

SYNTHÈSE DU SAFROLE MARQUÉ AU CARBONE 14 DANS LA CHAÎNE ALLYLIQUE : SAFROLE $^{14}\text{C}-1'$

L. PICHAT et J. TOSTAIN

Service des Molécules Marquées - C.E.N.-SACLAY
B.P. N° 2 - 91190 GIF SUR YVETTE (FRANCE)

Received on February 2, 1976

Revised on March 5, 1976

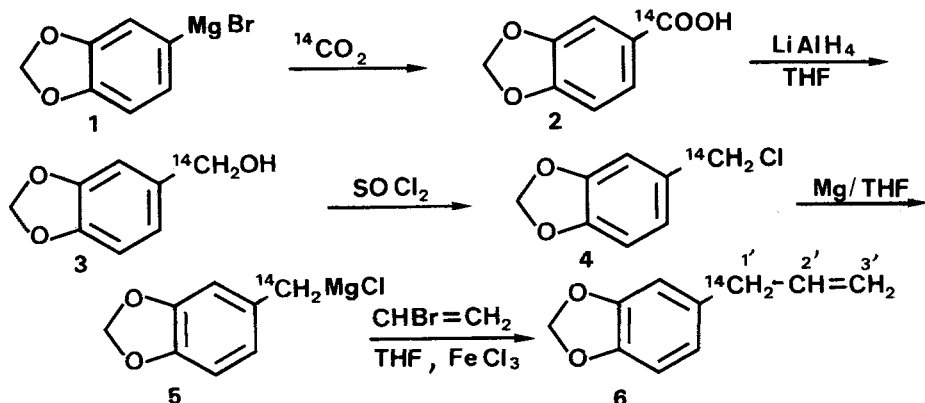
Abstract

Carbonation of 3,4 methylenedioxy phenylmagnesium bromide with $^{14}\text{CO}_2$ leads to (carboxyl ^{14}C) 3,4 methylenedioxy benzoic acid. Reduction of the latter with LiAlH_4 in T H F* gives rise to 3,4 methylenedioxy benzyl alcohol which reacts with thionylchloride to provide the corresponding chloride. By action of magnesium in T H F 3-4 methylenedioxy benzylmagnesium chloride is obtained; it is then condensed with vinyl bromide in presence of catalytic quantities of FeCl_3 to give (1'- ^{14}C) safrol, specific activity: 15 mCi/mMole with an overall yield of 40% based on barium carbonate.

En vue d'études biologiques, à la demande de plusieurs laboratoires, nous avons entrepris la synthèse du safrole 6 (allyl-4 méthylène dioxy-1,2 benzène) marqué au carbone 14.

Des études antérieures (1) effectuées à l'aide de safrole marqué au ^{14}C dans le groupe méthylènedioxy ont démontré la labilité de cette partie de la molécule lors de son métabolisme. Un marquage de la chaîne allylique est donc préférable, d'autant que les travaux de P. BORCHERT et al. (2) (3) ont mis en évidence une "activation métabolique" de la chaîne allylique qui donne des métabolites ayant un caractère pathogène supérieur à celui du safrole. Une synthèse du safrole $^{14}\text{C}-3'$ a déjà été décrite (4). Curieusement, les rendements exprimés par les auteurs sont calculés par rapport au butyllithium, réactif non marqué. Nous avons préféré mettre au point une synthèse du safrole $^{14}\text{C}-1'$ par le schéma suivant, dont les premières étapes ont déjà été effectuées dans notre laboratoire (5).

* T H F : Tetrahydrofurane ; CPV : Chromatographie en phase vapeur ;
CCM : Chromatographie sur couche mince.



L'acide méthylendioxy-3,4 benzoïque (carboxyle ^{14}C) 2 obtenu par carbonatation du magnésien 1 (5) (6) selon (5) (7), avec un rendement* de 90 % par rapport au $^{14}\text{CO}_2$ (le rapport $^{14}\text{CO}_2$ / magnésien étant 1/2), est réduit en alcool par LiAlH_4 dans le THF avec un rendement* de 91 %. Le chlorure de méthylendioxy-3,4 benzyle 4, point de départ essentiel de la synthèse, est obtenu par l'action de SOCl_2 sur l'alcool méthylendioxy-3,4 benzylique ($^{14}\text{CH}_2\text{OH}$) 3 (5) ; ce chlorure est distillé sous vide d'un ballon A dans un autre ballon B, ce qui permet d'obtenir un produit incolore ou très légèrement jaune.

Le chlorure de méthylendioxy-3,4 benzyl magnésium ($^{14}\text{CH}_2\text{MgCl}$) 5 est préparé par action du chlorure 4 sur le magnésium dans le THF ; "à blanc" un rendement maximum de 65 % (dosage à l'iode) est obtenu, pour une concentration initiale de 0,25 M de chlorure 4 dans le THF anhydre. Ce nouveau réactif de Grignard 5 conduit au safrole ^{14}C -1', par condensation du bromure de vinyle en présence de FeCl_3 anhydre (8) (9), à -15°C et à température ambiante. La solution presque incolore devient rouge foncé lors de l'addition de FeCl_3 dans le THF, puis brun très clair en fin de réaction.

De très bons résultats ont été obtenus pour les concentrations suivantes en mMoles : Magnésien 5 : 1, Bromure de vinyle : 1,25, FeCl_3 : 0,001.

Le safrole ^{14}C -1' 6 est obtenu avec un rendement de 55 % par rapport à l'alcool 3 par dosage en CPV sur Carbowax 20 M en présence d'un témoin. Après purifications, le rendement est de 49 %. Ces résultats sont reproductibles sous certaines conditions (absence totale d'humidité, solvants parfaitement anhydres et atmosphère d'azote sec). Le produit de duplication, le (méthylendioxy-3,4 benzène) 1,2 éthane ^{14}C -1,2, identifié par spectrométrie de masse, représente environ 25 % de l'activité mise en jeu. Les autres impuretés n'ont pas été identifiées.

*Ces rendements s'entendent pour des produits purifiés.

Dans des essais préliminaires à "blanc", nous avons aussi obtenu du safrole en condensant le chlorure **4** sur le bromure de vinyl magnésium en présence de chlorure ferrique. N'ayant pu obtenir des résultats reproductibles et un rendement de seulement 25 % (dosage CPV) par rapport à l'alcool **3**, cette voie a été abandonnée.

La condensation du vinyl lithium sur le chlorure ou bromure de méthylènedioxy-3,4 benzyle (**10**) pourrait certainement conduire au safrole avec un très bon rendement, cette voie n'a pas été étudiée.

PARTIE EXPERIMENTALE

L'appareillage utilisé pour la synthèse radioactive est muni uniquement de robinets "Rotaflo" (Quickfit, England) et de rodages "Rotulex" sans graisse. Les extractions se font dans une ampoule étanche de 500 ml, à robinet "Rotaflo" et bouchon S.V.L., sauf indication contraire. Les spectres de masse ont été enregistrés sur appareil Varian CH 7 et les spectres UV du safrole témoin et de synthèse sur Beckman DK 2 A.

Le bromo-1 méthylènedioxy -3,4 benzène (Frinton Laboratories, Vineland, USA) est redistillé juste avant l'emploi. La pureté contrôlée en CPV sur Carbowax 20 M est supérieure à 99 %. L'alcool méthylènedioxy-3,4 benzylique "Fluka" (purum) est utilisé pour diluer l'alcool actif.

Solvants utilisés pour la chromatographie du Safrole ¹⁴C-1' **6**
et des composés intermédiaires **2** et **3**

N°	Solvants	Rf 2	Rf 3	Rf 6
I	Benzène : 90, Dioxanne : 25, A.Acétique : 4	0,74	0,68	
II	Isopropanol : 80, Ammoniaque : 5, Eau : 15	0,50		
III	n-Butanol saturé d'ammoniaque : 1,5 N	0,30		
IV	Hexane (11)			0,34
V	Hexane : 98, Acétone : 02			
VI	Benzène : 50, Ether de pétrole(40-65°C) : 50			0,41
VII	Ether de pétrole(40-65°C) : 95, A.Acétique : 5 (12)			0,80

Bromure de méthylènedioxy-3,4 phényl magnésium 1

Dans un ballon tricol de 250 ml muni d'une ampoule à égali-

sation de pression contenant le bromo-1 méthylènedioxy-3,4 benzène (8,04 g = 40 mMoies) en solution dans 80 ml de THF anhydre, d'un réfrigérant et d'une garde à CaCl_2 , on ajoute sous atmosphère d'azote sec 1,15 g de magnésium (48 mMoies) et 5 ml de la solution ci-dessus. Le ballon est chauffé à 72° C (bain d'huile). Les réactifs sont agités. Quand la réaction est amorcée, la solution restante est ajoutée goutte à goutte et la température de 72° C est maintenue pendant la durée de l'addition du bromure et 1 heure après l'addition. La solution jaune foncé du magnésien obtenu est 0,44 M (dosage à l'iode).

Acide méthylènedioxy-3,4 benzoïque (carboxyle ^{14}C) 2

Le $^{14}\text{CO}_2$ obtenu par réaction de H_2SO_4 concentré avec $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ (200 mCi = 4 mMoies) sur rampe à vide, est condensé à - 20° C pendant 35 mn sur 8 mMoies de magnésien 1. La solution est hydrolysée par H_2SO_4 4N à - 20° C. Le THF est évaporé sous vide, l'acide 2 est extrait à l'éther et lavé à l'eau. A cette solution sont ajoutés 50 ml d'une solution de NaHCO_3 à 5 %. Après une agitation d'1 heure environ, une extraction liquide-liquide à l'éther en continu pendant 15 heures permet d'éliminer des impuretés non acides. La solution contenue dans l'extracteur est acidifiée par H_2SO_4 4N et l'acide 2 est extrait en continu pendant 6 heures.

L'activité totale est de 180 mCi, Rdt : 90 %.

La pureté radiochimique de l'acide ainsi obtenu, contrôlée par radiochromatographie sur couche mince de silicagel Merck 60 dans le solvant I, et sur papier Whatman n° 1 dans les solvants II et III, est ≥ 99 %.

Alcool méthylènedioxy-3,4 benzylique ($^{14}\text{CH}_2\text{OH}$) 3

L'acide 2 sec (2,5 mMoies = 130 mCi) est dissous dans 8 ml de THF anhydre et sous très bonne agitation magnétique, on ajoute lentement en boîte à gants et sous atmosphère d'azote sec LiAlH_4 en poudre (8 mMoies), à la température ambiante. Après 20 mn, la solution est hydrolysée avec précaution à - 5° C par 20 ml NaOH 2N. Le THF est éliminé sous vide et l'alcool 3 est extrait à l'éther en continu. A ce stade, l'activité est de 124 mCi. La pureté radiochimique de l'alcool 3 contrôlée par radiochromatographie sur couche mince, de silicagel Merck 60 dans le solvant I est ≥ 99 %. L'activité spécifique de 3 est ajustée à environ 15 mCi/mMole par dilution avec de l'alcool "blanc". La solution est évaporée à sec et l'alcool est laissé 15 heures au dessiccateur sous 10 mm Hg en présence de P_2O_5 et KOH . On obtient 1,28 g = 8,4 mMoies.

Chlorure de méthylènedioxy-3,4 benzyle ($^{14}\text{CH}_2\text{Cl}$) 4

L'alcool 3 est dissous dans 40 ml d'éther anhydre contenant de la pyridine anhydre (0,68 ml = 8,5 mMoies). A cette solution est ajouté SOCl_2 (0,68 ml = 9,35 mMoies) dissous dans 6 ml d'éther anhydre. La solution

est agitée 45 mn à la température ambiante, filtrée et le résidu lavé avec 5 ml d'éther anhydre ; l'éther est éliminé sous vide, le vide dynamique (1 mm Hg) est maintenu 90 mn. Le chlorure **4** est transféré par distillation d'un ballon A dans un ballon B. L'ensemble étant sous haut vide, B est refroidi à - 196° C et A chauffé au bain d'huile vers 100° C, le produit recueilli est jaune pâle.

Chlorure de méthylènedioxy-3,4 benzyl magnésium (¹⁴CH₂MgCl) **5**

Le dérivé **4** est dissous dans 20 ml de THF anhydre. Sous atmosphère d'azote sec 3 ml de cette solution sont versés sur du magnésium (240 mg = 10 mmoles) et chauffés au bain d'huile à 72° C ; cette température est maintenue pendant toute la durée d'addition du chlorure (30 mn) et 1 heure après l'addition. La solution obtenue jaune vert est filtrée en boîte à gants et transférée dans un ballon A de 100 ml à 2 tubulures, muni d'un robinet R₁ et d'une capsule en caoutchouc silicone pour introductions à la seringue.

Safrole ¹⁴C-1' **6**

10 mmoles de bromure de vinyle séché 1 heure sur perchlorate de magnésium sont transférés sur rampe à vide dans le ballon A refroidi à - 196° C ; la température est élevée à - 15° C, la pression dans A est amenée à 300 mm Hg environ par de l'azote sec entrant par R₁. R₁ fermé, on ajoute à l'aide d'une seringue 0,8 ml d'une solution $\frac{M}{100}$ de FeCl₃ anhydre dans le THF. La solution devient rouge foncé, le bain à - 15°C est laissé 15 mn et la réaction est maintenue 1 heure à température ambiante. La solution devenue brun clair, est hydrolysée par H₂O saturée de NH₄Cl ; le THF est évaporé sous vide et le safrole extrait à l'éther, lavé à l'eau et séché sur Na₂SO₄. A ce stade nous obtenons 115 mCi de safrole impur. L'intégration des radiochromatogrammes CPV et CCM montre la présence d'environ 70 mCi de safrole, 30 mCi d'une impureté identifiée par spectrométrie de masse comme étant le (méthylènedioxy-3,4 benzyl)-1,2 éthane ¹⁴C-1,2 :

$$^{12}\text{C} : \frac{m}{e} = 135 \quad , \quad M = 270 \quad ; \quad ^{14}\text{C} : \frac{m}{e} = 137 \quad , \quad M = 272$$

Ces 4 pics sont les plus intenses du spectre.

Les autres impuretés multiples représentent environ 15 mCi et n'ont pas été identifiées.

Purification

L'éther est éliminé sous vide et le résidu repris par 10 ml d'hexane.

Après 15 heures à 5° C, il se forme un précipité qui est éliminé par filtration (30 mCi) et qui contient moins de 3 % de safrole. Le filtrat est concentré à 2 ml et introduit sur une colonne de silicagel Merck 60 (h = 30 cm, Ø = 15 mm) imprégné de AgNO₃ (20 g de AgNO₃ pour

100 g de silice). Le safrole est élué par le solvant VI. Une nouvelle purification sur silicagel Merck 60 éluant V donne 61 mCi de safrole ^{14}C -1' de pureté radiochimique $\geq 99\%$. Le contrôle de la pureté radiochimique est effectué : a) en CPV : sur Carbowax 20 M à 170°C et sur silicone OV 17 à 165°C et à 250°C ,

- b) en CCM : support :- silicagel Merck 60, solvants IV, VII
- silicagel Merck 60 imprégné d'une solution de AgNO_3 à 20 % solvant VI.

La pureté chimique est déterminée par spectrophotométrie UV dans l'éthanol RP et par spectrométrie de masse. L'activité spécifique déterminée par ces deux méthodes est de 15 mCi/mMole et le rendement de 40 % par rapport au $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$.

REFERENCES

- 1 - S. KUWATSUKA et J.E. CASIDA
J. Agr. Food Chem., 1965, 13, 528
- 2 - P. BORCHERT, P.G. WISLOCKI, J.A. MILLET et E.C. MILLER
Cancer Research, 1973, 33, 575
- 3 - P. BORCHERT, J.A. MILLER, E.C. MILLER et T.K. SHIRES
Cancer Research, 1973, 33, 590
- 4 - M. WALKER, J. MCKINNEY et E. OSWALD
J. Labelled Compounds, 1974, 10, 405
- 5 - J. LINTERMANS, A. BENAKIS, M. HERBERT et L. PICHAT
Helv. Chim. Acta, 1971, 54, 1713
- 6 - C. FEUGEAS
Bull. Soc. Chim., 1964, 1892
- 7 - C. BARET et L. PICHAT
Bull. Soc. Chim., 1951, 18, 580
- 8 - M. TAMURA et J. KOCHI
Synthesis, 1971, 303
- 9 - M.S. KHARASCH et O. REINMUTH
Grignard Reactions of Non Metallic Substances,
Prentice-Hall Co., New York, 1954, 1064
- 10 - G. LINSTRUMELLE
Tetrahedron Letters, 1974, 3909
- 11 - S. KUWATSUKA et J.E. CASIDA
J. Agr. Food Chem., 1965, 13, 528
- 12 - M.H. KOUWEN et R. TER HEIDE
Parfuem. Kosmet., 1962, 43, 195