

SYNTHÈSE D'UN ANTAGONISTE ALPHA ADRENERGIQUE MARQUE AU TRITIUM :
 WB 4101 [BENZODIOXANYL-1,4-³H-2,3] OU N-[DIMETHOXY-2,6 PHENOXYETHYL]
 AMINOMETHYL-2 BENZODIOXANNE-1,4[³H-2,3].

G. GUILLAUMET, G. COUDERT, Université NANCY I, Faculté des Sciences,
 B.P. n° 239, F 54506 VANDOEUVRE-LES NANCY CEDEX

M. PONCHANT, J.P. BEAUCOURT, L. PICHAT *

Service des Molécules Marquées - C.E.N. - SACLAY
 91191 GIF-SUR-YVETTE - FRANCE

SUMMARY

The synthesis of an alpha adrenergic antagonist labelled with tritium :
 [(2,3-³H)-1,4-benzodioxanyl] WB 4101 or 2-N[2,6 dimethoxyphenoxyethyl]
 aminomethyl 2,3-³H-1,4 benzodioxan is described.

2-cyano-1,4-benzodioxan : 1 was prepared from catechol and 2-chloroa-
 crylonitrile and then converted to 2-cyano-1,4-benzodioxin: 2 by the suc-
 cessive actions of N-bromosuccinimide in CCl₄ and sodium iodide in acetone.
2 was reduced with lithium aluminium hydride into 2-aminomethyl-1,4-
 benzodioxin: 3 and then converted to 2-[N-(2,6-dimethoxyphenoxyethyl)-
 aminomethyl]-1,4-benzodioxin : 4a, and its hydrochloride : 4b.

The catalytic reduction of 4a, 4b with tritium in various solvents
 and in presence of various catalysts was studied. The best result was
 obtained with Wilkinson's catalyst in benzene giving rise to [(2,3-³H)1,4-
 benzodioxanyl]WB 4101 with a specific activity of 60 Ci/mMole. ³H-NMR
 and MS analyses are also described.

* Address any correspondence to this author.

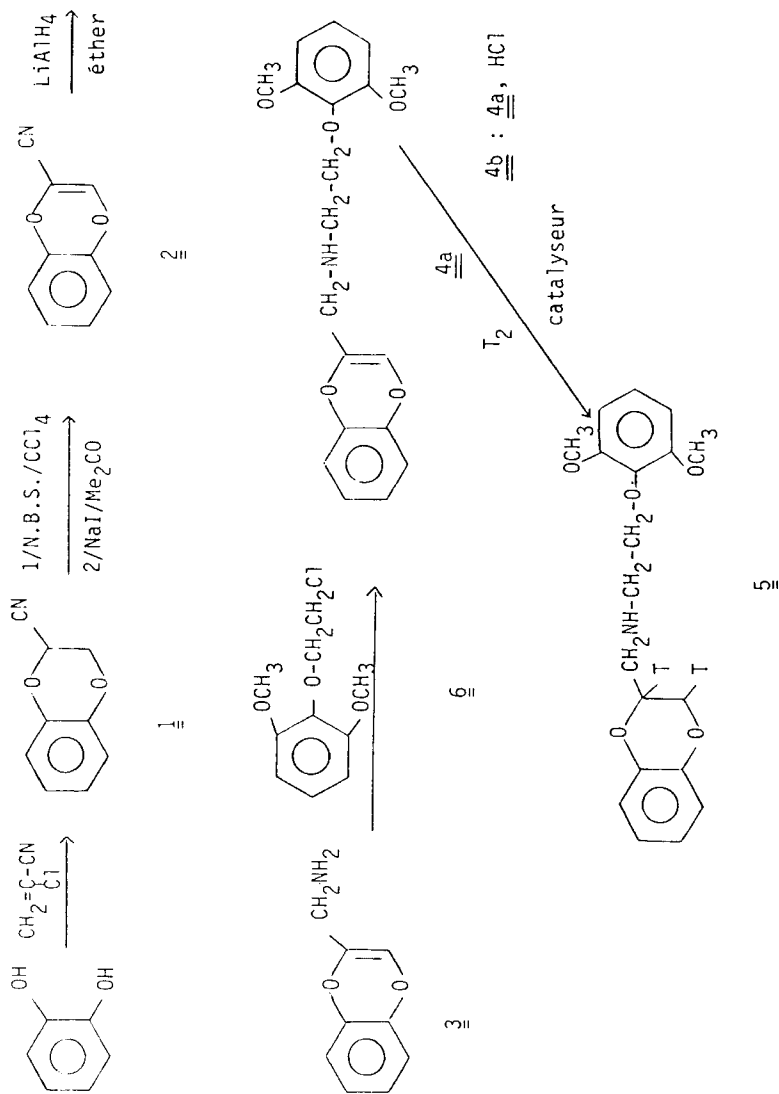


Schéma 1

Nomenclature

- * WB 4101 [benzodioxanyl-1,4-³H-2,3] ou N-(diméthoxy-2,6 phénoxyéthyl) aminométhyl-2 benzodioxanne-1,4 [³H-2,3] ou N-[(Diméthoxy-2,6 phénoxy)-2 éthyl] dihydro-2,3 [³H-2,3] benzodioxine -1,4 methanamine-2.
- * Cyano-2 benzodioxanne-1,4 ou Dihydro-2,3-benzodioxine -1,4 carbonitrile-2
- * Cyano-2 benzodioxine -1,4 ou Benzodioxine -1,4 carbonitrile-2
- * Aminométhyl-2 benzodioxine-1,4 ou Benzodioxine -1,4 méthanamine-2
- * N-(Diméthoxy-2,6 phénoxyéthyl) aminométhyl-2 benzodioxine-1,4 ou N-[(Diméthoxy-2,6 phénoxy)2 éthyl] benzodioxine -1,4 méthanamine-2.

Le WB 4101 ou N- diméthoxy-2,6 phénoxyéthyl aminométhyl-2 benzodioxanne est un antagoniste alpha adrénergique (1) qui a une forte sélectivité pour les sites alpha adrénorécepteurs dans le système nerveux central (2). Le WB 4101 marqué au tritium a été utilisé dans de nombreux travaux (3,4). Le WB 4101 [³H] commercialisé est marqué sur le groupe phénoxy et son activité spécifique est comprise entre 15 et 30 Ci/mMole. A notre connaissance, aucune publication n'a rapporté la méthode de préparation du WB 4101 [³H]. Nous décrivons une méthode de préparation du WB 4101 marqué au tritium sur le noyau dioxanne-1,4, à très haute activité spécifique : 5.

D'une manière générale, une des méthodes les plus efficaces pour l'obtention de molécules organiques tritiées à forte activité spécifique consiste en la saturation catalytique, avec le tritium gaz, de la double liaison, carbone-carbone d'un précurseur éthylénique. La synthèse idéale est la tritiation catalytique de l'analogue éthylénique correspondant, car elle ne comporte qu'une seule opération radioactive. C'est ce que nous avons réalisé en préparant d'abord l'analogue éthylénique : 4 du WB 4101 selon le schéma 1.

Le nitrile : 1 est préparé à partir du catéchol et du chloro-2 acrylonitrile selon (5). Le cyano-2 benzodioxine-1,4 : 2 est obtenu à partir de 1 avec un rendement partiquement quantitatif selon une méthode mise au pont par deux d'entre nous (6,7). La réduction de la fonction nitrile en amine : 3 par LiAlH₄ au sein de l'éther anhydre a donné un rendement de 60-65 %. Le dérivé : 4 recherché est obtenu par action du (diméthoxy-2,6) phénoxy -2 chloro-1 éthane : : 6 sur l'amine : 3 en présence d'héxaméthylphosphotriamide (H.M.P.T.) avec un rendement de 40 % par rapport à 6. 4 a été isolé sous forme de chlorhydrate.

| Essai | Composé mMoles | Catalyseur mg | Solvant ml | Temps de réaction h | Rdt radioactif brut % | Pureté du produit brut % | Méthodes de purification | Rdt radioactif en $\frac{5}{\mu}$ pur % | Act. spécifique : Ci/mMole | |
|-------|---------------------|---|--|---------------------------|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|---|----------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | | Spectre U.V. | Spectromé- trie de masse |
| 1 | $\frac{4b}{0,025}$ | Pd/C - 10 % 17,5 | H ₂ O : 2 MeOH : 4 | 1 | 50 | 61 | A + B | 9,1 | 18,9 | 19 |
| 2 | $\frac{4b}{0,0105}$ | Pd/C - 10 % 16,8 | Et ₃ N : 0,05 MeOH : 6 | 1 | 70 % | 67 | C | 28 | 35,4 | 44,5 |
| 3 | $\frac{4b}{0,0123}$ | Pd/C - 10 % 27,9 | NaOH 0,04 M : 1 MeOH : 5 | 1 | 74 | 52 | D + E | 21 | 32,5 | 36 |
| 4 | $\frac{4a}{0,0194}$ | Pd/C - 10 % 32,3 | Dioxanne 6 | 0,5 | 100 | 53 | F | 26 | 44 | 40 |
| 5 | $\frac{4a}{0,021}$ | (Ph ₃ P) ₃ RhCl 16 | C ₆ H ₆ : 10 | 3 | 75 | 82 | F + C | 41,5 | 47,3 | 54 |
| 6 | $\frac{4a}{0,0147}$ | (Ph ₃ P) ₃ RhCl 31,9 | C ₆ H ₆ : 6 | 17,5 | 100 | 67 | F + G | 45,5 | 61,7 | 60 |

Tableau 1 : réduction catalytique avec ^3H du précurseur : $\frac{4a}{\underline{\underline{4b}}}$.

Tableau 2 : spectres de masse du WB 4101 - [benzodioxanyl-³H-2,3]

| Essais | M = 345 | pics de Masse % | | | % 0T | % 1T | % 2T | % 3T |
|--------|---------|-----------------|-------|------|------|------|------|------|
| | | 347 | 349 | 351 | | | | |
| 1 | 4,41 | 3,14 | 1,27 | 0 | 50 | 36 | 19 | 0 |
| 2 | 1,62 | 5,12 | 8,78 | 0 | 21 | 33 | 57 | 0 |
| 3 | 2,06 | 5,25 | 4,58 | 0 | 17 | 44 | 38 | 0 |
| 4 | 2,45 | 5,35 | 4,38 | 0 | 20 | 44 | 36 | 0 |
| 5 | 0,76 | 1,19 | 11,82 | 0,42 | 5 | 8 | 83 | 4 |
| 6 | 0,32 | 0 | 2,76 | 0,59 | 9 | 0 | 75 | 16 |

Fig. 1 : Spectre RMN ^3H essai 4

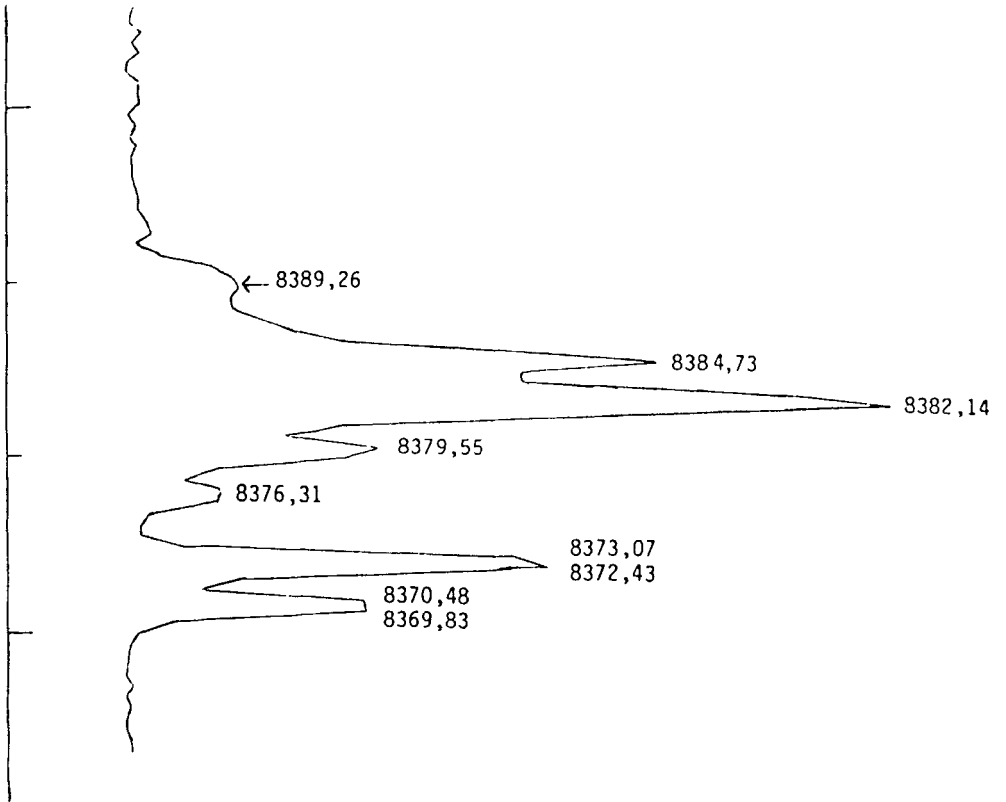


Fig. 2 : Spectre RMN- ^3H essai 5

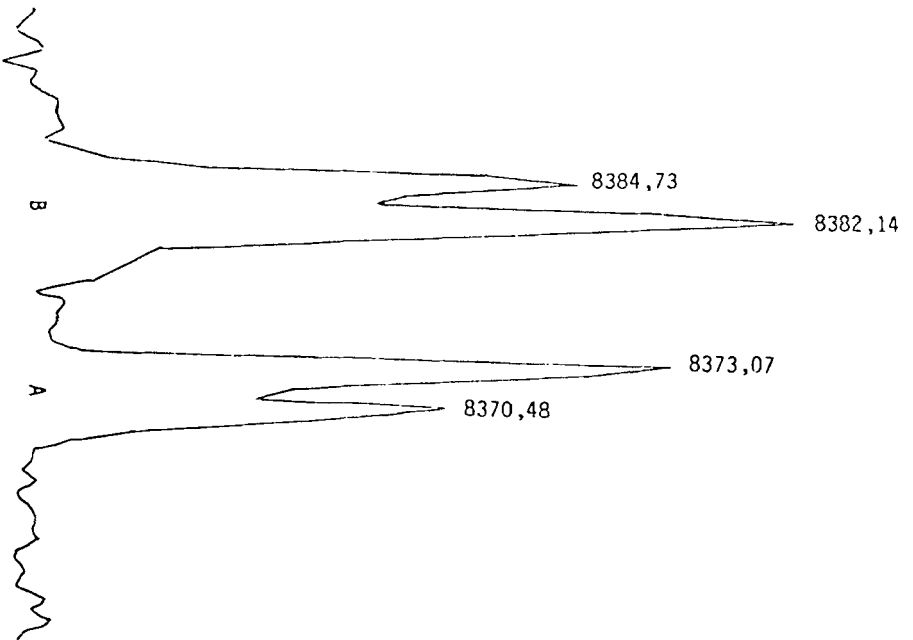
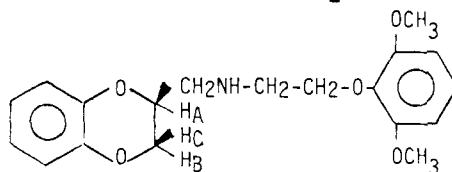


Tableau 3 : spectres de RMN-³H du WB 4101-[benzodioxany1-³H-2,3]

| Essais | % T(H _A) | % T(H _B) | % T(H _C) |
|--------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 1 | 9 | 46 | 45 |
| 2 | 10 | | |
| 3 | 19 | 58 | 23 |
| 4 | 27 | 45 | 28 |
| 5 | 40 | 60 | 0 |
| 6 | 23 | 50 | 27 |

Nous avons effectué une étude systématique de la réduction, à la pression atmosphérique et à température ambiante, par tritium (enrichissement isotopique 97 %) de l'analogue éthylénique 4 du WB 4101 soit sous forme chlorhydrate, soit sous forme de base. Les influences du catalyseur et du solvant ont été examinées en vue d'optimiser l'activité spécifique. Les résultats sont résumés dans le tableau I. Après élimination du tritium labile et purifications chromatographiques, le WB 4101 tritié a été analysé par spectrométrie de masse et par RMN du tritium. En spectrométrie de masse (tableau 2), les pourcentages relatifs des pics à 345, 347, 349 et 351, donnent les proportions de : 5 contenant respectivement 0,1, 2 et 3 atomes de tritium. Les spectres de masse permettent de calculer les activités spécifiques. Celles-ci sont en bon accord avec les valeurs obtenues par l'examen des spectres d'absorption ultra-violette et les mesures de radioactivité par scintillation liquide.

En R.M.N du tritium (tableau 3) les fréquences de résonance de ^{*H_A}, ^{*H_B}, ^{*H_C} ont été attribuées par comparaison avec les résultats de RMN du proton publiés pour des produits similaires (5). L'intégration de chaque pic a donné directement les pourcentages relatifs de tritium sur chaque position.

On remarque sur le tableau 1 que le palladium sur charbon permet la saturation rapide et complète de la double liaison de 4a, 4b, mais favorise également les réactions d'échange avec les protons du solvant, d'où résulte une activité spécifique plus faible du WB 4101. La pureté radiochimique du produit brut obtenu est comprise entre 52 et 67 %. Par contre, l'utilisation du chlorure de

tris (triphénylphosphine) rhodium dans le benzène permet l'obtention d'activité spécifique égale à la théorie (60 Ci/mMole) mais avec une cinétique lente. En effet, la saturation complète du pré-curseur 4a, 4b se fait en 17h30 mais le produit brut (pureté radio-chimique: 67-82 %) est plus aisé à purifier. Ces résultats montrent qu'il n'y a pas de réaction d'échange avec les protons du benzène utilisé comme solvant et confirment des données de la littérature sur ce sujet (9,10).

PARTIE EXPERIMENTALE

Indications générales

Les points de fusion sont non corrigés. Les spectres infra-rouges ont été enregistrés sur un appareil PERKIN ELMER 257. Les spectres de RMN du proton ont été réalisés sur un appareil PERKIN ELMER R 12. Les déplacements chimiques sont donnés en p.p.m (tétra-méthylsilane comme référence interne), les couplages sont en Hertz.

Les spectres de RMN du tritium ont été obtenus sur un spectromètre BRUKER WP 100 opérant selon le mode pulsé à un champ nominal de 106 MHZ équipé d'une sonde tritium et de 16 K mémoires.

Les analyses par chromatographie liquide à haute performance ont été effectuées sur un appareil WATERS.

Les radiochromatogrammes des chromatographies en couche ont été enregistrés sur un appareil CHROMELEC avec détecteur avec fenêtre (NUMELEC).

Les spectres de masse sont obtenus sur un appareil VARIAN CH 7A par introduction directe et impact électronique (70 eV). Les spectres sont normalisés sur un calculateur VARIAN 620 L-100.

Cyano-2 benzodioxanne-1,4 : 1

Préparé à partir de catéchol et de chloro-2 acrylonitrile selon (5).

Cyano-2 benzodioxine-1,4 : 2

On porte à reflux durant 6 heures 30 ml de tétrachlorure de carbone contenant 10 mMoles de 1, 22 mMoles de N-bromo succinimide et 0,1 mMole de peroxyde de benzoyle. Après retour à la température ambiante, on filtre le précipité de succinimide formé puis on lave avec le tétrachlorure de carbone. Le dérivé dibromé brut obtenu

après évaporation du solvant est dissous dans 40 ml d'acétone ; 50 mMoles d'iodure de sodium sont ajoutés et une vive agitation est assurée durant une heure à la température ambiante. Après élimination de l'acétone, on ajoute de l'eau, de l'éther et une solution de thiosulfate de sodium jusqu'à décoloration. Les extraits étherés sont séchés puis évaporés et le composé 2 ainsi obtenu est purifié par chromatographie sur une colonne de silice.

F = 85 - 86°C (cyclohexane)
 RMN (CDCl₃) : 6,57 (s, 1H, proton éthylénique);
 6,60-7,20 (m, 4H, protons aromatiques)
 IR (KBr) : 2230 cm⁻¹ (CN) ; 1665 cm⁻¹ (C = C)

Aminométhyl-2 benzodioxine -1,4 : 3.

La réduction du nitrile 2 est réalisée avec un excès de LiAlH₄ au sein de l'éther anhydre à la température ambiante. Après hydrolyse puis évaporation des solvants, on obtient l'amine 3 sous forme de liquide.

RMN (CCl₄) : 1,60 (s, 2H, NH₂) ; 3,00 (s, 2H, CH₂) ;
 5,78 (s, 1H, proton éthylénique) ; 6,45-7,0 (m, 4H,
 protons aromatiques).

IR (film) : 3500-3100 cm⁻¹ (bande large, NH₂)
 1705 cm⁻¹ (C = C)

N- diméthoxy-2,6 phénoxyéthyl aminométhyl-2 benzodioxine-1,4 : 4.

6 mMoles d'amine 3 et 3 mMoles de dérivé chloré 6 préparé selon la méthode de Green et Coll. (8) sont dissoutes dans 3 ml de tétrahydrofuranne (THF) et 6 ml d'hexaméthyl phosphotriamide (HMPT). La solution est chauffée sous agitation à 80°C durant 18 heures.

Après hydrolyse, extraction et évaporation sous vide des solvants le dérivé 4 est purifié par chromatographie sur colonne de silice. C'est un liquide.

RMN (CCl₄) : 2,50 ppm (bande large, 1H, NH) ; 2,78 ppm (t, 2H,
 N-CH₂-CH₂, J = 4,7 Hz) ; 3,12 ppm (s, 2H,
 N-CH₂) 3,75 ppm (s, 6H, O-CH₃) ; 4,00 ppm (t, 2H,
 O-CH₂, J = 4,7 Hz) ; 5,88 ppm (s, 1H, proton
 éthylénique) ; 6,50-7,00 ppm (m, 4H, protons aromati
 ques).

IR (film) : 3450 cm⁻¹ (NH) ; 1705 cm⁻¹ (C = C)

Chlorhydrate : F = 137 - 138°C

N-[[Diméthoxy-2,6 phénoxyéthyl] aminométhyl-2 benzodioxanne-1,4
 ^3H -2,3 : 5

On utilise une version améliorée de l'appareillage décrit antérieurement (11), à savoir une pompe Toepler pour transférer à la pression atmosphérique le tritium (enrichissement isotopique 97 %) nécessaire à la réduction du précurseur 4 en solution dans le solvant, en présence des catalyseurs indiqués dans le tableau 1. Une violente agitation magnétique est indispensable ; la réaction, qui est faite à la température ambiante, est arrêtée après l'absorption du volume théorique de tritium.

Les solutions réactionnelles sont filtrées puis évaporées à sec sous vide. Le résidu est repris immédiatement par le méthanol ; celui-ci est évaporé sous vide afin d'éliminer le tritium labile. Après reprise dans un solvant, on purifie par chromatographie liquide sur colonne (CLC) de silice (20 cm x 1,1 cm) avec des débits de 15 à 20 ml/heure ou par chromatographie préparative en couche mince (CPCM).

A : CLC - solvant : CHCl_3
 B : CPCM - solvant : méthanol
 C : CLC - solvant : CHCl_3 : 97 %, méthanol : 3 %
 D : CLC - solvant : CHCl_3 : 97 %, isopropanol : 3 %
 E : CLC - solvant : CHCl_3 : 90 %, cyclohexane : 7 % méthanol 3 %
 G : CPCM - solvant : CHCl_3 , toluène, éthanol (V : V : 4-2-1)
 plaques Merck Silice F 254

Les résultats sont rapportés dans le tableau 1.

La pureté chimique est contrôlée par le spectre d'absorption UV (méthanol) : λ_{max} = 276 m μ , ϵ = 3089 ; λ_{max} = 282,8 m μ , ϵ = 2400 ; min. = 245,3 m μ ; ϵ = 851

La pureté radiochimique est contrôlée par CCM (plaques Merck silice F 254) :

Solvant 1 : chloroforme : 4, toluène : 2, éthanol : $1-R_F = 0,48$
 Solvant 2 : n-butanol : 4, acide acétique : 1, eau : $1-R_F = 0,60$

ainsi que par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) : appareil : WATERS, colonne ZORBAX TMS, solvant : méthanol : 97% eau 3 % + Pic B7. Temps de rétention : 7,6 ml.

Conservation et Radiolyse

L'échantillon provenant de l'essai 6 a été conservé, scellé sous vide en solution dans le méthanol (2 mCi/ml) à -30°C. Au bout de 4 semaines de stockage dans ces conditions la pureté radiochimique est de 99 %.

Un échantillon de même provenance conservé dans les mêmes conditions mais à la température de + 4°C a une pureté radiochimique de 97 % au bout de 2 mois de stockage.

Spectres de résonance magnétique du tritium

Les spectres sont mesurés sur des solutions de WB 4101-³H (10 mCi) dans 100 l de DMSO-D₆ (CEA-SMM). La fenêtre spectrale est de 1326 Hz le temps d'acquisition de 1,5 s et la largeur du pulse d'irradiation est de 4 μs (60°). Nombre d'accumulations : 50000. Le découplage des protons est un découplage par bruit (2W). La résolution est augmentée par l'application de la transformation de LORENTZ-GAUSS au signal d'induction libre avant la transformation de FOURIER.

Les fréquences de résonance suivantes ont été attribuées en se fondant sur les résultats de la littérature (5) :

$H_A = 5,34$ ppm ; $H_B = 5,45$ ppm ; $H_C = 5,43$ ppm avec les constantes de couplages :

$J_{H_A H_B} = 2,6$ Hz ; $J_{H_A H_C} = 7$ Hz ; $J_{H_B H_C} = 12,9$ Hz

Les figures 1 et 2 donnent les spectres des échantillons provenant de l'essai 4 (tritiation catalytique en présence de Pd/C et de l'essai 6 (tritiation en présence de catalyseur soluble).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - MOTTRAM, D.R., KAPUR, H. : J. Pharm. Pharmacol. 27, 295, (1975)
- 2 - GREENBERG, D.A., U' PRICHARD, D.C., SNYDER, S.M. : Life Sci. 19, 69, (1976).
- 3 - YAMADA, S., YAMAMURA, H.I., ROESKE, W.R. : J. Pharmacol. Exp. Therap. 215, 176 (1980) et références citées dans cet article.
- 4 - WEINREICH, P., DECK, J., SEEMAN, P. : Biochemical Pharmacology 29, 1869 (1980).
- 5 - MARTIN, A.R., MALLICK, S.K., CAPUTO, J.F. : J. Org. Chem. 39, 1808, (1974).
- 6 - COUDERT, G., GUILLAUMET, G., LOUBINOX, B. : Tetrahedron Letters, 1059, (1978).

- 7 - LALLOZ, L., LOPPINET, V., COUDERT, G., GUILLAUMET, G., LOUBINOUX, B., LABRID, Cl., BEAUGHARD, M., DURENG, G., LAMAR, J. Cl., : J. Med. Chem. 24, 994, (1981).
- 8 - GREEN, P.N., SHAPERO, M., WILSON, C. : J. Med. Chem. 12, 326, (1969)
- 9 - OSBORN, J.A., JARDINE, F.H., YOUNG J.F., WILKINSON, G. : J. Chem. Soc. A, 1711 (1964)
- 10 - BIELLMAN, J.F., LIESENFEL : M. Bull. Soc. Chim. FRANCE, 4029 (1966).
- 11 - PICHAT, L., AUDINOT, M., LASCEVE, G., : Bull. Soc. Chim. FRANCE, 1986 (1961).