

Synthèse de l'Amino-2 Pyrimidine ^{14}C -2; de la N^4 -di (chloro-2 n-propyl) Sulfadiazine (Pyrimidine ^{14}C -2) ou CB 1932 ^{14}C

NGUYEN-HOANG-NAM *, Michel HERBERT **,
NGUYEN-DAT-XUONG * et Louis PICHAT **

* Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S.,
91 - Gif s/Yvette;

** Service des Molécules Marquées, C.E.N. - Saclay, B.P. n° 2,
91 - Gif s/Yvette.

Reçu le 21 décembre 1970

SUMMARY

A description is given of the preparation of N^4 -di(2-chloro n-propyl) sulphadiazine (pyrimidine ^{14}C -2), specific activity : 16.6 mCi/mM, for cancer research. As intermediate product 2-amino pyrimidine ^{14}C -2 which has not hitherto been described was obtained.

RÉSUMÉ

Les auteurs décrivent la préparation de la N^4 -di(chloro-2 n-propyl) sulfadiazine (pyrimidine ^{14}C -2), activité spécifique : 16,6 mCi/mM, destinée aux recherches cancérologiques. On obtient comme produit intermédiaire l'amino-2 pyrimidine ^{14}C -2 qui n'a pas encore été décrite.

Un nouveau dérivé de la sulfadiazine, la N^4 -di (chloro-2 n-propyl) sulfadiazine ou CB 1932, possède une activité inhibitrice particulièrement élevée sur la croissance de la tumeur de Yoshida et du carcinome de Walker 256 ⁽¹⁾. Pour approfondir l'étude du métabolisme et de la distribution de ce dérivé sulfamidé anticancéreux, il est nécessaire de le marquer au carbone 14.

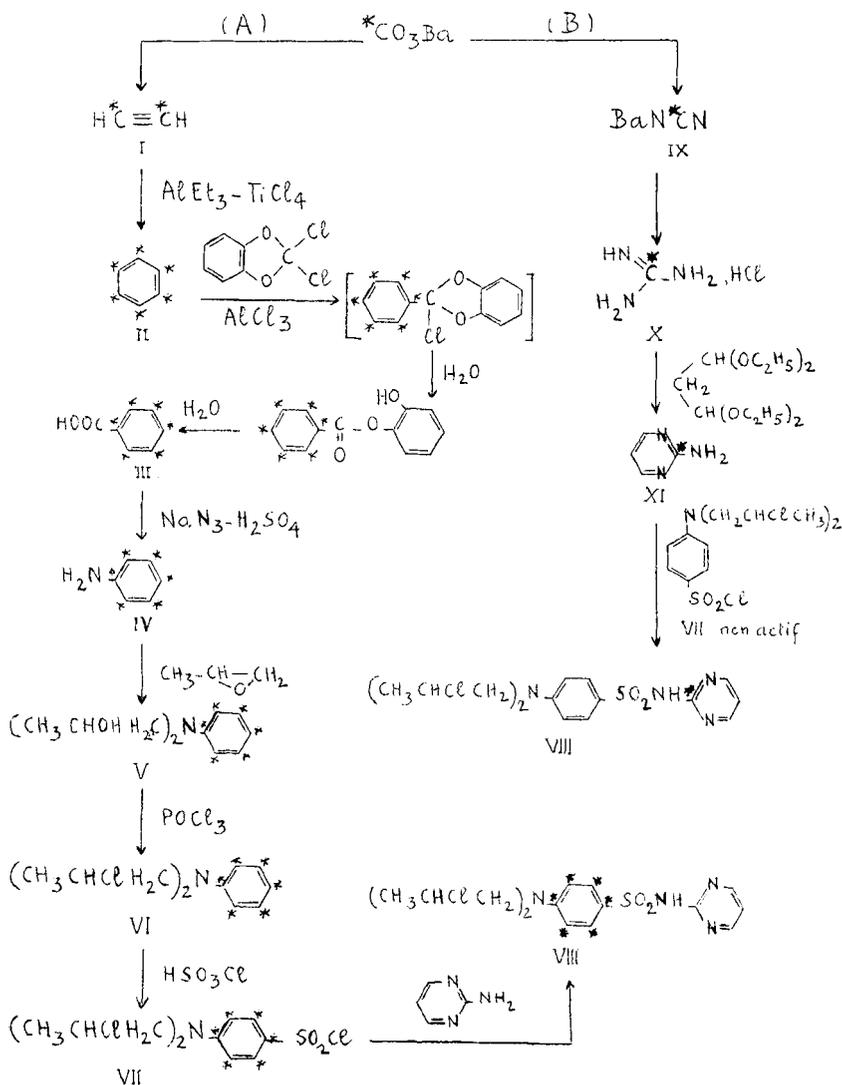
La synthèse de la N^4 -di (chloro-2 n-propyl) sulfadiazine (pyrimidine ^{14}C -2) et la préparation du produit intermédiaire, l'amino-2 pyrimidine ^{14}C -2, font l'objet du présent travail *.

* Synthèse entreprise en collaboration avec M. le Professeur W. C. J. Ross (Chester Beatty Research Institute, Institute of Cancer Research—Royal Cancer Hospital, Londres) dans le cadre de l'Organisation Européenne de Recherche pour le Traitement du Cancer (O.E.R.T.C.) et effectuée au Service des Molécules Marquées, C.E.N., Saclay.

Pour une étude biologique, il est préférable de marquer dans le noyau. Dans notre cas, nous avons le choix entre deux noyaux : le benzène et la pyrimidine.

Le marquage du noyau benzène du CB 1932 nous a paru intéressant car les produits intermédiaires et, en particulier, le sulfochlorure du dérivé « moutarde à l'azote » marqués pourraient nous servir de matières premières pour d'autres synthèses. Ce qui nous a amenés à suivre, en premier lieu, la voie (A) pour la préparation du CB 1932 [benzène ^{14}C (U)] (VIII) (voir tableau I).

TABLEAU I.



La cyclotrimérisation de l'acétylène ^{14}C -2 (I) dans le n-heptane, en présence du catalyseur de Ziegler ($\text{AlEt}_3\text{-TiCl}_4$), à la température ambiante selon Lutz ⁽²⁾ donne du benzène ^{14}C (U) (II). L'adaptation de la méthode de Gross ⁽³⁾ nous a permis d'obtenir aisément l'acide benzoïque [noyau ^{14}C (U)] (III), en condensant le benzène ^{14}C (U) avec la pyrocatechine-dichlorométhylèneéther en présence de AlCl_3 . A partir de l'acide (III) la réaction de Schmidt ⁽⁴⁾ conduit facilement à l'aniline ^{14}C (U) (IV).

Le chlorhydrate d'aniline ^{14}C (U) condensé avec l'oxyde de propylène donne, avec un rendement de 85%, le N,N-di (hydroxy-2 n-propyl) aminobenzène [noyau ^{14}C (U)] (V) lequel, sous l'action de l'oxychlorure de phosphore, fournit le N,N-di (chloro-2 n-propyl) aminobenzène [noyau ^{14}C (U)] (VI) avec un bon rendement (90%). Malgré plusieurs essais « à blanc » et « traceur » de chlorosulfonation du produit (VI) en microquantités (de l'ordre de 100 mg), nous n'avons pas pu obtenir le sulfochlorure marqué (VII) avec une pureté radiochimique et un rendement acceptables. La voie (A) pour préparer le CB 1932 [benzène ^{14}C (U)] (VIII) a été abandonnée.

Nous avons alors essayé de synthétiser le CB 1932 marqué dans le noyau pyrimidine par la voie (B) (voir Tableau I).

A notre connaissance, l'amino-2 pyrimidine marquée au ^{14}C n'a pas encore été décrite. Intermédiaire de synthèse de la sulfadiazine, ce produit a fait l'objet de nombreux brevets basés sur la condensation de la guanidine avec l'aldéhyde ou l'alcool propargylique; les rendements sont médiocres, comme l'ont confirmé nos essais « à blanc ».

Récemment, l'amino-2 pyrimidine a été préparée par Kobayashi ⁽⁵⁾ en faisant réagir le tétraéthoxy-1,1,3,3 propane sur la guanidine. Nous avons suivi cette technique qui nous a donné un excellent rendement (86%) en amino-2 pyrimidine ^{14}C -2 (XI). La condensation de l'amine (XI) avec le chlorure de sulfonyle non actif (VII) conduit finalement à la N⁴-di (chloro-2 n-propyl) sulfadiazine (pyrimidine ^{14}C -2) (VIII). Elle est purifiée par chromatographie sur colonne de silicagel d'adsorption.

La pureté chimique de (VIII) marqué dans le noyau pyrimidine, activité spécifique : 16,6 mCi/mM, est contrôlée par spectrophotométrie ultraviolette et sa pureté radiochimique, par radiochromatographie en couche mince.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Amino-2 pyrimidine ^{14}C -2 (XI).

Le chlorhydrate de guanidine ^{14}C (X) qui sert à la préparation de l'amino-2 pyrimidine ^{14}C -2 (XI) est obtenu par chauffage à 165 °C d'un mélange de cyanamide de baryum ^{14}C (IX) et de nitrate d'ammonium selon ⁽⁶⁾.

Dans un ballon de 25 ml contenant 37 mg (0,38 mMole) de (X) d'activité totale : 6,43 mCi (activité spécifique : 16,6 mCi/mM) on ajoute, goutte à goutte, sous agitation magnétique, successivement 2 ml d'une solution d'acide sulfu-

rique 50 % préalablement refroidie à 0° C et 0,12 ml (0,50 mMole) de tétraéthoxy-1,1,3,3 propane (Schuchardt). Le ballon est bouché et le mélange jaune citron agité à la température ambiante pendant 24 heures. On ajoute goutte à goutte 10 ml d'eau glacée, puis 10 ml d'éther. On agite magnétiquement pendant 10 mn et prélève la couche étherée. On répète 4 fois de suite la même extraction pour éliminer l'excès de tétraéthoxypropane. On alcalinise la solution aqueuse avec environ 6 ml d'une solution de soude 20% et le produit (XI) est extrait en continu par le chloroforme pendant 24 heures. Après évaporation du solvant on recueille 6,2 mCi de (XI) qui est mis en évidence par radiochromatographie sur papier et en couche mince (voir Tableau II). L'amine (XI) qui contient environ 5% d'impuretés radioactives est purifiée par sublimation sous vide poussé à 90° C. On obtient 5,5 mCi (0,33 mMole) d' amino-2 pyrimidine ¹⁴C-2 (XI) pure (rendement : 86%).

TABLEAU II. Chromatographie des produits de la synthèse de (VIII)

Solvant de développement	Rf approximatif		
	I — Chromatographie descendante sur papier (Whatman n° 4) Révélateur : réactif de Sakaguchi		
	(X)	(XI)	
AcOEt : AcOH : H ₂ O (60 : 20 : 20)	0,56	0,81	
n-BuOH : AcOH : H ₂ O (50 : 25 : 25)	0,60	0,80	
	II — Chromatographie en couche mince (Plaque Silicagel F254 Merck) Révélateur : UV		
		(XI)	(VIII)
C ₆ H ₆ : AcOEt (60 : 40)		0,10	0,30
C ₆ H ₆ : Acétone : AcOH (60 : 39 : 1)		0,28	0,58
EtOH : NH ₄ OH (90 : 10)		0,75	0,62

N⁴-di (chloro-2 n-propyl) sulfadiazine (pyrimidine ¹⁴C-2) (VIII).

A une solution de (XI) (0,33 mMole, 5,5 mCi) dans 0,5 ml de pyridine anhydre, dans un ballon forme poire de 10 ml, on ajoute goutte à goutte une solution de 137 mg (0,4 mMole) de sulfochlorure non actif (VII) (fraîchement recristallisé dans benzène-éther de pétrole, F = 89-90°) dans 1 ml de pyridine anhydre. Le mélange est laissé à la température ambiante pendant une nuit. On évapore la pyridine sous vide et recueille 4,9 mCi d'un produit solide. Une radiochromatographie en couche mince (voir Tableau II) décele la présence d'environ 15% d'amine (XI) résiduelle dans le produit (VIII).

Purification de (VIII).

Le produit (VIII) est purifié par chromatographie sur colonne (\varnothing ext = 24 mm, h = 55 cm) contenant environ 60 g de gel de silice d'adsorption Woelm. On place le produit, en suspension dans 3 g de gel de silice et 10 ml de benzène, sur la colonne équilibrée avec du benzène. L'élution à gradient est obtenue à l'aide de 2 flacons superposés A (inférieur) et B (supérieur). On remplit A avec 400 ml de benzène agité magnétiquement, puis B successivement avec :

400 ml Benzène-Acétone 70 : 30

400 ml Benzène-Acétone 60 : 40

400 ml Benzène-Acétone 50 : 50.

On détecte simultanément la radioactivité de l'éluat et les produits absorbant dans l'U.V. On collecte des fractions de 10 ml environ.

Les fractions 47-81 correspondent à (VIII) radiochimiquement pur : 3,5 mCi, 63% de rendement radioactif. Les fractions 168-192 contiennent 0,56 mCi d' amino-2 pyrimidine ¹⁴C-2 (XI).

Contrôle de la pureté chimique et radiochimique de (VIII).

La pureté chimique, contrôlée par spectrophotométrie U.V. dans le méthanol à 280 m μ , est supérieure à 99%.

La pureté radiochimique est contrôlée par radiochromatographie en couche mince dans 3 systèmes de solvants (voir Tableau II). On ne détecte aucune impureté radiochimique.

REMERCIEMENTS

Nous remercions Monsieur le Professeur W. C. J. Ross (Chester Beatty Research Institute, Institute of Cancer Research — Royal Cancer Hospital Londres) pour le grand intérêt qu'il a porté à ce travail et pour l'aide précieuse qu'il nous a apportée en nous communiquant les renseignements techniques concernant la préparation du CB 1932 non radioactif.

REFERENCES

1. CALVERT, N., CONNORS, T. A. et ROSS, W. C. J. — *Europ. J. Cancer*, **4** : 627 (1968).
2. LUTZ, E. F. — *J. Am. Chem. Soc.*, **83** : 2551 (1961).
3. GROSS, H., RUSCHE, J. et MIRSCH, M. — *Chem. Ber.*, **96** : 1382 (1963).
4. RIEKER, A., SCHEFFLER, K. et MÜLLER, E. — *Liebigs Ann. Chem.*, **670** : 23 (1963).
5. KOBAYASHI, E. — *Yakugaku Zasshi*, **82** : 445 (1962); *Chem. Abstr.*, **58** : 4552b (1963).
6. BENNETT, L. L. Jr. — *J. Am. Chem. Soc.*, **74** : 2432 (1952).