

MARQUAGE PAR ^{14}C ET ^{13}C DU TERBUTYLANILINO-4 CHLOROETHYLUREE

M. AZIM¹, J.C. MADELMONT¹, C. CUSSAC¹, M. RAPP¹, J.C. MAURIZIS¹,
R. G. - GAUDREULT², D. GODENECHÉ¹, A. VEYRE^{1,3}

¹ INSERM U 71, Rue Montalembert, B.P. 184, 63005 CLERMONT-FERRAND CEDEX

² Centre de Recherche, Hôpital Saint-François d'Assise, 10, rue de l'Espinay,
Quebec, Canada G1L3L5

³ Laboratoire de Biophysique Médicale, Faculté de Médecine, B.P. 38, 28, Place
Henri Dunant, 63001 CLERMONT-FERRAND CEDEX

SUMMARY

The labelling of 2-chloroethylisocyanate with ^{14}C and ^{13}C on the carbonyl group from 3-chloropropionic acid ^{14}C and ^{13}C is described. This isocyanate was used to synthesize 4-tert butyl [3-(2-chloro ethyl) ureido] benzene).

RESUME

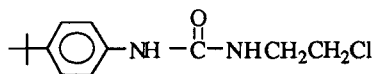
Le 2-chloroéthyl isocyanate a été marqué par ^{14}C ou ^{13}C sur le groupe carbonyle à partir de l'acide 3-chloropropionique ^{14}C ou ^{13}C afin de réaliser le marquage du 4-terbutyl [3-(2-chloroéthyl ureido] benzène).

INTRODUCTION

Les chloroéthylurées de structure : $\text{RNHCONHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ sont des composés qui diffèrent des 2-chloroéthyl nitrosourées par l'absence de propriétés alkylantes. Récemment, Gaudreault et coll (1,2) ont montré qu'elles se comportaient comme des antimétabolites (poisons du fuseau).

Dans la série étudiée la terbutylanilino-4 chloroéthylurée dont la formule est rappelée ci-après paraît très prometteuse (schéma I).

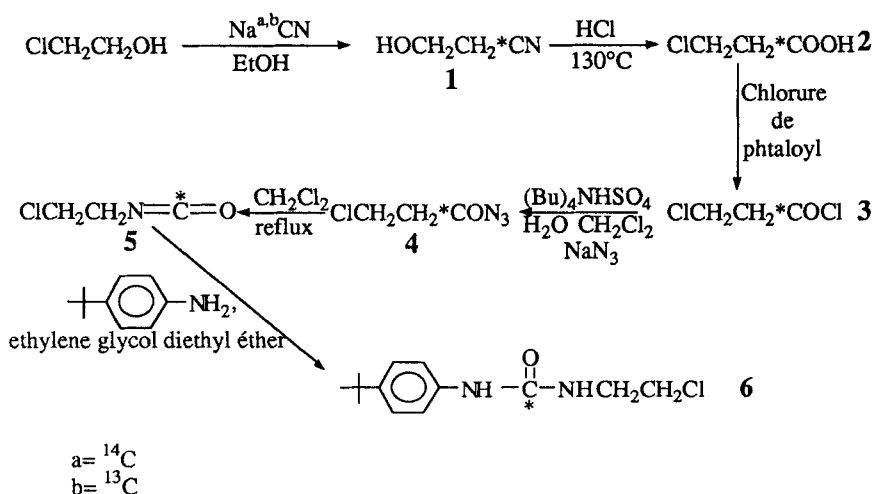
SCHEMA I



Afin de réaliser une étude pharmacocinétique chez l'animal porteur de tumeur et d'aborder le mécanisme d'action au niveau subcellulaire, il était nécessaire de marquer le composé par ^{14}C . Dans la mesure où le composé n'est pas alkylant il paraissait raisonnable d'envisager l'introduction de la radioactivité sur le carbonyle uréique.

Le 2-chloroéthyl isocyanate constitue l'intermédiaire de synthèse le mieux adapté pour réaliser ce marquage. Le processus de synthèse est indiqué sur le schéma II.

SCHEMA II



L'acide 3-chloro propionique ${}^{14}\text{C}$ ou ${}^{13}\text{C}$ (3), préparé à partir du cyanure de sodium et de 2-chloro éthanol, est traité par le dichlorure de phtaloyl pour aboutir au chlorure d'acide 3-chloro propionique (4). La synthèse de l'azide et du 2-chloro éthylisocyanate ${}^{14}\text{C}$ ou ${}^{13}\text{C}$ est réalisée en milieu hétérogène en présence de catalyseur de transfert de phase, à partir de chlorure d'acide 3-chloro propionique et d'azide de sodium (5). Le réarrangement de Curtius s'effectue par chauffage de la phase organique contenant l'azide et conduit au 2-chloro éthylisocyanate ${}^{14}\text{C}$ ou ${}^{13}\text{C}$. Cette méthode permet de hauts rendements chimiques et radiochimiques aussi bien en azide qu'en isocyanate. L'obtention de la (4-tert butyl [3-(2-chloroethyl) ureido]benzène) s'effectue par la réaction de la tertbutylaniline sur le 2-chloro éthyl isocyanate ${}^{14}\text{C}$ ou ${}^{13}\text{C}$. Le rendement global de marquage calculé par rapport au précurseur (Na^{14}CN ou Na^{13}CN) est de l'ordre de 27 à 30%.

PARTIE EXPERIMENTALE

Indications générales

Les points de fusion sont pris sur un banc Kofler. Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur gel de silice Merck 60 F254.

Les mesures de la 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 RMN sont enregistrés sur un appareil Brüker AM200 WB : la position des bandes est donnée en valeur de δ par rapport au TMS comme référence interne.

Les cyanures de sodium ${}^{14}\text{C}$ et ${}^{13}\text{C}$ ont été fournis par les Sociétés Dositek et Eurisotope.

1) Préparation de l'hydracrylonitrile-¹⁴C ou ¹³C 1

A 8 mmoles de 2-chloro éthanol en solution dans 5 ml d'éthanol à reflux on ajoute goutte à goutte 8 mmoles de cyanure de sodium (25,90 10²MBq,70 mCi) dans 2 ml d'eau. Après 20 h à reflux le mélange réactionnel est refroidi et dilué par 100 ml d'acétone. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. On obtient 0,511g, 7,2 mmoles de composé soit un rendement chimique et radiochimique de 90 % par rapport au cyanure de sodium ¹⁴C ou ¹³C.

A.S.: 3,23 10² MBq/mmmole. 8,75 mCi/mmmole.

¹HRMN (CDCl₃) 2,61 (t, CH₂-CN, 2H); 2,84 (s, OH, 1 H); 3,88 (t, CH₂-OH, 2H)

2) Préparation de l'acide 3-hydroxypropanenitrile 2

7,2 mmoles d'hydracrylonitrile ¹⁴C ou ¹³C dans 6 ml d'acide chlorhydrique concentré sont portées à 130°C dans un réacteur scellé. Après 4 heures d'agitation le mélange réactionnel est refroidi, dilué avec 4 ml d'eau pour dissoudre le chlorure d'ammonium puis extrait à l'éther 8 fois. La phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis évaporée sous pression réduite. On obtient 0,742g, 6,84mmoles de composé soit un rendement chimique et radiochimique de 95%.

point de fusion : 38-40°

A.S : 3,23 10² MBq/mmmole. 8,75 mCi / mmmole.

¹HRMN (CDCl₃) : 2,86 (t, CH₂-Cl 2H); 3,76 (t, CH₂-Cl, 2H); 10,50 (s, COOH) ;

3) Préparation du chlorure d'acide 3-chloro propionique 3

A 6,84 mmoles d'acide 3-chloropropionique on ajoute 5 ml de dichlorure de phtaloyle : le mélange est chauffé à 140° pendant 3 heures, puis le chlorure d'acide est recueilli dans un piège à -180° après distillation sous vide à la rampe à vide. On obtient 0,744g, 5,85 mmoles de composé soit un rendement chimique et radiochimique de 85,7%.

A.S : 3,23 10² MBq/mmmole 8,75 mCi / mmmole.

¹HRMN (CDCl₃) : 3,368 (t, CH₂COCl, 2H); 3,763 (t, CH₂-Cl, 2H)

4) Préparation du 3-chloro propyl azide 4

A la solution de 5,85 mmole de chlorure d'acide dans 30 ml de dichlorométhane refroidie à 0°C, on ajoute 11,3 mmole d'azide de sodium dans 3 ml d'eau et 13 mg de (Bu)₄NSO₄ H. Après 2 heures d'agitation à cette température on décante et lave la phase organique par deux fois 6 ml d'eau. On sèche rapidement le dichlorométhane sur sulfate de magnésium, évapore sous pression réduite à température ambiante. On obtient 0,648g, 5 mmoles soit un rendement chimique et radiochimique de 85,5%.

A.S. 3,2310² MBq/mmmole. 8,75 mCi/mmmole

I R KBr (ν cm⁻¹) 2800 (CH) , 2140 (N₃ forte), 1710 (CO)

¹H RMN (CDCl₃) : 3,75 (T, CH₂Cl, 2H)

5) Préparation du 2-chloro ethylisocyanate 5

5 mmoles de 3-chloro propyl azide sont solubilisés dans 20 ml de dichlorométhane et portés une nuit à reflux. Le solvant distillé sous pression réduite à température ordinaire

laisse un résidu de 2-chloro éthylisocyanate pur. On obtient 0,480g, 4,55 mmoles de composé soit un rendement chimique et radiochimique de 91,1%.

A S : $3,2310^2$ MBq/mmmole. 8,75 mCi/mmmole

IR KBr (ν cm^{-1}), 2800 (CH), 2280 (N=C=O, forte)

^1H RMN (CDCl_3) : 3,560 à 3,747 (m, centré sur 3,653, CH₂-CH₂)

^{13}C RMN (CDCl_3) : 124,280 (N=C=O)

6) Préparation de la (4 -terbutyl [3-(2-chloroethyl ureido) benzene] ^{14}C et ^{13}C 6

A 4,55 mmoles de 2-chloro éthylisocyanate dans 60 ml d'éthylène glycol diéthyl éther on ajoute 6 mmole de 4 terbutylaniline. Le mélange réactionnel est agité pendant 24 heures à 30°C. On évapore l'éthylène glycol diéthyl éther sous pression réduite. Au résidu sec on ajoute 100 ml d'éther, on obtient le terbutylanilino-4 chloroéthylurée sous forme d'un précipité blanc que l'on sèche au dessicateur. On obtient 0,562g, 2,2 mmoles de composé soit un rendement chimique et radiochimique de 50%.

Point de fusion : 138-139°

CCM Silice Merck Si 60 HF254 éluant: acétate d'éthyle, Rf= 0,78

A.S $3,2310^2$ Bq/mmmole. 8,75 mCi/mmmole

IR KBr (ν cm^{-1}) : 3400-3200 (NH) , 2950 (CH), 1650 (C = O)

^1H RMN (CDCl_3) : 1,28 (s, CH₃, 9H) ; 3,59 (m, NH CH₂-CH₂Cl, 4 H)

5,65 (s, NH-CH₂, 1H) ; 6,95 (s, NH-CO , 1H) 7,16 à 7,34 (2d, CH aromatique, 4H)

^{13}C RMN (CDCl_3): 156,082 (HNC₂ONH)

REMERCIEMENTS

Nous remercions Madame LEFRANCOIS pour sa participation à la réalisation de ce manuscrit.

REFERENCES

- 1) GAUDREAU R.C., LACROIX J., PAGE M., JOLY L.P.- J. Pharm. Sci ; 1988, 77, 185-187.
- 2) LACROIX J., GAUDREAU R.C., PAGE M., JOLY L.P. - Anticancer Res.; 1988, 595-598.
- 3) MURRAY A. and WILLIAMS D.L. - Organic synthesis with isotopes, Part I ; compounds of isotopic carbon. Intersciences Publishers INC, New-York, Intersciences Publishers LTD, London, 1958, p731, Anticancer. Res. vol.8.
- 4) BARET C. et PICHAT L., Bull. Soc. Chem. France ; 1951, 18 : 580, Anticancer. Res. vol.8.
- 5) PFISTER J.R., WYMAN W.E. - Synthesis ; 1983, 38 .