

SYNTHESE ET MARQUAGE AU ^{14}C DU N,N DICHLORO-2 ETHYL
AMINO-4 METHYL-2 METHOXY-1 NAPHTALENE OU MITOCLOMINE

Jean-Claude MADELMONT, Marie-France MOREAU

et Denise GODENECHÉ

INSERM. Unité de Recherche U 71, Etude métabolique

des molécules marquées, 63005 Clermont-Ferrand Cedex France

Received November 22, 1976

Revised February 20, 1977

SUMMARY

NN, di-2 chloroethyl 4-amino 2-methyl 1-methoxy naphthalen is labelled with ^{14}C on two different positions.

-uniformly on the four carbons of the dichloroethyl group by means of radioactive ethylene oxide.

- on the carbon of the methoxy group by means of radioactive methyl iodide.

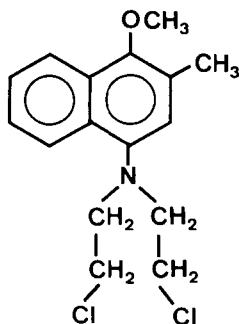
RESUME

Le NN dichloro-2 éthyl amino-4 méthyl-2 méthoxy-1 naphthalène est marqué en deux positions.

- uniformément sur les quatre carbones du groupement dichloro-éthyle à partir de l'oxyde d'éthylène radioactif.

- sur le carbone du groupement méthoxy à partir de l'iode de méthyle radioactif.

La mitoclomine est une moutarde à l'azote dont la structure porteuse est très proche d'une substance naturelle la vitamine K_5 . C'est GRANGER (1) qui en 1966 a proposé la formule de ce nouvel agent cytotoxique.



L'action dépressive de cette drogue sur les tissus lymphoïdes et particulièrement sur les lymphocytes a été décrite par LONGEVAL et coll. et MATHE et KENIS (2, 3).

L'intérêt thérapeutique présenté par ce composé ainsi que les études déjà réalisées dans le laboratoire sur des agents alkylants Chlo-rambucil (4, 5) et Melphalan (6) nous ont conduit à marquer cette substance au ^{14}C , dans le but d'en effectuer une étude pharmacocinétique et d'en préciser son mécanisme d'action.

Nous avons réalisé deux marquages sur les groupes suivants :

- 1) les quatre carbones de la fonction N,N dichloroéthyle
- 2) le carbone du groupement méthoxy

La synthèse de ce produit a été décrite en 1968 (7)(schéma 1).

Les auteurs obtiennent le dérivé N,N dihydroxyéthylé (II) par action d'un excès de chloro-1 éthanol sur l'amino-4 méthyl-2 méthoxy-1 naphtalène (I) et la mitoclomine (III) après chloration de (II) par POCl_3 ; le rendement est de 35 % à partir de (II).

Compte-tenu des composés marqués disponibles (oxyde d'éthylène et iodure de méthyle ^{14}C) nous avons dû envisager d'autres procédés.

I - Marquage sur les quatre carbones de la fonction N,N dichloroéthyle

Nous avons effectué la préparation de la mitoclomine ^{14}C à partir du méthyl-2, α naphtol selon le processus indiqué dans le schéma 2.

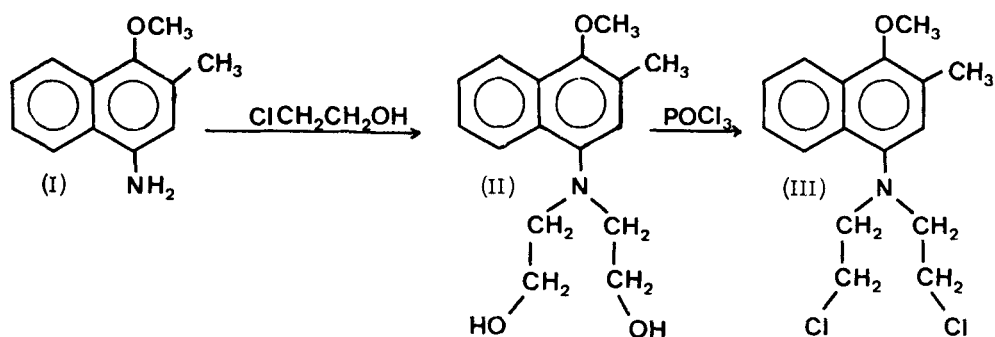


Schéma 1

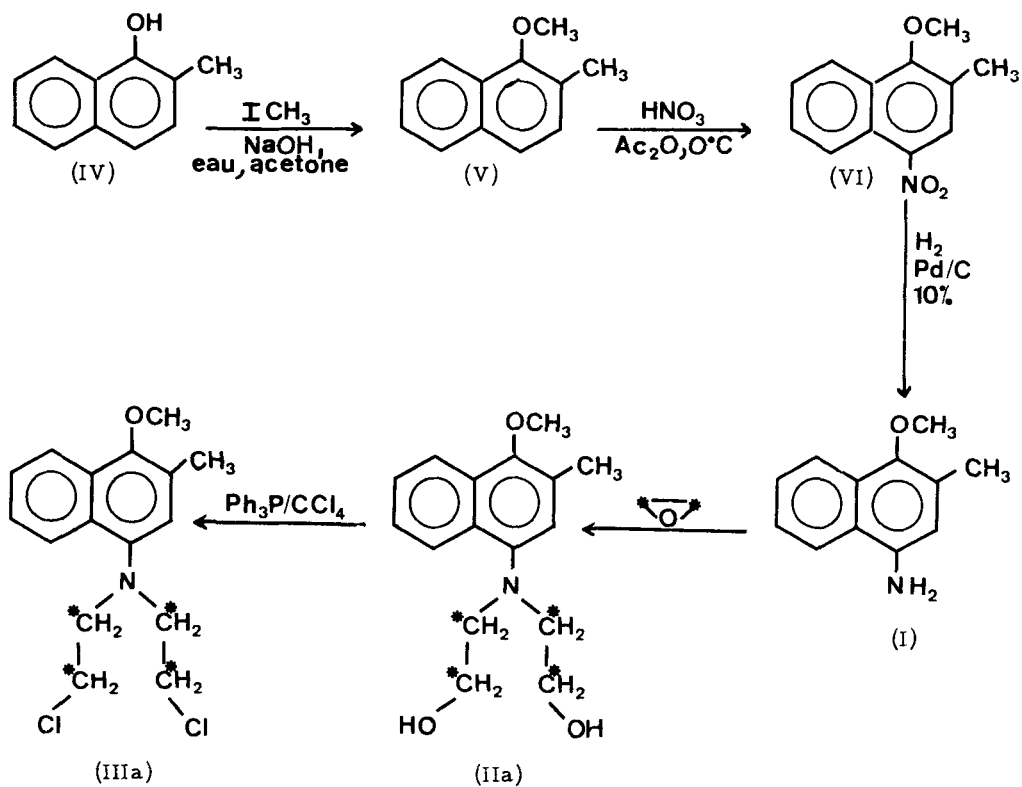


Schéma 2

Le dérivé méthoxylé (V) est obtenu par action de l'iodure de méthyle sur le naphтол (IV) en milieu basique.

La nitration de (V) est réalisée à l'aide d'un mélange acide nitrique-anhydride acétique à 0°.

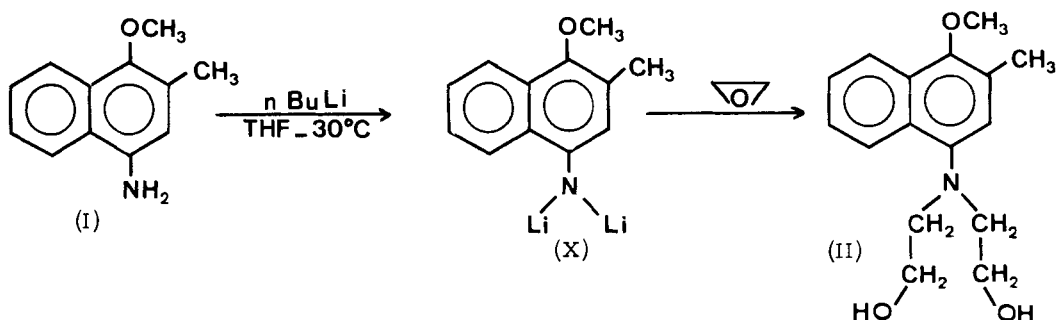
Remarque : l'action du mélange $\text{HNO}_3\text{-Ac}_2\text{O}$ sur le méthyl-2, α -naphтол ne permet pas d'obtenir le dérivé nitré correspondant, c'est pourquoi nous avons opéré à partir du composé (V).

L'hydrogénation catalytique sous pression normale permet d'atteindre quantitativement l'amine (I).

L'étape suivante est essentielle car elle permet l'introduction du marqueur (oxyde d'éthylène ^{14}C)

Nous avons donc étudié différentes méthodes et fait varier différents paramètres.

1) L'action de l'oxyde d'éthylène sur le diamidure de lithium (X) conduit avec de mauvais rendements (7 à 8 %) au composé recherché.



2) L'action de l'oxyde d'éthylène sur l'amine (I) dans CH_3COOH (M) ne permet pas d'obtenir le produit dihydroxyéthylé en raison de l'insolubilité du produit de départ dans ce milieu.

Seule l'action de l'époxyde dans un milieu plus solubilisant tel que le mélange CH_3COOH (M), THF (1/1) conduit à des quantités intéressantes de dérivé mono et dihydroxyéthylé.

En utilisant ce mélange de solvants, des proportions convenables d'oxyde d'éthylène par rapport à l'amine I, et un temps de réaction suffisamment long, nous obtenons le dérivé recherché.

Enfin les essais de chloration par POCl_3 et SOCl_2 ont montré que l'on obtenait, accompagnant la mitoclomine, une proportion importante de polymères. Nous avons réalisé la chloration à l'aide de $(\text{Ph})_3\text{P}/\text{CCl}_4$ (8) car ce réactif doux conduit d'une part à un rendement satisfaisant et d'autre part à un produit exempt de goudrons. Le rendement ainsi obtenu en dérivé (IIIa) calculé à partir de (I) est supérieur à celui indiqué dans la littérature.

II - Marquage sur le carbone du groupement méthoxy

Le schéma de synthèse décrit précédemment impliquant l'introduction du marqueur I^{14}CH_3 dès la première étape, ne peut être envisagé car il conduirait à un rendement radiochimique trop faible. Il convenait donc de rechercher soit un mode opératoire dans lequel le groupement méthyle serait introduit après la nitration (schéma 3) soit un procédé permettant d'éviter cette étape de nitration (schéma 4).

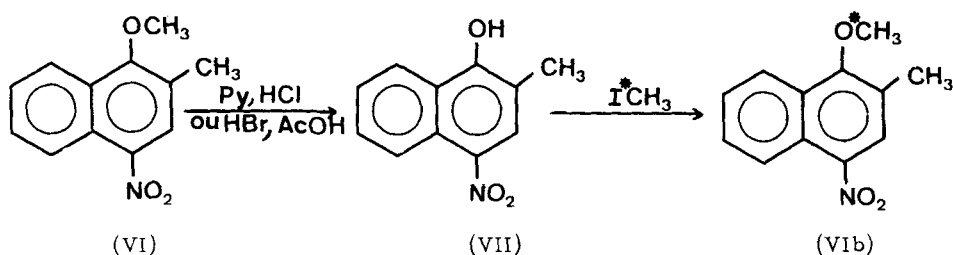


Schéma 3

La coupure de l'éther par le chlorhydrate de pyridine ou $\text{HBr} - \text{AcOH}$ conduit à un très faible rendement en nitro-4 méthyl-2 méthoxy-1 naphthalène. Nous avons de ce fait abandonné cette voie.

Par contre le blocage de l'amino-4 méthyl-2 α naphthol (9) par l'oxyde d'éthylène dans AcOH (M) suivi de la méthylation par I^{14}CH_3 en milieu basique et de la chloration par $(\text{Ph})_3\text{P}/\text{CCl}_4$ permet d'obtenir la mitoclomine avec un assez bon rendement.

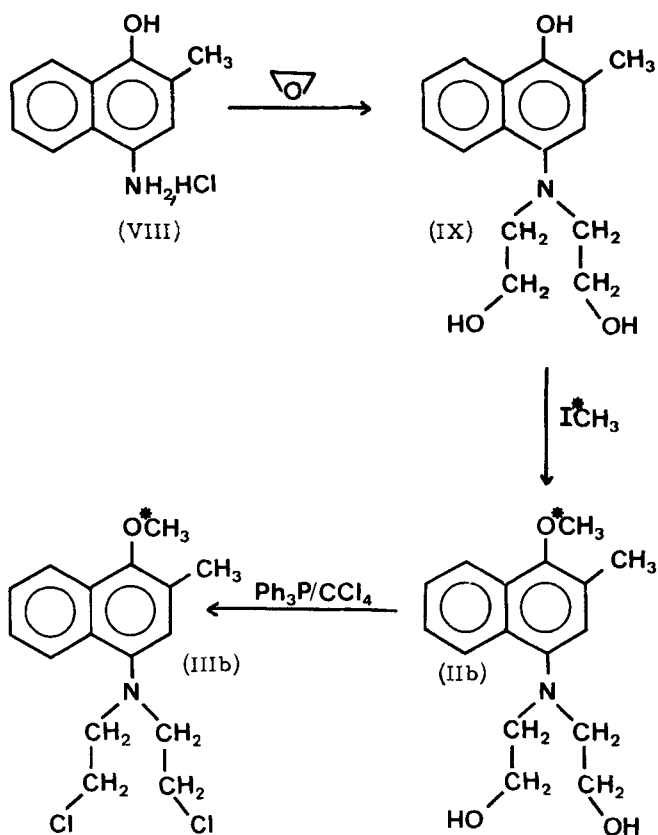


Schéma 4

C'est le schéma que nous avons utilisé, il nous a conduit au produit marqué sur le groupement méthoxy (IIIb) avec une activité spécifique convenable.

PARTIE EXPERIMENTALE

- Indications générales

Les spectres infrarouges ont été réalisés sur un spectrophotomètre Perkin Elmer 257.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire ont été effectués sur un appareil JEOL C 60 HL, en utilisant le TMS, en référence interne. La position des bandes est donnée en valeur de δ

Les points de fusion sont pris sur un banc KOFER.

Les mesures de radioactivité spécifique sont réalisées sur un scintillateur liquide modèle Mark II Nuclear Chicago par la méthode du standard externe.

Les chromatographies de produits radioactifs sont analysées sur un dérouleur de chromatogramme PANAX équipé d'un détecteur type Geiger-Müller sans fenêtre.

I - Préparation de la mitoclomine marquée uniformément sur les quatre carbones des groupements dichloro-éthyles.

1) Méthyl-2 méthoxy-1 naphtalène (V)

On traite 12,6 mM de méthyl-2 α naphtol- par 13 mM de NaOH et 13 mM de ICH_3 dans un mélange eau-acétone à 60°C pendant 12 heures.

La phase aqueuse est concentrée, extraite à l'éther et séchée sur MgSO_4 .

Après distillation sous pression réduite de l'éther le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant éther de pétrole) Rdt : 70 % (9 mM)

2) nitro-4 méthyl-2 méthoxy-1 naphtalène (VI)

Le mélange nitrant a la composition suivante : HNO_3 (d : 1,40) 7 ml, Ac_2O 5,1 g.

A une solution de 9 mM de (V) dans 6 ml de Ac_2O , on ajoute goutte à goutte à 0°C 2 ml du mélange nitrant dilué dans son volume de Ac_2O .

On laisse 2 heures à 0°C, hydrolyse et filtre ; le précipité est repris par le minimum d'alcool froid, filtré, séché. Rdt : 50 % ; (4,5 mM) F = 103-104°C.

3) amino-4 méthyl-2 méthoxy-1 naphtalène (I)

Le dérivé nitré (VI) en solution dans 200 ml de méthanol est

hydrogéné sous pression normale en 3 heures en présence de 200 mg de Pd/C (10 %). On filtre, évapore le méthanol et obtient 4,5 mM de (I)
F = 83-84°C.

4) N,N dihydroxy-2, éthyl amino-4, méthyl-2, méthoxy-1, naphtalène (IIa).

L'amine (I) est mise en solution dans 30 ml d'un mélange CH₃COOH (M), THF (1/1). A l'aide d'une rampe à vide on transvase 18 mM d'oxyde d'éthylène marqué (10 mCi) dans cette solution. On laisse sous agitation à température ambiante. L'avancement de la réaction est contrôlé par CCM. (Silice, éluants : Acétate d'éthyle, cyclohexane 1/1 et Acétate d'éthyle, cyclohexane 1/1 et Acétate d'éthyle pur).

Après 15 jours, on évapore le THF, neutralise par Na₂CO₃ (M) extrait à l'éther et sèche sur MgSO₄. On évapore le solvant sous pression réduite et purifie le produit sur colonne de silice (éluant : acétate d'éthyle).
Rdt : 80 % (3,6 mM).

5) N,N dichloro-2 éthyl amino-4 méthyl-2 méthoxy-1 naphtalène (IIIa).

Le dérivé (IIa) est agité pendant 16 h à reflux dans une solution de 8 mM de Ph₃P dans 20 ml de CCl₄.

On évapore le solvant, hydrolyse, extrait à l'éther, sèche sur MgSO₄ et distille sous pression réduite. Le solide obtenu est purifié par chromatographie sur colonne d'alumine (éluant éther/benzène 10 %).

Rdt 65 % (2,30 mM) F = 57°C.

II - Préparation de la mitoclomine marquée sur le carbone du groupement méthoxy

1) Chlorhydrate d'amino-4 méthyl-2 α naphtol (VIII)

Nous avons adapté la méthode de FIESER (9) à de petites quantités de méthyl-2 α naphtol (12,6 mM). Nous obtenons le chlorhydrate avec un rendement de 60 % (7,6 mM).

2) N,N dihydroxy-2 éthyl amino-4 méthyl-2 α naphtol (IX)

Le chlorhydrate (VIII) est traité par un excès d'oxyde d'éthylène (100 mM) dans CH_3COOH (M) ; après 48 h la réaction est terminée. On évapore l'époxyde en excès, neutralise par la soude (M) extrait à l'éther, distille le solvant, sous pression réduite. Le produit ainsi obtenu est utilisé pour l'étape suivante.

3) N,N dihydroxy-2 éthyl amino-4 méthyl-2 ^{14}C méthoxy-1 naphtalène (IIb)

Le résidu (IX) est traité par 9 mM de ICH_3 marqué (4 mCi) et 9 mM de NaOH dans un mélange eau-acétone à reflux pendant 12 h.

On évapore l'acétone, extrait à l'éther, sèche sur MgSO_4 . Le résidu d'évaporation est purifié par chromatographie sur colonne de silice (éluant acétate d'éthyle). Rdt 47 % (3, 50 mM) par rapport à (VIII).

4) N,N dichloro-2 éthyl amino-4 méthyl-2 méthoxy-1 naphtalène (IIb)

Le dérivé (IIb) est traité et purifié dans les mêmes conditions que (IIa). Rdt 65 % (2, 30 mM)

III - Identification, contrôle de pureté.

F = 57°C

Litt₍₇₎ : F = 58-59°C

IR 3080 cm^{-1}

CH (aromatiques)

2820 - 2960 cm^{-1}

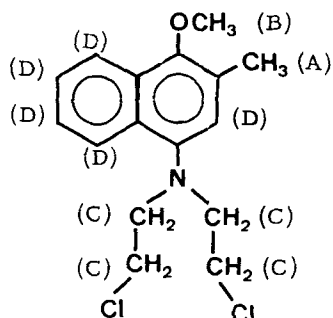
CH (aliphatiques)

1590 cm^{-1}

C = C (aromatique)

1230 cm^{-1}

Ar O. R (éther)



RMN (CCl_4) δ			Rapport d'intensité
2,40	s	A	3
3,20 à 3,75	m	C	8
3,85	s	B	3
7,00 à 8,50	m	D	5

- chromatographie : CCM (Silice, Merck)

Homogène dans les systèmes : cyclohexane, Acétate d'éthyle-cyclohexane 5 et 10 %, cyclohexane-chloroforme 30 et 50 %. L'analyse est effectuée sur dérouleur de chromatogramme, par autoradiographie, par UV (266 nm) et par chauffage après traitement à l'acide sulfurique.

IV - Rendement radiochimique et activité spécifique

	Rendement radiochimique	Activité spécifique
IIIa	25 % par rapport à l'oxyde d'éthylène marqué	3,5 $\mu\text{Ci/mg}$
IIIb	25 % par rapport à l'iodure de méthyle marqué	1,40 $\mu\text{Ci/mg}$

REMERCIEMENTS

Nous remercions Madame GALLAIS pour sa collaboration technique.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) GRANGER C.D. : Proceeding of International Congress of Chemo-therapy, Vienne (1967)
- 2) LONGEVAL E., GANGJI D., STRYCKMANS P. et KENIS Y. : Cancer Chemother. Rep., 59, 1173 (1975)
- 3) MATHE G. et KENIS Y. : La chimiothérapie des cancers. Expansion Scientifique Française, Paris (1975)
- 4) MOREAU J., MADELMONT J.C.; J. Labelled Comp., 10, n° 2, 271 (1974)
- 5) GODENECHÉ D., MADELMONT J.C., SAUVEZIE B. et BILLAUD A. : Biochem. Pharm., 24, 1303, (1975)
- 6) NICOLAS C., GODENECHÉ D. : en préparation
- 7) BLENKINSOP W. and Co. Ltd Fr. 1, 528, 162, 7 juin 1968, Brit. Appl. 20 mai 1966, Chem. Abstr. 71, 38656 x (1969)
- 8) APPEL R. : Angew. Chem. Int. ed., 14 n° 12, 901 (1975)
- 9) FIESER L. : Org. Synth. coll. II, 39