

MARQUAGE PAR ^{14}C et ^3H du 4,4-DIMETHYL-1-(METHYLENedioxy-3,4 PHENYL)-1-PENTENE-3- OL OU STIRIPENTOL

**J.C. MADELMONT¹, J.M. DUPUY², M. RAPP¹, P. LABARRE¹,
J.C. MAURIZIS¹, F. LEPAGE³, A. VEYRE⁴**

¹INSERM U 71, Rue Montalembert, 63005 CLERMONT-FERRAND

²Centre Jean Perrin, Place Henri Dunant, 63011 CLERMONT-FERRAND

³Laboratoires BIOCDEX, Chemin Armancourt, 60200 COMPIEGNE

⁴Laboratoire de Biophysique Médicale, Faculté de Médecine, 28, Place Henri Dunant, 63001 CLERMONT-FERRAND

SUMMARY

4,4-dimethyl-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-1-pentene-3-ol or stiripentol was labelled by ^{14}C and ^3H .

^{14}C labelling was performed on the carbone 1 of the pentene group via a four steps procedure after the carbonation. The radiochemical yield calculated from the precursor ($\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$) is 28 %.

^3H labelling was performed on the position 3 of the pentene chain by reduction of the corresponding cetone via NaBT_4 . The radiochemical yield calculated from the precursor (NaBT_4) is 40 %.

RESUME

Le 4,4-diméthyl-1-(3,4-méthylènedioxyphényl)-1-pentène-3- ol ou stiripentol a été marqué par le ^{14}C et le ^3H .

Le marquage par le ^{14}C sur le carbone 1 du groupe pentène a été réalisé en quatre étapes après la carbonatation. Le rendement radiochimique calculé par rapport au précurseur ($\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$) est 28 %.

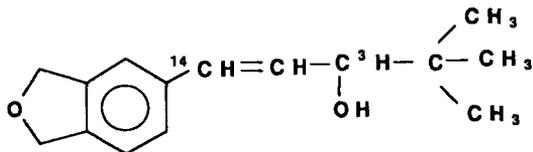
Le marquage par ^3H réalisé en position 3 de la chaîne pentène après réduction de la cétone correspondante par NaBT_4 . Le rendement radiochimique est 40 %.

INTRODUCTION

Le stiripentol est un antiépileptique de la série des alcools éthyléniques dépourvu d'atome azote (1,2) qui présente une faible toxicité chez le rongeur.

Les études de métabolisme *in vivo* chez l'animal et chez l'homme (3,4) ont été réalisées avec des molécules stables.

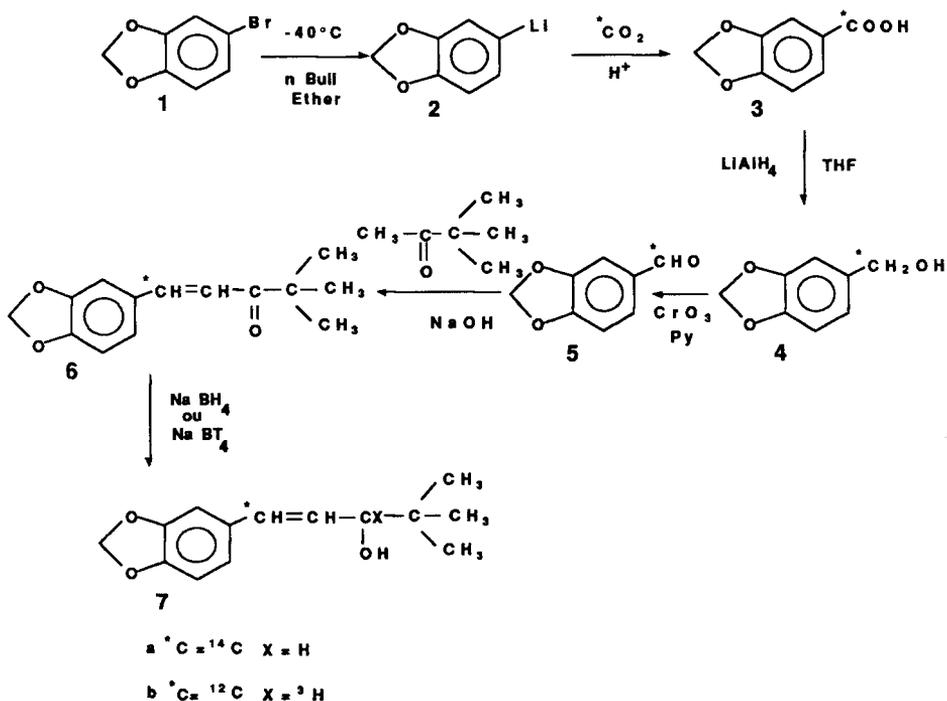
Afin de réaliser une étude pharmacocinétique précise chez l'animal en particulier sur la rate gestante dans le but d'évaluer la traversée de la barrière placentaire nous avons marqué le composé en 2 positions par ^{14}C et ^3H . Les positions de marquage sont indiquées sur la formule ci-après :



L'utilisation *in vivo* de la molécule doublement marquée chez le même animal doit permettre de répondre à la question posée de faciliter l'étude métabolique .

Le schéma réactionnel utilisé est indiqué ci-après :

schéma de marquage



Marquage par ^{14}C . Il est réalisé en 5 étapes à partir du $^{14}\text{CO}_2$. La carbonatation par $^{14}\text{CO}_2$ du Méthylène dioxo-3,4 phényl lithium dans l'éther (5) permet d'atteindre l'acide 3,4-méthylènedioxy benzoïque avec un rendement de 80 %. L'obtention de l'aldehyde correspondant 5 s'effectue en deux temps, après réduction de l'acide 3 en alcool 4 par

LiAlH_4 , on réalise une oxydation ménagée de ce dernier par CrO_3 dans la pyridine. Le rendement chimique de ces deux réactions est environ 86 %. La 4,4-diméthyl-1-(3,4-méthylènedioxyphényl)-1-pentène-3-one **6** est obtenue avec un rendement de 51 % par condensation de la pinacolone en milieu basique sur l'aldéhyde **5**. Enfin la réaction par NaBH_4 dans le méthanol de la cétone **6** en stiripentol **7** est réalisée avec un rendement chimique de 80 %. Ainsi on atteint le stiripentol avec un rendement chimique et radiochimique de 28 % par rapport aux $^{14}\text{C}_3$ Ba.

Marquage par ^3H . Il a été très simplement réalisé en remplaçant lors de la dernière étape le NaBH_4 par NaBT_4 .

Le rendement chimique est le même que précédemment alors que le rendement radiochimique calculé par rapport au NaBT_4 est 40 %.

PARTIE EXPERIMENTALE

I. INDICATIONS GENERALES

Les points de fusion sont pris sur un banc Kofler. Les radiochromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur gel de silice Merck 60 F 254 et analysés avec un détecteur multicanaux LB 2821.

Les mesures de radioactivité sont effectuées avec un spectromètre à scintillation liquide Packard modèle 4530.

Les spectres IR sont enregistrés sur un spectromètre Perkin Elmer 398, les spectres de RMN sur des appareils Jeol PMX 60 et Brüker AM 200 WB : la position des bandes est donnée en valeur de δ par rapport au TMS comme référence interne.

II. MARQUAGE PAR ^{14}C

1) Préparation de l'acide ^{14}C 3,4-méthylènedioxobenzoïque **3**

A la solution agitée et refroidie à -40°C de 14 mM (2,8 g) de 3,4 méthylènedioxy bromo benzène dans 150 cm^3 d'éther, on ajoute lentement à la seringue 13 mMole, $5,2\text{ cm}^3$ de nBuLi 2,5 M dans l'hexane. Après 35 minutes de réaction à cette température on transvase à la rampe à vide 10 mMole de BaCO_3 , (7,1 mCi).

Après 30 minutes de réaction à -40°C on laisse remonter la température à 0°C en 30 minutes puis hydrolyse par 5 ml d'une solution d'acide sulfurique 6N. on extrait par l'éther ($5\text{ fois } 30\text{ cm}^3$) et traite la phase organique par 20 ml d'une solution de soude 6N (2 fois 10 ml). La phase aqueuse basique refroidie est acidifiée par l'acide sulfurique 6N. Le précipité obtenu séché au dessiccateur sous vide sur P_2O_5 peut être utilisé sans autre purification :

Rendement : 1,33 g, 8 mM 80 %, L'activité spécifique est : $42,7\ \mu\text{Ci}/\text{mg}$, $1,580\ \text{MBq}/\text{mg}$; $7,1\ \text{MCi}/\text{mMole}$, $259\ \text{MBq}/\text{mMole}$.

F = 230°C Litt : 228-229

CCM : Silice Merck Si 60 HF 254 ; éluant, $\text{EtOH}/\text{CHCl}_3$ 5 % v/v, $R_f = 0,45$

I R : KBr v cm^{-1} : 3200-2500 (OH), 1655 (Co)

RMN ^1H DMSO $_d$ 6,10 (2,2,CH $_2$ O), 6,95 à 7,58 (m, 3, aromatiques) 12,76 (s,1, COOH échangeable)

2) Préparation de l'alcool ^{14}C 3,4-méthylènedioxobenzylrique 4

A la solution de 1,33 g (8 mMole) d'acide 3 sous argon dans 100 cm 3 de THF anhydre (60 cm 3) on ajoute lentement à la seringue 8 cm 3 (8 mM) de LiAlH $_4$ (1 M dans le THF) et agiter le milieu 30 minutes à cette température. On laisse ensuite 1 heure à température ambiante puis hydrolyse la solution par 10 cm 3 d'H $_2$ SO $_4$ 6 N. On extrait par l'éther (5 fois 50 cm 3) après avoir dilué par 60 cm 3 d'eau, sèche sur MgSO $_4$ et distille le solvant sous pression réduite. Le résidu solide peut être utilisé sans purification. Rendement 1,16 g (7,6 mM)

L'activité spécifique est 46,5 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$, 1,720 Mbq/mg ; 7,1 MCi/mMole, 259 MBq/mMole
F = 75-76°

CCM : Silice Merck Si 60 HF 254 : éluant EtOH/CHCl $_3$ 5 % v/v Rf = 0,7

I.R.(KBr) ν cm $^{-1}$: 3350 large (OH), 2820, 2970 (CH)

RMN ^1H (CDCl $_3$) 1,58 (s, 1, OH échangeable) ; 4,56 (s, 2, CH $_2$ OH) ; 5,94 (s, 2, O CH $_2$ O) ; 6,75 à 6,87 (m, 3, aromatiques).

3) Préparation du ^{14}C 3,4-méthylènedioxobenzaldehyde 5 (ou ^{14}C piperonal)

A une solution de 1,15 g d'alcool 4 dans 6 ml de pyridine on ajoute une solution oxydante de 2,3 g de CrO $_3$ dans 45 cm 3 de pyridine et laisse agiter pendant 18 h à température ordinaire. On hydrolyse par 200 cm 3 d'eau à 0°C, extrait par l'éther (5 x 200 ml) lave la phase organique par l'eau (3 x 100 cm 3), décante, sèche sur Mg SO $_4$ puis évapore sous pression réduite. On obtient un solide jaune orange utilisable sans purification.

Rendement : 0,96 g, (6,4 mM), 85 %

L'activité spécifique est 47 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$, 1,740 MBq/mg ; 7,1 mCi/mMole, 259 MBq/mMole

F = 38°C Litt 36-37°C

CCM silice Merck Si 60 HF 254 éluant CHCl $_3$, Rf :

I R (KBr) ν cm $^{-1}$: 3080, 3060 (CH $_2$) ; 2700, 2900 (CH), 1740 (CHO)

RMN ^1H (CDCl $_3$) ; 6,09 (s, 2, O-CH $_2$ -O) ; 6,90 à 7,45 (m, 3, aromatiques) ; 9,81 (s, 1, CHO)

4) Préparation de la ^{14}C 4,4-dimethyl-1-(3,4 méthylènedioxy phenyl)-1-pentene-3-one 6

A une solution de 0,96 (6,4 mM) de piperonal 5 et 0,7 g (7,95 mM) de pinacolone dans 100 ml d'éthanol, on ajoute 2,8 ml de soude 2,5 N (7 mM) et porte 4 heures à reflux. On amène ensuite à 0°C et laisse une nuit sous agitation à cette température. On hydrolyse par 100 cm 3 d'eau, extrait par le chloroforme (5 x 60 ml), sèche sur MgSO $_4$, évapore le solvant sous pression réduite. Le composé brut 1,16 g est chromatographié sur colonne de silice (Merck Si 60, 35 45 μ) par un mélange CHCl $_3$ /Hexane 1/1, v/v.

Après élution des impuretés mobiles on isole 764 mg de cétone **6** (3,3 mM)

Rendement 50 %

L'activité spécifique est : 30,6 μ Ci/mg, 1,130 MBq/mg ; 7,1 mCi/mMole, 259 MBq/mMole

F = 95 %

CCM : Silice Merck Si 60 HF 254 éluant EtOH/CH₂Cl₂(5 % v/v) ; Rf = 0,9

I R : KBr ν cm⁻¹ : 3060-3005 (CH ar), 2960-2800 (Ch), 1665 (C = O) , 1600 (C = C)

RMN : ¹H (CDCl₃) ; 1,22 (s, 9, CH₃) ; 6,01 (s, 2, O-CH₂-O), 6,60 à 7,64 (m, 5, CH=CH + aromatiques).

5) Préparation du ¹⁴C 4,4-diméthyl-1-(3,4-méthylènedioxy phényl)-1-pentène-3-ol **7** ou stiripentol

A la solution de 0,76 g (3,3 mM) de cétone **6** dans 25 cm³ de MeOH on ajoute une solution de 5 mMoles (0,190 g) NaBH₄ dans 2 cm³ de soude (2 x 10⁻³ M). On agite une nuit sous argon puis additionne 60 cm³ d'eau et ajuste à pH 8,6 avec une solution acide (HCl : 0,1 N) . On laisse le produit précipiter à 0°C pendant 30 minutes , filtre sur fritté, lave à l'eau glacée puis sèche au dessiccateur sur P₂O₅. On obtient 0,62 g , (2,65 mM) de composé utilisable sans purification .

Rendement 80 %

L'activité spécifique est 30,3 μ Ci/mg., 1,120 MBq/mg ; 7,1 mCi/mMole, 259 MBq/mMole

F : 76°C

CCM : Silice Merck Si 60 HF 254 éluant EtOH/CH₂ Cl₂ (5 %, v/v) Rf = 0,8

IR : KBr (ν cm⁻¹), 3520 (OH) ; 3005 à 3060 (CH ar) ; 2800 à 2960 (CH) , 1595 (C = C)

RMN : ¹H (DMSO d₆) 0,93 (s, 9, CH₃) ; 1,54 (s, 1, OH échangeable) ; 3,85 à 3,89 (d, 1, HC-OH) ; 5,93 (s, 2, OCH₂O) ; 6,09 à 6,14 [m, (doublet de doublet J = 8 Hz et J 16 Hz) 1, -HC=CH-] ; 6,42 , 6,50 [d(J = 16 Hz), 1-HC=CH-], 6,74 à 6,93 (m, 3, aromatiques).

Préparation du ³H stiripentol

Il est réalisé selon le même mode opératoire que précédemment en utilisant 5 mM de cétone **6** et 5 mMole de NaBT₄ (36 mCi) on obtient 0,930 mg (4 mM) de stiripentol. Rendement 80 %.

L'activité spécifique est : 15,4 μ Ci/mg., 570 KBq/mg, 3,6 mCi/mMole ; 133,2 MBq/mMole.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Madame LEFRANCOIS et Mademoiselle BAYLE pour leur participation à la réalisation de ce manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) ASTOIN J., MARIVAIN A., RIVERON A., CRUCIFIX M., LAPOTRE M., TORPEN Y. - *Eur. J. Med. Chem* ; 1978, 13, 41-47.
- 2) POISSON M., HUGUET F., SAVATIER A., BRAKRI-LOGEAIS F., NARCISSE G. - *Arzneimittelforsch/Drug Res.* ; 1984, 34 (1), 199-204.
- 3) ZHANG K., LEPAGE F., CUVIER G., ASTOIN J., RASHED M.S. and BAILLIE T.A. - *Drug Metab. and Disp.*, 1990, 18 (5), 794-803.
- 4) MORELAND T.E., ASTOIN J., LEPAGE F., TOMBRET F., LEVY R.H. and BAILLIE T.D. - *Drug Metab. and Disp.*, 1986, 14 (6), 654-662.
- 5) NAGASAKI T., KATSUYAMA Y. and MINATO H., - *J. Lab. Comp.*, 1976, XII (3), 409-427.