

MARQUAGE PAR ^{14}C DU METHOXY-7 NITRO-2
NAPHTO [2,1-b] FURANNE (R 7000)

J.C. MADELMONT^{**}, D. PARRY^{**}, J.C. MAURIZIS^{**}
J.P. BUISSON^{***}, R. ROYER^{***}, G. MEYNIEL^{***}

^{**}INSERM U 71, B.P. 184, Rue Montalembert,
63005 Clermont-Ferrand et Laboratoire de
Biophysique Médicale, Faculté de Médecine
28, Place Henri Dunant, B.P. 38, 63001
Clermont-Ferrand Cedex.

^{***}Service de Chimie de l'Institut Curie,
ER 213 du CNRS, 26, rue d'Ulm
75231 Paris Cedex 05

SUMMARY

7-methoxy -2- nitro naphtho [2,1-b] furan was
labelled by ^{14}C on two positions :

- on the position one of the furan ring starting
with sodium formiate
- on the methoxy group by means of methyl iodide.

RESUME

Le méthoxy-7 nitro-2 naphtho [2,1-b] furanne a été
marqué par ^{14}C en deux positions :

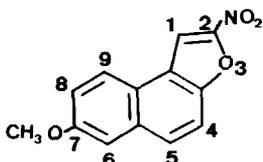
- en position 1 sur le cycle furannique à partir
du formiate de sodium.
- sur le groupe méthoxyle en position 7 à partir
d'iodure de méthyle.

Les nitro naphtofurannes ont de remarquables acti-
vités antibactériennes et parasitocides (1 à 10). En outre, cer-
tains d'entre-eux et, notamment, le méthoxy-7 nitro-2 naphtho
[2,1-b] furanne (R 7000) (11,12) sont doués d'un exceptionnel pou-
voir mutagène (13 à 17).

Afin de connaître la biodisposition et le métabo-
lisme de ce composé, nous avons entrepris son marquage par ^{14}C .

Deux positions ont été retenues pour cela :

1. sur le cycle furannique, afin de suivre le devenir de l'hétérocycle.
2. sur le groupe méthoxyle, afin d'apprécier la déméthylation éventuelle.



Les divers processus envisagés pour le marquage sont indiqués sur les schémas ci-joint.

Marquage de l'hétérocycle

Le procédé I (schéma I) pour le marquage en position 2 du furanne par ^{14}C nécessitait 6 étapes à partir de $\text{Ba } ^{14}\text{CO}_3$. Il nous a semblé assez mal adapté en raison notamment de la difficulté que soulève la préparation du bromo nitro méthane radioactif.

La voie II (schéma I) n'a pu être retenue car la lithiation susceptible de permettre la carboxylation du diméthoxy-2,0 naphthalène ne s'effectue pas en position souhaitable.

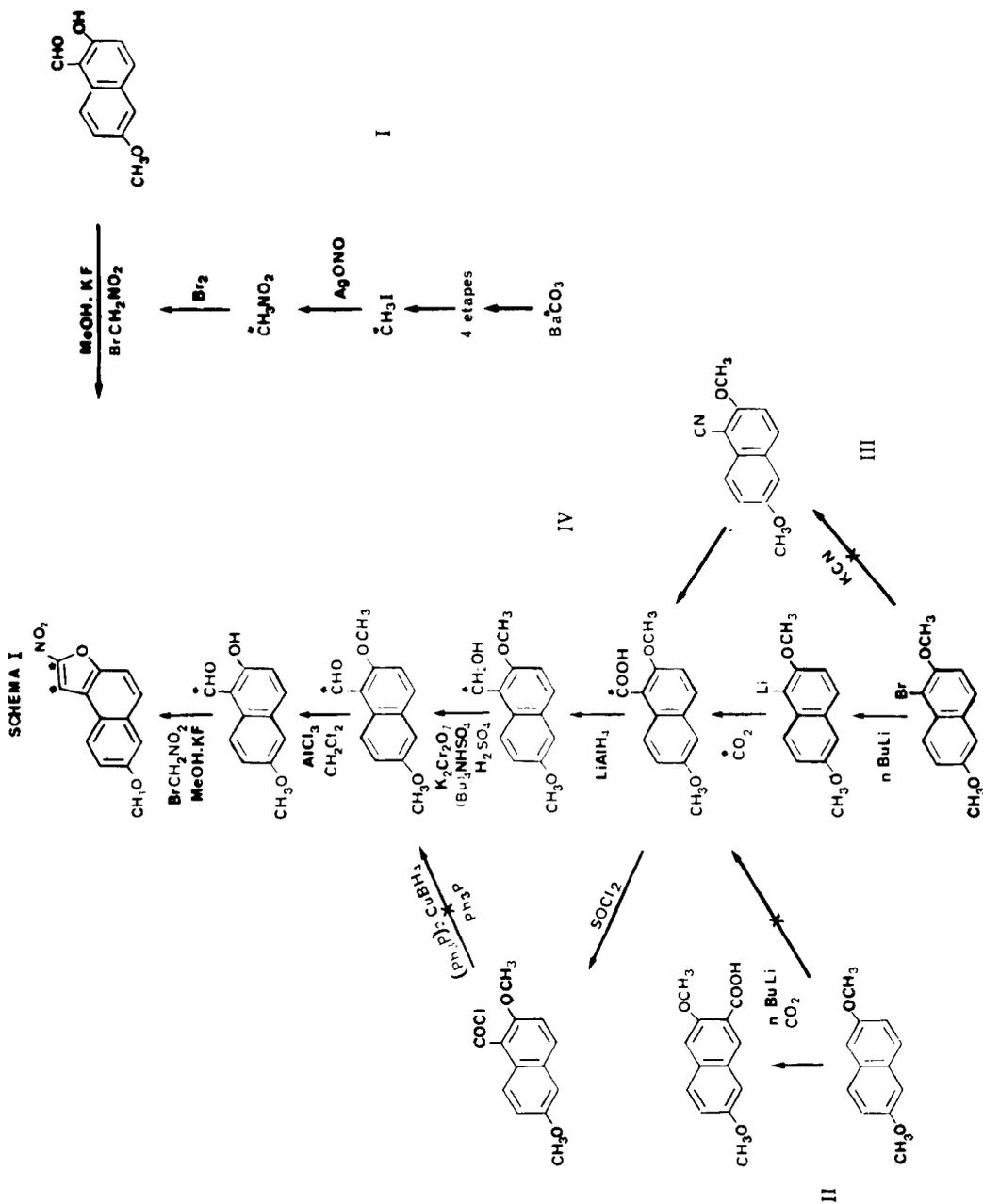
La voie III (schéma I) n'aurait pu être intéressante que si le remplacement du brome par le cyano avait été possible.

La voie IV (schéma I) devait permettre de marquer l'hétérocycle en position 1 à partir du $^{14}\text{CO}_2$. Si, toutefois, la réduction de l'acide par LiAlH_4 est bonne (90 %), l'oxydation ménagée de l'alcool en aldéhyde ne dépasse pas 20 %. Cet aldéhyde n'a pu être préparé, par ailleurs, par l'intermédiaire du chlorure d'acide et action de $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{CuBH}_4/\text{Ph}_3\text{P}$. La voie IV a donc dû être abandonnée également.

Le procédé V (schéma II) ne présentant aucune étape limitante a finalement été retenu pour le marquage voulu.

Le N-méthyl formanilide ^{14}C utilisé comme précurseur est préparé par chauffage du formiate de sodium et du chlorhydrate de N-méthyl aniline.

Le bromo-1 diméthoxy 2-6 naphthalène est facilement obtenu par action du brome moléculaire sur le diméthoxy 2-6 naphthalène.



L'activité spécifique est 5,75 mCi/mM, soit $21,275 \cdot 10^7$ Bq/mM.

Marquage du groupe méthoxyle

L'iodure de méthyle ^{14}C marqué en quatre étapes, avec un rendement de 73 %, constitue le précurseur radioactif utilisé (VI, schéma II).

Son action sur un excès d'hydroxy-7 nitro-2 naphto [2,1-b] furanne dans le mélange eau-acétone, en présence de K_2CO_3 , à 50°C conduit au ^{14}C [7] méthoxy-7 nitro-2 naphto [2,1-b] furanne avec un rendement radiochimique de 60 % calculé par rapport à l'iodure de méthyle et de 43 % calculé par rapport au $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$.

L'activité spécifique est : 5 mCi/mM, soit $18,5 \cdot 10^7$ Bq/mM.

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Indications générales

Les points de fusion sont pris sur un banc Kofler.

Les spectres IR ont été réalisés sur un spectrophotomètre Perkin Elmer 398.

Les spectres de RMN ont été déterminés sur un appareil JEOL C 60 HL PMX 60 en utilisant le TMS en référence interne. La position des bandes est donnée en valeur de δ . Les mesures de radioactivité spécifique ont été effectuées dans un scintillateur liquide Mark II Nuclear Chicago par la méthode du standard externe.

Les chromatographies sur couches minces des produits radioactifs ont été analysées avec un appareil multicanaux BERTHOLD LB 2821.

Les précurseurs radioactifs $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ et $\text{H}^{14}\text{COO Na}$ ont été fournis respectivement par le Service des molécules marquées CEN Saclay et par Amersham.

II. Préparation des précurseurs radioactifs

1/ N-méthyl ^{14}C formanilide.

5 mM de chlorhydrate de N-méthyl aniline et 5 mM de formiate de sodium ^{14}C (28,8 mCi) sont mélangés et chauffés à sec dans un tube fermé, à 160°C, pendant 4 heures.

Le matériel est refroidi, les produits dissous dans le minimum de dichlorométhane, déposés sur colonne de silice et élués par le dichlorométhane.

Les traces d'amines sont éliminées dans les deux premières fractions, le formanilide est élué ensuite. Les fractions regroupées et évaporées sous vide partiel permettent d'isoler 4,25 mM de ce précurseur. L'indice de pureté est supérieur à 99 %.

Activité spécifique : 5,75 mCi/mM.

2/ Iodure de méthyle ^{14}C
.....

L'iodure de méthyle ^{14}C est préparé selon une technique classique (18).

L'activité obtenue est : 5 mCi/mM.

III. Marquage en position 1.

1/ Bromo-1 diméthoxy-2,6 naphthalène
.....

A une solution de 10 mM de diméthoxy-2,6 naphthalène dans 150 ml de CCl_4 , on ajoute goutte à goutte 10 mM de brome en solution dans 5 ml de CCl_4 .

Après 3 heures à la température ordinaire, on filtre le milieu réactionnel. Le résidu solide correspond à des produits polybromés. Le filtrat est concentré sous pression réduite, le solide blanc obtenu est utilisable pour la suite des réactions. Rdt 95 %.

F = 126°(litt.(19) : F = 126-128°C)

CCM Silice Merck Si 60 F 254, éluant CHCl_3 , Rf = 0,65

IR (KBr) 2820 à 2960 cm^{-1} (CH_3), 1600 cm^{-1} (C = C)

R M N (CDCl_3) : 3,80 $\underline{\underline{s}}$ (OCH_3). 3,90 $\underline{\underline{s}}$ (OCH_3).

6,90 à 8,16 $\underline{\underline{m}}$ ($\text{H}_3, \text{H}_4, \text{H}_5, \text{H}_7, \text{H}_8$).

2/ Diméthoxy-2,6 [^{14}C] formyl-1 naphthalène
.....

A une solution refroidie à -60°C , de 5 mM du dérivé bromé précédent dans 30 ml de THF fraîchement distillé sur sodium, on ajoute 5 mM de n-BuLi dans l'hexane. L'échange est poursuivi sous agitation pendant 3 minutes et le milieu jaune clair devient vert. On ajoute goutte à goutte, à cette température, 4,25 mM de ^{14}C N-méthyl formanilide dans 5 ml de THF. On laisse remonter la température à 0°C en une heure, hydrolyse par HCl N (20 ml) et extrait par l'éther. On sèche la phase étherée et concentre sous pression réduite. Le résidu est déposé sur colonne de silice, après solubilisation dans le dichlorométhane. L'élution est menée par le dichlorométhane.

Les deux premières fractions permettent d'isoler le produit de départ, les fractions suivantes contiennent le composé attendu. Rdt : 2,97 mM (70 % par rapport au précurseur marqué).

Le produit est identifié par comparaison de ses caractéristiques physicochimiques avec celles de la littérature (12).

3/ ^{14}C formyl-1 hydroxy-2 méthoxy-6 naphthalène.

La déméthylation de l'éther précédent est réalisée par le chlorure d'aluminium (1,3 g) dans le dichlorométhane (90 ml). Après avoir agité la suspension pendant 10 à 15', on ajoute goutte à goutte le dérivé méthoxylé (2,97 mM) en solution dans le dichlorométhane. L'avancement de la réaction est contrôlé par CCM (Silice Si 60 Merck F 254, éluant chloroforme et chloroforme éthanol 98/2). Après 12 heures de réaction, on traite à l'acide chlorhydrique et extrait par le chloroforme. La phase chloroformique est épuisée à la soude. La phase aqueuse basique obtenue est neutralisée par l'acide chlorhydrique et extraite par le chloroforme. La phase organique est séchée, puis évaporée sous pression réduite pour laisser 2,16 mM (Rdt : 73 %) de ^{14}C formyl-1 hydroxy-2 méthoxy-6 naphthalène directement utilisable pour la réaction suivante.

Le composé est identifié par comparaison aux données précédemment décrites (12).

4/ ^{14}C [1] méthoxy-7 nitro-2 naphto [2,1-b] furanne.

A une solution du dérivé formylé (2,16 mM) dans le méthanol (60 à 70 ml), on ajoute 14 mM de fluorure de potassium et 5 mM de bromo nitro méthane. On maintient sous agitation pendant 9 h à la température ordinaire et 12 h au reflux, en contrôlant l'avancement de la réaction par CCM (silice Merck Si 60 F 254, éluant CHCl_3).

Le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite, le résidu repris par du chloroforme et déposé sur colonne de silice, l'éluion étant menée par le chloroforme. Les fractions contenant le produit sont regroupées pour fournir 1,75 mM de ^{14}C [1] méthoxy-7 nitro-2 naphto [2,1-b] furanne (Rdt : 80 %).

Identification : Elle a été réalisée par comparaison à un échantillon authentique.

F = 187-190°C

CCM homogène silice Merck Si 60 F 254, éluant CHCl_3 et CHCl_3 ,
EtOH (98 : 2), Rf : 0,65 et 0,90

I R (KBr) cm^{-1} : 3080 à 3125 ($= \overset{\text{H}}{\text{C}}$), 2820 à 2960 (CH_3),
1660 et 1580 ($\text{C} = \text{C}$), 1540 et 1350 (NO_2)

RMN (CDCl_3) 3,90 s, 3 p (O CH_3) 7,16 à 7,36 m, 2 p
(H_6, H_8) : 7,36 à 8 m, 4 p ($\text{H}_1, \text{H}_4, \text{H}_5, \text{H}_9$).

IV. Marquage du groupe méthoxyle.

A l'aide d'une rampe à vide, on ajoute 2,50 mM d'iodure de méthyle ^{14}C à une solution de 2,75 mM d'hydroxy-7 nitro-2 naphto [2,1-b] furanne (5) et 2,75 mM de carbonate de potassium dans 20 ml d'un mélange eau-acétone (1/1).

Le réacteur est isolé de la rampe, fermé hermétiquement et chauffé pendant 12 h à 50°C.

Après évaporation du solvant, le résidu solubilisé dans le chloroforme est chromatographié sur colonne de silice (éluant : chloroforme). On isole 1,5 mM de ^{14}C méthoxy-7 nitro-2 naphto [2,1-b] furanne (Rdt : 60 % par rapport à l'iodure de méthyle ^{14}C).

BIBLIOGRAPHIE

1. ROYER R., BUISSON J.P., RENE L., CAVIER R. et LEMOINE J.,
Eur. J. Med. Chem., 1978, 13, 407-409.
2. CAVIER R., BUISSON J.P., LE MOINE J. et ROYER R.,
Eur. J. Med. Chem., 1981, 16, 73-76.
3. CAVIER R., BUISSON J.P. et ROYER R.,
Eur. J. Med. Chem., 1982, 17, 91-92.
4. EINHORN J., DEMERSEMAN P., RENE L., ROYER R. et CAVIER R.,
Eur. J. Med. Chem., 1983, 18, 79-84.
5. BUISSON J.P., LAMOTTE G., DEMERSEMAN P., ROYER R. et CAVIER R.,
Eur. J. Med. Chem., 1983, 18, 169-174.
6. EINHORN J., DEMERSEMAN P., ROYER R. et CAVIER R.,
Eur. J. Med. Chem., 1983, 18, 175-180.

7. EINHORN J., DEMERSEMAN P., ROYER R. et CAVIER R.,
Eur. J. Med. Chem., 1983, 18 , 233-234.
8. AMGAR A., CAVIER R., BUISSON J.P. et ROYER R.
Ann. Pharm. Fr. , sous presse.
9. EINHORN J., LAMOTTE G., BUISSON J.P., DEMERSEMAN P. et
ROYER R.
Eur. J. Med. Chem. , sous presse.
10. BUISSON J.P., ROYER R. et GAYRAL P.,
Eur. J. Med. Chem., sous presse.
11. ROYER R., et BUISSON J.P.,
Brevet Français n° 8002354 du 4 Février 1980.
12. ROYER R. et BUISSON J.P.,
Eur. J. Med. Chem., 1980, 15 , 275-278.
13. WEILL-THEVENET N., BUISSON J.P., ROYER R. et HOFNUNG M.
Mutation Res., 1981, 88 , 355-362.
14. NOCENTINI S., COPPEY J., BUISSON J.L. et ROYER R.
Mutation Res., 1981, 90 , 125-135.
15. WEILL-THEVENET, BUISSON J.P., ROYER R. et HOFNUNG M.,
Mutation Res., 1982, 104 , 1-8.
16. AVERBECK D., MORADI M., BUISSON J.P. et ROYER R.,
C.R. Acad. Sci., 1982, 295 (III), 181-184.
17. GOLDE A., ROUILLARD D., BUISSON J.P. et ROYER R.,
Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1983, 23 , 328-331.
18. Organic Synthese with Isotopes. Part I.
A. MURRAY, D.L. WILLIAMS, p. 861.
INTERSCIENCE PUBLISHERS, INC, NEW YORK, 1958.
19. RICHIER J.C. et ROSSI A., Can. J. Chem., 1969, 47 ,
3935-3940.