

Article original

Influence de la lipophilie sur l'oxydation biologique d'une chaîne méthyl-3 butyle en série barbiturique

Olivier LAFONT^{1,2}, Akram TALAB², Sabine MÉNAGER¹, Christian CAVÉ² et Marcel MIOCQUE²

¹Laboratoire de Chimie Organique, Groupe de Pharmacochimie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rouen, av. de l'Université, 76800 Saint-Etienne-du-Rouvray, et

²Laboratoire de Chimie Organique, UA496 CNRS, Faculté de Pharmacie, rue J.-B. Clément, 92286 Châtenay-Malabry, France

(Reçu le 14 décembre 1987, accepté le 21 avril 1988)

Résumé — La lipophilie de l'acide éthyl-5 (méthyl-3 butyl)-5 barbiturique **3**, est plus faible ($\Delta \log P = 0,5$) que celle de l'amobarbital, elle-même plus faible ($\Delta \log P = 0,5$) que celle de l'acide (méthyl-3 butyl)-5 propyl-5 barbiturique. L'influence de ces différences sur l'oxydation biologique est étudiée ici. Des modèles de métabolites potentiels de **3** sont synthétisés et ce produit est administré au Rat et au Chien. 6,4% (Chien) ou 5,3% (Rat) de composé **3** non-modifié et 53,1% (Chien) ou 59,6% (Rat) de métabolite γ -hydroxylé sont retrouvés dans les urines. Ces résultats comparés à ceux qui ont été obtenus pour les composés voisins montrent que l'influence de la lipophilie sur l'oxydation biologique n'est pas aussi grande que l'on aurait pu le penser.

Summary — Influence of lipophilicity on biological oxidation of a 3-methylbutyl side chain in a barbiturate series. The lipophilic character of 5-methyl-5-(3-methylbutyl) barbituric acid **3** is lower ($\Delta \log P = 0.5$) than that of amobarbital, itself lower ($\Delta \log P = 0.5$) than that of 5-(3-methylbutyl)-5-propyl barbituric acid. The influence of these differences upon biological oxidation was studied. Models of various potential metabolites of **3** were synthesized and compound **3** was administered to rats and dogs. 6.4% (dogs) or 5.3% (rats) of non-modified compound **3** and 53.1% (dogs) or 59.6% (rats) of a γ -hydroxylated metabolite were recovered in urine. These results compared with those obtained for related compounds show that the influence of lipophilicity upon biological oxidation is not as important as one could suppose.

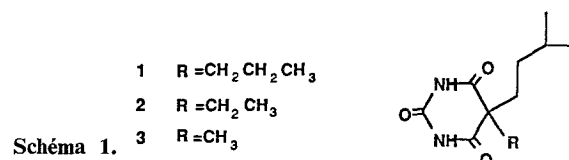
lipophilicity / metabolism / barbiturates / chromic oxidation / biological hydroxylation / hydroxybarbiturates

Introduction

Les nombreuses études menées sur le métabolisme et la pharmacocinétique des médicaments ont permis de mettre en évidence l'influence de la lipophilie des xénobiotiques sur leur comportement dans les milieux biologiques [1—6]. Cependant, les molécules étudiées sont, le plus souvent, tout naturellement, choisies en raison de leur intérêt en thérapeutique, voire en toxicologie. De ce fait, elles présentent, même au sein d'une famille pharmacochimique bien définie, comme celle des barbituriques, des différences de structure chimique qui ont au moins autant d'influence sur le métabolisme que leur comportement physicochimique. A titre d'exemple, une augmentation du $\log P_{\text{oe}}$ de l'ordre de 0,30 peut être obtenue en branchant sur une chaîne linéaire, un méthyle latéral. Cette transformation s'accompagne toutefois de l'apparition d'un hydrogène tertiaire, qui constitue un site très sensible à l'oxydation hépatique; ce qui modifie significativement la biodégradation de la

molécule et rend donc totalement illusoire toute tentative d'interprétation du rôle de la variation de $\log P$.

Une étude réelle de l'influence de la lipophilie sur le métabolisme nécessite donc de disposer d'une série homogène de composés, synthétisés ou sélectionnés dans ce but, qu'ils soient ou non utilisés comme médicaments. C'est la raison pour laquelle après avoir comparé le comportement *in vivo* de l'acide (méthyl-3 butyl)-5 propyl-5 barbiturique **1** [7], à celui de l'amobarbital **2** [8—10] nous avons étudié un autre isoamylbarbiturique, l'acide méthyl-5 (méthyl-3 butyl)-5 barbiturique **3** (Schéma 1) qui diffère des précédents par la présence d'un méthyle à la place des chaînes éthyle de **2** ou propyle de **1**.



Deux questions se posent *a priori*: la diminution de l'ordre de 0,50 du $\log P$, qui résulte du raccourcissement de la seconde chaîne latérale lorsqu'on passe de 1 à 2 et de 2 à 3, a-t-elle des conséquences sur le taux d'oxydation hépatique de la chaîne isoamyle au niveau du carbone tertiaire? Quel va être le comportement *in vivo*, du groupement méthyle porté par l'hétérocycle?

Chimie

Synthèse des modèles de métabolites

L'oxydation de la chaîne isoamyle, sous l'action des mono-oxygénases hépatiques à cytochrome P-450, conduit habituellement, à un alcool tertiaire.

L'oxydation chromique, en milieu acétique, du barbiturique 3 lui-même permet à 20°C d'obtenir le modèle γ -hydroxylé recherché 4 (Schéma 2).

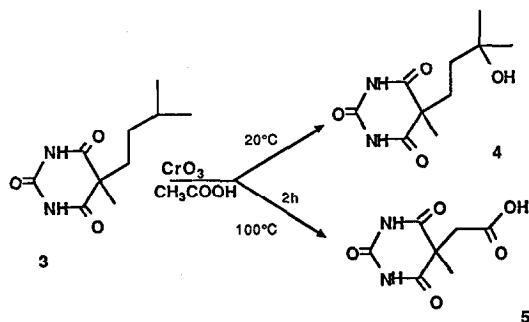


Schéma 2.

L'influence des conditions opératoires sur la nature du produit obtenu est toutefois notable, puisque lorsqu'on opère à 100°C, on obtient un acide carboxylique 5 homologue de celui qui se forme à partir de 1 dans les mêmes conditions [7]. Le bilan de cette oxydation, plus violente, rappelle celui de la réaction de Barbier Wieland [11].

Cette analogie peut être confirmée par l'étude du comportement des intermédiaires théoriques, dans les conditions de la réaction. C'est ainsi que la déshydratation de l'alcool tertiaire 4 par l'acide acétique, qui suit la règle de Zaitsev, permet d'obtenir l'éthylénique 6 dont l'oxydation chromique livre bien l'acide carboxylique 5 attendu (Schéma 3).

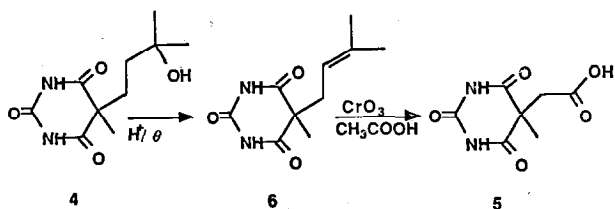


Schéma 3.

On peut également envisager *in vivo* une oxydation du groupement méthyle conduisant à un alcool primaire 7 (Schéma 4) comme cela se produit pour la chaîne éthyle de l'amobarbital [8—10].

L'oxydation chimique directe du barbiturique correspondant ne peut être mise en œuvre, puisque la chaîne ramifiée est beaucoup plus sensible à l'oxydation que le méthyle *vide supra* (Schéma 2).

Il est toutefois possible d'introduire le groupement hydroxyle avant la condensation de l'acide malonique avec l'urée. Il convient alors de protéger la fonction alcool sous forme d'éther-oxyde, que l'on détruit après la cyclisation. Le Schéma 4 résume cette synthèse.

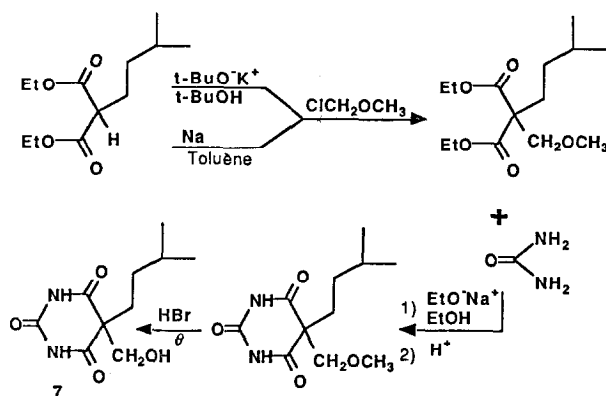


Schéma 4.

En raison du caractère cancérogène du chlorométhyl éther, une autre méthode de synthèse de 7 peut être préférée. Il s'agit de l'addition, en milieu acide, du formaldéhyde, au niveau de l'hydrogène mobile situé en position 5 sur le cycle barbiturique de 9 qui ne porte qu'un substituant isoamyle (Schéma 5).

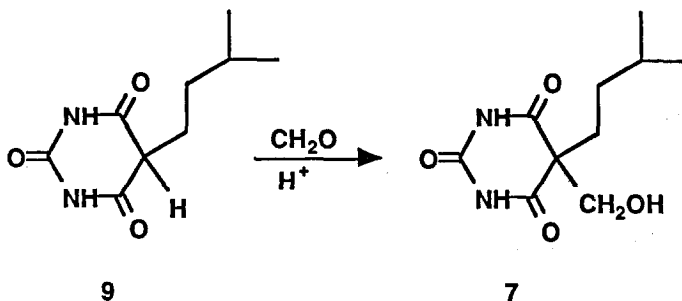


Schéma 5.

La sensibilité à l'oxydation des alcools primaires, ainsi que l'obtention d'acides carboxyliques *in vivo*, à partir de nombreux barbituriques [12, 13], conduisent à envisager une transformation du groupement CH_2OH en carboxyle.

Toutefois, la position occupée alors par le COOH vis-à-vis des deux carbonyles du cycle pyrimidinetrione laisse prévoir une très facile décarboxylation, de l'acide 8 en un barbiturique monosubstitué 9. Le Schéma 6 résume cette hypothèse de dégradation.

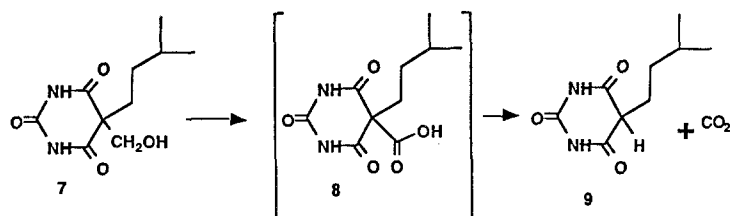


Schéma 6.

En fait, l'oxydation chromique de l'alcool 7 vers 40 ou 60°C, en milieu acétique, va plus loin et permet d'isoler un composé spirannique 10 (Schéma 7).

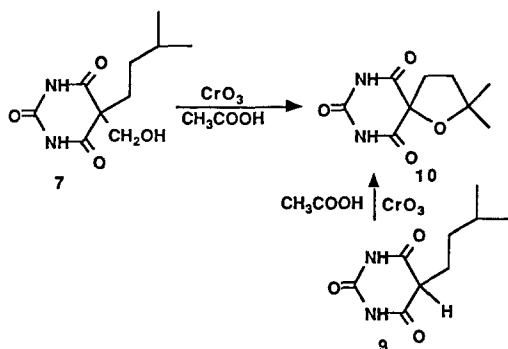


Schéma 7.

Le rôle d'intermédiaire du monoalkylbarbiturique 9 dans la synthèse de l'éther cyclique 10 est confirmé par l'obtention directe de ce dernier, par oxydation chromique de 9 (Schéma 7).

Quant à l'hypothèse concernant le mode de formation du barbiturique 9 monosubstitué en position 5, au cours de l'oxydation; c'est-à-dire la décarboxylation de l'acide 8 (Schéma 6), elle est confortée par une synthèse du composé monosubstitué 9 réalisée à partir de l'acide 8 produit *in situ*.

La condensation de l'urée avec le méthyl-4 pentanetricarboxylate d'éthyle-1,1,1, suivie de l'hydrolyse acide de la fonction ester éthylique, puis d'une décarboxylation spontanée (Schéma 8), permet, en effet, de préparer l'acide isoamyl-5 barbiturique 9.

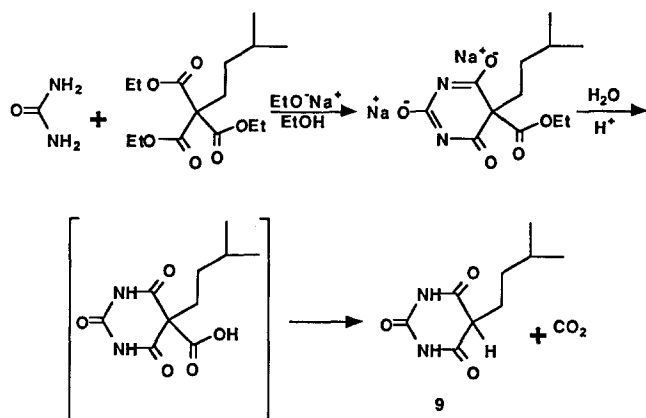


Schéma 8.

En outre, les acides monoalkylbarbituriques sont sensibles à l'oxydation chromique et subissent l'introduction d'un hydroxyle en position 5, comme le montre l'exemple de l'acide heptyl-5 barbiturique 11 (Schéma 9) qui conduit à 12.

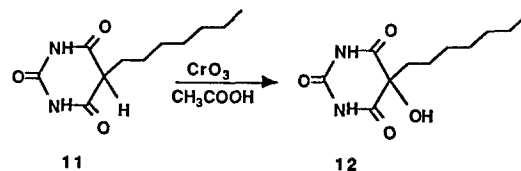


Schéma 9.

On comprend donc que, dans le cas de l'acide isoamylbarbiturique 9, où la chaîne latérale, contrairement à celle de 11, est également oxydable par le trioxyde de chrome, cela se traduit par la formation d'une fonction étheroxyde, reliant le noyau à la chaîne (*vide supra*) (Schéma 7).

On peut donc envisager dans le milieu réactionnel les oxydations successives: 7→8→9→10.

En revanche, *in vivo*, la faible aptitude à franchir les barrières biologiques des monoalkylbarbituriques, dont le caractère ionisable est trop accentué, devrait suffire à préserver 9 d'une hydroxylation métabolique et, *a fortiori*, de la double oxydation nécessaire à la formation de 10.

Il est toutefois indispensable de le vérifier, dans la mesure où l'on a constaté, au cours de la conservation de la phénylbutazone, l'oxydation du carbone en position 4 [14] (Schéma 10).

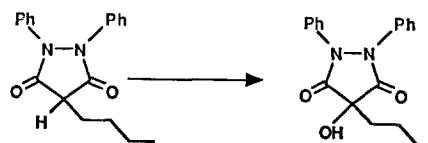


Schéma 10.

Ce carbone tertiaire est, en effet, comparable à celui qui occupe la position 5 du cycle pyrimidinetrione dans le cas des monoalkylbarbituriques.

Biologie

Dans le but de répondre aux questions posées ci-dessus, l'acide (méthyl-3 butyl)-5 méthyl-5 barbiturique 3 a été administré au Chien et au Rat, à la dose de 20 mg/kg/j.

En outre, pour contrôler l'absence de transformation du composé déméthylé 9, *in vivo*, ce dernier a également été administré au Chien. Les métabolites et les produits non-transformés ont été extraits des urines et identifiés par ¹H RMN et microanalyse.

Le Tableau I regroupe les conditions et les résultats des expériences.

Tableau I. Conditions d'administration de 3 et 9 et substances recueillies dans les urines.

Animal				Administration				Recueil		
espèce	nombre	poids total (kg)	sexe	substance administrée	dose (mg/kg/j)	durée (j)	total administré (mg)	3 (mg)	9 (mg)	4 (mg)
Chien	1	16	♂	3	20	13	3520	250	0	1900
Chien	1	17,5		3	20	7	2450	140	0	1500
Chien	1	19		3	20	9	3420	220	0	1920
Rat	36	13,63		3	19,5	11	2923	200	0	1920
Rat	36	9,08		3	20	17	3087	150	0	1930
Rat	48	11,8	♀	3	20	10	2360	100	0	1450
Chien	1	29		9	20	4	2320	0	1750	0
Chien	1	29		9	20	4	2320	0	1870	0
Chien	1	27		9	20	5	2700	0	1950	0

On constate que si une quantité importante de 3 est oxydée en un alcool tertiaire 4 ($53,1\% \pm 2,0$ chez le Chien et $59,6\% \pm 0,9$ chez le Rat), il existe toujours une proportion notable de composé 3 non-transformé dans les urines ($6,4\% \pm 0,3$ chez le Chien et $5,3\% \pm 0,75$ chez le Rat).

Aucun des autres métabolites potentiels n'a été retrouvé dans les urines.

Par ailleurs, lorsque le composé 9 est absorbé par le Chien *per os* plus des 3/4 de la quantité ingérée peuvent être extraits des urines sans qu'ils aient subi de transformation.

Discussion et Conclusion

Si l'on considère isolément le comportement de l'acide méthyl-5 isoamyl-5 barbiturique 3 on constate que le seul métabolite recueilli correspond à l'oxydation de la chaîne ramifiée et que l'on n'a pas retrouvé de composé oxydé au niveau du groupement méthyle; ce qui confirme la prépondérance de l'oxydation des carbones tertiaires.

Si l'on compare la biodégradation de 3, à celle des autres isoamylbarbituriques, force est de constater que l'influence de la lipophilie, sans être négligeable, n'a pas l'importance que l'on lui attribue habituellement.

En effet, lorsque l'on considère les acides dialkyl-5,5 barbituriques 1, 2 et 3, qui possèdent tous la chaîne méthyl-3 butyle, en position 5, il apparaît que des variations notables du $\log P_o/e$ n'ont que de faibles conséquences sur l'oxydation hépatique.

En effet, lorsque la seconde chaîne comportait trois atomes de carbone, 1, on ne retrouvait pas de substance non-transformée dans les urines [7], tandis qu'avec le groupement éthyle du composé 2, c'est-à-dire pour une diminution de 0,50 du $\log P_o/e$, il ne s'en trouvait pas plus d'1% [8—10].

Une nouvelle diminution de 0,50 unité de la lipophilie ne se traduit, ici, composé 3, que par l'obtention de 6,4% (Chien) ou 5,3% (Rat) de produit non-métabolisé.

Par ailleurs, les quantités de métabolites γ -hydroxylés au niveau de la chaîne isoamyle, recueillies sont importantes dans les trois cas (respectivement 64, 65 et 53% chez le Chien).

En revanche, lorsque l'on a affaire à un monoalkyl-barbiturique, comme 9, la modification de structure ne concerne plus seulement la longueur d'une chaîne.

La présence d'un hydrogène mobile en 5 sur le cycle, se traduit par une ionisation de la molécule dans les milieux biologiques et l'absence de biodégradation comme, d'ailleurs, d'activité thérapeutique sont dues à l'inaptitude de la molécule à franchir les membranes biologiques. Il ne s'agit plus dès lors, de diminution de lipophilie mais de changement dans la nature chimique.

Protocoles expérimentaux

Chimie

Les spectres de ^1H RMN ont été établis à 60 MHz sur appareil Varian T 60 ou 90 MHz sur Varian EM 390, référence interne tétraméthylsilane. Les spectres de ^{13}C RMN ont été effectués sur appareil Varian CFT 20, à 20 MHz. Les microanalyses dont les résultats sont signalés par des symboles d'éléments ont été réalisées sur Perkin—Elmer 240. Les résultats sont compris entre $\pm 0,3\%$ des valeurs théoriques. Les spectres de masse ont été enregistrés sur Nermag R10 10C. Les points de fusion non-correctés ont été déterminés sur banc de Kofler. Les matières premières utilisées dans les synthèses décrites ci-dessous sont des produits commerciaux.

Synthèse de 3: acide méthyl-5(méthyl-3 butyl)-5 barbiturique

Il a été synthétisé par condensation du malonate d'éthyle disubstitué correspondant avec l'urée selon la méthode décrite pour le véronal dans [15].

Rdt % = 70; $F^\circ\text{C} = 176$ (eau). Anal. $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ (C, H, N). RMN ^1H (60 MHz) ($\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 0,8 (d, 6H, 2 CH_3 *i*-amyle); 1,4 (s, 3H, CH_3 en 5); 1—2 (m, 5H, 2 CH_2 et CH *i*-amyle); 10,9 (s, 2H, éch. D_2O , 2NH).

Synthèse de 4: acide méthyl-5(hydroxy-3 méthyl-3 butyl)-5 barbiturique
Elle a été réalisée en adaptant la méthode décrite par Kato et Kohketsu pour la synthèse du γ -hydroxyamobarbital à partir de l'amobarbital [16].

Dans un erlenmeyer de 500 ml sont introduits successivement 8 g du barbiturique 3 (0,038 mol), 140 ml d'acide acétique puis 18 g de

trioxyde de chrome (0,18 mol). Le milieu est agité à 20°C durant 12 h. Le contenu du récipient est alors versé dans un bécher, contenant déjà 1 l d'éther éthylique. Après refroidissement, puis agitation, la solution organique est séparée à l'aide d'une ampoule à décanter, puis lavée par plusieurs petites quantités d'eau. Elle est ensuite séchée sur sulfate de sodium, puis l'éther est chassé à l'évaporateur rotatif. Le résidu est recristallisé dans l'éther éthylique.

Rdt % = 20; $F^{\circ}C = 174$ (éther éthylique). Anal. $C_{10}H_{16}N_2O_4$ (C, H, N). RMN 1H (60 MHz) (DMSO- d_6) δ ppm: 1,1 (s, 6H, 2 CH_3 *i*-amyle); 1,2–2,2 (m, 4H, 2 CH_2 *i*-amyle); 1,45 (s, 3H, CH_3 en 5); 10,7 (s, 2H, éch. D_2O , 2NH).

Synthèse de 5: acide carboxyméthyl-5 méthyl-5 barbiturique (à partir de 3)
Il est préparé par oxydation chromique de 3, dans des conditions voisines de celles de la synthèse de 4 (*vide supra*). La durée de la réaction est de 2 h, au lieu de 12 h, et la température est de 100°C, au lieu de 20°C. De plus, après l'extraction par l'éther éthylique, la solution aqueuse est agitée avec un litre d'acétate d'éthyle et la solution organique ainsi obtenue est mélangée à la solution étherée, puis les deux solvants sont chassés à l'évaporateur rotatif.

Rdt % = 20; $F^{\circ}C = 182$ (éther éthylique). Anal. $C_7H_8N_2O_5$ (C, H, N). RMN 1H (90 MHz) (DMSO- d_6) δ ppm: 1,3 (s, 3H, CH_3); 2,8 (s, 2H, CH_2); 11,3 (s, 2H, éch. D_2O , 2NH).

Synthèse de 6: acide (méthyl-3 butène-2 yl)-5 méthyl-5 barbiturique (à partir de 4)

Dans une fiole rodée de 250 ml, sont introduits successivement 3 g (0,0131 mol) de dérivé γ -hydroxylé 4 puis 50 ml d'acide acétique à 95% (0,79 mol). La fiole est alors munie d'un pont à distiller, puis chauffée sous agitation magnétique. L'acide acétique est ensuite distillé sous pression ordinaire. Le résidu sec est constitué par le composé 6.

Rdt % = 100; $F^{\circ}C = 188$. Anal. $C_{10}H_{14}N_2O_3$ (C, H, N). RMN 1H (60 MHz) (acétone- d_6) δ ppm: 1,5 (s, 3H, CH_3 en 5); 1,63 et 1,68 (2 sl, 2 $\times$ 3H, 2 CH_3 portés par C=); 2,65 (d, 2H, CH_2); 5,1 (t, 1H, HC=); 9,6 (s, 2H éch. D_2O , 2NH).

Synthèse de 5: acide carboxyméthyl-5 méthyl-5 barbiturique par oxydation de 6

Il est préparé par oxydation chromique du composé éthylénique 6 dans des conditions voisines de celle de la synthèse de 4 (*vide supra*). La durée de la réaction est de 20 min, au lieu de 12 h, et la température est de 100°C, au lieu de 20°C. L'extraction est conduite de la même façon que lorsque 5 est préparé à partir de 3 (*vide supra*).

Rdt % = 30; $F^{\circ}C = 182$. Anal. $C_7H_8N_2O_5$ (C, H, N). RMN (*vide supra*).

Synthèse de 7: acide hydroxyméthyl-5 (méthyl-3 butyl)-5 barbiturique
1^{re} méthode. 1^{re} étape: préparation du méthoxyméthyl-2 (méthyl-3 butyl)-2 malonate de diéthyle.

Dans un erlenmeyer, muni d'un réfrigérant surmonté d'une garde de $CaCl_2$, d'une ampoule à brome et d'un dispositif d'agitation magnétique, sont introduits successivement, 400 ml d'alcool tertio-butylque, puis 56,5 de tertio-butylate de potassium (0,5 mol). Le milieu est chauffé au reflux du solvant, puis 115 g de (méthyl-3 butyl)-2 malonate de diéthyle (0,5 mol) sont ajoutés, par petites portions. On laisse l'agitation se poursuivre durant 30 min, puis 80,5 g de chlorométhyl méthyl-éther (0,5 mol) sont ajoutés goutte à goutte. Le chauffage et l'agitation sont poursuivis durant 2 h. Après refroidissement, l'alcool est chassé par distillation. Au résidu, sont alors ajoutés 300 ml d'eau distillée, après dissolution, l'extraction est réalisée par 3 fois 200 ml d'éther éthylique. Après séparation, la solution organique est séchée sur sulfate de sodium, puis le solvant est chassé à l'évaporateur rotatif. Le résidu liquide obtenu est alors distillé sous vide partiel.

Rdt % = 70; $E_{0,2}^{\circ}C = 115$. Anal. $C_{14}H_{26}O_5$ (C, H). RMN 1H (60 MHz) ($CDCl_3$) δ ppm: 0,9 (d, 6H, 2 CH_3 *i*-amyle); 1,2 (t, 6H, 2 CH_3 d'éthyle); 1,7–2,3 (m, 5H, 2 CH_2 , CH *i*-amyle); 3,3 (s, 3H, CH_3O); 3,75 (s, 2H, CH_2O); 4,2 (q, 4H, 2 CH_2 d'éthyle).

2^e étape: condensation du méthoxyméthyl-2 (méthyl-3 butyl)-2 malonate d'éthyle avec l'urée, selon la méthode décrite pour le véronal dans [15].

Rdt % = 75; $F^{\circ}C = 136$ (eau). Anal. $C_{11}H_{18}N_2O_4$ (C, H, N). RMN 1H (90 MHz) ($CDCl_3$) δ ppm: 0,94 (d, 6H, 2 CH_3 *i*-amyle); 1,10–2,20 (m, 5H, 2 CH_2 , CH *i*-amyle); 3,35 (s, 3H, CH_3O); 3,90 (s, 2H, CH_2O); 8,60 (s, 2H, éch. D_2O , 2NH).

3^e étape: dans un erlenmeyer de 250 ml, muni d'un réfrigérant, sont introduits successivement 10 g de méthoxyméthyl-2 (méthyl-3 butyl)-2 malonate d'éthyle (0,0438 mol) puis 100 g d'une solution d'acide bromhydrique à 66% (0,815 mol). Le milieu est chauffé au reflux du solvant, durant 6 h. 50 ml d'eau sont alors ajoutés. Après refroidissement, le milieu est extrait par 3 fois 150 ml d'acétate d'éthyle. La solution organique est séparée en utilisant une ampoule à décanter, puis séchée sur sulfate de sodium et le solvant est chassé à l'évaporateur rotatif. Le résidu est alors recristallisé dans le benzène.

Rdt % = 60; $F^{\circ}C = 194$. Anal. $C_{10}H_{16}N_2O_4$ (C, H, N). RMN 1H (60 MHz) (DMSO- d_6) δ ppm: 0,85 (d, 6H, 2 CH_3 *i*-amyle); 1,1–2,0 (m, 5H, 2 CH_2 , CH *i*-amyle); 3,95 (d, 2H, CH_2O); 4,55 (t large, 1H, éch. D_2O , OH); 10,2 (s, 2H, éch. D_2O , 2NH).

2^e méthode. C'est une adaptation de la méthode de Böhme et Teltz [17] pour la préparation de l'acide hydroxyméthyl-5 éthyl-5 barbiturique.

Dans un erlenmeyer de 250 ml équipé d'un dispositif d'agitation magnétique sont introduits successivement 13 g de l'acide (méthyl-3 butyl)-5 barbiturique 9 (*vide infra*) (0,065 mol), 25 ml d'eau distillée et 25 ml de formol. Le milieu est chauffé à 60°C, puis 5 gouttes d'une solution aqueuse d'HCl concentré sont ajoutées. Le chauffage est poursuivi jusqu'à dissolution totale des réactifs, puis précipitation du produit. Après refroidissement, puis filtration et lavage à l'eau froide, le composé 7 est séché à la pression ordinaire en dessiccateur.

Rdt % = 80. Les caractéristiques du produit sont les mêmes que lorsqu'il est préparé par la 1^{re} méthode (*vide supra*).

Synthèse de 9: acide (méthyl-3 butyl)-5 barbiturique

Il est préparé par condensation du (méthyl-3 butyl)-2 malonate d'éthyle avec l'urée, selon la méthode décrite pour le véronal dans [15].

Rdt % = 85; $F^{\circ}C = 236$ (eau). Anal. $C_9H_{14}N_2O_3$ (C, H, N). RMN 1H (60 MHz) (DMSO- d_6) δ ppm: 0,9 (d, 6H, 2 CH_3 *i*-amyle); 1,2–2,3 (m, 5H, 2 CH_2 et CH *i*-amyle); 3,6 (t, 1H, éch. D_2O , H en 5); 11,0 (s, 2H, éch. D_2O , 2NH). RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ ppm: 22,8 (q, 2 CH_3 *i*-amyle); 26,2 (t, CH_2 *i*-amyle); 26,6 (d, CH *i*-amyle); 34,8 (t, CH_2 *i*-amyle); 48,0 (d, CH en 5); 150,9 (s, N—CO—N); 170,59 (s, 2CO—N).

Synthèse de 10: pyrimidinetrione-2,4,6 spiro-5: 2'-(diméthyl-5' 5' tétrahydrofuranne) à partir de l'alcool 7

Dans un erlenmeyer de 250 ml, sont introduits successivement 70 ml d'acide acétique cristallisable (1,216 mol), puis 3 g de l'alcool 7 (0,013 mol) et 8 g de trioxyde de chrome (0,08 mol). Le milieu est amené à la température de 60°C et agité durant 1 h. Après refroidissement, la solution est versée sur 500 ml d'éther éthylique. Après agitation dans une ampoule à décanter, la phase organique est séparée, puis lavée, par de petites quantités d'eau distillée. Elle est ensuite séchée sur sulfate de sodium, puis le solvant organique est chassé à l'évaporateur rotatif. Le résidu est cristallisé dans le mélange à parties égales (v/v) de cyclohexane et d'éther éthylique.

Rdt % = 20; $F^{\circ}C = 242$. Anal. $C_9H_{12}N_2O_4$ (C, H, N). RMN 1H (60 MHz) (DMSO- d_6) δ ppm: 1,25 (s, 6H, 2 CH_3); 1,95 (t, 2H, CH_2 cycle); 2,4 (t, 2H, CH_2 cycle); 10,8 (s, 2H, éch. D_2O , 2NH). RMN ^{13}C (DMSO- d_6) δ ppm: 28,10 (q, 2 CH_3); 36,6 (d) et 38,0 (d) (2 CH_2 cycle); 81,8 (s) et 86,4 (s) (2 C quaternaires du cycle); 150,2 (s, N—CO—N); 171,3 (s, 2N—CO). SM—DIC (NH_3); $m/e = 230$ (M + 18).

La même réaction, réalisée à 20°C pendant 30 min conduit à un mélange de 10 (12%) et de 9 (6%).

Synthèse de 10: à partir de l'acide (méthyl-3 butyl)-5 barbiturique 9
L'oxydation chromique de 9 est réalisée dans les mêmes conditions que celle de 7 (*vide supra*), en remplaçant 7 par 3 g de 9 (0,015 mol).

Rdt % = 20; $F^{\circ}C = 242$. RMN et SM (*vide supra*).

Obtention du dérivé monoalkylé 9 par décarboxylation de l'acide carboxylique correspondant, formé in situ

Dans un réacteur de 500 ml, équipé d'un réfrigérant à reflux, surmonté d'une garde à chlorure de calcium, d'une ampoule à brome et d'un dispositif d'agitation mécanique, sont introduits successivement, 150 ml d'alcool éthylique anhydre puis 4,56 g de sodium métallique (0,198 mol) par petites portions. Après disparition du sodium, le milieu est chauffé au reflux de l'éthanol, puis 30 g de méthyl-4 pentane-tricarboxylate d'éthyle-1,1,1 (0,099 mol) sont ajoutés, goutte à goutte.

Après 30 min d'agitation, à chaud, on ajoute 5,9 g d'urée (0,099 mol). Le chauffage et l'agitation sont poursuivis durant 3 h. L'alcool éthylique est alors chassé par distillation. Le résidu est dissous dans l'eau, lavé par l'éther éthylique et la phase aqueuse est acidifiée par de l'acide chlorhydrique jusqu'à pH 0. Le composé **9** précipite.

Rdt % = 70; $F^{\circ}C = 236$. Les caractéristiques spectrales sont les mêmes que lorsqu'il est préparé par synthèse directe.

N.B. La formation transitoire d'un sel de l'acide (méthyl-3 butyl)-5 carboxyéthyl-5 barbiturique est vérifiée par 1H RMN du résidu obtenu avant acidification.

RMN 1H (60 MHz) (D_2O) δ ppm: 0,9 (d, 6H, $2CH_3$ *i*-amyle); 1,25 (t, 3H, CH_3 éthyle); 2,3 (m, 5H, $2CH_2$ et CH *i*-amyle); 3,75 (q, 2H, CH_2 éthyle).

Synthèse de **11**: acide heptyl-5 barbiturique

Il a été synthétisé par condensation de l'heptyl malonate d'éthyle avec l'urée, selon la méthode décrite pour le véronal dans [15].

Rdt % = 80; $F^{\circ}C = 215$ (eau). Anal. $C_{11}H_{18}N_2O_3$ (C, H, N). RMN 1H (90 MHz) ($DMSO-d_6$) δ ppm: 0,9 (t, 3H, CH_3); 1,25 (m, 10H, $5CH_2$); 1,9 (m, 2H, CH_2 en 5); 3,5 (m, 1H, éch. D_2O , H en 5); 11,0 (s, 2H, éch. D_2O , 2HN).

Synthèse de **12**: acide hydroxy-5 heptyl-5 barbiturique

L'oxydation chromique de l'acide heptyl-5 barbiturique **11** est réalisée dans les mêmes conditions que celle de **7** (*vide supra*), en remplaçant **7** par **3** g de **11** (0,013 mol).

Rdt % = 15; $F^{\circ}C = 139$ (éther éthylique). Anal. $C_{11}H_{18}N_2O_4$ (C, H, N). RMN 1H (90 MHz) ($DMSO-d_6$) δ ppm: 0,7–2,0 (m, 15H, $(CH_2)_6$ CH_3); 5,9 (s, 1H, éch. D_2O , OH); 11,0 (s, 2H, éch. D_2O , 2NH).

Biologie

Substances administrées

L'acide méthyl-5 (méthyl-3 butyl)-5 barbiturique **3** et l'acide (méthyl-3 butyl)-5 barbiturique **9** ont été administrés aux animaux.

Animaux

Deux espèces ont été utilisées, le Chien (bâtard) et le Rat (Sprague—Dawley). Le poids des animaux ainsi que leur sexe et leur nombre figurent au Tableau I. Nourriture et boisson ont été fournies à volonté.

Administration

Elle a été effectuée par voie orale. Les doses et la durée de l'administration sont indiquées dans le Tableau I pour chaque expérience. Aux chiens, la dose journalière de **3** ou **9** a été administrée en une seule gélule introduite dans la gueule. Aux rats, la dose journalière de **3** a été administrée sous forme d'une suspension préparée comme suit: dans 500 ml d'eau distillée, 1 g de carboxyméthylcellulose 12 H (Hercules France) est introduit par petites portions, tandis que le milieu est homogénéisé durant 10 min, à l'aide d'un mixeur—émulseur (Silverson R).

Dans n ml de cette pseudo solution (n = nombre de rats $\times$ nombre de jours) sont introduits n' g du composé **3** (n' = poids total de rats en kg $\times$ dose journalière en g $\cdot$ kg $^{-1}$ $\times$ nombre de jours), par petites portions, tandis que le milieu est homogénéisé, à l'aide du même mixeur—émulseur. Après 15 min de ce traitement, quelques gouttes de Tween 80 sont ajoutées. L'homogénéisation est répétée durant 10 min, puis l'ensemble de la suspension est dégazé par traitement en cuve à ultrasons pendant 10 min.

La suspension ainsi obtenue est conservée à 4°C pendant toute la durée de l'expérience. Un prélèvement d'1 ml par rat est effectué chaque jour et administré dans l'estomac de l'animal, à l'aide d'une canule à gaver courbe 60/10 (Carrieri R.).

Recueil des urines

Chaque chien a été placé dans un cage à métabolisme individuelle Pajon R. Les rats ont été placés, par 3, dans des cages à métabolisme

Pajon R. Ils y ont été maintenus pendant toute la durée de l'administration du produit ainsi que durant les 2 jours suivants. Les urines ont été prélevées chaque matin et chaque soir puis filtrées et congelées.

Extraction

Les urines décongelées ont été filtrées puis amenées à pH 0,5 par adjonction d'acide chlorhydrique concentré (quantité suffisante). Après extraction 4 fois par leur volume d'acétate d'éthyle, la solution organique a été séchée sur sulfate de sodium puis filtrée. Le solvant a été chassé à l'évaporateur rotatif.

Séparation. Le résidu ainsi obtenu a été traité par chromatographie sur colonne (support: Kieselgel 60 H Merck R; solvants de migration: cyclohexane—acétate d'éthyle, 30—70, puis, après passage des impuretés lipophiles, acétate d'éthyle pur).

Identification et détermination quantitative. Les fractions ont été analysées par chromatographie en couche mince (CCM) (support Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck R; solvant: cyclohexane—acétate d'éthyle, 50—50); RMN 1H $DMSO-d_6$ et microanalyse C, H, N. Les produits identiques ont ensuite été pesés.

Remerciements

Les auteurs tiennent à exprimer leur gratitude à Albert Lafaye pour l'aide qu'il leur a apportée dans la mise au point des formes d'administration.

Ils veulent également remercier Sophie Mairesse-Lebrun pour la réalisation des microanalyses, Nicole Verdier pour sa participation aux expériences ainsi que Nicole Seigneur pour l'entretien des animaux.

Références

- Ong H., du Souich P. & Marchand C. (1982) *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* 35, 237—258
- Hiura M., Nakagawa S., Kawashima H. & Kaneniwa N. (1984) *Int. J. Pharm.* 20, 73—85
- Bolanger H.G., Wahlstrom G. & Norberg L. (1984) *Acta Pharmacol. Toxicol.* 54, 33—40
- McRae A. C. & Kennedy T. G. (1983) *Biol. Reprod.* 29, 886—894
- Tang A. & Lien E. J. (1982) *Acta Pharm. Jugosl.* 32, 87—95
- Mayer J. M. (1985) in: *Drug Metabolism. Molecular Approaches and Pharmacological Implications* (Siest G., ed.), Pergamon Press, Oxford, pp. 187—194
- Talab A., Lafont O., Ménager S., Cavé C. & Miocque M. (1988) *Eur. J. Med. Chem.* 23, 25—29
- Lafont O., Cavé C., Lambrey B., Ménager S. & Miocque M. (1985) *Biochem. Pharmacol.* 34, 423—424
- Lafont O., Cavé C., Lambrey B., Ménager S. & Miocque M. (1985) *Eur. J. Med. Chem.* 20, 339—344
- Lafont O., Cavé C., Ménager S., Lambrey B. & Miocque M. (1985) *J. Pharm. Clin.* 4, 255—260
- Lee D. G. (1980) in: *The Oxidation of Organic Compounds by Permanganate Ion and Hexavalent Chromium*. Open Court, La Salle, IL, pp. 174
- Baldeo W., Gilbert J. N. T. & Powell J. W. (1980) *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 5, 75—80
- Lafont O., Lambrey B., Tachon P. & Jacquot C. (1982) *Lyon Pharm.* 33, 245—251
- Awang D. V. C., Vincent A. & Matsui F. (1973) *J. Pharm. Sci.* 62, 1673—1676
- Vogel A. I. (1957) in: *Practical Organic Chemistry*. Longman, Londres, p. 1003
- Kato Y. & Kohketsu M. (1981) *Chem. Pharm. Bull.* 29, 268—272
- Böhme H. & Teltz H. P. (1955) *Arch. Pharm.* 288, 349—352