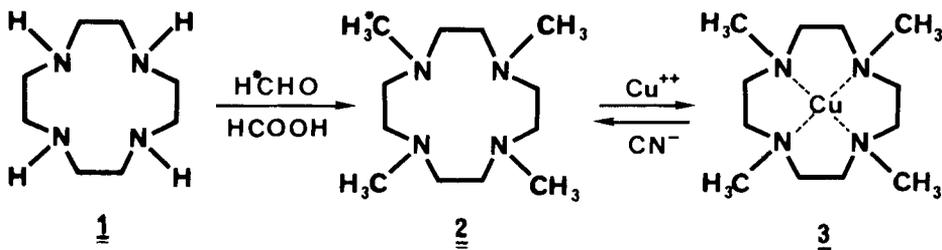
Dans cette optique, nous tentons d'utiliser les remarquables propriétés de deux macrocycles azotés, le cyclen<sup>(3)</sup> [Tétraaza 1,4,7,10-cyclododécane] 1 et le Tétraméthyl-cyclen [N-tétraméthyl)-tétraaza 1,4,7,10-cyclododécane] 2 qui complexent fortement le cuivre, de manière sélective (vis à vis des métaux voisins, tels que Zn, Ni, Co...). Les premiers résultats enregistrés<sup>(4)</sup> concernant la décorporation du cuivre (<sup>64</sup>Cu) chez l'animal, grâce à ces molécules suggèrent une amélioration possible de la thérapeutique utilisée dans la maladie de Wilson.

La connaissance des propriétés et du comportement de ces drogues *in vivo* passe par une étude pharmacocinétique et de répartition chez l'animal du ligand lui-même : Nous décrivons la synthèse et le marquage (<sup>14</sup>C) du tétraméthyl-cyclen, produit nouveau, qui peut être considéré comme représentatif de cette classe de composé.

### SYNTHESE

Le cyclen 1 a été préparé selon les méthodes décrites dans la littérature<sup>(5a,b)</sup> et purifié par recristallisation de son chlorhydrate<sup>(5c)</sup>.

La synthèse d'Eschweiler et Clarke<sup>(6)</sup> est une méthode de choix pour la méthylation des amines secondaires. Son mécanisme est connu et on sait notamment<sup>(7)</sup> que le carbone du groupement méthyle introduit provient du formaldéhyde, l'acide formique jouant le rôle de donneur de protons puis de réducteur des imines intermédiaires. Cette méthode adaptée au cyclen a donné de bons résultats.



L'analyse chromatographique du mélange réactionnel montre que la formation du produit perméthylé 2 a lieu avec des pourcentages supérieurs à 75 % (quantifiés en radioactivité). L'utilisation d'autres réducteurs que l'acide formique qui sont quelquefois préconisés<sup>(8)</sup> n'a pas permis d'améliorer les rendements : les propriétés acido-basiques du produit de départ<sup>(9)</sup> peuvent être invoquées pour expliquer l'obtention inévitable de produits partiellement méthylés (di, triméthyl-cyclen). La séparation de ces produits de structures proches est relativement délicate mais peut être réalisée par précipitation fractionnée, préparation et recristallisation du complexe au cuivre 3 suivies d'une décomplexation par l'ion cyanure. Les pertes inévitables lors de l'isolement du Tétraméthyl-cyclen (rendement global  $\approx$  33 %) sont largement compensées par l'obtention du produit souhaité ayant une pureté élevée.

La formation d'un tripicrate, pour ce composé tétra-aminé n'est pas surprenante. L'examen des modèles moléculaires compacts (CPK) montre, en effet, que le tétraméthyl-cyclen est très encombré. Cet empêchement stérique peut expliquer l'impossibilité de la quatrième protonation, dans les conditions expérimentales habituelles. Ce phénomène a déjà été observé dans le cas de polyamines linéaires<sup>(10)</sup>; Kaden<sup>(11)</sup> observe également la formation d'un triperchlorate dans le cas d'une tétramine cyclique.

PARTIE EXPERIMENTALEIndications générales

L'évolution des réactions, la pureté des produits ont été déterminés en C.C.M. d'Alumine (Alumine oxyde neutral, type E, F 254 Merck). Les produits radioactifs ont été chromatographiés (20 cm) seuls et en mélange avec un échantillon authentique de produit froid, leur révélation a été réalisée grâce à un appareil BERTHOLD : "T.L.C. linear analyser" du type L.B. 282.

Les mesures de radioactivité spécifiques ont été réalisées dans un scintillateur liquide MARK I Nuclear Chicago.

N-Tétraméthyl[<sup>14</sup>C]-tétraaza 1,4,7,10-cyclododécane :

Tétraméthyl-cyclen : 2

Le cyclen 1 (344 mg : 2 mmoles) est placé dans un ballon de 20 ml. Après avoir refroidi (-5°C) on ajoute lentement l'acide formique (0,676 g : 14,7 mmoles) puis un mélange de [<sup>14</sup>C]-formaldéhyde (Amersham : 2,56 mg en solution dans 246 µl d'H<sub>2</sub>O. Activité spécifique: 166 µCi/mg soit 425 µCi) et de produit froid (0,600 ml d'une solution aqueuse à 37 %).

On porte à reflux pendant 8 h, rajoute un excès de formaldéhyde (1,2 ml de la solution aqueuse à 37 % : 14,8 mmoles) et porte à reflux pendant 8 heures supplémentaires. On refroidit, ajoute HCL concentré (2 ml) et laisse à 70°C (θ ext.) pendant 4 heures.

Après avoir évaporé à sec, on reprend par l'eau (5 ml) et ajoute (0°C) la potasse solide (3,40 g : pH résultant >14). On extrait au chloroforme (6 x 10 ml), sèche (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et évapore le solvant. On obtient une huile (455 mg) contenant le produit attendu (75% en radioactivité).

Au mélange obtenu, dissous dans 3 ml d'eau, on ajoute (0°C) de la potasse solide jusqu'à pH 13. Le précipité blanc est lavé avec de la potasse aqueuse 8N (3x2 ml),

filtré, puis redissous dans le chloroforme (15 ml). Après séchage ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) et évaporation on obtient le produit 2 (240 mg) purifié à 96 % (pureté radiochimique).

### Purification via le complexe au cuivre 3

Cette préparation est calquée sur la méthode générale préconisée par Bhattacharya <sup>(12)</sup>. Le tétraméthyl-cyclen 2 obtenu ci-dessus est dissous dans le méthanol (5 ml). On ajoute une solution de  $\text{CuCl}_2$  anhydre dans le méthanol (134 mg dans 8 ml). On porte la solution bleue intense à ébullition pendant une heure puis évapore à sec. Les cristaux, mis en suspension dans 5 ml d'acétone sont filtrés, lavés à l'acétone (2 x 3 ml) et séchés au dessiccateur. On recristallise dans un mélange nBuOH-acétone (50/50 : v/v). On obtient 255 mg de cristaux bleus.

Fusion :  $> 260^\circ\text{C}$  (Décomposition)

CCM Alumine :

Isopropylamine	5	} Trainée bleue : Rf $\approx$ 0,3 homogène
Ethanol	95	

### Decomplexation

Le complexe au cuivre est dissous dans l'eau (15 ml). On ajoute, par portion, un excès de KCN (319 mg : 4,9 mmoles) sous forme de poudre. La solution se décolore lentement. On ajoute alors de la potasse en pastille jusqu'à pH 12, extrait au chloroforme (4 x 15 ml), sèche et évapore.

On obtient finalement le tétraméthyl-cyclen (150 mg) sous forme d'huile hygroscopique que l'on conserve sous Argon sec à  $5^\circ\text{C}$ .

Rendement global : 33 %

Pureté radiochimique :  $> 99$  %

Activité spécifique : 0,205 Ci/mole

CCM Alumine a) EtOH : Trainée homogène, Rf  $\approx$  0,25

b) EtOH	95	} Spot, Rf = 0,80
Isopropylamine	5	

RMN  $\text{CDCl}_3$  (60 MHz)  $\delta$  ppm/TMS = 0

$^1\text{H}$  : 2,52 (s, 4H) ; 2,25 (s, 3H)

$^{13}\text{C}$  : 44,6 ; 56,0.

Tripicrate :

Fusion : 213°C net (EtOH/H<sub>2</sub>O : 50/50)

Analyse :  $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{N}_{13}\text{O}_{21}$

	C	H	N
calculé	39,35	4,07	19,88
trouvé	39,12	3,85	19,94

M = 915,72.

#### REFERENCES

- CHRISTENSEN J.J., EATOUGH D.J. and IZATT R.M. — Chem. Rev. 74 (3) : 351-84 (1974).  
MELSON G.A.— Coordination chemistry of macrocyclic compounds (1979). Plenum Press, New-York.
- HERTLI L. and KADEN T.A.— Helv. Chim. Acta. 57 (5) : 1328-33 (1974).  
KODAMA M. et KIMURA E.— J. Chem. Soc. Dalton : 1720-24 (1976).  
BUSCH D.H.— Acc. Chem. Res. 11 : 392-400 (1978).  
MARTIN L.Y., SPERATI R.C. and BUSCH D.H.— J. Am. Chem. Soc. 99 (9) : 2968-81 (1977).
- KODAMA M. et KIMURA E. — J. Chem. Soc. Dalton : 116 (1976).
- Naturwissenschaften à paraître.
- a) STETTER H. und MAYER K.H. — Chem. Ber. 94 : 1410 (1961).  
b) ATKINS T.J., RICHMAN J.E. and OETTLE W.F.— Organic syntheses 58 : 86-98 (1978).  
c) HAY R.W. und NORMAN P.R. — J. Chem. Soc. Dalton : 1441 (1979).
- ESCHWEILER W. : Chem. Ber. 38 : 880 (1905).  
CLAKE H.T., GILLESPIE H.B. and WEISSHAUSS S.Z. — J. Am. Chem. Soc. 55 : 4571 (1973).

7. PINE S.H. and SANCHEZ B.L.— J. Org. Chem. 36 (6) : 829-32 (1971).  
TARPEY W., HAUPTMANN H., TOLBERT B.M. and RAPOPORT H.— J. Am. Chem. Soc. 72 : 5126 (1950).
8. BORCH R.F. and HASSID A.I. — J. Org. Chem. 37 (10) : 1673-74 (1972).  
GRIBBLE G.W., LORD P.D., SKOTNICKI J., DIETZ S.E., EATON J.T. and JOHNSON J.L. — J. Am. Chem. Soc. 96 (25) : 7812-4 (1974).
9. CHANG K.C., GRUNWALD E. and ROBINSON L.R. — J. Am. Chem. Soc. 99 (11) : 3794-6 (1977).
10. Van ALPHEN J. — Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 55 : 835-40 (1936).
11. BUXTORF R., STEINMANN W. and KADEN T.A. — Chimia 28 (1) : 15-18 (1974).
12. BHATTACHARYA P.K.— Indian J. of Chem. 19 A : 1086-88 (1980).