

Synthèse du Chlorhydrate de (+)-N-(o-Chlorobenzyl) α -Méthyl Phénéthylamine marqué en position 7 par ^{14}C * (Chlorhydrate de Clobenzorex)**

J. LINTERMANS, A. BENAKIS et R. RATOUIS

Service des Molécules Marquées, CEN, SACLAY, Laboratoire du Métabolisme des Médicaments, (Dir. Prof. B. Glasson) Genève, Centre de Recherches SIFA-DIAMANT, 93, La-Plaine-Saint-Denis.

Reçu le 15 mars 1970.

SUMMARY

The synthesis of (+)-N-(o-chlorobenzyl) α -methyl phenethylamine hydrochloride (Clobenzorex hydrochloride) labelled at position 7 with C^{14} is described. ($\pm$)-amphetamine was prepared in 5 steps from benzoic acid-7- ^{14}C . Resolution of ($\pm$)-amphetamine with use of (+)-tartaric acid and with modification of the ratio of the two isomeres by adding a quantity of non radioactive (+)-amphetamine similar to that of labelled racemic amphetamine gave (+)-amphetamine (+)-tartrate with high optical purity and a very good yield after only one crystallization. The specific radioactivity of the (+)-amphetamine obtained was 18 mCi/mM. The same procedure provided the (–)-amphetamine-7- ^{14}C from the mother liquors of the previous operation by adding (–)-tartaric acid. Its specific activity was 15 mCi/mM. The (+)-N-(o-chlorobenzyl) α -methyl phenethylamine hydrochloride-7- ^{14}C was obtained by condensation of the (+)-amphetamine-7- ^{14}C with o-chlorobenzaldehyde followed by a reduction with sodium borohydride. The final product had a specific activity of 17.2 mCi/mM and a radiochemical purity of about 99 %.

* Ce travail a été réalisé au Service des Molécules Marquées, CEN, SACLAY, dirigé par le Dr L. Pichat. Les auteurs lui expriment ici leurs remerciements pour ses judicieux conseils.

** Dénomination commune internationale recommandée.

RÉSUMÉ

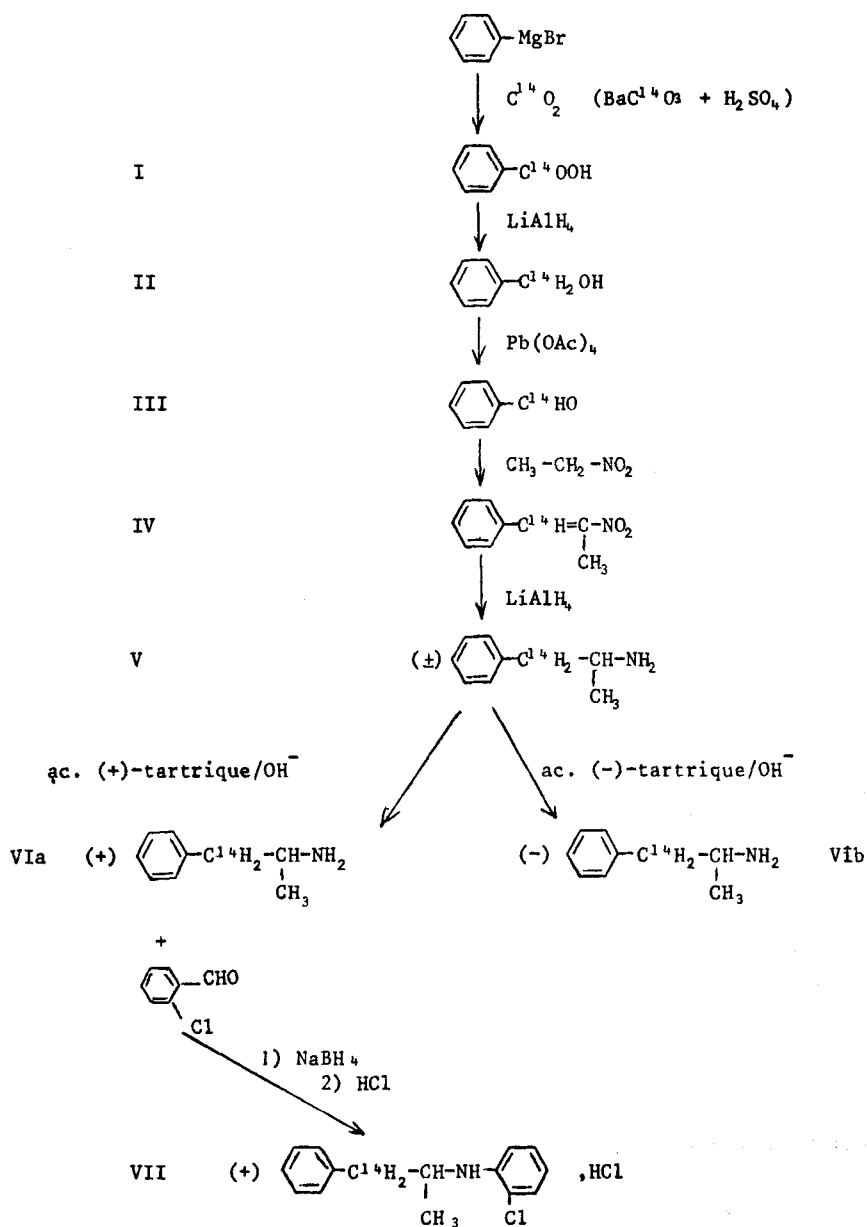
Nous décrivons la synthèse du chlorhydrate de (+)-N-(o-chlorobenzyl) α -méthyl phénéthylamine (Chlorhydrate de Clobenzorex) marqué en position 7 par le ^{14}C . Nous avons préparé la ($\pm$)-amphétamine ^{14}C -7 en 5 étapes à partir de l'acide benzoïque ^{14}C -7. Son dédoublement optique a été effectué par l'intermédiaire du sel avec l'acide (+)-tartrique. En modifiant avant la salification la proportion des deux isomères par addition à la ($\pm$)-amphétamine ^{14}C -7 d'une égale quantité de (+)-amphétamine non radioactive, nous avons obtenu, après une seule cristallisation, le (+)-tartrate de (+)-amphétamine ^{14}C -7 d'une excellente pureté optique et avec un très bon rendement. Ce sel a conduit à la (+)-amphétamine ^{14}C -7 par condensation de la (+)-amphétamine ^{14}C -7 avec l'o-chloro-appliqué aux eaux-mères de cristallisation a permis, par addition d'acide (-)-tartrique, d'isoler la (-)-amphétamine ^{14}C -7 d'une activité spécifique de 15 mCi/mM. Nous avons synthétisé le chlorhydrate de (+)-N-(o-chlorobenzyl) α -méthyl phénéthylamine ^{14}C -7 par condensation de la (+)-amphétamine ^{14}C -7 avec l'o-chlorobenzaldéhyde, suivie d'une réduction par le borohydrure de sodium. Le produit final a une activité spécifique de 17,2 mCi/mM et une pureté radiochimique de l'ordre de 99 %.

Le métabolisme chez l'homme et chez l'animal de l'amphétamine et de certains de ses dérivés, pour la plupart anorexigènes, a fait l'objet de nombreuses études dont nous avons récemment publié l'ensemble des résultats (Benakis *et al.*, 1968).

Dans une série décrite en 1966 par Boissier *et al.*, plusieurs composés ont montré une activité anorexigène particulièrement intéressante associée à une action psychoanaleptique très réduite, en particulier le chlorhydrate de (+)-N-(o-chlorobenzyl) α -méthyl phénéthylamine (Chlorhydrate de Clobenzorex). Pour étudier le métabolisme de ce dernier produit, nous avons préparé cette molécule marquée par le ^{14}C en position 7 avec une activité spécifique élevée en vue des études de localisation par autohistoradiographie.

Nous décrivons cette synthèse qui comporte les étapes suivantes explicitées dans le tableau :

- I — Acide benzoïque ^{14}C -7.
- II — Alcool benzylique ^{14}C -7.
- III — Benzaldéhyde ^{14}C -7.
- IV — Phényl-1 nitro-2 propène ^{14}C -1.
- V — ($\pm$)-amphétamine ^{14}C -7.
- VI — Dédoublement optique : (+)-amphétamine ^{14}C -7 et (-)-amphétamine ^{14}C -7.
- VII — Chlorhydrate de (+)-N-(o-chlorobenzyl) α -méthylphénéthylamine ^{14}C -7.



La synthèse marquée du sulfate de ($\pm$)-amphétamine a été décrite par Wilson (1950) en partant de l'acide phénylacétique ^{14}C -2 et par Blackburn *et al.* (1965) à partir de l'acide benzoïque ^{14}C -7 par l'intermédiaire du chlorure de benzoyle et du benzaldéhyde. Ces derniers auteurs ont ensuite obtenu le sulfate de (+)-amphétamine *via* le (+)-tartrate dans des conditions très rigoureuses de température pour atteindre le meilleur rendement après plusieurs cristallisations. Ce procédé de séparation est le plus classique (Leithe, 1932; Temmler, 1939; Nabenhauer, 1942).

Nous avons synthétisé la (+)-amphétamine en suivant le schéma de Blackburn avec plusieurs modifications, notamment pour le dédoublement. A partir de $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$, nous avons préparé l'acide benzoïque ^{14}C -7 suivant Baret *et al.* (1951), l'alcool benzylique ^{14}C -7 en solution pyridinique suivant Pichat *et al.* (1959) et le benzaldéhyde ^{14}C -7 en solution pyridinique suivant Herbert *et al.* (1969). Sans isoler l'aldéhyde, en condensant cette solution avec le nitroéthane en présence de benzène, nous avons obtenu le phényl-1 nitro-2 propène ^{14}C -1 que nous avons réduit en ($\pm$)-amphétamine ^{14}C -7 par LiAlH_4 .

Par addition d'acide (+)-tartrique (1,1 mole pour 1 mole) au mélange en quantités égales de ($\pm$)-amphétamine ^{14}C -7 et de (+)-amphétamine non radioactive au sein du méthanol, nous avons préparé le (+)-tartrate de (+)-amphétamine ^{14}C -7. Après une seule cristallisation du (+)-tartrate dans l'isopropanol aqueux, la pureté optique est très satisfaisante et nous avons obtenu après alcalinisation, la (+)-amphétamine ^{14}C -7 avec une pureté optique de 97 % et un rendement de 72 %. A partir des eaux mères en utilisant le même procédé mais en diluant avec de la (–)-amphétamine non radioactive et en préparant le (–)-tartrate, on obtient la (–)-amphétamine ^{14}C -7.

Enfin, nous avons synthétisé le chlorhydrate de (+)-N-(o-chlorobenzyl) α -méthyl phénéthylamine en adaptant le procédé décrit par Boissier *et al.* (1966) aux conditions de la synthèse marquée.

Signalons que nous avons essayé sans succès plusieurs autres méthodes de séparation des antipodes optiques de la ($\pm$)-amphétamine : par l'intermédiaire des sels avec l'acide (–)-N-acétyl glutamique et le (–)-N-acétyltryptophane selon Gillingham (1955), par chromatographie sur couche mince d'alumine ou de silicagel imprégnée d'acides (+)-galacturonique, (+)-tartrique, (+)-mandélique ou (+)-quinique selon le procédé utilisé par Paris *et al.* (1967) dans le cas de l'éphédrine et enfin par chromatographie sur papier dans le système butanol-acide acétique-eau suivant Alessandro *et al.* (1954).

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Acide benzoïque ^{14}C -7 (I).

On fait réagir H_2SO_4 concentré sur 1,96 g (10 mM) de $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ (495 mCi) et on condense le $^{14}\text{CO}_2$ dégagé dans 25 ml d'une solution étherée 0,45 M de

bromure de phényl magnésium refroidie à -20°C . Après hydrolyse, extraction et séchage, on obtient 0,923 g d'acide benzoïque ^{14}C -7 d'une activité de 370 mCi (Rendement en activité : 75 %).

Alcool benzylique ^{14}C -7 (II).

On dissout 0,923 g (7,6 mM) de (I) dans 25 ml d'éther anhydre. On réduit à l'aide de 100 ml d'une solution étherée 0,22 M de LiAlH_4 . Après hydrolyse, on extrait à l'éther. L'activité de l'alcool benzylique obtenu est de l'ordre de 352 mCi. On ajoute 50 ml de pyridine, on chasse l'éther à travers une colonne Vigreux et on obtient l'alcool benzylique en solution pyridinique (Rendement en activité : 95 %).

Benzaldéhyde ^{14}C -7 (III).

On ajoute 7 g de $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ à la solution pyridinique d'alcool benzylique précédente et on porte le mélange à l'ébullition pendant 1 h sous agitation. On distille sous vide et on obtient une solution pyridinique de benzaldéhyde ^{14}C -7 d'une activité de l'ordre de 330 mCi exempte d'alcool benzylique par G.L.C. (Rendement en activité : 94 %).

Phényl-1 nitro-2 propène ^{14}C -1 (IV).

On ajoute 50 ml de benzène, 5 g (60 mM) de nitroéthane et 0,3 ml de pipéridine à la solution pyridinique de benzaldéhyde ^{14}C -7 (env. 6,8 mM). On porte à l'ébullition sous agitation pendant 24 h. La fin de la réaction est déterminée par disparition du benzaldéhyde (G.L.C.). On évapore le solvant sous pression réduite, on reprend le résidu huileux par l'éther et on lave plusieurs fois avec de l'acide chlorhydrique dilué, puis avec de l'eau. On sèche la solution étherée sur sulfate de sodium anhydre. On obtient environ 320 mCi. L'éther est évaporé sous pression réduite et on obtient 1,07 g de produit qui s'identifie par spectrométrie U.V. dans l'alcool $\lambda_{\text{max}}(\epsilon)$: 226 nm (10300); 305 nm (12400) (Rendement en activité : 97 %). La pureté radiochimique est de l'ordre de 85 %.

($\pm$)-Amphétamine ^{14}C -7 (V).

On réduit 1,07 g (6,4 mM) de (IV) en solution étherée avec 125 ml d'une solution étherée 0,22 M de LiAlH_4 . Après hydrolyse et extraction, on obtient une solution étherée de ($\pm$)-amphétamine ^{14}C -7 d'une activité de l'ordre de 270 mCi (Rendement en activité : 84 %). La pureté radiochimique est de l'ordre de 85 %. Par chromatographie sur colonne de silicagel (éthanol/ammoniaque 4 %), on élimine en tête une impureté active (8 % de l'activité totale du produit) et on obtient la ($\pm$)-amphétamine ^{14}C -7 d'une pureté d'environ 93 %. On dissout la base dans le cyclohexane, on titre par spectrophotométrie U.V.

et on ajoute la quantité théorique d'acide sulfurique 0,01 N avec un léger défaut (-2%). On agite les deux phases durant une nuit, on décante la phase organique et on lave la solution aqueuse de sulfate de $(\pm)$ -amphétamine à l'éther. On obtient une substance d'une pureté radiochimique de 98 à 99 %.

On alcalinise la solution aqueuse de sulfate de $(\pm)$ -amphétamine $^{14}\text{C-7}$ au moyen de 10 ml de NaOH (10 N) et on extrait à l'éther dans un extracteur liquide-liquide en continu. On chasse l'éther sous vide et on dissout le résidu huileux de $(\pm)$ -amphétamine $^{14}\text{C-7}$ dans 2 ml de méthanol. La concentration de cette solution est déterminée par dosage U.V., puis ajustée de manière à obtenir une solution 1 M.

Dédoublage optique : $(\pm)$ -amphétamine $^{14}\text{C-7}$ (VIa).

On utilise un ballon à deux cols rodé de 10 ml muni d'un réfrigérant à reflux, d'un compte gouttes et d'un verre fritté au fond du ballon. Le ballon est rendu étanche par application sur la surface externe du fritté d'un bouchon gainé d'une membrane en Téflon. On introduit dans le ballon 0,33 g (2,2 mM) d'acide (+)-tartrique en solution dans 3 ml de méthanol, puis goutte à goutte, à une température de 60 °C, une solution de 0,135 g (1 mM) de $(\pm)$ -amphétamine $^{14}\text{C-7}$ (49 mCi/mM) mélangée à 0,135 g (1 mM) de (+)-amphétamine inactive dans 1 ml de méthanol. On porte la solution à ébullition durant 1 min, puis on laisse revenir lentement à température ambiante et on abandonne pendant 16 h à 20 °C. On enlève le bouchon fermant le fritté, on essore le précipité et on sèche à 50 °C sous vide. On applique à nouveau le bouchon sur le fritté et on recristallise le produit à chaud dans env. 4,9 ml d'isopropanol aqueux (91 %). On laisse refroidir et reposer durant 4 h. On essore les cristaux selon la même technique que précédemment et on sèche sous vide à 50 °C. Dans le même ballon, on dissout les cristaux de (+)-tartrate de (+)-amphétamine $^{14}\text{C-7}$ dans l'eau, on filtre, on alcalinise et on extrait la (+)-amphétamine à l'éther. Après évaporation lente de l'éther sous pression réduite, on obtient 0,145 g (1,1 mM) de (+)-amphétamine $^{14}\text{C-7}$ (16,6 mCi). Le rendement, par rapport à la quantité totale d'isomères dextrogyres dans le mélange dédoublé, est de 72 % et la pureté optique du produit est de l'ordre de 97 %, déterminée par chromatographie en phase gazeuse. La pureté radiochimique du produit est supérieure à 99 %, déterminée par chromatographie sur couche mince.

Dédoublage optique : $(-)$ -amphétamine $^{14}\text{C-7}$ (VIb).

Les eaux-mères de cristallisation de plusieurs opérations de dédoublage sont réunies, alcalinisées et extraites à l'éther. On récupère 275 mg (2 mM) d'amphétamine dont l'analyse par G.L.C. montre que le produit est pratiquement racémique. On ajoute 275 mg de $(-)$ -amphétamine non radioactive dissoute dans 3 ml de méthanol. On ajoute 660 mg d'acide $(-)$ -tartrique et on procède au dédoublage selon la même technique que celle décrite pour la (+)-amphétamine. On obtient 275 mg de $(-)$ -amphétamine $^{14}\text{C-7}$ d'une activité spécifique de 15 mCi/mM.

Chlorhydrate de (+)-N-(o-chlorobenzyl) α -méthyl phénéthylamine ^{14}C -7 (VII).

Dans un ballon rodé à deux cols de 5 ml muni d'un réfrigérant à reflux, d'une entrée d'azote et d'une agitation magnétique, on introduit 0,11 g (0,815 mM) de (+)-amphétamine ^{14}C -7 (12,5 mCi) en solution dans 1,1 ml de méthanol et 0,11 g (0,785 mM) d'o-chlorobenzaldéhyde. On agite à la température ambiante pendant 16 h sous azote. On ajoute en agitant 0,04 g de borohydrure de sodium par petites portions. On agite pendant 1 h à la température ambiante, puis on chauffe pendant 2 h à reflux. On refroidit et on ajoute goutte à goutte 2 ml d'eau. On obtient une suspension, qui est transvasée par pipetage dans un ballon à fond frité du type décrit précédemment. On ajoute 0,5 ml d'acide chlorhydrique concentré et on laisse reposer pendant 2 h. On essore le précipité, on le lave avec deux fois 0,5 ml d'eau et on sèche à 50 °C sous vide. On obtient 0,145 g de (VII) (7,6 mCi), identifié par spectre U.V. dans le méthanol λ_{max} (ϵ): 273 nm (266); 278 nm (413). Le rendement est de 61 % par rapport à la (+)-amphétamine ^{14}C -7. L'activité spécifique du produit est de 17,2 mCi/mM ou 58,1 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$. La pureté radiochimique du produit final a été déterminée par chromatographie sur papier. Elle est de l'ordre de 99 %.

DONNÉES ANALYTIQUES.

Chromatographie en phase gazeuse (G.L.C.)

Colonne de 2 m de Silicone OVI sur Chromosorb W; détecteur à ionisation de flamme; température d'injection : 300 °C.

Temps de rétention :

- . Benzaldéhyde : 3.62 mn. colonne à 105 °C
- . Alcool benzylique : 5.78 mn. colonne à 105 °C
- . Phényl nitropropène : 2.05 mn. colonne à 205 °C

Détermination de la pureté optique de la (+)-amphétamine :

Méthode de Gordis (1966); réaction avec la trifluoroacétyl-1 chlorocarbonyl-2 pyrrolidine (TCP) et G.L.C.

Colonne en verre de 2 m, NPGS 3 % sur Chromosorb W; détecteur à ionisation de flamme; température d'injection : 270 °C.

Temps de rétention :

- . (—) TCP-(—)-amphétamine : 30.53 mn. colonne à 270 °C
- . (—) TCP-(+)-amphétamine : 34.71 mn. colonne à 270 °C

Chromatographie sur couche mince de silice de la (+)-amphétamine :

<i>Système</i>	<i>Rf</i>
Chloroforme/méthanol 5/5	0.28
Chloroforme/méthanol/acide acétique 7.5/2/5	0.85
Méthyléthylcétone/diméthylformamide/ammoniaque 13/1.9/0.1	0.78
Butanol/acétone/eau 8/1/1	0.25
Ethanol/ammoniaque 9.8/0.2	0.35
Butanol/acide formique/eau 7.5/1.5/1	0.75

Chromatographie du chlorhydrate de (+)-N-(o-chlorobenzyl) α -méthylphénylamine ¹⁴C-7 :a) — *sur papier*

<i>Système</i>	<i>Rf</i>
n-butanol/pyridine/sol. saturée NaCl/eau 40/80/60/10.5	0.91
toluène/n-butanol/ac. acétique/eau 2/2/1/1	0.82
n-butanol/NaOH 1,5 N 1/1	0.91

b) — *sur couche mince*

<i>Système</i>	<i>Rf</i>
toluène/butanol/acide acétique/eau 2/2/1/1	
— sur cellulose, support aluminium	0.91
— sur silice, support aluminium	0.74

* * *

Nous remercions M H. Herbert (Service des Molécules Marquées, CEN, Saclay), d'avoir bien voulu nous assister de ses conseils et de son expérience dans les manipulations des molécules radioactives.

Nous remercions MM. P. H. Derible, P. Vassort et P. Vaudescal (Centre de Recherches SIFA-DIAMANT) pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apportée dans la mise au point avec les molécules non radioactives de plusieurs des techniques utilisées.

Nous remercions également Mme M. Thomasset (Laboratoire du Métabolisme des Médicaments) pour sa collaboration à la mise au point des techniques analytiques.

BIBLIOGRAPHIE

- ALESSANDRO, A. et CALDERERA, C. M. — *Boll. Chim. Farm.*, **93** : 404 (1954).
BARET, C. et PICHAT, L. — *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **18** : 580 (1951).
BENAKIS, A. et THOMASSET, M. — Symposium on Abuse of Central Stimulants, Stockholm (1968). Almqvist et Wicksell édit
BLACKBURN, D. et BURGHARD, G. J. — *J. Pharm. Sci.*, **54** : 1586 (1965).
BOISSIER, J. R., RATOUIS, R. et DUMONT, C. — *Ann. Pharm. Franç.*, **24** : 57 (1966).
GILLINGHAM, J. M. — Br. U. S. 3,028,430 (1962).
GORDIS, E. — *Biochem. Pharmacol.*, **15** : 2124 (1966).
HERBERT, M., ROCHAS, G. et PICHAT, L. — *J. Label. Compounds*, **IV** : 240 (1969).
LEITHE, W. — *Chem. Ber.*, **65** : 660 (1932).
NABENHAUER, F. B. — Br. U. S. 2,276,508 et 2,276,509 (1942).
PARIS, R. R., SARSUNOVA, M. et SEMONDKY, M. — *Ann. Pharm. Franç.*, **25** : 177 (1967).
PICHAT, L. et CARBONNIER, P. — Rapport CEA 1148 (1959).
TEMMLER, T. H. — Br. angl. 508.737 (1939).
WILSON, J. W. — *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.*, **39** : 687 (1950).