

NOTES

SYNTHESES DE γ, γ -DIMETHYL α -METHYLENE- γ - BUTYROLACTONE ET D'OXO-1 SPIRO [4,5] METHYLENE-3 DECANONE-2 MARQUEES AU CARBONE-14.

Gilbert SCHLEWER, Jean-Luc STAMPF et Claude BENEZRA
Laboratoire de Dermato-Chimie, Associé au C.N.R.S. (LA 31),
Université Louis Pasteur, Clinique Dermatologique, C.H.U. de
Strasbourg, 67005, France

S U M M A R Y

^{14}C -labelled γ, γ -dimethyl- α -methylene- γ -butyrolactone 1 and 1-oxa-spiro [4.5]-3-methylene-2-decanone 2 have been synthesized from acetone and cyclohexanone respectively and ^{14}C -labelled ethyl bromomethacrylate (Rèformatsky reaction). The synthesis of this last compound is also described.
Key words : ^{14}C -labelled α -methylene- γ -butyrolactones.

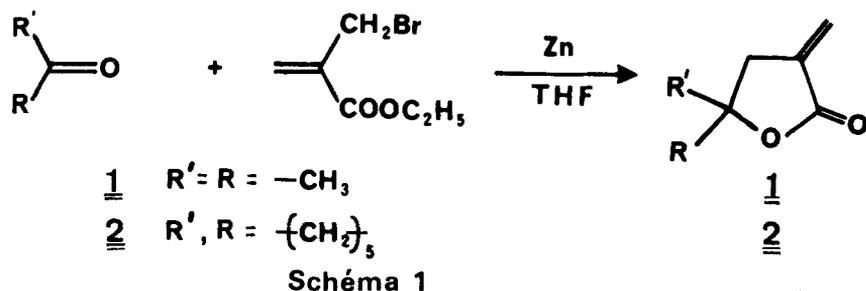
I N T R O D U C T I O N

Dans le cadre d'une étude du mécanisme de l'allergie de contact aux α -méthylène γ -butyrolactones (1) et de leurs propriétés antitumorales (2), nous avons été amenés à préparer des lactones radioactives, afin de pouvoir élucider leur mode d'action in vivo (sur des cobayes sensibilisés expérimentalement) et in vitro (sur des cultures de cellules).

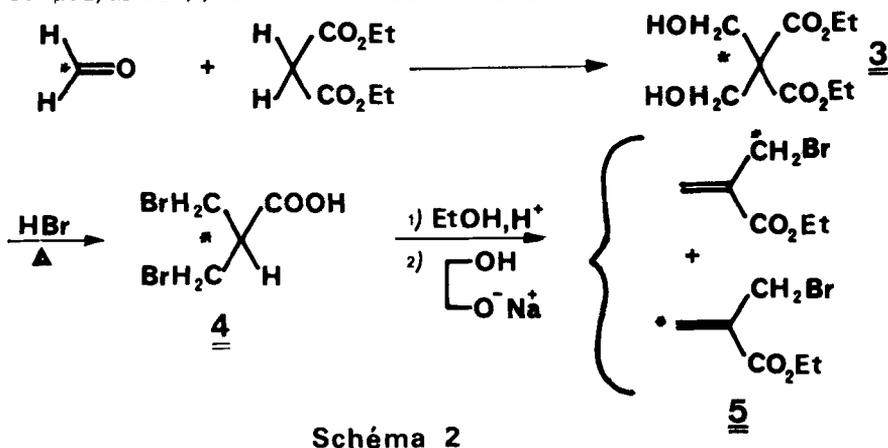
R E S U L T A T S

Les synthèses des produits non radioactifs 1 et 2 correspondants ont été décrites (3,4). Elles font appel à la réaction

de Réformatsky du bromométhacrylate d'éthyle sur les cétones correspondantes (schéma 1), suivant une méthode mise au point par SCHMIDT (3).



Le bromométhacrylate d'éthyle (5) a été préparé à partir de formaldéhyde marqué au carbone ^{14}C (activité spécifique 10 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$), suivant le schéma suivant :



Le dihydroxyméthylmalonate de diéthyle 3, compte tenu de la dilution isotopique, n'est marqué que sur un des carbones des deux groupes $-\text{CH}_2\text{OH}$. La débromhydratation du bromométhyl-2-bromo-3 propionate d'éthyle (estérification de l'acide 4) peut mettre en jeu l'un ou l'autre des atomes de brome. Le bromométhacrylate d'éthyle 5 est donc un mélange de produits marqués

soit sur le carbone allylique $-\text{CH}_2\text{Br}$, soit sur le carbone éthylénique $-\text{C} = \text{CH}_2$. La radioactivité spécifique de ce synthon est de 7,4 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$ (calculée à partir d'une référence externe).

La réaction de Réformatsky utilisant le synthon marqué 5 sur l'acétone conduit à la lactone 1 avec un rendement de 63 % (radioactivité spécifique 9,4 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$) ; la lactone 2 est obtenue de la même façon, à partir de la cyclohexanone, avec un rendement de 48 % (radioactivité spécifique de 5,8 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$). Ces deux produits ont été identifiés à des échantillons authentiques non radioactifs, par R.M.N. et par chromatographie sur couche mince (C.C.M.)

PARTIE EXPERIMENTALE

Les chromatographies sur couche mince ont été effectuées avec des plaques de silice Merck (60 F 254) de 0,25 mm d'épaisseur. Les spectres de R.M.N. ont été enregistrés sur un appareil Perkin-Elmer R-32 à 90 MHz. Les déplacements chimiques sont donnés en δ ppm par rapport au TMS pris comme référence interne.

Préparation du dihydroxyméthylmalonate de diéthyle marqué au ^{14}C : 3

Dans un ballon de 500 ml plongeant dans un bain d'eau froide circulante et contenant 16,3 ml d'aldéhyde formique à 37 % (0,20 mole), on ajoute sous agitation magnétique 1 mCi de formaldéhyde marqué au ^{14}C en solution aqueuse (CEA), 0,20 g de carbonate de potassium puis 16,0 g (0,100 mole) de malonate de diéthyle goutte à goutte. L'agitation magnétique est maintenue 2 h. Le milieu est alors saturé de sulfate d'ammonium et extrait avec 2 x 50 ml d'éther, l'évaporation du solvant donne un produit visqueux que l'on met sous vide d'une trompe à eau, le ballon plongeant dans un bain d'eau à 40°C. On obtient 18,4 g du produit 3 ayant l'aspect d'une cire (84 %). Radioactivité spécifique calculée à partir d'une référence externe : 6,15 $\mu\text{Ci}/\text{mmoles}$.

Acide bromométhyl-2 bromo-3 propionique marqué au ^{14}C : 4

La cire obtenue précédemment est versée dans un ballon de 500 ml, surmonté d'un montage à distillation, et contenant 255 ml de HBr aqueux à 48 %. Le mélange est porté à ébullition pendant 2 h, pendant lesquelles le bromure d'éthyle et le CO_2 sont éliminés. Le montage à distillation est alors remplacé par un réfrigérant à boules et le milieu est porté à reflux pendant 6 h. Le refroidissement sous eau courante provoque la cristallisation de l'acide 4. Les cristaux sont filtrés sur Büchner et séchés sous vide en présence de P_2O_5 . Les eaux mères sont chauffées à nouveau, environ 100 ml sont distillées et après refroidissement, les cristaux qui se forment sont filtrés. Après séchage, on obtient 13,2 g de cristaux d'acide 4 (53,7 mmoles, 64 %).

Bromométhyl-2 bromo-3 propionate d'éthyle marqué au ^{14}C

Les cristaux d'acide sont placés dans un ballon de 500 ml et recouverts de 250 ml d'éthanol absolu et quelques cristaux d'acide paratoluènesulfonique sont ajoutés. Le ballon est alors équipé d'un soxhlet contenant une cartouche de MgSO_4 (séchés à l'étuve). L'éthanol est porté à reflux pendant 12 h puis est évaporé; on ajoute 100 ml d'eau glacée et on extrait à l'éther (3 x 100 ml). La phase éthérée est lavée à l'eau, puis au NaHCO_3 , puis à l'eau jusqu'à neutralité, puis avec une solution aqueuse saturée de NaCl et séchée sur MgSO_4 . L'évaporation de l'éther donne 9,9 g d'ester.

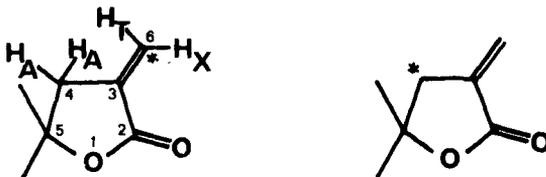
Préparation de bromométhacrylate d'éthyle marqué au ^{14}C : 5

A un mélange d'éthylène glycol (4,20g) et de THF sec (15 ml), dans un ballon de 100 ml, on ajoute petit à petit 1,04 g de suspension de NaH (57 % dans de l'huile minérale) sous agitation magnétique en surveillant le dégagement gazeux. Lorsque tout dégagement gazeux a cessé, le THF est mis à refluer pendant 24 h. L'ester est alors ajouté goutte à goutte en solution dans 15 ml de THF sec en veillant à ce que la température ne dépasse pas

40 à 45°C. L'agitation est maintenue 1h 30 mn, puis 25 ml d'eau glacée sont ajoutés. Le mélange est extrait avec 30 ml de CH_2Cl_2 . La phase organique est lavée à neutralité et séchée sur MgSO_4 . L'évaporation du solvant donne 7,1 g de brut qui, d'après la RMN ne contient pas de bromométhacrylate d'éthyle. Une élution rapide sur colonne de silice (100 g) à l'E.P. permet de récupérer 6 g d'ester sur lesquels la manipulation ci-dessus est répétée ce qui conduit finalement à 1,7 g de synthon radioactif. Radioactivité spécifique : 7,4 $\mu\text{Ci}/\text{mmol}$. RMN (CCl_4) : 1,32 (t, 3H, $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$, $J = 7,0$), 4,10 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{Br}$), 4,22 (q, 2H, COOCH_2 , $J = 7,0$), 5,88 et 6,26 (2s élargis, $\text{H}_2\text{C} =$).

Préparation de la diméthyl-5,5 méthylène-3 dihydrofurannone-2 marquée au

^{14}C : (γ,γ -diméthyl α -méthylène γ -butyrolactone) : 1



Dans un ballon de 100 ml, surmonté d'un réfrigérant (montage séché à l'étuve et placé sous atmosphère d'argon), on introduit successivement de la limaille de zinc (350 mg, 5,3 mmoles) et de l'acétone (3 ml, large excès) dans du THF sec (10 ml). Le milieu, agité par un barreau magnétique est porté à 60 - 70°C, puis on ajoute goutte à goutte une solution de bromométhacrylate d'éthyle marqué (730 mg, 3,8 mmoles) dans du THF sec (5 ml). Le milieu réactionnel est maintenu à reflux pendant 4 heures. Après redroidissement, le milieu est acidifié par l'acide chlorhydrique (10 ml HCl-N) et extrait au chlorure de méthylène (3 x 25 ml.) Après évaporation des solvants, le brut réactionnel est chromatographié sur une colonne de silice (100 g) montée et éluee au mélange éther de pétrole : éther - 75 : 25. On obtient 302 mg de lactone radioactive 1 (2,4 mmoles, 63 %)

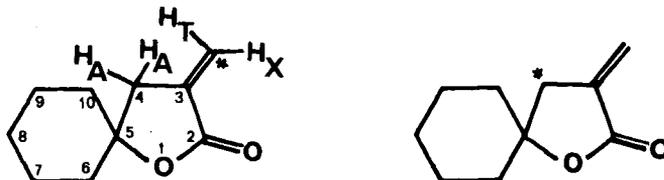
Radioactivité spécifique : 9,4 $\mu\text{Ci}/\text{mmoles}$

RMN (CDCl_3) : conforme au produit froid :

1,40 (s, 6H, $(\text{H}_3\text{C})_2\text{C}_5$, 2,71 (t, 2H, $2\text{H}_A, J_{AT} = J_{AX} = 2,79$)

5,53 (t élargi, 1H, $\text{H}_T, J_{T,A} = 2,8$), 6,09 (t élargi, 1H, $\text{H}_X, J_{XA} = 2,9$)

Préparation de l'oxa-1 spiro (4,5) méthylène-3 décane-2 marquée : 2



Même mode opératoire que pour le produit 1 utilisant 350 mg (5,3 mmoles) de limaille de zinc, 980 mg de cyclohexanone (excès), 730 mg (3,78 mmoles) de bromométhacrylate d'éthyle marqué. Après extraction, le produit est purifié sur colonne de silice (100 g) montée et éluée avec un mélange d'éther de pétrole (EP) et d'éther (E) 75 : 25, puis 500 ml de mélange EP/E-1/1. La purification est achevée sur plaques préparatives de silice éluées 3 fois au mélange EP/E-75/25. On obtient 301 mg de produit 2 pur. (1,8 mmole, 48 %).

Radioactivité spécifique : 5,8 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$. RMN (CCL_4) : identique au produit non radioactif : 1,20-2,00 (m, 10H, CH_2 du cyclohexane), 2,64 (t, 2H, $\text{H}_A, J_{AT} = J_{AX} = 2,6$), (t élargi, 1H, $\text{H}_T, J_{AT} = 2,5$), 6,12 (t élargi, 1H, $J_{AT} = 2,7$).

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé avec l'aide financière de l'INSERM (contrat libre 77-1-0973), de la DGRST et de la Clinique Dermatologique C.H.U. STRASBOURG. Jean-Luc STAMPF a bénéficié d'une allocation d'étude de la DGRST.

REFERENCES

- 1) a) SCHLEWER G., STAMPF J.L., BENEZRA C., *Can.J.Biochem.* 56, 153 (1978)
b) SCHLEWER G., STAMPF J.L., DUCOMBS G., FOUSSEREAU J., BENEZRA C., *Brit. J. Dermatol.* 99, 163 (1978).
- 2) KUPCHAN S.M., EAKIN M.A., THOMAS A.M., *J.Med.Chem.* 14, 1147 (1971)
- 3) ÖHLER E., REININGER K., SCHMIDT U., *Angew.Chem.Int.Ed.* 82, 457 (1970)
- 4) ROSOWSKY A., PAPATHANASOPOULOS N., LAZARUS H., FOLEY G.E., MODEST E.J., *Med. Chem.* 17, 672 (1974).
- 5) FERRIS A.F., *J. Orf. Chem.* 20, 780 (1955).