

Synthèse de l'Acide *p*-chloromercuribenzoïque (Carboxyle ^{14}C)

M. HERBERT, L. PICHAT, M^{lle} C. FABIGNON

Service des Molécules Marquées

C.E.N. Saclay, B. P. N°2 (91) GIF-s/-Yvette

Reçu le 1^{er} avril 1968.

SUMMARY

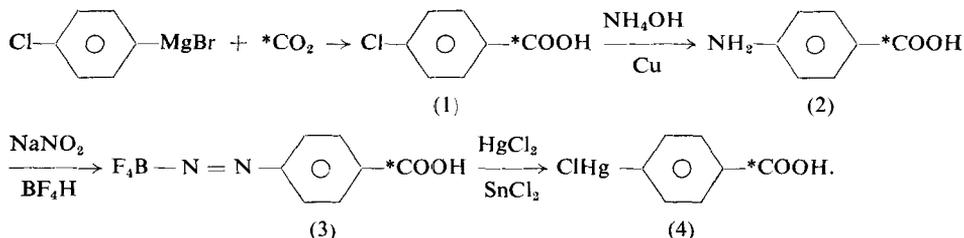
Carbonation of p-bromophenylmagnesium chloride with $^{14}\text{CO}_2$ leads to p-chlorobenzoic acid carboxyl ^{14}C (1) with a 97 % yield. The latter, treated in a sealed tube by concentrated ammonia in presence of sodium iodide and cuprous chloride at 140° C provides p-aminobenzoic acid carboxyl ^{14}C (2) with a 67 % yield. The synthesis proceeds by diazotation in fluoboric acid in order to obtain p-carboxy- ^{14}C benzenediazonium fluoborate (3). This salt, treated in acetone, water solution, by a mixture of mercuric chloride and stannous chloride leads to the final compound (4). It is purified by extraction in D. M. F. and precipitation by water addition. Overall yield is 51 % based on (2) or 30-35 % based on $\text{Ba } ^{14}\text{CO}_3$. Specific activity : 10 mCi/mM. The radiochemical purity has been checked by paper radiochromatography.

RÉSUMÉ

La carbonatation par $^{14}\text{CO}_2$ du chlorure de p-bromophénylmagnésium donne l'acide p-chlorobenzoïque (carboxyle ^{14}C) (1) avec un rendement de 97 %. Ce dernier est ensuite traité en tube scellé par l'ammoniaque en présence d'iodure de sodium et de chlorure cuivreux à 140 °C, ce qui fournit l'acide p-aminobenzoïque (carboxyle ^{14}C) (2) avec un rendement de 67 %. La synthèse se poursuit par la diazotation dans l'acide fluoborique pour obtenir le fluoborate de p-carboxy- ^{14}C benzènediazonium (3); ce sel, traité en solution dans l'acétone aqueuse, par le mélange chlorure mercurique, chlorure stanneux conduit au produit final (4) qui est purifié par extraction dans le D. M. F. et précipitation par l'eau. Le rendement global est de 51 %; par rapport à (2), soit 30-35 % par rapport à $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$. Activité spécifique : 10mCi/mM. La pureté radiochimique a été contrôlée par radiochromatographie sur papier.

Le groupement sulfhydrique -SH étant très répandu dans les tissus animaux et végétaux, il est très utile de disposer de réactifs permettant de le caractériser et de le doser. Un réactif de choix est l'acide *p*-chloromercuri-benzoïque (A.C.M.B.), car il est spécifique et très sensible. Il réagit à la température ambiante contrairement aux autres réactifs. Le régénération du produit analysé est possible.

Pour augmenter la sensibilité de ce test, il était intéressant de préparer



l'A.C.M.B. ^{14}C radioactif. Nous décrivons ici la synthèse de l'A.C.M.B. ^{14}C selon le schéma ci-dessus.

L'acide *p*-aminobenzoïque (carboxyle ^{14}C) (2) a déjà été obtenu par plusieurs méthodes rassemblées dans ⁽¹⁾. Nous leur avons préféré un procédé plus récent ⁽²⁾ dans lequel on amine l'acide chlorobenzoïque (carboxyle ^{14}C) (1) avec un rendement de 65 à 70 %. L'acide (1) est obtenu selon ⁽³⁾ avec un rendement de 95 à 97 % par rapport au $^{14}\text{CO}_2$ mis en jeu.

Ensuite nous avons adapté à (2) la méthode générale de Dunker ⁽⁴⁾ de préparation des composés chloromercuriques aromatiques. Cette méthode présente l'avantage de passer immédiatement par le fluoborate de diazonium (3) qui est stable et qui peut être isolé.

Le sel de diazonium est ensuite traité par le chlorure mercurique en présence de chlorure stanneux comme réducteur. La réaction est très rapide et peut être suivie en mesurant le dégagement d'azote.

Les sels de mercure et d'étain étant peu solubles dans le diméthylformamide (D.M.F.), l'A.C.M.B. a été extrait du mélange réactionnel par dissolution dans le D.M.F. Puis l'A.C.M.B. a été reprécipité de cette solution par addition d'eau.

Une deuxième extraction suivie d'une reprécipitation ont été nécessaires pour obtenir un produit pur.

La pureté du produit est contrôlée par chromatographie sur papier (voir tableau), par le spectre U.V. à 274 m μ de sa solution dans le D.M.F., et par son coefficient d'absorption en U.V. à 274 m μ en le comparant à celui du produit commercial (produit « Sigma » chemical company, Saint-Louis, M.O. 63118 U.S.A.).

En opérant sur 2mM de (2) (20mCi), nous avons obtenu l'A.C.M.B. avec un rendement de 51 % par rapport à (2), soit un rendement de 30 à 35 % par rapport au Ba $^{14}\text{CO}_3$ mis en jeu.

L'A.C.M.B. qui est soluble dans le D.M.F. après avoir été porté à sec sous vide, donne un insoluble dans le D.M.F. Cet insoluble qui est également obtenu en partant de produit commercial, a un spectre U.V. différent de celui de l'A.C.M.B. Cet insoluble traité par la soude et précipité par HCl redonne de l'A.C.M.B. Il est possible que ce soit, selon Nesmeyanov ⁽⁵⁾, un « sel-interne » ou un produit de cyclisation.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chromatographie ascendante sur papier « Whatman n° 1 »

Produit	Solvants	Vol = Vol.	Rf.
Acide <i>p</i> -chlorobenzoïque	Isopropanol : 80; ammoniaque cctré : 5; Eau : 15.		0,82
	Méthanol : 40; <i>n</i> -butanol : 30; benzène : 20; eau : 10.		0,73
	<i>n</i> -butanol saturé de NH ₄ OH : 1,5 N.		0,59
Acide <i>p</i> -aminobenzoïque	Isopropanol : 80; Ammoniaque; 5; eau : 15.		0,42
	Méthanol : 35; alcool amylique : 17,5; benzène : 35; eau : 10; ammoniaque : 2,5.		0,07
	Phénol : 80; Eau : 20.		0,75
Acide <i>p</i> -chloromer- curibenzoïque	NaOH; N/10 (chromatographie descendante).		0,41
	<i>t</i> -butanol : 20; méthyléthylcétone : 30; eau : 40; éthanolamine : 10.		0,66

Acide p-chlorobenzoïque (Carboxyle ¹⁴C) (1).

Le bromure de *p*-chlorophényl magnésium est préparé à partir du *p*-chlorobromobenzène, en solution dans l'éther, à la concentration de 0,2 N.

Le ¹⁴CO₂ obtenu par acidification de 652 mg. de Ba ¹⁴CO₃ (3,3mM; 76 mCi; activité spécifique : 23 mCi/mM) est recueilli dans 22 ml de la solution de magnésien (4,4 mM). La carbonatation est effectuée dans l'appareillage décrit dans ⁽⁶⁾ et dure 20 minutes à -20° C. Après carbonatation le mélange est hydrolysé par 6 ml de H₂SO₄ 6 N à -20° C. On transfère dans un extracteur liquide — liquide en continu et extrait pendant 15 heures à l'éther. La solution libérée est alcalinisée par NaOH 2 N. La solution aqueuse alcaline est extraite

4 heures à l'éther pour éliminer les impuretés non acides, puis acidifiée par H_2SO_4 2 N et extraite de nouveau 15 heures à l'éther.

La solution étherée portée à sec sous vide donne un produit légèrement jaune. On le purifie par sublimation sous vide à 160-180° C.

Le produit final, blanc (530 mg), a une activité totale de 74 mCi, soit un rendement de 97 %.

La pureté est contrôlée par chromatographie sur papier (voir tableau).

Acide p-amino-benzoïque (Carboxyle ^{14}C) (2)

Le produit (1) est transféré dans un tube de verre Pyrex épais à sceller (\varnothing int. 15 mm., l : 150 mm), puis on y ajoute 550 mg de NaI, 1400 mg de chlorure cuivreux, et 7 ml de NH_4OH à 30 %.

Le tube refroidi dans la carboglace est scellé sous vide.

Il est placé dans un petit autoclave avec 10 ml de NH_4OH à 30 % pour exercer une contre-pression sur le tube de verre.

On chauffe 4 heures à 140 °C.

Après refroidissement, le contenu du tube est filtré. La solution ammoniacale est portée à sec sous vide.

Le résidu sec est repris par HCl N. La solution acide est extraite 3 heures à l'éther en continu. (2), reste dans la solution aqueuse sous forme de chlorhydrate.

Ce traitement permet d'éliminer les impuretés acides et neutres.

La solution aqueuse est ensuite amenée à pH 12 par NaOH. Une nouvelle extraction par l'éther permet d'éliminer les impuretés alcalines, (2) restant sous forme de sel de sodium dans la solution aqueuse.

Puis on ajuste le pH de la solution à pH 3,5 par HCl et on extrait 15 heures à l'éther.

La solution étherée de (2) est portée à sec. Le résidu légèrement jaune-brun est sublimé sous vide à 120-140 °C. On obtient un produit blanc; 312 mg, 50 mCi, soit un rendement de 67 %.

La pureté du produit est contrôlée par chromatographie sur papier (voir tableau).

Une fraction de 20 mCi de (2) est diluée avec (2) inactif pour ramener l'activité spécifique de 23 à 10 mCi/mM et sert dans la suite de la synthèse.

Fluoborate de p-carboxy ^{14}C benzene diazonium (3)

274 mg de (2) (2mM; activité spécifique : 10 mCi/mM) sont placés dans un tube de centrifugeuse A (figure 1) de 50 ml. avec 1,5 ml de BF_3H à 34 % et 2 ml d'eau et un agitateur magnétique. La dissolution est totale à la température ambiante.

Le tube est mis au bain de glace. Quand la solution est bien refroidie (inférieure à 5 °C), on y introduit très exactement à l'aide d'une microburette :

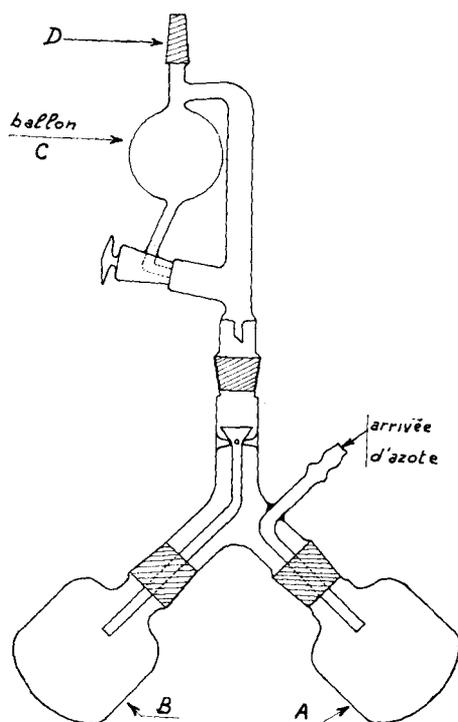


FIG. I.

- A. — Tube à centrifugation muni d'un rodage n° 3F.
 B. — Ballon contenant HgCl_2 et SnCl_2 .
 C. — Ampoule à égalisation de pression.
 D. — Rodage pour raccord à un compte-bulle ou un gazomètre.

0,75 ml d'une solution aqueuse de NaNO_2 (40 %, soit 4,4 mM) en 15 minutes. L'agitation se poursuit pendant 30 minutes au bain de glace. La solution est portée à sec sous vide sans chauffer. Le résidu sec est empâté dans 20 ml d'alcool isoamylique, puis centrifugé. On décante l'alcool en pipettant.

Le sel de diazonium (3) est séché sous vide une nuit. A l'état sec, le composé (3) est stable. Il peut être conservé plusieurs jours sans décomposition notable.

L'alcool isoamylique contient 10 % de l'activité de départ.

L'acide p-chloromercuribenzoïque (Carboxyle ¹⁴C) (4)

Le tube à centrifuger A qui contient le sel de diazonium précédent (3) et un agitateur magnétique est adapté sur l'appareil de la figure I.

Le tube B (figure I) contient un mélange de 3,5 g de HgCl_2 et 2,54 g de SnCl_2 , 2 H_2O .

Le ballon C contient un mélange de 25 ml d'acétone et 2,5 ml d'eau.

L'appareil étant soigneusement purgé à l'azote, l'acétone aqueuse est introduite sur HgCl_2 - SnCl_2 et agitée vigoureusement 1 ou 2 minutes, ce qui donne une suspension assez fluide.

Puis l'appareil est basculé pour faire couler le maximum de la suspension dans le tube A. Il y a un dégagement gazeux instantané. On agite le mélange pendant 15 minutes.

Le tube A est détaché de l'appareil. On refroidit à 0 °C; par addition de 3 ml de lessive de soude à 30 % le pH du milieu est amené entre 2,5 et 3. L'acétone est chassée sous vide à la température ambiante, sans porter à sec.

Dans le tube A, on ajoute 10 ml de D.M.F., on agite quelques minutes pour extraire l'A.C.M.B., et on centrifuge pour séparer les sels minéraux.

La solution de D.M.F., est transférée dans un deuxième tube à centrifuger; on y ajoute 40 ml d'eau pour précipiter l'A.C.M.B., puis on centrifuge et enfin on décante.

On fait au total 4 extractions sur les sels minéraux du tube A, et les 4 extraits sont traités de la même manière dans le deuxième tube.

L'A.C.M.B. ainsi isolé contient encore un peu de sels minéraux. Pour le purifier il est extrait 4 fois par 5 ml de D.M.F. et les solutions de D.M.F. sont portées à sec sous vide.

Le produit obtenu est légèrement coloré en jaune. Cette coloration est éliminée en lavant le produit avec 3 fois 1 ml d'alcool éthylique.

On obtient 364 mg de produit, d'activité 10,2 mCi, soit un rendement chimique et radioactif par rapport à (2) de 51 %.

La pureté radiochimique est contrôlée par radiochromatographie sur papier comme indiqué dans le tableau.

Les spectres U.V. sont mesurés en solution dans le D.M.F. à une concentration comprise entre 0,1 et 0,01 mg par ml, les dosages à des concentrations variant entre 0,25 et 0,01 mg par ml à 274 $\text{m}\mu$.

BIBLIOGRAPHIE

1. MURRAY, M. and WILLIAMS, D. L. — Organic Syntheses with Isotopes. Interscience Publishers, vol. 1, pp. 317-319.
2. MARKOVA, V., ZENKOVA, L. N. and SHCHUKINA, M. N. — *Zh Obshch Khim*, **25** : 1383 (1955), *C. A.*, **50** : 4845g (1956).
3. BUHLER, D. H., WANG, C. H. and CHRISTENSEN, B. E. — *J. Amer. Chem. Soc.*, **75** : 4336 (1953).
4. DUNKER, M. F. W., STRAKEY, E. B. and JENKINS, G. L. — *J. Amer. Chem. Soc.*, **58** : 2309 (1936).
5. NESMEYANOV, A. M. — *Z. H. Obshch. Khim.*, **1** : 598 (1931).
6. BARET, C. et PICHAT, L. — *Bull. Soc. Chim. France*, **18** : 580 (1951).