

## SYNTHESE DU TERTIOBUTYL-2 DINITRO-4,6 PHENOL NOYAU- $^{14}\text{C}$ (U) (*"DINOTERBE"* NOYAU- $^{14}\text{C}$ )

Jean-Pierre NOEL, Louis PICHAT  
Service des Molécules Marquées - CEN-Saclay B.P. No 2  
F 91190 GIF SUR YVETTE - FRANCE

Achille BENAKIS  
Laboratoire du Métabolisme des Médicaments - Université de Genève  
CH 1211 GENEVE 4 - SUISSE

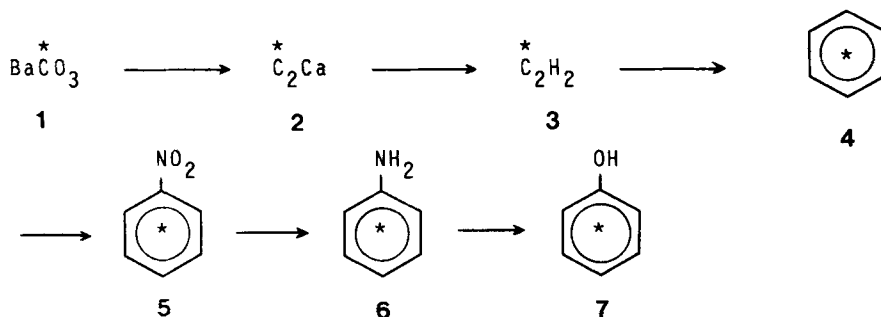
### ABSTRACT

( $U\text{-}^{14}\text{C}$ ) Phenol and isobutene under pressure in presence of aluminium phenoxide gave in 60 % yield a mixture of (ring  $U\text{-}^{14}\text{C}$ ) 2-*t*-butylphenol (50 %) and (ring  $U\text{-}^{14}\text{C}$ )-2,6-*di-t*-butylphenol (10 %) which were separated by column chromatography on silicagel. Each *t*-butylphenol was nitrated under appropriate conditions to give an 35 % overall yield of (ring- $U\text{-}^{14}\text{C}$ )-4,6-dinitro-2-*t*-butylphenol : specific activity : 27.4 mCi/mMol which was proved by TLC and HPLC to be 99 % radiochemically pure.

Le "DINOTERBE" (DNTBP) est un désherbant sélectif des céréales d'automne et de printemps employé en post-émergence (1).

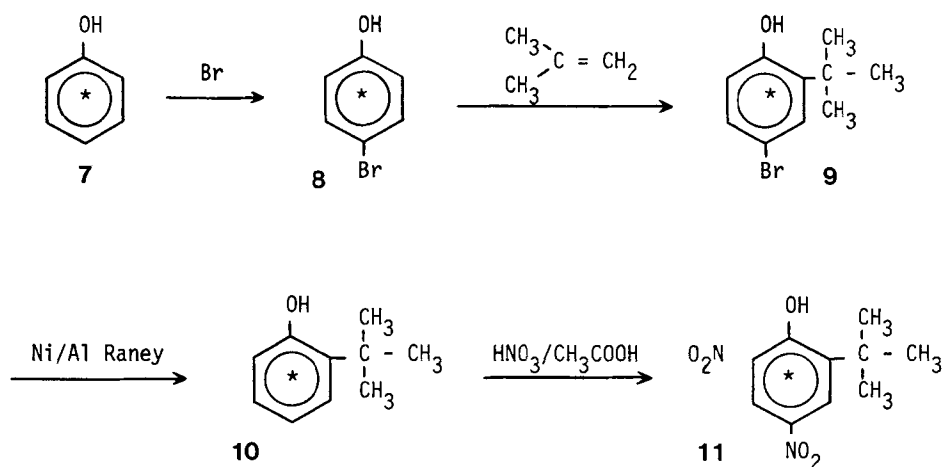
Afin d'en étudier d'une part sa localisation, sa distribution, son élimination et son métabolisme chez le rat et d'autre part son absorption, sa distribution et sa transformation dans les plantes et notamment dans le blé, le "Dinoterbe" a été marqué par le carbone 14 uniformément dans le cycle benzénique.

Deux voies de synthèse ont été étudiées à partir du phénol  $^{14}\text{C}$ -(U). Ce dernier a été obtenu selon le schéma classique suivant :



L'acétylène  $^{14}\text{C}$ -(U) 3 préparé par hydrolyse du carbure de calcium  $^{14}\text{C}$ -(U) 2, résultant de l'action du calcium sur le carbonate de baryum 1 selon (2a, b, c) est ensuite cyclotrimérisé à l'aide d'un catalyseur à base de chrome (2c,3). Le benzène  $^{14}\text{C}$ -(U) 4 est obtenu avec un rendement radioactif de 85 % par rapport au carbonate de baryum. Le benzène  $^{14}\text{C}$ -(U) est nitré à l'aide du mélange sulfonitrique en nitrobenzène  $^{14}\text{C}$ -(U) 5. Ce dernier est réduit en aniline  $^{14}\text{C}$ -(U) 6 par le mélange fer et acide chlorhydrique (4). Le rendement en aniline par rapport au benzène est de 80 %. Le phénol  $^{14}\text{C}$ -(U) 7 est obtenu par hydrolyse du sel de diazonium de l'aniline selon (5) avec un rendement de 85 %.

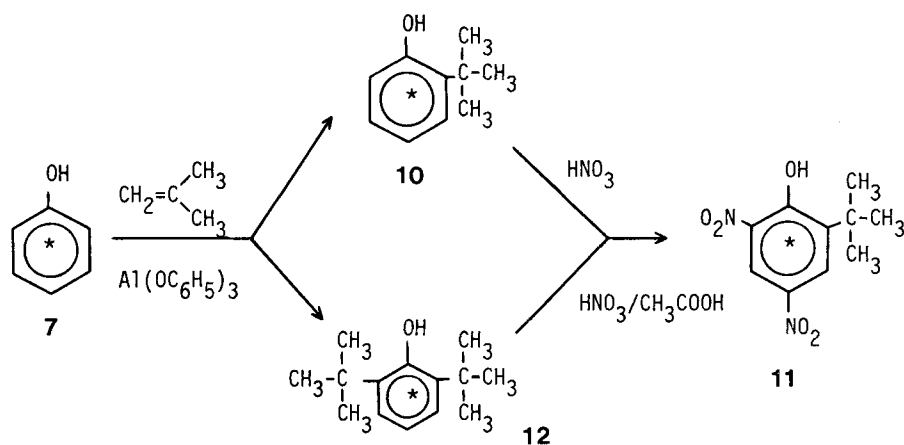
Schéma I



La première voie de synthèse est figurée par le schéma I. Le bromo-4 phénol  $^{14}\text{C}$ -(U) 8 est obtenu à partir du phénol selon (6). Après purification par chromatographie sur colonne de silice, le produit est alcoylé par l'isobutène en présence d'acide sulfurique afin d'obtenir le tertibutyl-2 bromo-4 phénol  $^{14}\text{C}$ -(noyau) suivant (7,8). La déshalogénéation à l'aide du nickel de Raney (7,8) 9 conduit au tertibutyl-2 phénol- $^{14}\text{C}$  (noyau) 10. La nitration de ce dernier effectuée selon (8) avec la mélange acide nitrique - acide acétique permet l'obtention, après purification sur colonne de silice, du tertibutyl-2 dinitro-4,6 phénol  $^{14}\text{C}$ -(noyau) 11.

Le faible rendement global (5-7 %) de cette voie de synthèse à partir du phénol, nous a incités à étudier la voie du schéma II.

Schéma II



Dans ce procédé, le phénol <sup>14</sup>C-(U) est alcoylé sous pression par l'isobutène, en présence de phénoxyde d'aluminium comme catalyseur selon (9). On obtient la formation simultanée de t-butyl-2 phénol <sup>14</sup>C-(noyau) 10 et de ditertiobutyl-2,6 phénol <sup>14</sup>C (noyau) 12 avec des rendements respectifs de 50 % et 10 % tandis que l'on récupère 40 % de phénol n'ayant pas réagi.

Après séparation par chromatographie sur colonne de silice, 10 est nitré avec de l'acide nitrique à 50 % (10) et 12 avec un mélange acide nitrique - acide acétique (50-50) (8). Tous deux conduisent au Dinoterbe <sup>14</sup>C-(noyau) 11.

Ce dernier est purifié par chromatographie sur colonne de silice. Le rendement de la nitration est de 60 % et le rendement global à partir du phénol de 35 %.

La pureté radiochimique du Dinoterbe (activité spécifique 27,4 mCi/mMole) contrôlée par chromatographie sur plaque de silice et par chromatographie liquide haute pression a été trouvée supérieure à 99 %. D'autre part, les spectres de résonance magnétique nucléaire, de masse et U.V. confirment l'identité du produit <sup>14</sup>C avec un échantillon de Dinoterbe témoin.

#### PARTIE EXPERIMENTALE

Abréviations : CPV = chromatographie en phase vapeur  
 CCM = chromatographie en couche mince  
 CLHP = chromatographie liquide haute pression  
 RMN = résonance magnétique nucléaire

Le phénol  $^{14}\text{C}$ -(U) est purifié par transfert sous vide en tube scellé et manipulé dans une boîte à gants sous atmosphère d'azote sec.

### Mono- et di-tertiobutyl phénol $^{14}\text{C}$ -(noyau) 10 et 12

Le phénoxyde d'aluminium utilisé comme catalyseur est préparé de la manière suivante : on chauffe à  $160^\circ\text{C}$  pendant 1 heure, 2,4 g de phénol avec 200 mg d'aluminium en fine grenaille. L'excès de phénol est éliminé par sublimation. Le résidu est un produit parfaitement blanc dont le spectre RMN en solution dans le DMSO permet de contrôler l'absence de phénol après sublimation.

Dans un autoclave "Prolabo" de 12,5 mL, on ajoute 25 mg de catalyseur 1 mMole (35 mCi) de phénol- $^{14}\text{C}$  (U) en solution dans 3 mL d'éther anhydre et un petit barreau magnétique. La bombe est fermée et reliée à une rampe à vide. L'éther est éliminé en faisant progressivement le vide à travers un by-pass refroidi à  $-80^\circ\text{C}$ .

L'autoclave est refroidi à la température de l'azote liquide. On y effectue le vide complet et on y transfère 2,16 mMoles d'isobutène. L'autoclave est fermé et chauffé pendant 10 heures à  $110^\circ\text{C}$  avec une agitation extérieure. On le refroidit dans un bain à  $0^\circ\text{C}$  et on le relie à une rampe à vide afin de mesurer la quantité d'isobutène n'ayant pas réagi.

L'autoclave est ensuite ouvert et son contenu repris à l'éther.

Les produits sont analysés par CCM et CPV. Le phénol qui n'a pas réagi représente 36 %, le mono-tertiobutyl phénol 56 % et le di-tertiobutylphénol 8 % de la radioactivité.

- CCM : Silicagel Schleicher et Schüll F 1500 LS 254  
Solvant : Benzène 100

	Rf
+ Di-tertiobutylphénol.....	0,95
+ Mono-tertiobutylphénol.....	0,50
+ Phénol.....	0,05

- CPV : Ionisation de flamme et détection d'activité  
Colonne : OV 17 sur "Chromosorb" : 1,5 m  
Température colonne  $150^\circ\text{C}$ , injecteur  $200^\circ\text{C}$   
Temps de rétention :

+ Phénol.....	50 s
+ Mono-tertiobutylphénol.....	136 s
+ Di-tertiobutylphénol.....	260 s

Les produits sont séparés par chromatographie sur colonne de 25 g de silice "H" Merck en éluant avec le benzène puis avec un mélange benzène-acétate d'éthyle (50/50) après la sortie du mono-tertiobutyl phénol.

On recueille trois produits radioactivement purs soit :

- |                                 |          |       |      |
|---------------------------------|----------|-------|------|
| 1) Di-tertio-butylphénol.....   | 3,5 mCi  | ..... | 10 % |
| 2) Mono-tertio-butylphénol..... | 16,5 mCi | ..... | 50 % |
| 3) Phénol.....                  | 12 mCi   | ..... | 40 % |

### Tertio-butyl-2 dinitro-4,6 phénol-<sup>14</sup>C (noyau)

Les deux produits sont nitrés séparément.

#### \* Nitration du di-tertio-butylphénol-<sup>14</sup>C (noyau)

Dans un ballon piriforme de 25 mL contenant les 3,5 mCi du ditertio-butylphénol, on ajoute 0,5 mL de tétrachlorure de carbone. On agite fortement et on refroidit dans un mélange glace/eau. On ajoute lentement en 10 mn 160  $\mu$ L du mélange HNO<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>COOH 50/50 en volume refroidi à 0° C. On chauffe ensuite pendant 1 mn à 60° C. On ajoute rapidement de la glace pilée. On extrait le produit au tétrachlorure de carbone. On sèche sur sulfate de magnésium anhydre et carbonate de sodium. Le contrôle par CCM indique la présence de 70 % de produit.

#### \* Nitration du mono-tertio-butylphénol-<sup>14</sup>C (noyau)

Dans un ballon piriforme de 25 mL contenant les 16,5 mCi de mono-tertio-butylphénol dans 0,3 mL de tétrachlorure de carbone chauffé à 40° C, on ajoute goutte à goutte 150  $\mu$ L d'acide nitrique à 50 %. On agite pendant 2 heures à 40° C. On ajoute de l'eau et on extrait le produit au tétrachlorure de carbone. On sèche sur sulfate de magnésium anhydre et carbonate de sodium.

#### \* Purification du tertio-butyl-2 dinitro-4,6 phénol

Les deux fractions des opérations précédentes sont rassemblées et purifiées par chromatographie sur colonne de 35 g de silice "H" Merck, en utilisant comme solvant d'élution le mélange benzène/hexane (60/40) avec un débit de 30 gouttes par minute.

On recueille deux produits :

- le mono-nitrotertio-butylphénol : 3,0 mCi
- et le di-nitrotertio-butylphénol : 12,2 mCi

Rendement de la nitration : 60 %.

### Contrôle de la pureté du DNTBP-<sup>14</sup>C (noyau)

#### \* Chromatographique :

La pureté chimique et radiochimique du produit a été contrôlée par CCM et CLHP.

## + C.C.M. :

Support : Silice Schleicher et Schüll F 1500 LS 254

Solvants : 1) Benzène: 100 ..... Rf: 0,78

2) Benzène: 70, Cyclohexane: 30 ..... Rf: 0,70

3) Chlorure de Méthylène: 70, Cyclohexane: 30.. Rf: 0,70

## + C.L.H.P. :

Appareil : Waters Associates modèle 660

Support : colonne "Microporasil", longueur : 25 cm

Phase mobile : Benzène/Heptane : 70/30 à Benzène : 100 en 10 mn

Débit : 1 mL/mn

Pression : 600 bars

La pureté radiochimique déterminée par radiochromatographie sur plaque est supérieure à 99 %.

## \* Spectre U.V. :

-----

Le spectre UV a été mesuré dans l'éthanol avec 1 goutte de triéthylamine pour 2,5 mL de solution.

La concentration du produit est de 8,8 g/mL. Le spectre obtenu est conforme à celui du produit de référence. Il présente entre 250 et 450 nm, 2 max. :

 $\lambda_1$  max : 415 nm      et       $\lambda_2$  max : 374 nm.

L'activité spécifique du produit déterminée à partir du spectre UV et par comptage "Bremsstrahlung" est de 27,4 mCi/mMole.

Il y a concordance entre le poids déterminé par UV et par pesée.

## \* Spectre R.M.N. :

-----

Le spectre a été effectué sur un appareil Jeol C 60 HL. Le produit actif étant dissous dans de l'acétone deutérié, le spectre est identique à celui du produit témoin.

 $\delta = 1,40$  (singulet 9 protons)

 $\delta = 8,65$  (doublet 1 proton)

 $\delta = 9,10$  (doublet 1 proton)

## \* Spectre de masse :

-----

Le spectre de masse a été effectué sur le "Dinoterbe" provenant d'une synthèse ultérieure à celle décrite et d'activité spécifique 53 mCi/mMole.

Les spectres de masse des produits de référence et marqué (figures I et II) sont obtenus par introduction directe des produits avec une tension d'ionisation de 70 eV sur un appareil Varian CH 7.

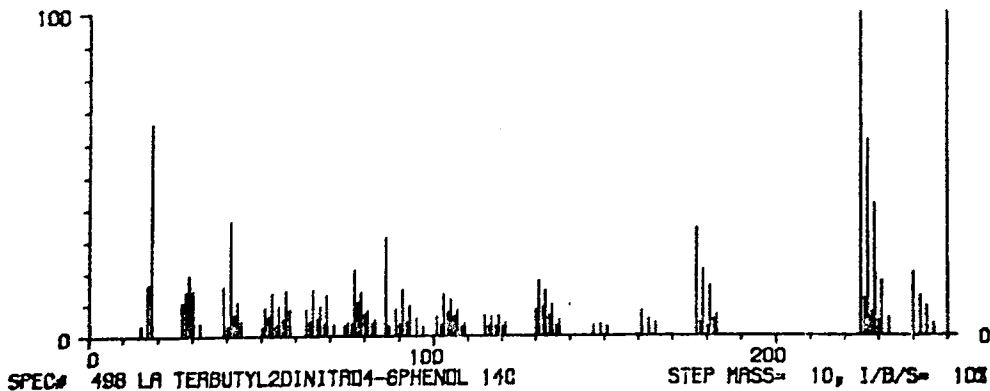
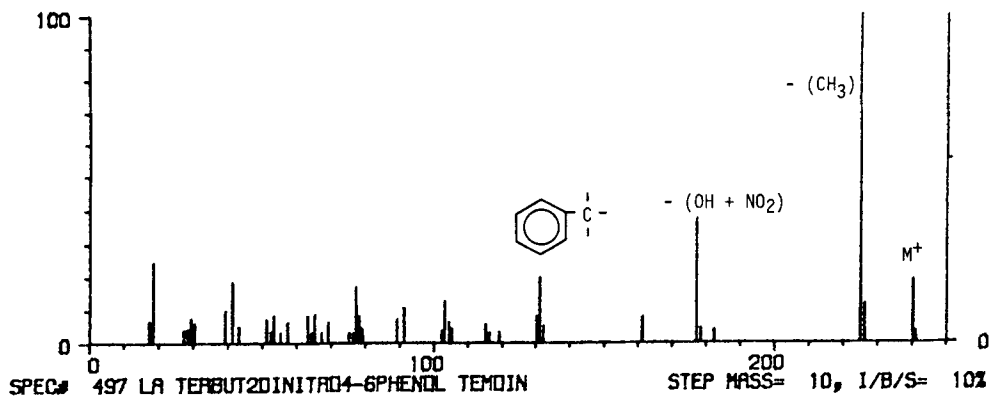


FIGURE I

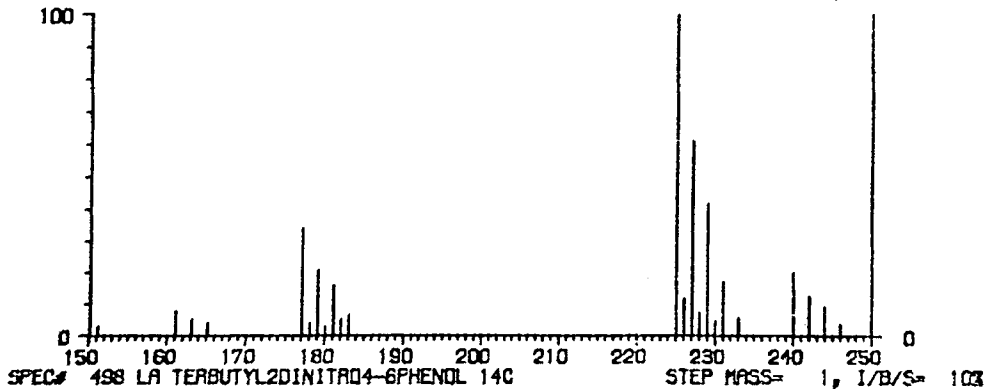
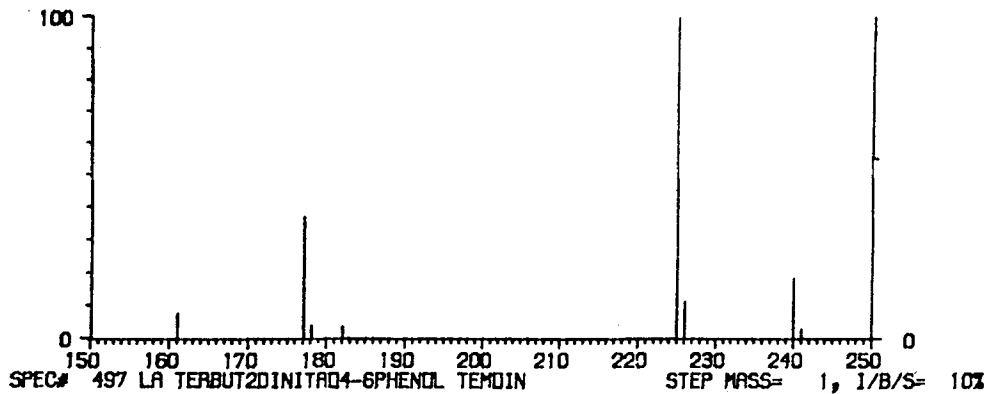


FIGURE II

Le pic de masse des produits apparait nettement ainsi que différents fragments caractéristiques. La figure II permet de comparer les spectres de produits froid et marqué en ce qui concerne les fragments les plus intéressants. L'apparition de nouveaux pics par rapport aux fragments ( $m/e$  : 240 ; 225 ; 177 ; 161) du produit froid correspond au marquage de la molécule dans le noyau.

## REFERENCES

- 1 - Martin H. - Pesticide Manual - British Crop. Protection Council (3rd Edition) : 213 (1972)
- 2a - COX J.D., WARNE R.J. - J. Chem. Soc. : 1893 (1951)
- 2b - PICHAT L., CLEMENT J. - Bull. Soc. Chim. : 329 (1959)
- 2c - NOEL J-P., PICHAT L. - J. Label. Comp. & Radioph. : 13, 87 (1977)
- 3 - HAIDER K. - J. Labelled Compounds : 2, 174 (1966)
- 4 - VOGEL - Practical Organic Chemistry (3rd Edition) 564, Longmans London
- 5 - VOGEL - Practical Organic Chemistry (3rd Edition), 613, Longmans London
- 6 - YANOVSKAYA, TEREPTYEY et BELENKY - J. Gen. Chem. (USSR) : 22, 1935 (1952)
- 7 - HART H. - J. Am. Chem. Soc. : 71, 1966 (1949)
- 8 - HART H et CASSIS - J. Am. Chem. Soc. : 73, 3179 (1951)
- 9 - KOLBA, NAPOLITANO, FILBEY et ECKE - J. Org. Chem. : 22, 642 (1957)
- 10 - Brevet U.S. No 2.802.883 DOW