

SYNTHÈSE DE L'ACIDE (PROPYL-1-¹³C)-2 PENTANOÏQUE-3-¹³C
(acide valproïque)

C. SERVENS et C. FILLIATRE

Institut du Pin, Université de Bordeaux I
351, cours de la Libération - 33405 TALENCE (France)

R. SION

Labaz-Sanofi S.A.
Avenue de Béjar, 1
1120-BRUXELLES (BELGIQUE)

SUMMARY

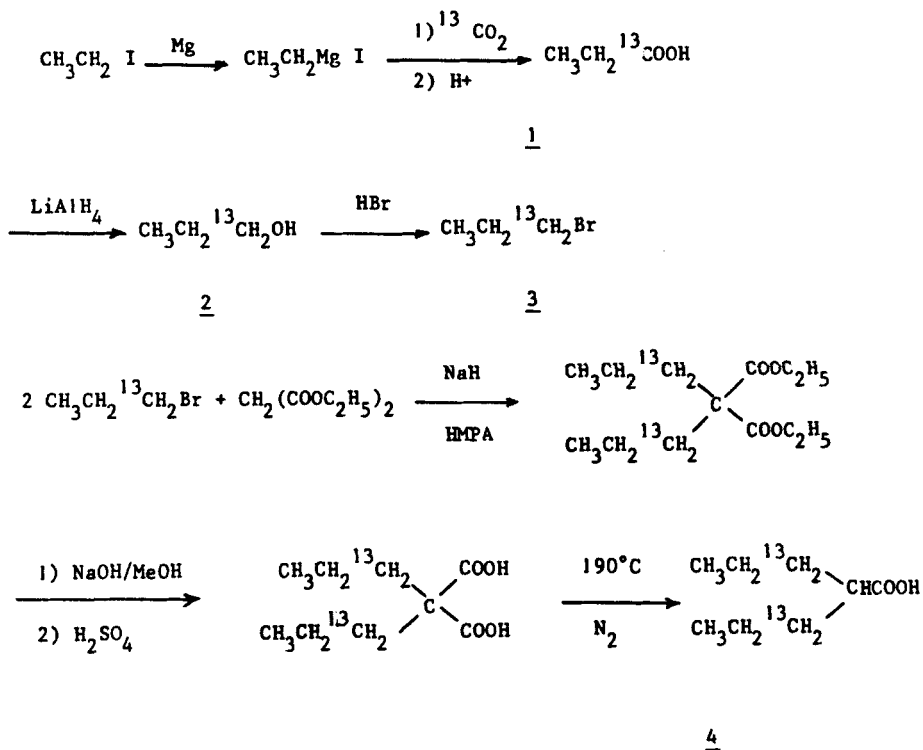
A method was developed for the synthesis of 2-(propyl-1-¹³C) pentanoic-3-¹³C acid on a scale of ten grams and with an isotopic purity of 98,9 %.

KEY WORDS : 2-(propyl-1-¹³C) pentanoic-3-¹³C acid, valproic acid, ¹³C labelling.

Grâce à ses propriétés anti-convulsivantes (1), le sel de sodium de l'acide propyl-2 pentanoïque (valproate de sodium - Depakine^R, Laboratoires LABAZ) est un médicament largement utilisé pour le traitement de l'épilepsie.

L'étude de son mécanisme d'action a fait l'objet de plusieurs mises au point (2,3) et nécessite parfois l'utilisation de molécules marquées. La synthèse de l'acide ¹⁴C en position α a été décrite par V.V. RANADE et A. ALTER (4).

Nous décrivons pour notre part, la synthèse de l'acide valproïque doublement marqué au ^{13}C sur les positions β avec une pureté isotopique de 98,8 %. Le principe de la synthèse est décrit dans le schéma suivant :



L'acide propionique marqué au carbone ^{13}C en position 1 a été préparé par une réaction de carbonatation de l'iodure d'éthylmagnésium. Nous nous sommes référés, pour cette étape, aux travaux de B. STUTZEL, W. RITTER et K.F. ELGERT (5) concernant la synthèse de l'acide acétique marqué au carbone ^{13}C en position 1 à l'échelle de la dizaine de grammes.

Cet acide a été réduit en alcool 2 par l'hydrure de lithium et d'aluminium selon R. OSWALD (6) en remplaçant comme agent d'hydrolyse le n-butyl carbitol par le n-décanol.

Le bromo-1 propane ($1-^{13}\text{C}$) 3 a été obtenu par traitement de l'alcool à l'aide d'acide bromhydrique concentré, puis utilisé comme agent d'alkylation du malonate d'éthyle.

Cette réaction d'alkylation ainsi que les réactions d'hydrolyse et de décarboxylation ont été conduites en utilisant la méthode décrite par V.V. RANADE et A. ALTER (4).

PARTIE EXPERIMENTALE

La synthèse a été effectuée en utilisant du gaz carbonique enrichi à 99 % en carbone 13 (Prochem cat. N° CC-054, B.O.C. Ltd London England).

Synthèse de l'acide propionique ($1-^{13}\text{C}$) 1

L'appareillage est constitué par une rampe à vide sur laquelle sont branchés l'arrivée d'hélium, le cylindre de gaz carbonique, deux manomètres de mesure, une ampoule de 10 ml refroidie par l'azote liquide utilisée pour la condensation du gaz carbonique et un réacteur de 1 litre muni d'un agitateur, d'un thermomètre et d'une ampoule à brome.

L'appareillage est balayé par un courant d'hélium, puis séché à la flamme sous vide.

On introduit dans le réacteur 266 mmoles (48 g) d'iodure d'éthylmagnésium en solution dans l'éther (0,56 M/l). La solution est congelée par l'azote liquide, puis dégazée par décongélation-congélation en deux cycles successifs.

On condense le gaz carbonique 133 mmoles (6 g) dans l'ampoule de 10 ml. Ensuite il est transféré dans le réacteur par réchauffage (température du milieu réactionnel : -80°C).

L'hydrolyse est effectuée à -20°C par 100 ml d'acide sulfurique 4 N et 100 ml d'eau. On extrait par l'éther et lave par 3 fois 50 ml de soude 2 N. Après acidification par l'acide sulfurique, on extrait à nouveau par l'éther.

Après séchage et évaporation du solvant, on obtient 107 mmoles (8 g) de produit brut.

Ce mode opératoire est repris pour deux manipulations successives avec chaque fois 266 mmoles (12 g) de gaz carbonique ^{13}C en adaptant les quantités de magnésien et de solvant.

On obtient ainsi 240 mmoles (18 g) et 227 mmoles (17 g) d'acide brut. Les trois fractions sont rassemblées: 573 mmoles (43 g), puis distillées à l'aide d'un appareil équipé d'une colonne à 7 spires.

$$E_{25} = 64^{\circ}\text{C} \quad 499 \text{ mmoles (37,4 g)} = \text{Rdt} : 75 \%$$

La pureté de l'acide propionique ($1\text{-}^{13}\text{C}$) ainsi préparé est contrôlée par chromatographie en phase gazeuse (colonne 5 % FFAP/3 % OV 17; $0 = 125^{\circ}\text{C}$).

Synthèse du n-propanol ($1\text{-}^{13}\text{C}$) 2

Dans un réacteur de 4 litres contenant 633 mmoles (24 g) d'hydrure de lithium et d'aluminium en suspension dans 900 ml d'éther anhydre, on ajoute, goutte à goutte, une solution de 499 mmoles (37,4 g) d'acide propionique ($1\text{-}^{13}\text{C}$) dans 760 ml d'éther anhydre. Après 20 heures d'agitation à température ambiante, le mélange est hydrolysé par 500 ml de n-décanol, et distillé. On obtient ainsi 479 mmoles (29,2 g) de n-propanol- ($1\text{-}^{13}\text{C}$) (Rdt : 96 %). La pureté est contrôlée par chromatographie en phase gazeuse (colonne 10 % Carbowax 400; $0 = 70^{\circ}\text{C}$) et par RMN.

Synthèse du bromo-1 propane ($1\text{-}^{13}\text{C}$) 3

Dans un ballon surmonté d'une colonne à distiller, on introduit 479 mmoles (29,2 g) de n-propanol ($1\text{-}^{13}\text{C}$), 23,4 g d'acide sulfurique concentré et 81 g d'acide bromhydrique concentré. On distille lentement le bromo-1 propane ($1\text{-}^{13}\text{C}$) au fur et à mesure de sa formation tout en

ajoutant 39 g d'acide sulfurique concentré. Le produit est séché sur tamis moléculaires (3 Å), puis distillé à l'aide d'une colonne à bande tournante (306 mmoles; 38 g = Rdt : 64 %).

La pureté isotopique contrôlée à ce stade par spectrométrie de masse est de 99 %.

Synthèse de l'acide (propyl-1-¹³C)-2 pentanoïque-3-¹³C 4

A une suspension de 612 mmoles (14,7 g) d'hydruure de sodium dans 184 ml d'hexaméthylphosphoramide (HMPA), on ajoute sous azote 170 mmoles (27,2 g) de malonate de diéthyle en solution dans 61,3 ml d'HMPA. Quand le dégagement d'hydrogène a cessé (environ 30 min), on ajoute 301 mmoles (37,7 g) de bromo-1 propane (1-¹³C).

Après 16 heures de contact à température ambiante, le mélange est hydrolysé par la glace, extrait à l'hexane et séché sur sulfate de magnésium. Le solvant est évaporé et l'huile obtenue est traitée par 510 ml de méthanol, 170 g d'eau et 170 g d'hydroxyde de sodium (reflux du méthanol pendant 6 heures). Le mélange réactionnel est dilué par 750 ml d'eau et extrait par l'éther. Après acidification de la phase aqueuse, l'acide est extrait à l'éther. Ensuite on sèche et distille le solvant. Le résidu est alors chauffé à 190°C sous atmosphère inerte jusqu'à l'arrêt du dégagement de gaz carbonique. L'acide 4 est ensuite distillé très soigneusement. On recueille trois fractions (18,2 g au total). La seconde fraction présente une pureté satisfaisante.

$$E_{0,25} = 90 - 92^{\circ}\text{C} \quad (97 \text{ mmoles; } 14 \text{ g} = \text{Rdt} : 32 \%)$$

Rendement global à partir de 1 : 19 %.

Caractéristiques analytiques de l'acide (propyl-1-¹³C)-2 pentanoïque-3-¹³C (4)

Analyse centésimale

	C	H	O
Calculé	67,08	11,03	21,89
Trouvé	67,10	11,10	22,10

Chromatographie en phase gazeuse

L'acide valproïque marqué au carbone 13 (4) a été analysé à l'aide d'une colonne de type FFAP 10 % (diamètre : 3 mm - longueur : 2 m). La température du four était de 200°C et le débit d'azote de 25 ml/mn.

La pureté de l'acide isolé est de 99,4 %. L'impureté présente a été identifiée à la suite d'un couplage chromatographie en phase - spectrométrie de masse après méthylation à l'aide de diazométhane. Il s'agit de l'acide pentanoïque (3-¹³C).

Chromatographie sur couches minces

Nous avons utilisé des plaques Merck avec un support de gel de silice type 60 F 254. L'éluant est un mélange chloroforme-méthanol (1/1) et le révélateur est une solution de 0,5 g de permanganate de potassium dans 15 ml d'acide sulfurique.

On observe dans ces conditions une seule tache ($R_f = 0,83$). L'acide valproïque non marqué a le même coefficient de rétention.

Spectrographie infra-rouge

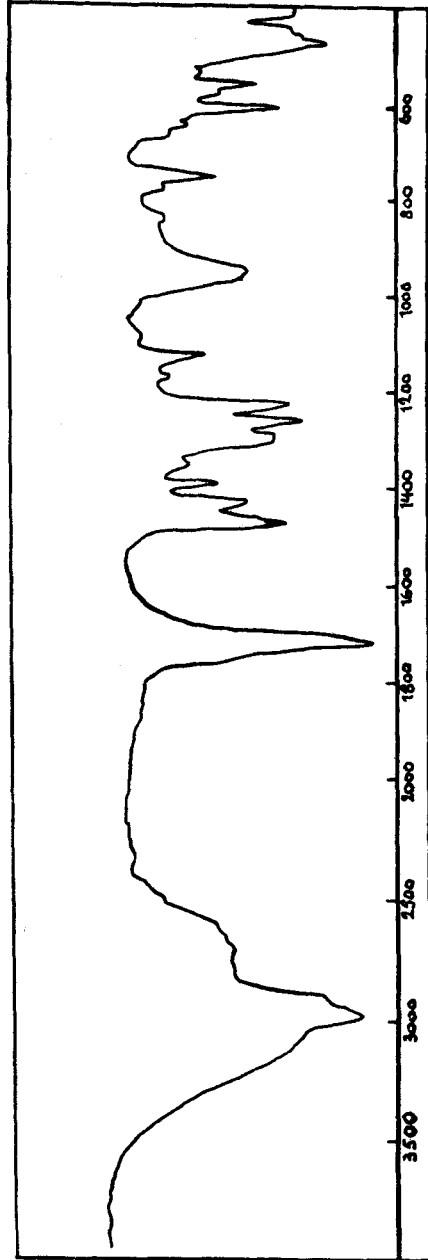
Les spectres infra-rouge de l'acide valproïque marqué et non marqué ont été enregistrés (film). Ils se sont révélés identiques (Fig. 1 et 2).

RMN du carbone 13

Le spectre a été enregistré à l'aide d'un spectromètre BRUKER fonctionnant à une fréquence de 15,08 MHz, le solvant utilisé étant le benzène deutérié.

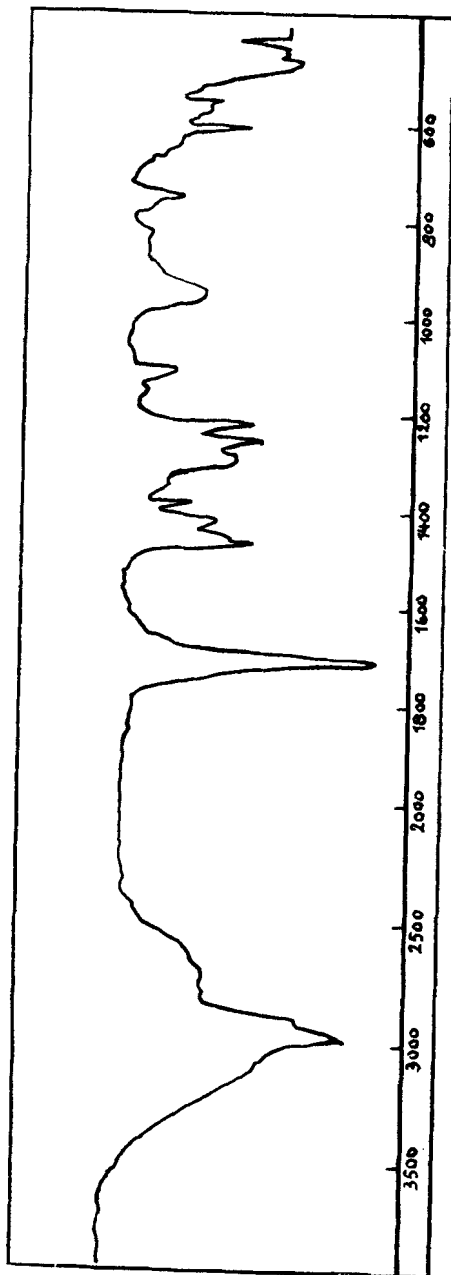
L'attribution des différents signaux a été effectuée à la suite d'une expérience de découplage "off resonance".

COOH	:	183,50 ppm
CH (α)	:	44,40 ppm
¹³ CH ₂ (β)	:	34,50 ppm (forte densité)
CH ₂ (γ)	:	26,84 ppm
CH ₃ (δ)	:	13,82 ppm



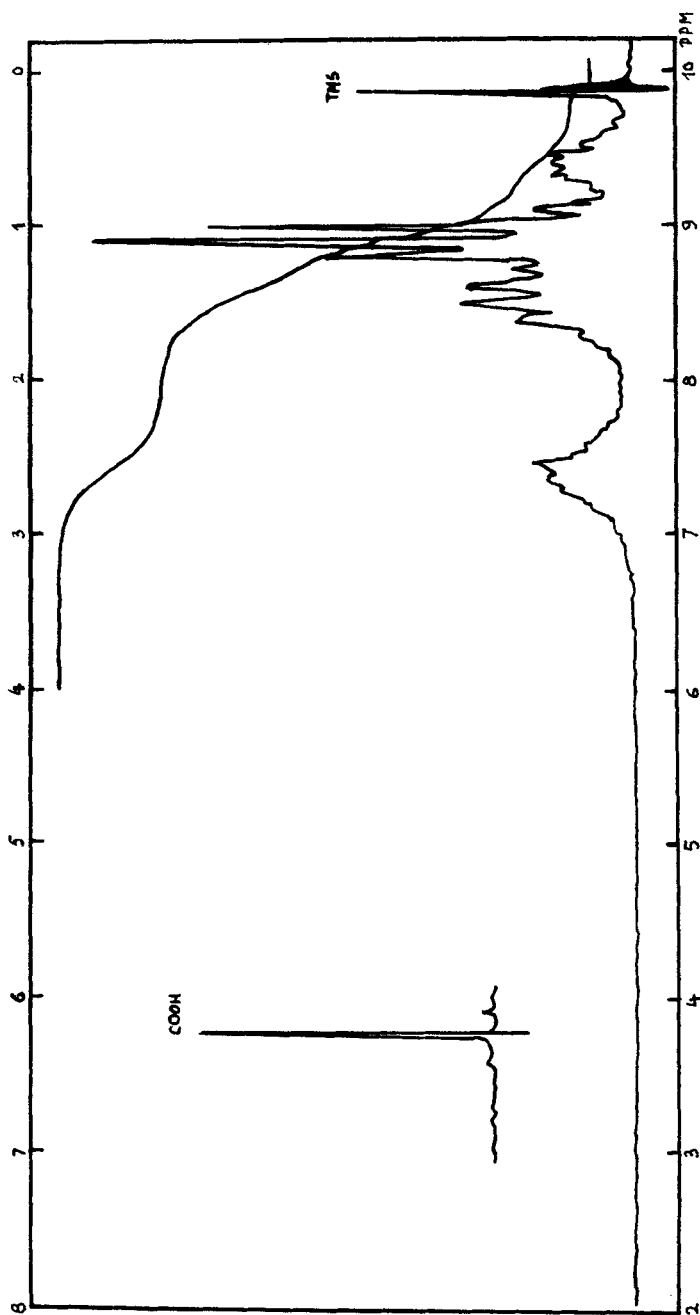
Spectre infra-rouge du DPA - 12°C
(film)

Figure 1



Spectre infra-rouge du DPA - ^{13}C
(film)

Figure 2

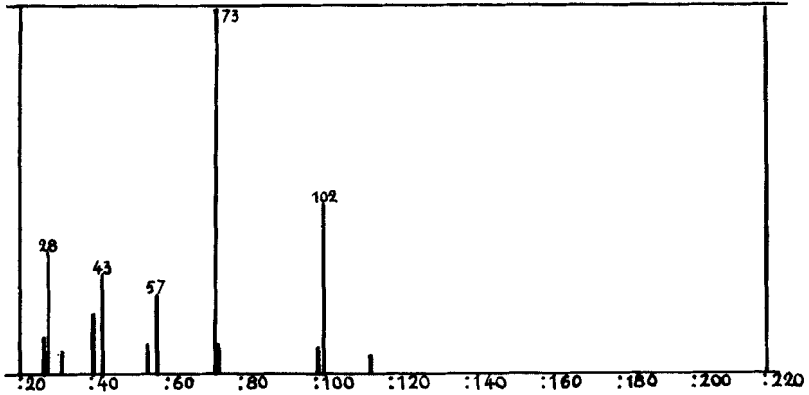


Spectre RMN du proton DPA - ^{13}C

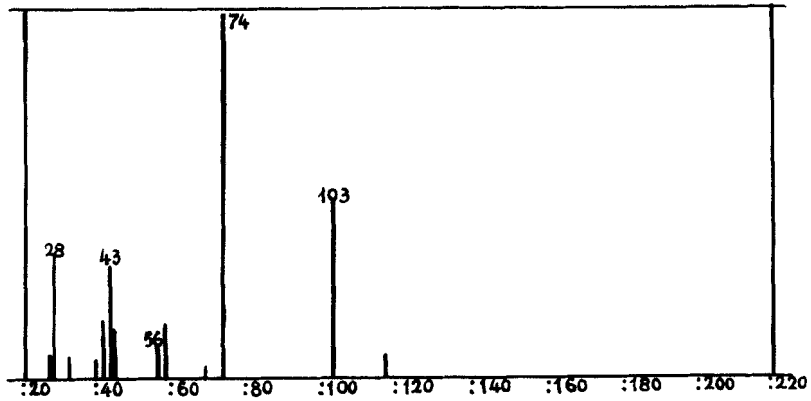
Solvant : CCl_4 - TMS

Appareil : Perkin Elmer RL2-60MHz

Figure 3



Spectre de masse DPA ^{12}C



Spectre de masse DPA ^{13}C

Figure 4

Ces résultats ont également été confirmés sur les esters méthyliques correspondants après méthylation à l'aide de diazométhane en solution étherée.

Pureté isotopique

Elle a pu être déterminée grâce à la spectrométrie de masse en mesurant l'intensité relative des pics m/e 101-103 pour l'acide valproïque marqué et non marqué.

Elle est de 98,8 %.

REFERENCES

1. MEUNIER H., CARRAZ G., MEUNIER Y., EYMARD P. et AIMARD M.
Thérapie, 18, 435 (1963).
2. PINDER R.M., BROGDEN R.N., SPEICHT T.M. et AVERY G.S.
Drugs, 13, 81 (1977).
3. CHAPMAN A., KEANE P.E., MELDRUM B.S., SIMIAND J. et VERNIERES J.C.
Prog. Neurobiol., 19 (4), 315 (1982).
4. RANADE V.V. et ALTER A.
J. Label. Comp. Radiopharm., 17 (5), 733 (1980).
5. STUTZEL B., RITTER W. et ELGERT K.F.
Angew. Makromol. Chem., 50, 21 (1976).
6. OSWALD R., ADAMS P.T. et TOLBERT B.M.
J. Am. Chem. Soc., 74, 2425 (1952).