

Synthèse de l'OXETORONE (^{14}C -6) : (diméthylamino-3 propylidène-1)-6 benzofuro [2,3-e] 12H-benzo [b] oxépine (^{14}C -6)*. Séparation chromatographique des isomères (E) et (Z).

J.P. NOEL, L. PICHAT * *. Service des Molécules Marquées
CEN-SACLAY 91191 GIF SUR YVETTE CEDEX FRANCE.
Cl. GRAIN, M. BOUISSET. SANOFI - RECHERCHES- FRANCE.

A. BENAKIS, Laboratoire du Métabolisme du Médicament.
Faculté de Médecine - GENEVE - SUISSE.

SUMMARY

Synthesis and chromatographic separation of (E) and (Z) isomers of [6- ^{14}C] oxetorone : [6- ^{14}C] 6-(3-Dimethylaminopropylidene)[2,3-e]benzofuro-12H-benzo [b] oxepin, hydrogen fumarate. A new synthesis of [6- ^{14}C] oxetorone was devised allowing the three step preparation from $^{14}\text{CO}_2$ of this drug used in the treatment of migraine. 2-bromo-3-phenoxyethyl benzo [b] furan : 10 was prepared from 3-methyl [b] furan 7. In diethyl ether 10 gave with n-butyllithium the corresponding : 2-lithio 3-phenoxyethyl benzo [b] furan the carbonation of which with $^{14}\text{CO}_2$ gave [2-carboxy ^{14}C] 3-phenoxyethyl benzo [b] furan in a 70% yield based on $^{14}\text{CO}_2$. The carboxylic acid 5 was transformed into the corresponding acyl halide which was ring closed into [6- ^{14}C] oxepinone 6. Condensation of the latter with 3-dimethylaminopropyl magnesium chloride followed by dehydration under hydrochloric acid treatment and isolation as fumarate gave [6- ^{14}C] oxetorone with an overall yield of 24% based on $^{14}\text{CO}_2$. The (E) and (Z) isomers of oxetorone were separated by reverse phase HPLC.*

* Dénominations du Chemical Abstract : Benzofuro [3,2-c] [1] benzoxepin- Δ^6 -propylamine, N,N-diméthyl ou : 1-propanamine 3-benzofuro [3,2-c] [1] -benzoxepin-6 (12H)-ylidene N,N-diméthyl.

** Address any correspondence to this author.

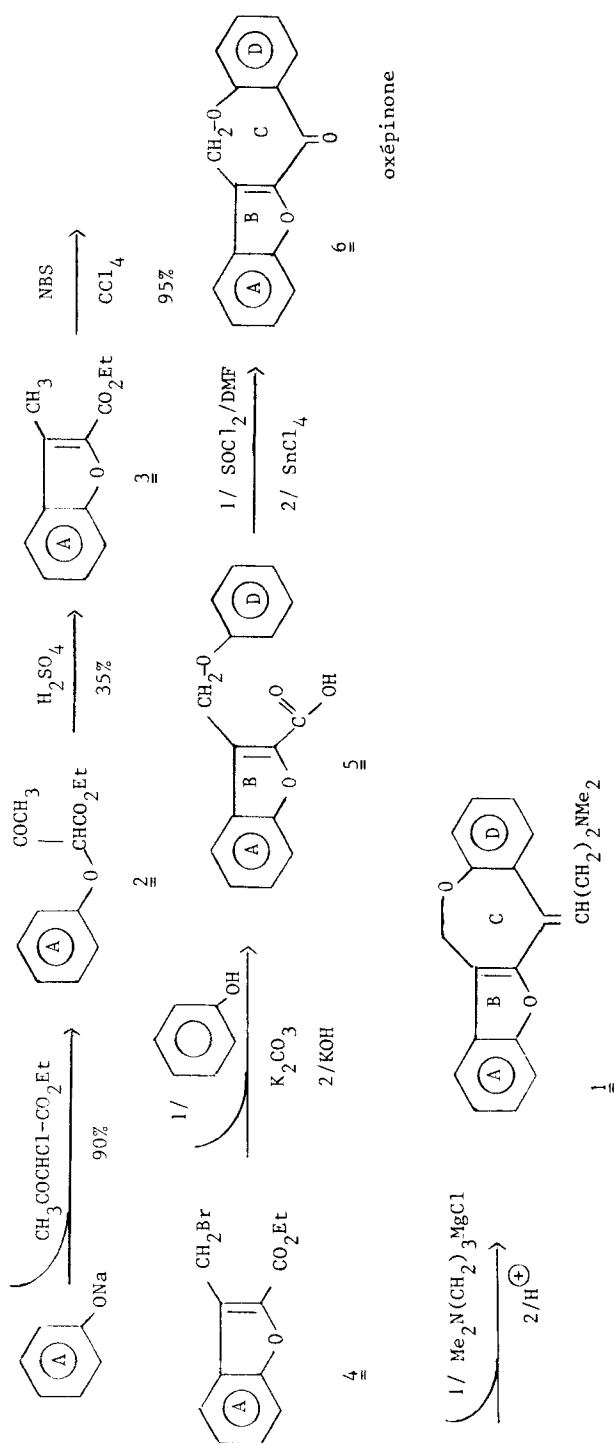
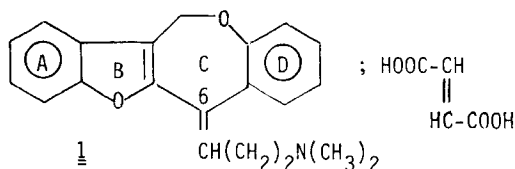


Figure 1

L'OXETORONE : Fumarate acide de (Diméthylamino-3 propylidène)-6 benzofuro [2,3-e] -12H-benzo [b] oxépine 1 est un antagoniste de la sérotonine, de l'histamine et des catécholamines (1,2,3,4). De plus l'oxétorone présente des propriétés antiéméti-



ques, antianaphylactiques, et analgésiques. Elle dilate les vaisseaux cérébraux mais c'est un agent faiblement neuroleptique. L'ensemble de ces propriétés a suggéré l'emploi de l'oxétorone dans le traitement de la migraine (5). Le métabolisme de l'oxétorone a fait l'objet d'études in vitro (6). L'oxétorone est un mélange de deux isomères (E) et (Z).

Pour faciliter l'étude du métabolisme et de la pharmacocinétique in vivo de l'oxétorone 1 nous avons entrepris dès 1980 la synthèse de ce médicament marqué au carbone 14. Des considérations sur les processus métaboliques nous ont conduits à envisager un marquage sur l'un des cycles A, B, C, D à l'exclusion du marquage de la chaîne latérale.

La préparation industrielle (1,2,3) de l'oxétorone est schématisée dans la figure 1. On fait réagir le chlorure de diméthylamino-3-propyl magnésium sur l'oxo-6 benzofuro-[2,3-e]-12-H benzo [b] oxépine 6 ("oxépinone") ce qui donne un alcool tertiaire qui est ensuite deshydraté en oxétorone : mélange des isomères (E) et (Z), par chauffage en milieu acide. "L'oxépinone" est préparée à partir de phénol et d'acétochloroacétate d'éthyle au travers des intermédiaires 2, 3, 4, 5. L'adaptation de ce schéma à la préparation d'oxétorone marquée uniformément au ^{14}C dans le cycle A, à partir de phénol (^{14}C -U) aurait exigé 12 étapes avec des composés radioactifs à partir de $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$. Le marquage de la position 3 du noyau B, par l'intermédiaire de l'acétoacétate (^{14}C -3) d'éthyle aurait conduit à une synthèse totale en 10 étapes à partir de $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$. Le marquage de la position 6 du noyau C, par l'intermédiaire de l'acétoacétate (^{14}C -1) d'éthyle n'aurait pas été plus économique, exigeant également 10 étapes au départ de $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$. Le marquage, par ce schéma, du noyau D, utilisant le phénol (^{14}C -U) aurait représenté une synthèse totale en 8 étapes à partir de $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$.

Il nous est donc apparu nécessaire d'imaginer une voie de synthèse nouvelle, avec une utilisation rationnelle de $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ et marquant la position 6 du noyau C. La synthèse mise au point schématisée figure 2, ne comporte que trois étapes radioactives à partir de $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$.

La bromation du méthyl-3 benzo [b] furanne 7 dans le tétrachlorure de carbone donne le bromo-2 méthyl-3 benzo [b] furanne 8 avec un rendement de 38% après purification par chromatographie sur colonne de silice. La bromation radicalaire (7) de 8 fournit le bromo-2 bromométhyl-3 benzo [b] furanne 9 avec un rendement de 83,5%. 9 a été également obtenu sans isolement de 8 avec un rendement global de 61% en produit pur, à partir de 7. Le dérivé dibromé 9 traité par le phénol en présence de K_2CO_3 dans l'acétone conduit au bromo-2 phénoxyéthyl-3 benzo [b] furanne 10 avec un rendement de 60%.

L'échange brome/lithium dans 10 par traitement à -20°C avec le n-Butyllithium dans l'éther donne un dérivé lithié dont la carbonatation à -30°C par $^{14}\text{CO}_2$ donne l'acide phénoxyéthyl-3 benzo [b] furanne carboxylique-2 (carboxyl- ^{14}C) 5 avec un rendement de 70% par rapport à $^{14}\text{CO}_2$. 10 donne également un organomagnésien dans le T.H.F. dont la carbonatation fournit également l'acide 5 mais avec un rendement inférieur à celui obtenu avec le dérivé lithié. L'acide 5 est chloré par le pentachlorure de phosphore dans le dichloroéthane en présence de DMF et PCl_3 . Le chlorure d'acide intermédiairement formé n'est pas isolé. Il est cyclisé par le tétrachlorure d'étain en présence de chlorhydrate d'hydroxylamine. L'oxépinone (^{14}C -6) 6 est alors obtenue avec un rendement de 77% et une pureté radiochimique de 85%. La condensation du chlorure de diméthylamino-3 propylmagnésium sur la cétone 6 donne alors l'alcool tertiaire attendu qui n'est pas purifié et dont la deshydratation en milieu acide (méthanol-acide chlorhydrique) donne l'oxétorone (^{14}C -6) mélange d'isomères (E) et (Z) en proportions identiques 42%-58% à celles obtenues lors de synthèses non radioactives sur des unités opératoires plus importantes.


Les isomères (E) et (Z) sont séparés par CLHP en phase inverse (voir partie expérimentale).

Le rendement global par rapport à $^{14}\text{CO}_2$ a été de 24%. L'oxétorone (^{14}C -6) (activité spécifique : 49,2 mCi/mMole) après six mois de stockage à -20°C sous vide et sous forme lyophilisée, a dû être repurifiée pour éliminer des produits de radiolyse non identifiés.

PARTIE EXPERIMENTALEAbréviations :

- C.C.M. : chromatographie couche mince
- C.L.H.P. : chromatographie liquide à haute performance
- C.L.P.H.P. : chromatographie liquide préparative à haute performance.

Méthyl-3 benzofuranne 7


176,2g (1mole) d'acide méthyl-3 coumarylique sont chauffés progressivement jusqu'à 190°C puis on distille à la colonne Vigreux et recueille la fraction distillant à 195-200°C à la pression atmosphérique. Par redistillation sous pression réduite on recueille le produit $E_{13} = 81 + 1^\circ\text{C}$ (181g) soit un rendement de 76%, $n_D^{19} = 1,5548$ I.R. 3085 cm^{-1} (F) (C-H aromatiques), 1590 cm^{-1} (C-C aromatiques)  750 cm^{-1} (F)

H-RMN-(CDCl_3) δ : 2,2 p.p.m. (CH_3) δ : 7 à 8 p.p.m. (CH + aromatiques).

Bromo-2 méthyl-3 benzofuranne 8 (9)

A une solution de 132,2g (1 mole) de méthyl-3 benzofuranne dans 330 ml de CCl_4 on ajoute sous agitation à la température ambiante (25°C) en 1 heure une solution de 160g de brome dans 90 ml de CCl_4 . Après la fin de l'addition, on dégaze le milieu par insufflation d'azote pendant 2 heures à l'ambiante puis 1 heure à 50°C. Après refroidissement, lavage à l'eau, séchage de la couche organique sur Na_2SO_4 , le CCl_4 est éliminé au Rotavapor sous pression réduite. Par distillation sous pression réduite on recueille 160g de 8 dont l'analyse par CCM sur plaque de silice F_{254} Merck ; solvant : cyclohexane montre la présence de 7 non bromé $R_F = 0,40$, le produit attendu de $R_F = 0,58$ et deux impuretés mineures à $R_F=0,20$ et $R_F=0,65$.

Par chromatographie sur colonne de gel de silice G60 (5Kgs) et élution par le cyclohexane on recueille 81g de 8 chromatographiquement pur.

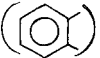
Huile légèrement jaune ; $n_D^{19} = 1,5911$
I.R. (film) $3070\text{ cm}^{-1}(\text{m})$ (CH aromatiques) ; $1600-1590\text{ cm}^{-1}$ (F) (C-C aromatiques) ; 750 cm^{-1} (F) 

R.M.N. (CDCl_3) $\delta = 2,1\text{ p.p.m.}$ (CH_3) ; $\delta = 7\text{ à }7,5\text{ p.p.m.}$ (m). (CH + aromatiques).

Bromo-2 bromométhyl-3 benzofuranne 9

On porte à reflux une solution de 211g (1 mole) de bromo-2 méthyl-3 benzofuranne 8 dans 675 ml de CHCl_3 contenant 0,1g de azobisisobutyronitrile. Sous agitation et léger courant d'azote on ajoute en 3 heures une solution de 168g de brome dans 255 ml de CHCl_3 . Après la fin de l'introduction on poursuit le reflux pendant 1 heure. On contrôle par C.C.M. l'avancement de la réaction sur plaque de silice F254 Merck ; solvant : cyclohexane- $R_F = 0,50$

Après concentration au Rotavapor, l'huile brute résiduelle est reprise par 295 ml d'éther diisopropylique. La solution est mise à cristalliser à $-15-20^\circ\text{C}$. Par essorage on obtient 253g (83,5%) de 9. P.F. = 65°C en accord avec la littérature (8).

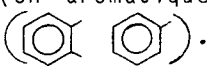
I.R. : $3080-3040\text{ cm}^{-1}$ (f) (CH aromatiques) ; $1610-1580\text{ cm}^{-1}$ (m) ($\text{C}=\text{C}$, $\text{C}-\text{C}$ aromatiques) ; 760 cm^{-1} (m) 

R.M.N. (CDCl_3) δ : 4,4 p.p.m. (CH_2) ; δ : 7 à 7,5 p.p.m. (H aromatiques).

Bromo-2 phénoxyéthyl-3 benzofuranne 10

On dissout 290g (1 mole) de bromo-2 bromométhyl-3 benzofuranne 9 dans 1 litre d'acétone anhydre (tamis moléculaire 3\AA). Sous agitation on ajoute successivement 172,8g de carbonate de potassium et 98,8g de phénol et 0,5 litre d'acétone anhydre. On chauffe le mélange au reflux pendant 5 heures. Sous agitation on laisse revenir à la température ambiante en 15 heures. On filtre le précipité qui est lavé à l'éther (0,5l). Le filtrat (acétone + éther) est évaporé au Rotavapor. Le résidu est repris par 2 litres d'éther. La solution étherée est lavée successivement par l'eau, la soude à 5% et l'eau. Après séchage sur Na_2SO_4 , évaporation de l'éther au Rotavapor on distille sous pression réduite et recueille la fraction $E_{0,5} = 152-153^\circ\text{C}$ (199g ; 60,2 %) qui est pure en CCM: plaque silice F254 Merck - solvant cyclohexane ou n-hexane - $R_F = 0,25$.

P.F. 36°C (capillaire).

I.R. $3070-3050\text{ cm}^{-1}$ (CH aromatiques) ; 1600 cm^{-1} ($\text{C}=\text{C}$, $\text{C}-\text{C}$ aromatiques) ; $750-740\text{ cm}^{-1}$ .

Analyse élémentaire : $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_2$ Br C% calc. 59,43, tr. : 59,78 ; H% calc. 3,66 ; tr. : 3,72 ; Br% calc. 26,36 ; tr. : 26,54-26,74.

Acide phénoxyméthyl-3 benzo [b] furanne carboxylique-2 (carboxyl

¹⁴C) 5

A 11,2 mmoles de bromo-2 phénoxyméthyl-3 benzo [b] furanne 10 en solution dans 30 ml d'éther anhydre refroidis à -20°C dans un ballon raccordé à une rampe à vide, on ajoute à la seringue en 15mn sous atmosphère d'azote 5,75 ml d'une solution 1,55 M le n-butyllithium dans l'hexane - soit 8,9 mmoles. La température est maintenue 2 heures à -20°C.

Dans la solution précédente refroidie à la température de l'azote liquide on transfère sous vide le ¹⁴CO₂ obtenu par acidification avec H₂SO₄ de 400 mCi de carbonate de baryum-activité spécifique : 50 mCi/Mmole. Le ¹⁴CO₂ est séché sur P₂O₅ avant son transfert. La solution est maintenue 2 heures sous agitation à -30°C puis 15 heures à la température ambiante.

Après refroidissement dans un bain de glace la solution est hydrolysée, puis acidifiée avec 20 ml de H₂SO₄N. L'acide est extrait en continu par de l'éther. L'acide est porté à sec puis repris à la soude N et lavé trois fois à l'éther. La solution aqueuse est à nouveau acidifiée puis l'acide extrait à l'éther. La solution éthérée est séchée sur sulfate de magnésium anhydre.

On recueille 280 mCi d'acide soit un rendement de carbonatation de 70%.

La pureté radiochimique du produit brut est de 98%.

C.C.M. Silice Merck F254 - Solvant : benzène : 40, heptane : 20
acétate d'éthyle : 40, acide acétique : 5, R_F = 0,55.

Oxo-6 benzofuro-[2,3-e] 12H benzo [b] oxépine (¹⁴C-6) 6

A l'acide précédent en solution dans 21 ml de dichloroéthane on ajoute 11 mg de DMF, 105 mg de PCl₃ distillé et 1169 mg de PCl₅. On porte à reflux pendant 2h30 mm.

Le chlorure d'acide n'est pas isolé mais contrôlé intermédiairement.

C.C.M. Silice Merck F254 - Solvant : chloroforme : 40, heptane : 20, acétate d'éthyle : 40, acide acétique : 5, R_F acide = 0,45, R_F = chlorure d'acide 0.90.

La solution précédente étant maintenue à 40°C on ajoute 80mg de chlorhydrate d'hydroxylamine et 2 ml de SnCl₄.

On chauffe 5 heures à 40°C puis après retour à la température ambiante on hydrolyse lentement avec une solution de HCl 4N. La couche organique est recueillie et lavée une fois avec HCl 4N, à l'eau puis à la soude N et à nouveau à l'eau. Le produit est porté à sec.

On obtient 215 mCi de produit (rendement : 77%) que l'on contrôle, dans le même système de solvant que le chlorure d'acide. Pureté : 85% - $R_F = 0,85$.

Oxétorone (^{14}C -6) 1

A 192 mg (8 mmoles) de magnésium dans 1 ml de benzène anhydre et 0,5 ml de THF on ajoute une goutte de dibromoéthane et on porte à reflux. On verse en 15 mn, 5 ml d'une solution 1,2N de chloro-1 diméthylamino-2 propane dans le benzène. On maintient le reflux 1 heure. On refroidit à 50°C et on verse en 15 mn 6 en solution dans 15 ml de benzène anhydre. On chauffe 3 heures à 55°C. Après refroidissement on hydrolyse avec une solution aqueuse d'acide acétique et de chlorure d'ammonium (10 ml d'eau, 0,6 ml d'acide acétique et 500 mg de chlorure d'ammonium). On extrait à l'éther et porte à sec.

On recueille 158 mCi de produit (rendement radioactif : 73%).

C.C.M. Silice Merck F254 - Solvant : Chloroforme : 90, méthanol : 10, $R_F = 0,60$. La pureté radiochimique est de 95%.

Au produit précédent on ajoute 5 ml de méthanol et 1 ml de HCl concentré. On chauffe à reflux pendant 1 heure ; on reprend à l'eau et porte à sec trois fois. Le résidu est repris à l'eau, neutralisé à l'ammoniaque et extrait au toluène. On recueille 126 mCi.

C.C.M. Silice Merck F254 - Solvant chloroforme : 80, méthanol 20; $R_F = 0,65$. La pureté radiochimique est de 80%.

Purification : Le produit est chromatographié sur une colonne (15 x 2 cm) de silice H60 Merck ; solvant : chloroforme : 80 méthanol : 20. On obtient 95 mCi d'oxétorone base d'une pureté radiochimique de 98% soit un rendement de 60%.

Fumarate d'oxétorone (^{14}C -6)

A l'oxétorone base en solution dans 5 ml de toluène on ajoute 243 mg d'acide fumarique (2,1 mmoles). On agite pendant 30mn puis on porte 15 mn au reflux. Après une nuit à -20°C on filtre et reprend le précipité par un mélange chloroforme-méthanol (50-50).

Les isomères (E) et (Z) sont partiellement séparés par C.C. M. sur silice Merck F254 avec comme solvant chloroforme : 80, méthanol : 20 et complètement séparés par CLHP (chromatogramme N°1) Colonne : ZORBAX SIL (250 x 4 mm), solvant : chloroforme : 95, méthanol : 5, T.E.A. : 1%, température de la colonne : 35°C , débit 1,5 ml/mn, détection U.V. à 254 nm $k'E = 0,85$ $k'Z = 1,25$.

Le pourcentage d'isomères obtenu dans la synthèse radioactive est de 42% de (E) et 58% de (Z). Il est identique à celui obtenu lors de synthèses non radioactives de ce produit sur des unités opératoires plus importantes (1 mole).

Le produit est cristallisé dans l'éthanol. On obtient 2 fractions présentant des pourcentages isomériques différents :
1ère fraction : 26 mCi (E : 5% Z : 95%)
2ème fraction : 6,2 mCi (E : 42% Z : 58%).

La seconde fraction correspond au pourcentage d'isomères désiré.

Les eaux-mères sont chromatographiées sur silice Merck H60 solvant chloroforme : 80, méthanol : 20, sur un appareil "Miniprep" JOBIN-YVON.

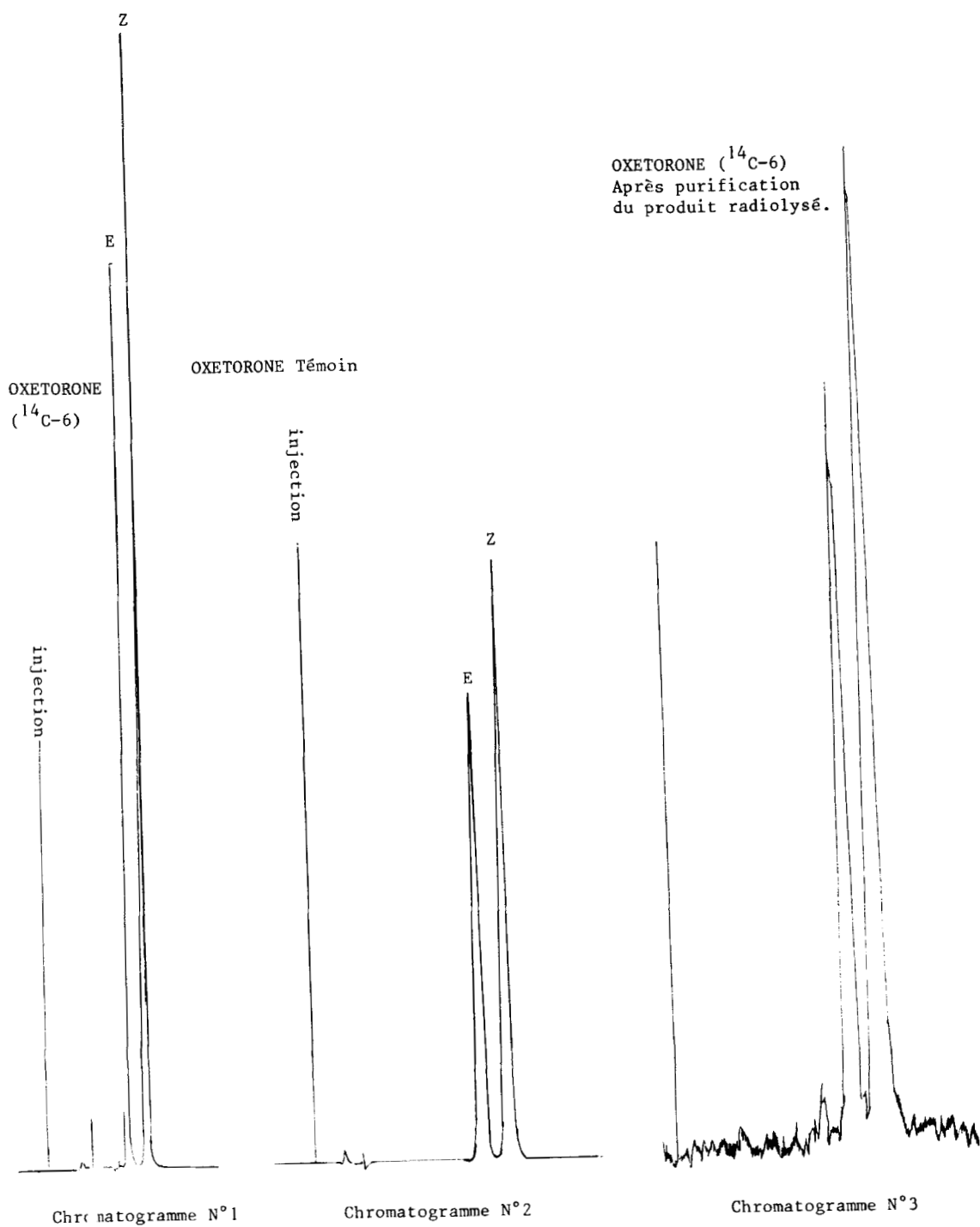
La séparation isomérique n'est pas complète et on recueille plusieurs fractions dont une fraction de 19 mCi correspondant au pourcentage (E) : 42%, (Z) : 58%.

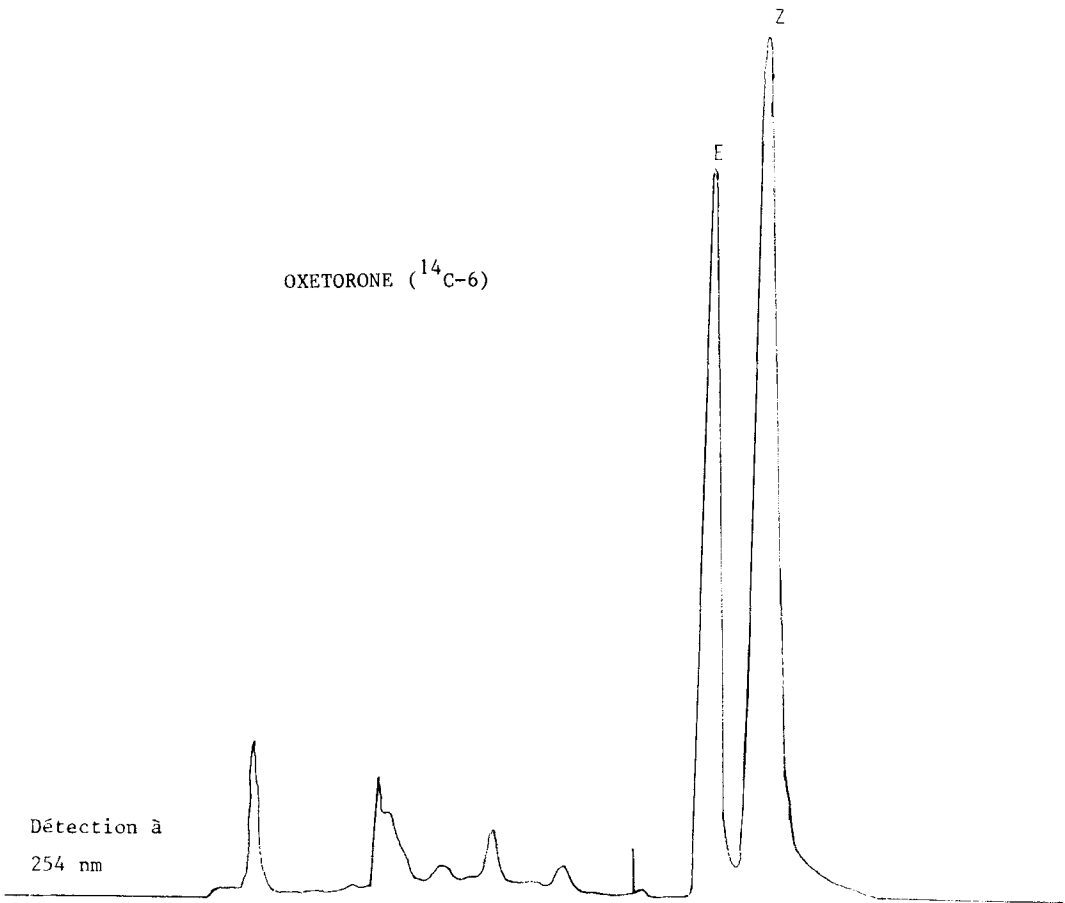
Spectre U.V.

Le spectre U.V. effectué dans le méthanol est conforme à celui du témoin froid. Il présente deux maxima d'absorption.

$$\lambda_{1\text{max}} 363 \text{ nm} \quad \lambda_{2\text{max}} 245 \text{ nm} (\epsilon_2 = 21342).$$

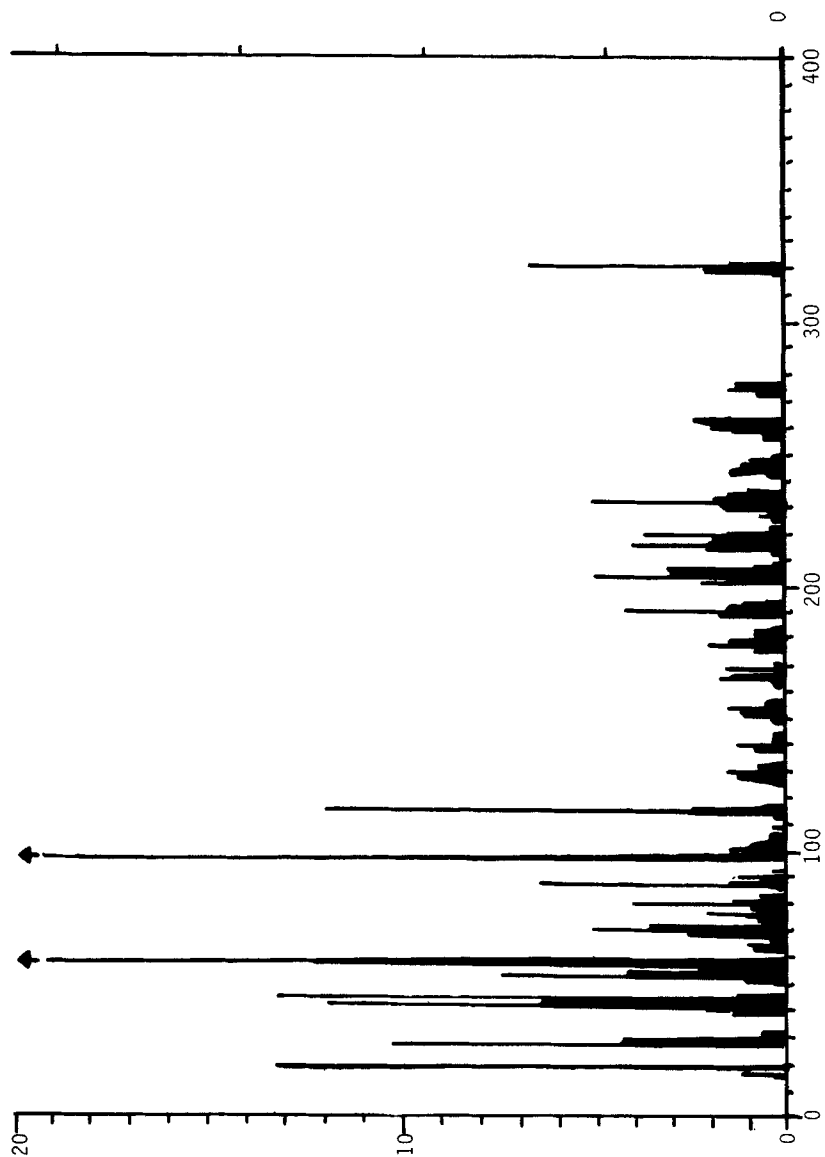
L'activité spécifique déduite de ces spectres et de comptages par scintillation liquide est de 49,2 mCi/mMole.



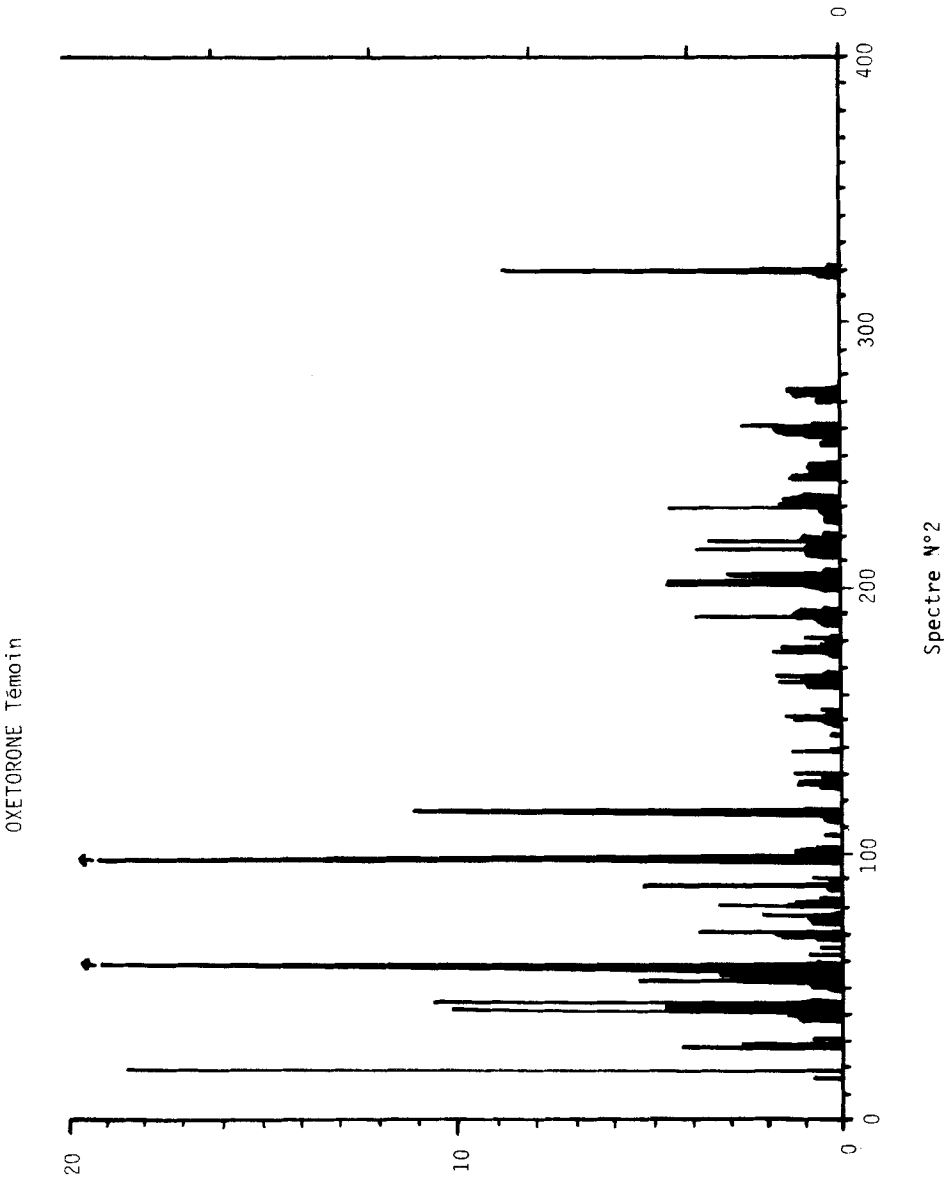


chromatogramme N°4

OXETORONE ($^{14}\text{C}-6$)



Spectre N°1



Spectre de masse :

Le spectre de masse de l'Oxétorone ^{14}C -6 (spectre N°1) effectué sur un appareil VARIAN CH7 à une tension de ionisation de 70 eV. est conforme à celui du témoin froid (spectre N°2). Les pics moléculaires sont présents : m/e 319-321.

Purification de l'oxétorone ^{14}C -6 après radiolyse et séparation des isomères (E) et (Z) par CLPHP.

Après 6 mois de conservation sous forme lyophilisée à -20°C sous vide, le produit est partiellement radiolysé et présente une pureté radiochimique de 95%.

Contrôle analytique : colonne ZORBAX C.8 solvant méthanol : 85, eau : 15, T.E.A. 2% température de la colonne : 35°C , détection U.V. : 254 nm, débit : 1,5ml/mn $k'_{(E)} = 4,5$ $k'_{(Z)} = 5,5$ (chromatogramme N°2).

Le produit est purifié et les isomères séparés sur une colonne préparative ZORBAX C.8 (21,4 x 250 mm), dans les mêmes conditions (débit 20 ml/mn). (chromatogramme N°4).

Les isomères sont après séparation mélangés dans le pourcentage voulu. (chromatogramme N°3).

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - F. Binon, M. Deschamps - Laboratoires LABAZ - FR. Demande 2,026.686 - Brit. Appl. 1968 - Chem. Abst. 75 (.) 5874 W.
- 2 - F. Binon, M. Deschamps - Laboratoires LABAZ - Ger. Offen. 1,963.205 Brit. Appl. 1968 - Chem. Abst. 73 (.) 77.221n.
- 3 - M. Deschamps, E. Van Durme, G. Rosseels, F. Binon - A. Christiaens, M. Van Damme, F. Chaillet, R. Charlier. Chimie Thérapeutique 5 (1970) 16.
- 4 - G. Aussems, J. Bauthier, F. Chaillet, M. Colot, M. Van Damme, R. Charlier Thérapie 26 (1971) 1135.
- 5 - A. Elithorn, Brit. Med. J. 4 (1969) 411.
- 6 - E. Rossi, A. de Pascale, P. Negrini, M. Zanol, A. Frigerio. J. Chromato. 152 (1978) 228.

- 7 - Cugnon de Sévricourt, M. Robba. *Bull. Soc. Chim. France* (1977) 139.
- 8 - H. Erlenmeyer, W. Grubenmann. *Helv. Chim. Acta.* 30 (1947) 297.
- 9 - W. Grubenmann, H. Erlenmeyer, - *Helv. Chim. Acta.* 31 (1948) 78.