

SYNTHÈSE DU SL 75.212 (BETAXOLOL) MARQUE AU CARBONE 14 :  
 [(CYCLOPROPYLMÉTHOXY-2 ÉTHYL  $^{14}\text{C}$ -1)-4 PHÉNOXY]-1 ISOPROPYLAMINO-3  
 PROPANOL-2

F. AUBERT, J.-P. BEAUCOURT, L. PICHAT \*

Service des Molécules Marquées - C.E.N.-SACLAY  
 91191 GIF-SUR-YVETTE - FRANCE

SUMMARY

The synthesis of SL-75.212 (BETAXOLOL) labelled with carbon 14 : 1-[4-(2-cyclopropyl methoxyethyl-[1- $^{14}\text{C}$ ]) phenoxy]-3-isopropyl amino-2-propanol : 13 was achieved by a twelve step sequence from [ $^{14}\text{C}$ ] carbon dioxide.

Carbonation with  $^{14}\text{CO}_2$  of the Grignard reagent 1 gave 4-benzyloxy [carboxyl- $^{14}\text{C}$ ] benzoic acid : 2 (87 % yield). 2 was successively treated in diethyl ether solution with diazomethane and lithium aluminium hydride giving rise to [ $^{14}\text{C}$ ] 4-benzyloxybenzyl alcohol 4 (82 % yield). Alcohol 4 was transformed into the corresponding chloride 5 when exposed to thionylchloride in ether. 5 was condensed with NaCN in DMF to give the nitrile 6 which was hydrolysed into the acid 7 isolated in a 75 % overall yield from Ba $^{14}\text{CO}_3$ . 7 gave the alcohol 9 by successive treatments with diazomethane and LiAlH $_4$  in ether. 9 with NaH gave the corresponding alkoxide which when condensed with bromomethylcyclopropane gave the ether 10 purified by silicagel column chromatography and isolated with an overall yield of 71 % from Ba $^{14}\text{CO}_3$ . Hydrogenolysis of 10 gave the phenol 11. The epoxide 12 was secured by condensation with epichlorhydrin in presence of NaOH. After purification by silicagel column chromatography 10 was opened with isopropylamine leading to the target compound BETAXOLOL 13 isolated as the hydrochloride. After extensive purification by Sephadex G-10 column chromatography, SL 75.212 [ethyl-1- $^{14}\text{C}$ ] was obtained in an overall yield of 26 % from barium [ $^{14}\text{C}$ ] carbonate and a radiochemical purity better than 99 % (specific activity 57 mCi/mole).

Le SL 75.212 (BETAXOLOL) [(cyclopropylméthoxy-2 éthyl)-4 phénoxy]-1 isopropylamino-3 propanol-2 : 13 est un nouvel agent bêtabloquant (1). Dans diverses espèces animales ainsi que dans des études cliniques, il a été démontré que le BETAXOLOL possède un

\* To whom any correspondence should be addressed.

profil sélectif  $\beta_1$  très intéressant (2-6). Pour faciliter les études de pharmacocinétique du SL 75.212 (2) et les déterminations quantitatives de ce bêtabloquant dans le plasma et les urines (7), nous avons réalisé, pour SYNTHELABO, la synthèse du Betaxolol marqué au carbone 14 dès 1976. La position de marquage choisie a été le carbone-1 du groupe éthyle. La synthèse a été réalisée selon le schéma I en 12 étapes.

La carbonatation avec  $^{14}\text{CO}_2$  du réactif de Grignard 1 préparé à partir du benzyloxy-4 bromo-1 benzène (8) a fourni l'acide benzyloxy-4 benzoïque (carboxyl  $^{14}\text{C}$ ) 2 avec un rendement de 87 %. L'action du diazométhane sur l'acide 2 dans l'éther a fourni l'ester méthylique 3 qui n'a pas été isolé et a été traité immédiatement par une solution étherée de  $\text{LiAlH}_4$ , ce qui a fourni l'alcool benzylique 4 avec un rendement global de 82 %. Le traitement de cet alcool 4 par le chlorure de thionyle dans l'éther a conduit au chlorure correspondant 5 qui a été immédiatement condensé avec le cyanure de sodium dans la DMF ce qui a fourni le nitrile 6 de pureté radiochimique 95 %. L'hydrolyse de 6 par la potasse a donné, après acidification l'acide (benzyloxy-4 phényl) acétique  $^{14}\text{C}$ -2 : 7 de pureté radiochimique 96 % avec un rendement global de 75 % par rapport à  $^{14}\text{CO}_2$ . L'acide 7 a été réduit en alcool correspondant 9 par traitements successifs dans l'éther, avec le diazométhane et  $\text{LiAlH}_4$ . L'alcool 9 en solution dans le DMF traité par  $\text{HNa}$  a donné l'alcoxyde de sodium correspondant qui a été condensé avec un excès de bromométhylcyclopropane pour donner le O-benzyl éther 10. Celui-ci a été purifié par chromatographie sur colonne de silicagel (pureté radiochimique : 97 % - rendement global 71 % calculé sur  $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ ). L'hydrogénolyse catalytique ( $\text{Pd/C}$  -  $\text{MeOH}$  - 60 bars -  $50^\circ\text{C}$ ) de 10 a provoqué sa débenzylation et a fourni le phénol 11. Celui-ci a été condensé avec l'épichlorhydrine en présence de soude afin d'obtenir l'époxyde 12 qui a été purifié partiellement (pureté radiochimique 90 %) par chromatographie sur colonne de silicagel. A ce stade, le rendement global était de 50 % par rapport à  $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ . L'ouverture de l'époxyde 12 par un très grand excès d'isopropylamine a donné le SL 75.212 : 13 qui a été isolé sous forme de chlorhydrate. Après purification sur colonne de Sephadex G-10 le Betaxolol  $^{14}\text{C}$  : 14 a été obtenu avec un rendement global de 26 % calculé sur  $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ . La pureté radiochimique contrôlée par chromatographie en couche mince dans 3 systèmes de solvants, était supérieure à 99 %. Les spectres de masse et d'absorption U.V. étaient en accord avec les spectres du SL 75.212 inactif témoin. L'activité spécifique mesurée par spectrométrie de masse sur le pic moléculaire à  $M = 309$  était de 57  $\text{mCi/mMole}$  égale à celle du  $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$  utilisé.

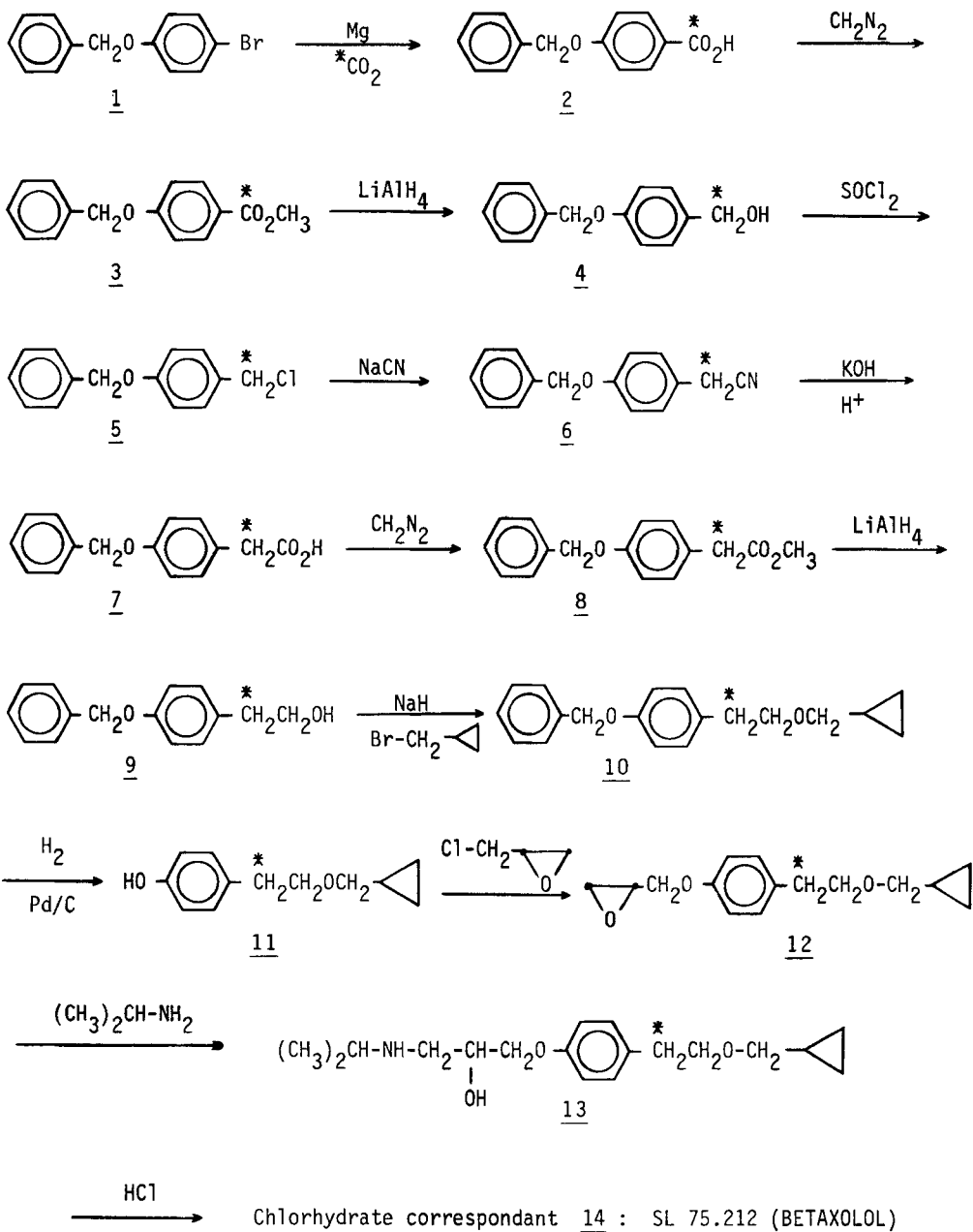


Schéma I

PARTIE EXPERIMENTALE

ANALYSES CHROMATOGRAPHIQUES EN COUCHE MINCE : C.C.M.

Gel de Silice Schleicher-Schüll F 1500 LS 254 et Merck 60 F 254 pour le SL 75212

Composé	Solvants	Rf
2	1) $\text{CHCl}_3$ / $\text{CH}_3\text{OH}$ : 9 / 1	0,9
	2) $\text{CHCl}_3$	0,05
3	$\text{CHCl}_3$	0,71
4	$\text{CHCl}_3$	0,12
5	$\text{CHCl}_3$	0,87
6	$\text{CHCl}_3$	0,59
7	$\text{CHCl}_3$	0,14
8	$\text{CHCl}_3$	0,80
9	$\text{CHCl}_3$	0,23
10	1) $\text{CHCl}_3$ / Acétone : 95 / 5	0,96
	2) $\text{CHCl}_3$	0,77
11	1) $\text{CHCl}_3$	0,13
	2) $\text{CHCl}_3$ / Acétone : 95 / 5	0,53
12	1) $\text{CHCl}_3$	0,75
	2) $\text{CHCl}_3$ / Acétone : 95 / 5	0,80
SL 75.212	1) MeOH	0,25
	2) $\text{C}_6\text{H}_6$ / MeOH / $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ : 45 / 8 / 4	0,40
	3) $\text{C}_6\text{H}_6$ / $\text{CH}_3\text{CN}$ / $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ : 50 / 40 / 10	0,37

Tableau I

ACIDE BENZYLOXY-4 BENZOIQUE ( $^{14}\text{C}$ -CARBOXYLE) : 2 (8)

6,6 g (25 mmoles) de 1 sont dissous dans 100 ml de tétrahydrofuranne. Après addition de 0,76 g de tournures de magnésium et d'un cristal d'iode, la solution est chauffée à reflux 2 heures sur bain d'huile et sous agitation. 62 ml (9,21 mmoles) de la solution brune 0,15 M de magnésien ainsi obtenue (excès 50 %) sont carbonatés à  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant 30 minutes à l'aide de 350 mCi (6,14 mmoles ; A.S. = 57 mCi/mole) de  $^{14}\text{C}$ . Après hydrolyse à  $-20^{\circ}\text{C}$  par 10 ml d'eau, le THF est chassé sous vide. Après extraction des impuretés par 3 x 25 ml d'éther, la solution est acidifiée par 10 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (2N). Le précipité d'acide formé est extrait par 6 fois 50 ml d'acétate d'éthyle, lavé (2 x 10 ml d'eau), séché sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . On obtient une solution jaune de 2 : 304 mCi (5,33 mmoles ; rendement = 87 % par rapport à  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$  ; pureté par CCM = 95 %)

BENZYLOXY-4 BENZOATE DE METHYLE ( $^{14}\text{C}$ -CARBOXYLE) : 3

L'acide sec 2 est dissous dans 200 ml d'éther anhydre. A la solution refroidie dans un bain eau + glace, sont ajoutés 30 ml (10,7 mmoles) d'une solution 0,36 N de diazométhane (excès 50 %). On laisse revenir la solution à température ambiante en 15 minutes, l'estérification de 2 est quantitative (pureté par CCM : 95 %).

ALCOOL BENZYLOXY-4 BENZYLIQUE  $^{14}\text{C}$ - $\alpha$  : 4

On amène le volume de la solution étherée de 3 à environ 100 ml par évaporation de l'éther sous courant d'azote et on ajoute lentement en boîte à gants 810 mg (21,3 mmoles) de  $\text{LiAlH}_4$  ; le mélange est agité 1 heure à température ambiante. Après destruction de l'excès d'hydrure (par addition d'éther saturé d'eau, puis d'eau), la solution refroidie par un bain de glace + eau est acidifiée par  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (6N) puis extraite à l'éther. Afin d'éliminer l'acide restant éventuellement, on ajoute 5 ml NaOH (N), puis on lave avec 4 x 25 ml d'eau jusqu'à neutralité. La solution étherée d'alcool est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  puis filtrée. On obtient 5,07 mmole de 4 (289 mCi ; rendement par rapport à  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$  = 83 %).

CHLORURE DE BENZYLOXY-4 BENZYLE  $^{14}\text{C}$ - $\alpha$  : 5

L'alcool 4 séché est dissous dans 30 ml d'éther anhydre. A la solution obtenue sont ajoutées goutte à goutte 15,2 mmoles (1,1 ml) de  $\text{SOCl}_2$  sous agitation magnétique à température ambiante et en boîte à gants. On laisse reposer 1 heure à température ambiante puis on porte à sec, reprend avec 5 ml de benzène et évapore sous vide pour éliminer l'excès de  $\text{SOCl}_2$ . Cette opération est répétée deux fois. Le chlorure 5 est séché 1 heure en dessiccateur et utilisé directement pour l'étape suivante.

BENZYLOXY-4 PHENYLACETONITRILE  $^{14}\text{C}-\alpha$  : 6

A une solution de 5 dans 20 ml de DMF anhydre sont ajoutés en boîte à gants 331 mg de NaCN et le mélange est agité une nuit à température ambiante. La solution brune obtenue est portée à sec sous vide, reprise par 5 ml d'eau puis extraite à l'éther. Par CCM, la pureté du nitrile 6 obtenu est de 90-95 %.

ACIDE BENZYLOXY-4 PHENYLACETIQUE  $^{14}\text{C}-\alpha$  : 7

Le nitrile 6 est porté à sec puis repris par 20 ml d'une solution 4,54 M de KOH dans  $\text{H}_2\text{O}$ -éthanol (1-1). Le mélange est chauffé 6 heures à reflux sur bain d'huile à  $110^\circ\text{C}$ . Après refroidissement, on ajoute 25 ml d'eau puis on extrait les impuretés (20 mCi) par 4 fois 25 ml d'éther. La fraction aqueuse est refroidie dans un bain eau + glace et acidifiée lentement à pH 2 avec 13 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (6N). L'acide formé est extrait par 5 fois 25 ml d'éther, lavé par 5 ml d'eau, séché sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . On obtient 4,63 mmoles d'acide 7 (264 mCi ; rendement par rapport à  $\text{Ba}^*\text{CO}_3$  = 75 % ; pureté : 96 %).

BENZYLOXY-4 PHENYLACETATE DE METHYLE  $^{14}\text{C}-\alpha$  : 8

L'acide 7 est porté à sec, séché 3 heures dans un dessiccateur sous vide puis dissous dans 50 ml d'éther anhydre. A cette solution refroidie par un bain eau + glace sont ajoutés 26 ml (9,26 mmoles) d'une solution 0,36 N de diazométhane (excès 50 %). D'après la CCM, l'ester 8 est obtenu quantitativement avec une pureté de 98-99 %.

(BENZYLOXY-4 PHENYL)-2 ETHANOL  $^{14}\text{C}-2$  : 9

Après avoir évaporé l'éther et  $\text{CH}_2\text{N}_2$  sous courant d'azote puis séché le résidu pendant 1 heure, l'ester 8 est repris dans 50 ml d'éther anhydre. A la solution obtenue sont ajoutés lentement en boîte à gants et à température ambiante 704 mg (18,5 mmoles) de  $\text{LiAlH}_4$  (4 mmole/mole d'ester). On laisse reposer 30 minutes à température ambiante. L'excès de  $\text{LiAlH}_4$  est détruit (éther saturé d'eau, puis eau ajoutés goutte à goutte). Sous refroidissement par la glace, la solution est acidifiée par  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (6N) puis est extraite à l'éther en continu pendant 3 heures. Après filtration, lavage avec 5  $\text{cm}^3$  d'eau pour éliminer les traces éventuelles d' $\text{H}_2\text{SO}_4$ , séchage sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , l'alcool 9 est obtenu avec une pureté de 95 % d'après la CCM.

ETHER BENZYLIQUE DU (CYCLOPROPYLMETHOXY-2 ETHYL  $^{14}\text{C}-1$ )-4 PHENOL : 10

L'alcool 9 est séché 1 heure sous vide, repris par 5 ml de DMF anhydre et traité par 5 ml d'une suspension de NaH dans le DMF.

Le mélange est chauffé 3 heures à 40° C. Puis on ajoute 825 mg (6,11 mmoles) de bromure de cyclopropylméthyle dissous dans 2,5 ml de DMF et on chauffe 8 heures à 60° C. A la solution refroidie (eau + glace) sont ajoutés 10 ml d'eau sous agitation. Le produit est extrait à l'éther (5 x 20 ml) et la solution étherée est rincé à l'eau (2 x 5 ml), séché sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La phase étherée (252 mCi) est portée à sec sous vide, reprise par 2 ml de CHCl<sub>3</sub> et la solution obtenue est purifiée par passage sur une colonne de gel de silice "type H" (Merck) (diamètre : 2,7 cm ; hauteur : 31 cm éluant : chloroforme). On obtient 194 mCi (3,4 mmoles) d'éther 10 et 55 mCi d'alcool 9 n'ayant pas réagi.

(CYCLOPROPYLMETHOXY-2 ETHYL <sup>14</sup>C-1)-4 PHENOL : 11

L'éther 10 porté à sec sous vide et repris par 50 ml de méthanol est hydrogéné à 50° C sous 60 bars pendant deux heures en présence de 200 mg de catalyseur (10 % Pd/C). Après filtration, la solution est portée à sec sous vide. Le phénol 11 (3,4 mmoles) est obtenu sous forme d'huile.

[(CYCLOPROPYLMETHOXY-2 ETHYL <sup>14</sup>C-1)-4 PHENOXY]-1 EPOXYPROPANE-2,3 12

Au phénol 11 sont ajoutés 5,1 ml (4,25 mmoles) d'une solution de 1 g de NaOH dans 30 ml d'eau. Après agitation 1/2 heure, 0,4 ml (5,1 mmoles) d'épichlorhydrine redistillée est ajouté et le mélange est agité une nuit. Le produit est extrait par 4 fois 10 ml d'éther puis la phase organique est lavée avec 5 ml d'eau, 5 ml NaOH (0,1N) puis à l'eau (3 x 2,5 ml) jusqu'à pH neutre. Après séchage rapide sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et filtration, la phase étherée (181,2 mCi) est purifiée par chromatographie sur colonne de gel de silice "type H" (Merck) préparée dans CHCl<sub>3</sub> (diamètre extérieur : 2,7 cm ; hauteur : 31 cm ; éluant : chloroforme). On obtient 108,8 mCi de composé 12 (pureté : 90 %) et 62,9 mCi de phénol 11 de départ (pureté : 65 %).

[(CYCLOPROPYLMETHOXY-2 ETHYL <sup>14</sup>C-1)-4 PHENOXY]-1 ISOPROPYLAMINO-3 PROPANOL-2 : 13

Le composé 12 (1,91 mmoles ; 108,8 mCi) est porté à sec sous vide. L'huile obtenue est mise en solution dans 3 ml d'isopropylamine et la solution est chauffée à reflux (45-55° C) 36 heures sur bain d'huile. Après avoir chassé l'excès d'isopropylamine sous vide, 13 est repris par 10 ml de méthanol et obtenu avec une pureté de 85 % dans le méthanol.

CHLORHYDRATE 14 (SL 75.212) DE 13

Le méthanol est chassé sous vide et l'huile résiduelle est reprise par 20 ml d'éther. Le chlorhydrate est extrait par 6 x 5 ml

de HCl (0,1N). La solution aqueuse est ensuite lavée avec 2 fois 10 ml d'éther. La solution aqueuse est concentrée à 2 ml sous vide. Cette solution est chromatographiée sur une colonne de Sephadex G 10 (diamètre extérieur : 2,7 cm ; hauteur : 38 cm ; éluant : eau). On obtient 91,2 mCi de  $^{14}$  (activité spécifique : 57 mCi/m mole ; rendement par rapport à  $Ba^{14}CO_3$  = 26 %).

La pureté radiochimique contrôlée par CCM (voir tableau I) est de 99 % dans trois systèmes de solvants.

Spectre de masse :

$[M]^+$  = 309 ;  $[M-CH_3]^+$  = 294 ;  $[M-CH(CH_3)_2]^+$  = 266

Activité spécifique mesurée sur

pic  $[M]^+$  = 309 : 57 mCi/m mole.

Spectre U.V. (solution aqueuse) :

$\lambda$  max : 273 nm -  $\epsilon$  = 1.360

$\lambda$  min : 243,5 nm

Activité spécifique : mesurée par détermination de la radioactivité par scintillation liquide et quantité en poids par spectre d'absorption U.V. : 56,7 mCi/m mole.

Conservation : Le SL 75.212 a été conservé sec en ampoules scellées sous azote. En 4 ans, il s'est formé 4 impuretés représentant environ 25 % de l'activité.

#### Remerciements

Nous remercions la société SYNTHELABO qui nous a proposé la synthèse décrite ici et pour les dons généreux de réactifs et intermédiaires nécessaires à sa réalisation.

#### BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Ph. Manoury, I. Caverio, H. Najer, P. Giudicelli (Synthelabo SA)  
Ger. Offen 2, 649,605 (1977) Fr. Appl. 75/33,899 (1975)
- 2 - A. Durand, L.G. Dring, R. Gomeni, C. Mas-Chamberlin,  
P.L. Morselli  
Brit. J. Pharmacol. 69, 310 P (1980)
- 3 - P.J. Cadigan, D.R. London, B.L. Pentecost, G. Bianchetti,  
R. Gomeni, J.R. Kilborn, P.L. Morselli  
Brit. J. Clin. Pharmacol. 9, 569 (1980)
- 4 - G. Bianchetti, R. Gomeni, J.R. Kilborn, P.L. Morselli,  
E.A. Taylor, S.J. Warrington  
Brit. J. Clin. Pharmacol. 8, 403 P (1979)



- 5 - Bianchetti, C. Blatrix, R. Gomeni, J.R. Kilborn, J. Larribaud, P.W. Luecker, P.L. Morselli, J.J. Thebault, S. Trocherie  
Brit. J. Clin. Pharmacol. 8, 408 P (1979)
- 6 - K. Balnave, J.D. Neill, C.J. Russel, R. Shanks, W.J. Leahey, R. Wilson, D. Harran  
Brit. J. Clin. Pharmacol. 9, 297 P (1980)
- 7 - G. Bianchetti, J. Ganansia, P.L. Morselli  
J. Chromatography 176, 134 (1979)
- 8 - K.H. Schweer  
Atompraxis 12, 85 (1966)