

# QUELQUES METABOLITES POSSIBLES DE LA THALIDOMIDE<sup>1</sup>

MARCEL MÉNARD, LUCIEN ERICHOMOVITCH, MICHAEL LA BROOY  
ET FRANCIS L. CHUBB

*Frank W. Horner Limited, Montréal, Qué.*

Reçu le 8 mars 1963

## RÉSUMÉ

La synthèse de dérivés hydroxylés en positions 3 et 4 de l' $\alpha$ -phtalimidoglutarimide et de ses produits d'hydrolyse est décrite.

D'après les essais effectués dans nos laboratoires sur la thalidomide il semble que l'agent chimique responsable des malformations congénitales observées par Wiedemann (syndrome de Wiedemann) (1) ne soit pas la thalidomide elle-même, mais un produit de son métabolisme, vraisemblablement un dérivé hydroxylé dans les positions 3 ou 4 du groupe phtalyle. Williams et ses collaborateurs (2) pensent aussi que l'un des métabolites qu'ils ont isolés récemment est un dérivé hydroxylé en position 3. Dans le but d'obtenir des composés de référence connus pour l'identification et la détermination des activités biologiques de ces métabolites, la synthèse des hydroxy-3 et -4 phtalimidoglutarimides (hydroxy-3 et -4 thalidomides) et de leurs analogues à chaîne ouverte, les hydroxy-3 et -4 phtalylglutamines fut entreprise et est décrite ici.

Les hydroxy-3 et -4 phtalylglutamines, *Va* et *Vb*, s'obtiennent difficilement par réaction directe des anhydrides *IIa* et *IIb* avec la glutamine à cause de la facilité avec laquelle celle-ci se cyclise en acide pyrrolidone-2 carboxylique-4. Il s'est avéré profitable de protéger les fonctions hydroxylées des groupes phtalyles et de procéder par l'intermédiaire des anhydrides benzyloxyphthalimidoglutariques *IVc* et *IVd*. L'ouverture de ces anhydrides par l'ammoniac dans l'éthanol (3) donne les glutamines substituées *Vc* et *Vd* de préférence aux dérivés de l'isoglutamine; l'hydrazinolyse de *Vc* et *Vd*, par la phénylhydrazine suivant la méthode de Ujejski et Gaver (3), fournit uniquement la *dl*-glutamine. Les glutarimides *VIa* et *VIb* sont alors obtenues par cyclisation de *Vc* et *Vd* dans l'anhydride acétique et hydrogénéolyse des groupes benzyles. L'hydroxy-4 phtalimidoglutarimide *VIa* peut aussi être préparée à partir de l'anhydride *IVa* et de l'urée mais il est préférable de passer par les intermédiaires *IIIc*, *IVc*, *Vc* et *VIc*. Les produits obtenus sont optiquement inactifs.

Les essais biochimiques seront publiés bientôt.

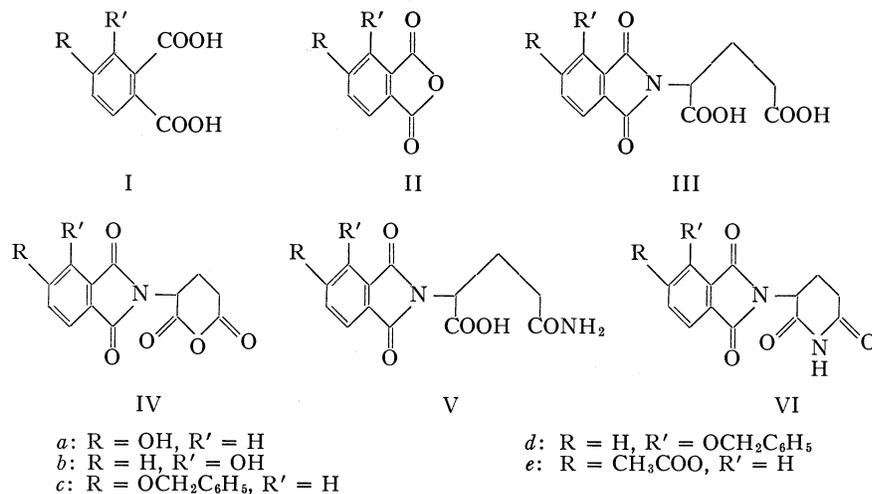
## PARTIE EXPÉRIMENTALE<sup>2</sup>

### Acide benzyloxy-4 phtalique (*Ic*)

L'acide hydroxy-4 phtalique (4) (18.2 g, 0.1 mole) est dissous dans une solution de 17 g (0.3 mole) d'hydroxyde de potassium dans 46 ml d'eau; 13.9 g (0.11 mole) de chlorure de benzyle sont alors ajoutés en une fois et le mélange est vivement agité et refluxé pendant 16 heures. Une solution de 8.5 g d'hydroxyde de potassium dans 46 ml d'eau est ajoutée et le tout chauffé à reflux jusqu'à l'obtention d'une solution limpide (3 heures). La solution est alors refroidie, lavée à l'éther et acidifiée au rouge congo par l'acide chlorhydrique concentré. Le précipité est filtré et recristallisé dans l'acide acétique pour donner 16 g (59%) du diacide fondant à 182-183°. Calculé pour  $C_{15}H_{12}O_6$ : C, 66.17; H, 4.44%. Trouvé: C, 66.11; H, 4.44%. Spectre

<sup>1</sup> $\alpha$ -Phtalimidoglutarimide.

<sup>2</sup>Les points de fusion ont été déterminés en tubes capillaires et ne sont pas corrigés. Les spectres infrarouges ont été déterminés à l'aide d'un spectromètre Perkin-Elmer, modèle 237; des suspensions dans le nujol ont été employées là où le solvant n'est pas spécifié. Les spectres ultraviolets ont été déterminés au moyen d'un spectrophotomètre Beckman, modèle DK2. Les microanalyses sont du Dr. Claude Daesslé, 5757 Decelles, Montréal.



infrarouge: —OH (acide), 3200 à 2100; =CO, 1675; aromatique, 1598 cm<sup>-1</sup>. Spectre ultraviolet (CH<sub>3</sub>OH): λ<sub>max</sub> 252 mμ, log ε = 4.106.

*Acide benzyloxy-3 phthalique (Id)*

Préparé à partir de l'acide hydroxy-3 phthalique (5) suivant le procédé décrit plus haut. Rendement: 62%. P.f. 163–165° (eau). Calculé pour C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub>: C, 66.17; H, 4.44%. Trouvé: C, 66.04; H, 4.33%. Spectre infrarouge: —OH (acide), 3400 à 2500; =CO, 1715 et 1665; aromatique, 1595 cm<sup>-1</sup>. Spectre ultraviolet (CH<sub>3</sub>OH): λ<sub>max</sub> 293 mμ, log ε = 3.47.

*Anhydride benzyloxy-4 phthalique (IIc)*

Une mélange de 14 g (50 mmole) de Ic et de 50 ml d'anhydride acétique est chauffé à reflux jusqu'à l'obtention d'une solution limpide (5–15 minutes). Celle-ci est évaporée sous vide au bain-marie et le résidu solide est recristallisé dans l'acétate d'éthyle-éther de pétrole pour donner 9 g (69%) de l'anhydride, p.f. 128–129°. Calculé pour C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>: C, 70.86; H, 3.96%. Trouvé: C, 70.81; H, 4.26%. Spectre infrarouge (CHCl<sub>3</sub>): =CO, 1845 et 1775; aromatique, 1615 et 1600; —O— (éther), 1255 cm<sup>-1</sup>. Spectre ultraviolet (CHCl<sub>3</sub>): λ<sub>max</sub> 311 et 277 mμ, log ε = 3.73 et 3.76.

*Anhydride benzyloxy-3 phthalique (IIa)*

Préparé comme IIc. Recristallisé dans le benzène-éther de pétrole après filtration d'une petite quantité de produit secondaire insoluble dans le benzène. P.f. 158–160°. Rendement: 75%. Calculé pour C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>: C, 70.86; H, 3.96%. Trouvé: C, 70.53; H, 3.72%. Spectre infrarouge: =CO, 1840 et 1770; aromatique, 1615 et 1595; —O— (éther), 1255 cm<sup>-1</sup>. Spectre ultraviolet (CHCl<sub>3</sub>): λ<sub>max</sub> 331 mμ, log ε = 3.71.

*Acide dl-(benzyloxy-4 phthalimido)-2 glutarique (IIIc)*

On chauffe sous vide pendant une heure à 165–185° un mélange intime de IIc (5 g, 19.7 mmole) et d'acide L-(+)-glutamique (3 g, 20.4 mmole). Après refroidissement, la masse vitreuse est triturée avec de l'eau et le solide ainsi obtenu est filtré et recristallisé dans l'acide acétique. Rendement: 5.5 g (73%). P.f. 235–240°. Calculé pour C<sub>20</sub>H<sub>17</sub>O<sub>7</sub>N: C, 62.66; H, 4.47; N, 3.65%. Trouvé: C, 62.79; H, 4.36; N, 3.86%. Spectre infrarouge: —OH (acide), 3400 à 2200; =CO, 1770 et 1705; aromatique, 1610 et 1595; —O— (éther), 1250 cm<sup>-1</sup>. Spectre ultraviolet (CH<sub>3</sub>OH): λ<sub>max</sub> 321 mμ, log ε = 3.35.

*Acide dl-(hydroxy-4 phthalimido)-2 glutarique (IIIa)*

(a) Un mélange d'anhydride hydroxy-4 phthalique (4) (12.5 g, 76 mmole) et d'acide L-(+)-glutamique (12.5 g, 85 mmole) dans 100 ml de pyridine est chauffé à reflux pendant 2 heures. L'excès d'acide glutamique est enlevé par filtration et la solution est évaporée sous vide au bain-marie. La trituration de l'huile résiduelle avec un excès d'acide chlorhydrique froid à 10% amène la formation d'un volumineux précipité blanc qui, après recristallisation dans l'eau, donne 14.3 g (64%) du diacide, p.f. 249–250°. Calculé pour C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>O<sub>7</sub>N: C, 53.24; H, 3.78; N, 4.78%. Trouvé: C, 53.33; H, 3.79; N, 4.87%. Spectre infrarouge: —OH, 3500 à 2300, sommet à 3285; =CO, 1775 et 1700; aromatique, 1615 et 1603; —O— (éther), 1255 cm<sup>-1</sup>. Spectre ultraviolet (CH<sub>3</sub>OH): λ<sub>max</sub> 325 mμ, log ε = 3.16.

(b) IIIc (1 g) hydrogéné dans l'éthanol en présence de palladium à 10% sur charbon (0.5 g) donne 0.3 g (40%) de IIIa, p.f. 240–250°.

*Anhydride dl-(acétyloxy-4 phthalimido)-2 glutarique (IVe)*

Le produit brut, provenant de la réaction de 3 g d'acide L-(+)-glutamique avec 3 g de IIa telle que décrite plus haut, est dissous dans un excès d'anhydride acétique sur le bain-marie. La solution est évaporée à sec sous vide et le résidu cristallisé par trituration avec de l'éther. P.f. 162–163° (acide acétique). Rendement: 2.6 g (50%). Calculé pour  $C_{15}H_{11}O_7N$ : C, 56.78; H, 3.50; N, 4.42%. Trouvé: C, 56.45; H, 3.64; N, 4.22%. Spectre infrarouge:  $=CO$ , 1815, 1760 et 1715; aromatique, 1610  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CH_3OH$ ):  $\lambda_{max}$  292  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.19$ .

*Anhydride dl-(benzyloxy-4 phthalimido)-2 glutarique (IVc)*

IIIc (3.6 g) est chauffé à reflux avec un excès d'anhydride acétique (25 ml) jusqu'à dissolution complète (20 minutes). La solution est évaporée sous vide au bain-marie et le résidu est recristallisé dans l'acétate d'éthyle. Rendement: 2.7 g (80%). P.f. 164–165°. Calculé pour  $C_{20}H_{15}O_6N$ : C, 65.75; H, 4.14; N, 3.83%. Trouvé: C, 66.16; H, 4.18; N, 3.99%. Spectre infrarouge ( $CHCl_3$ ):  $=CO$ , 1815, 1770 et 1715; aromatique, 1615 et 1603;  $-O-$  (éther), 1250  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CHCl_3$ ):  $\lambda_{max}$  325  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.28$ .

*Anhydride dl-(benzyloxy-3 phthalimido)-2 glutarique (IVd)*

Obtenu en traitant le produit brut de la réaction de II d avec l'acide glutamique par l'anhydride acétique. Rendement: 80%. P.f. 194–197°. Calculé pour  $C_{20}H_{15}O_6N$ : C, 65.75; H, 4.14; N, 3.83%. Trouvé: C, 65.64; H, 3.85; N, 4.30%. Spectre infrarouge:  $=CO$ , 1815, 1770 et 1715; aromatique, 1615  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CHCl_3$ ):  $\lambda_{max}$  336  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.93$ .

*Benzyloxy-4 phthalyl glutamine (Vc)*

A une solution refroidie d'ammoniac 1 N dans l'éthanol absolu (30 ml) on ajoute IVc (3 g) par portions successives. Après évaporation du solvant le résidu est émulsionné dans l'eau et acidifié par l'acide chlorhydrique à 10% jusqu'au rouge congo. Les solvants sont décantés et la masse semi-solide est lavée à l'eau froide et recristallisée dans l'éthanol. Rendement: 2 g (47%). P.f. 165–168°. Calculé pour  $C_{20}H_{18}O_6N_2$ : C, 62.82; H, 4.74; N, 7.33%. Trouvé: C, 62.67; H, 4.54; N, 7.48%. Spectre infrarouge:  $-NH$ ,  $-OH$ , 3500 à 2400, sommets à 3465 et 3320;  $=CO$ , 1775, 1700 et 1650; aromatique, 1610;  $-O-$  (éther), 1250  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CH_3OH$ ):  $\lambda_{max}$  322  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.23$ .

L'hydrolyse de Vc par la phénylhydrazine suivant la méthode décrite par Ujejski et Gaver (3) donne un produit identique (point de fusion mixte et spectres infrarouges) à la dl-glutamine préparée d'après ces auteurs.

*Benzyloxy-3 phthalyl glutamine (Vd)*

Préparé comme Vc. Rendement: 72%. P.f. 196–197° (*n*-butanol). Calculé pour  $C_{20}H_{18}O_6N_2$ : C, 62.82; H, 4.74; N, 7.33%. Trouvé: C, 62.88; H, 4.92; N, 7.55%. Spectre infrarouge:  $-OH$ ,  $-NH$ , 3500 à 2500, sommet à 3410;  $=CO$ , 1760, 1700 et 1640;  $-O-$  (éther), 1250  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CH_3OH$ ):  $\lambda_{max}$  332  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.66$ .

*Hydroxy-4 phthalyl glutamine (Va)*

L'hydrogénolyse de Vc (1 g) dans l'acide acétique (40 ml) en présence de palladium à 10% sur charbon (0.5 g) est complète en 30 minutes. Après filtration et évaporation du solvant le produit est obtenu sous forme solide par cristallisation dans l'eau. Rendement: 0.6 g (80%). P.f. 210–212°. Calculé pour  $C_{13}H_{12}O_6N_2$ : C, 53.42; H, 4.14; N, 9.59%. Trouvé: C, 53.14; H, 4.00; N, 9.66%. Spectre infrarouge:  $-OH$ ,  $-NH$ , 3630 à 2300, sommets à 3600 et 3430;  $=CO$ , 1700 et 1650; aromatique, 1605  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CH_3OH$ ):  $\lambda_{max}$  326  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.16$ .

*Hydroxy-3 phthalyl glutamine (Vb)*

Préparé comme Va. Rendement: 78%. P.f. 198–200° (eau). Calculé pour  $C_{13}H_{12}O_6N_2$ : C, 53.42; H, 4.14; N, 9.59%. Trouvé: C, 53.30; H, 4.30; N, 9.65%. Spectre infrarouge:  $-OH$ ,  $-NH$ , 3500 à 2300, sommets à 3460 et 3350;  $=CO$ , 1735, 1695 et 1635; aromatique, 1610 et 1595  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CH_3OH$ ):  $\lambda_{max}$  335  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.66$ .

 *$\alpha$ -(Benzyloxy-4 phthalimido)glutarimide (VIc)*

Vc (3 g) est chauffé au bain-marie pendant une heure avec un excès d'anhydride acétique (50 ml). Après évaporation du solvant le résidu est recristallisé dans le toluène. Rendement: 2.4 g (84%). P.f. 172–176°. Calculé pour  $C_{20}H_{16}O_5N_2$ : C, 65.93; H, 4.43; N, 7.69%. Trouvé: C, 65.93; H, 4.76; N, 7.64%. Spectre infrarouge:  $-NH$ , 3200 à 2550;  $=CO$ , 1765 et 1700; aromatique, 1605;  $-O-$  (éther), 1245  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CH_3OH$ ):  $\lambda_{max}$  321  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.37$ .

 *$\alpha$ -(Benzyloxy-3 phthalimido)glutarimide (VID)*

Préparé comme VIc. P.f. 230–234°. Calculé pour  $C_{20}H_{16}O_5N_2$ : C, 65.93; H, 4.43; N, 7.69%. Trouvé: C, 66.07; H, 4.28; N, 8.06%. Spectre infrarouge:  $-NH$ , 3200;  $=CO$ , 1770 et 1705; aromatique, 1610  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CH_3OH$ ):  $\lambda_{max}$  335  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.68$ .

 *$\alpha$ -(Hydroxy-4 phthalimido)glutarimide (VIa)*

(a) Un mélange intime d'urée (0.5 g) et de IVc (1 g) est chauffé sous vide à 175–180° pendant 45 minutes.

Le produit de réaction est trituré avec de l'eau, filtré et recristallisé dans le DMF-eau. Rendement: 0.3 g (35%). P.f. 317-318°. Calculé pour  $C_{13}H_{10}O_5N_2$ : C, 56.93; H, 3.68; N, 10.22%. Trouvé: C, 57.20; H, 3.84; N, 10.08%. Spectre infrarouge: —OH, —NH, 3500 à 2550, sommet à 3250; =CO, 1770 et 1700; aromatique, 1605  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CH_3OH$ ):  $\lambda_{max}$  324  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.31$ .

Dérivé acétylé: P.f. 217-220° (éthanol). Calculé pour  $C_{15}H_{12}O_6N_2$ : C, 56.96; H, 3.83; N, 8.86%. Trouvé: C, 56.71; H, 3.89; N, 8.96%.

(b) VIa est aussi obtenu par hydrogénolyse de VIc dans l'acide acétique en présence de palladium à 10% sur charbon. Rendement: 87%.

*$\alpha$ -(Hydroxy-3 phthalimido)glutarimide (VIb)*

Préparé par hydrogénolyse de VI d (58%). P.f. 273-275° (DMF-eau). Calculé pour  $C_{13}H_{10}O_5N_2$ : C, 56.93; H, 3.68; N, 10.22%. Trouvé: C, 56.89; H, 3.88; N, 10.24%. Spectre infrarouge: —OH, —NH, 3500 à 2550, sommet à 3275; =CO, 1770, 1750 et 1700; aromatique, 1610  $cm^{-1}$ . Spectre ultraviolet ( $CH_3OH$ ):  $\lambda_{max}$  337  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3.60$ .

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Dr. Willard J. Johnson qui a suggéré le project.

BIBLIOGRAPHIE

1. H. R. WIEDEMANN. Med. Wschr. **12**, 816 (1961); Med. Welt, **37**, 1863 (1961).
2. R. L. SMITH, R. A. D. WILLIAMS et R. T. WILLIAMS. Life sciences. No. 7. Pergamon Press Ltd., Great Britain. 1962. p. 333.
3. L. U. UJEJSKI et K. M. GAVER. U.S. Patent No. 2,951,090; Chem. Abstr. **55**, 4379 (1961).
4. W. H. BENTLEY et C. WEIZMANN. J. Chem. Soc. **91**, 98 (1896).
5. H. MÜHLEMANN. Pharm. Acta Helv. **23**, 257 (1948).