

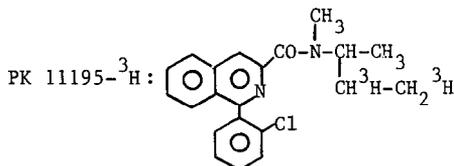
INTERPRETATION DU SPECTRE RMN-³H DU PK-11195 (³H)

L.SERGENT et J.P.BEAUCOURT

Service des Molécules Marquées, Centre d'Etudes Nucléaires, SACLAY, France

(1D-³H NMR) of PK 11195 ³H gives a complex spectrum. Homonuclear 2D-³H NMR (COSY and J. Resolved) gives useful information such as tritium chemical shifts, ³H-³H and ³H-¹H coupling constants, percentage of isotopomers and specific activity.

Le PK 11195-³H : (chloro-2 phényl)-1-N-méthyl (N-(1-méthyl-³H propyl) isoquinoline carboxamide-3 a été utilisé pour l'étude des sites récepteurs de "type périphérique" des benzodiazépines *in vitro*^{1,2} et *in vivo*³.



Le spectre RMN-³H-1D réalisé à 106 MHz sur un spectromètre Bruker WP 100 modifié fournit peu d'indications spectrales. Par contre, la RMN-³H-2D, à notre connaissance non utilisée à ce jour, nous a fourni des données qui n'étaient pas directement accessibles sur le spectre 1D : déplacements chimiques du ³H, constantes de couplage ³H-³H et ³H-¹H, pourcentages d'isotopomères (non tritié, mono-et ditritié) et activité spécifique du PK 11195-³H.

La corrélation déplacement chimique ³H-déplacement chimique ³H : COSY 45^{4,5} (avec découplage large bande du proton) nous a fourni les corrélations entre les 4 massifs du spectre RMN-³H-1D (fig 1). Dans ce type d'expérience, seuls les atomes liés par un couplage scalaire apparaissent ; dans notre cas, seules les paires ³H-³H couplées sont détectées.

La séquence COSY 45 réduit l'intensité des composantes situées près de la diagonale, mais peut aussi introduire des perturbations dans les signaux de corrélation, ce qui explique les différences d'intensités des tâches formant les sommets des carrés résultants des couplages scalaires (fig 1). Il existerait trois isomères de position du groupement éthyle considéré, supposés dus à un empêchement à la rotation autour du groupement amide. Cette méthode ne permet pas d'obtenir d'informations complémentaires sur ces isomères.

L'expérience de RMN-2D homonucléaire résolue en J avec découplage large bande du proton (fig 2) nous a fourni les déplacements chimiques du tritium par rapport au TMS : 0,66 ppm ; 0,84 ppm ; 1,30 ppm ; 1,46 et 1,50 ppm ainsi que les constantes de couplage ³H-³H (7,9 Hz) et les motifs isotopiques résultant des isotopomères en présence : R-C³HH-C³HH₂ ; R-C³HH-CH₃ R-CH₂-C³HH₂.

Connaissant le pourcentage de molécule non marquée R-CH₂-CH₃ par le spectre RMN-¹H-1D du produit tritié, il a été possible de calculer les proportions relatives des 4 isotopomères : produit non tritié : 18%, produit monotritié : 53%, produit ditritié : 29%. Il est ainsi possible d'en déduire l'activité spécifique de la molécule : 29 Ci/mM, voisine de celle mesurée par spectrométrie de masse (27 Ci/mM).

L'expérience de RMN-2D homonucléaire ³H-³H résolue en J sans découplage du proton (fig 3) nous a fourni les constantes de couplage ³H-¹H : J (³H-¹H)_{gem} = 13,8 Hz et

$J(^3\text{H}-^1\text{H})_{\text{vic}} = 6,4 \text{ Hz}$. La projection horizontale est en effet la superposition des constantes de couplage géminales J_{CTH} et vicinales $J_{\text{CT-CH}}$ pour chaque tritium; l'interprétation est facilitée par la connaissance des constantes de couplage vicinales $^1\text{H}-^1\text{H}$: $J_{\text{CH-CH}}$ fournies par la relation $J_{\text{CT-CH}} = J_{\text{CH-CH}} \times 1,0666357$

Cette expérience 2D- ^3H montre tout l'intérêt de la méthode pour le contrôle analytique par RMN des produits tritiés, et plus particulièrement les radio-ligands.

REMERCIEMENTS :

Nous remercions MM. C. RENAULT et A. UZAN (Société POINTET-GIRARD-PHARMUKA) pour les spectres RMN- ^1H du PK.11195 à 250 MHz et pour les renseignements qu'ils ont bien voulu nous fournir.

REFERENCES :

- 1/ G. LE FUR, M.L. PERRIER, N. VAUCHER, F. IMBAULT, A. FLAMIER, J. BENAVIDES, A. UZAN, C. RENAULT, M.C. DUBROEUCQ, C. GUEREMY *Life Sciences*, **32**, (1983) 1839.
- 2/ G. LE FUR, N. VAUCHER, M.L. PERRIER, A. FLAMIER, J. BENAVIDES, C. RENAULT, M.C. DUBROEUCQ, C. GUEREMY, A. UZAN *Life Sciences*, **33**, (1983) 449.
- 3/ G. LE FUR, F. GUILLOUX, P. RUFAT, J. BENAVIDES, A. UZAN, C. RENAULT, M.C. DUBROEUCQ, C. GUEREMY *Life Sciences*, **32**, (1983) 1849.
- 4/ A. BAX, R. FREEMAN, G. MORRIS, *J. Magn. Reson.* **42** (1981) 164.
- 5/ A. BAX, R. FREEMAN, *J. Magn. Reson.* **44** (1981) 542.
- 6/ L. MULLER, A. KUMAR, R.R. ERNST, *J. Chem. Phys.* **63** (1975) 5490.

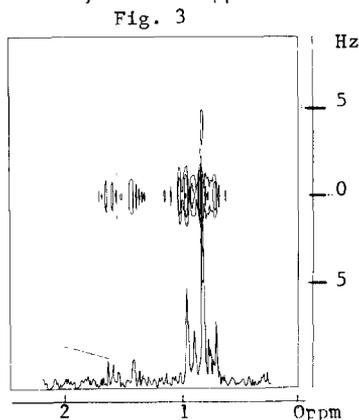
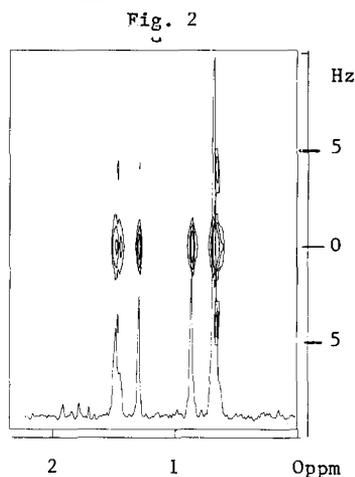
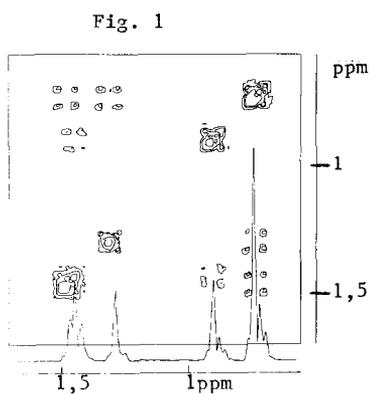


Figure 1 : Corrélation homonucléaire des déplacements chimiques $^3\text{H}-^3\text{H}$ "COSY 45".

Figure 2 : RMN-2D-homonucléaire $^3\text{H}-^3\text{H}$ résolue en J (découplée du proton). Matrice et projection horizontale : déplacements chimiques.

Figure 3 : RMN-2D-homonucléaire $^3\text{H}-^3\text{H}$ résolue en J (sans découplage du proton) : constantes de couplage $^3\text{H}-^1\text{H}$ seules.