

SYNTHÈSE DU MÉTABOLITE DE L'INSECTICIDE DELTAMÉTHRINE : ALCOOL HYDROXY-5
PHENOXY-3 BENZYLIQUE ET DE SON DÉRIVÉ MÉTHOXY-5 DÉUTÉRIÉS ET TRITIÉS

DO-CAO-THANG, NGUYEN-HOANG-NAM *, H. HOELLINGER et NGUYEN-NGOC-QUANG

Laboratoire de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques - Unité
Associée au CNRS en Développement Concerté avec l'INSERM (UA-400), 45 rue des
Saints-Pères, 75270 PARIS Cedex 06, France.

SUMMARY

Partial hydrolysis of LiBH_4 with deuterated, tritiated water in THF solution provided a simple and cheap method for the preparation of deuterated, tritiated alcohols by reduction of esters : (α - ^2H) and (α - ^3H) 5-methoxy-3-phenoxybenzyl alcohol, 5-hydroxy 3-phenoxybenzyl alcohol (metabolite of deltamethrin, the pyrethroid insecticide).

Key Words : Deuterium, Tritium, Pyrethroid, Deltamethrin, Phenoxybenzyl alcohol.

INTRODUCTION

Les pyréthrinoides sont de puissants insecticides de synthèse largement utilisés tant en agriculture que dans le domaine phytosanitaire. Le devenir de ces composés a été étudié aussi bien chez l'insecte que chez l'oiseau ou le mammifère. Il a été montré, lors du métabolisme chez le rat, que des résidus persistaient au niveau du foie (1,2). La liaison covalente de ces résidus au niveau hépatique a été récemment développée (3,4,5). La poursuite de cette étude avec la Deltaméthrine et la Cyperméthrine est en cours actuellement.

Pour tenter de comprendre le mécanisme de son activation, de déterminer les protéines cibles et la nature de l'adduit il est nécessaire de disposer non seulement de composés parents mais aussi de métabolites marqués.

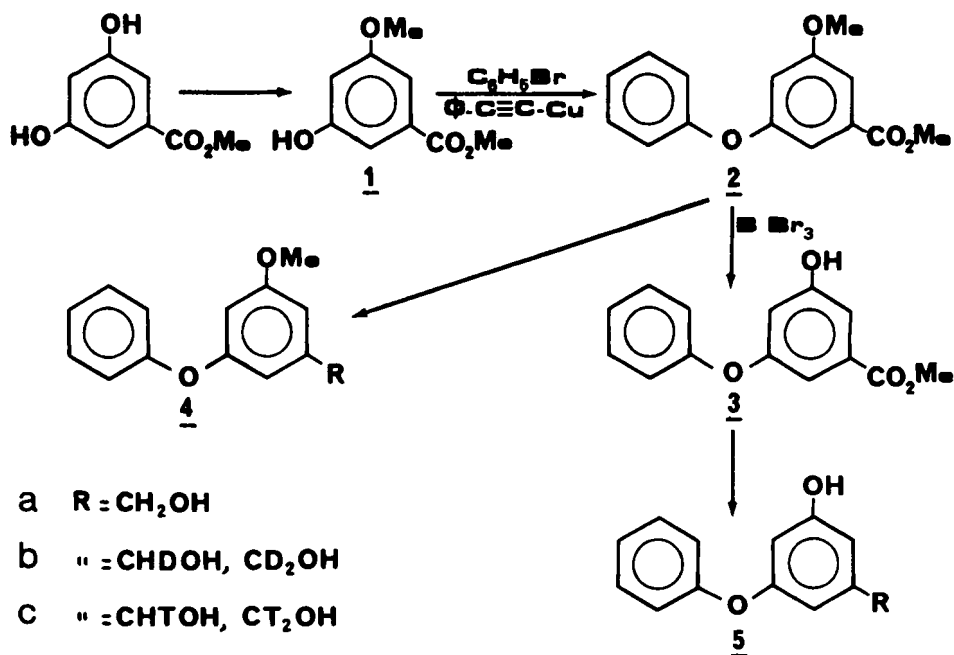
* To whom requests should be addressed.

Le présent travail décrit la synthèse du métabolite présumé commun à la Deltaméthrine et à la Cyperméthrine et de son dérivé méthoxylé marqué au deutérium et au tritium. Il fait suite aux préparations de métabolites marqués au carbone 14 (6).

RESULTATS ET DISCUSSION

Le présent mémoire décrit la méthode de préparation d'un autre métabolite de la deltaméthrine, l'alcool hydroxy-5 phénoxy-3 benzylique 5 et de son dérivé méthoxylé 4 marqués au deutérium et au tritium, selon le schéma I.

SCHEMA I



L'hydroxy-3 méthoxy-5 benzoate de méthyle 1 a été obtenu aisément par O-méthylation du dihydroxy-3,5 benzoate de méthyle selon (7). Afzali et al. (8) ont préparé des diaryl éthers, avec de bons rendements, par condensation du phénol avec le bromobenzène en présence de phénylacétylure de cuivre comme agent de la réaction d'Ullmann, ce réactif étant facile à obtenir et très stable (9). Nous avons adopté cette méthode pour accéder au méthoxy-5 phénoxy-3 benzoate de méthyle 2. Après plusieurs essais, la déméthylation de ce dernier pour donner l'hydroxy-5 phénoxy-3 benzoate de méthyle 3 a été réalisée avec le tribromure de bore qui a donné le meilleur rendement (74 %).

Cornforth (10) a décrit une méthode de préparation d'alcools tritiés par réduction des composés carbonylés avec le borohydrure de lithium (LiBH_4) partiellement hydrolysé avec de l'eau tritiée. En adaptant cette méthode nous avons pu réduire les deux esters 2 et 3 avec du LiBH_4 dans le THF partiellement hydrolysé avec de l'eau deutériée ou tritiée, en alcools deutériés 4b, 5b ou tritiés 4c, 5c. Les esters 2 et 3 ont été aussi réduits avec de l'hydrure de lithium aluminium (LiAlH_4) pour donner les alcools 4a et 5a utilisés comme produits témoins.

Les différents alcools obtenus ont été purifiés par chromatographie en couche mince préparative.

Leur structure, leur pureté chimique et radiochimique ont été contrôlées par chromatographie en couche mince (CCM), chromatographie liquide à haute performance (CLHP), par spectrométrie ultraviolette (UV), par résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton et du tritium et par spectrométrie de masse (SM).

L'introduction du deutérium ou du tritium se fait uniquement sur le carbone α de la fonction alcool : l'enrichissement en deutérium est d'environ 21 à 24 % pour 4b et 17 à 19 % pour 5b ; l'activité spécifique de 4c est de 6 Ci/mmol et celle de 5c, 1,2 Ci/mmol.

En conclusion, le présent travail confirme les résultats obtenus par Cornforth (4) et met en évidence l'intérêt de cette méthode simple et peu coûteuse de préparation d'alcools deutériés ou tritiés par réduction des esters correspondants avec le LiBH_4 partiellement hydrolysé avec de l'eau marquée.

PARTIE EXPERIMENTALE

La CCM a été effectuée sur des plaques finies de gel de silice Merck 60 F 254, analytiques et préparatives. La CLHP a été réalisée avec les appareils Waters : pompe 590, injecteur U6K, détecteur UV à bande variable 481 ; détecteur radioactivité Berthold LB 510. Les spectres UV ont été obtenus au moyen d'un spectromètre Beckman DK-2A. Les spectres de RMN ont été enregistrés soit sur un appareil Bruker 250 MHz pour le proton, soit sur un appareil Bruker 106 MHz pour le tritium. Les SM ont été effectués par introduction directe du produit dans la source d'un spectromètre Varian CH 7.

Hydroxy-3 méthoxy-5 benzoate de méthyle 1 :

Obtenu par O-méthylation du dihydroxy-3,5 benzoate de méthyle selon (7). Il est purifié par chromatographie liquide sur colonne de gel de silice 60H Merck à basse pression (éluant = C_6H_6 - AcOEt 80:20), analysé par CCM (Tableau I) et RMN.

TABLEAU I

CCM - Révélateur = UV

Produits	Solvants - Rf				
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
<u>1</u>	0,30	0,44	0,49	0,16	0,17
<u>2</u>	0,56	0,59	0,63	0,31	0,52
<u>3</u>	0,39	0,48	0,53	0,19	0,24
<u>4</u>	0,28	0,39	0,47	0,12	0,17
<u>5</u>	0,11	0,15	0,30		

(a) C₆H₆-AcOEt 80:20 ; (b) C₆H₆-AcOEt-MeOH 75:22:3 ;
(c) C₆H₆-Dioxane-AcOH 75:22:3 ; (d) Hexane-Ether-HCOOH 60:38:2 ;
(e) Hexane-Cl₂CH₂-AcOEt 40:50:10.

Méthoxy-5 phénoxy-3 benzoate de méthyle 2 :

Un mélange de 10 mmol de 1, 5 mmol de phénylacétylure de cuivre (9) dans 25 ml de pyridine anhydre est refluxé sous atmosphère d'azote pendant 8 h. On ajoute 5 mmol de bromobenzène et la solution est de nouveau portée au reflux pendant 12 h. Après traitement, extraction à l'éther et purification comme précédemment (éluant = hexane-CH₂Cl₂- AcOEt 40:50:10) on obtient 30 % de 2.

CMM = Tableau I.

RMN (CDCl₃) = 3,38 (s, 3H, CH₃), 3,41 (s, 3H, CH₃) 6,20-6,80 (m, 8H, Ar).Hydroxy-5 phénoxy-3 benzoate de méthyle 3 :

A la solution de 2 (155mg, 0,6 mmol) dans 2 ml de CH₂Cl₂ anhydre refroidie à - 10 °C et sous atmosphère d'azote on ajoute 0,66 mmol de BBr₃ dans 1 ml de CH₂Cl₂ anhydre. Le mélange est agité et maintenu à - 10 °C pendant 10 min, évaporé à sec puis traité avec du méthanol anhydre. Le produit brut 3 est purifié par CCM préparative (C₆H₆-AcOEt 60:10), Rdt = 74 %.

CCM = Tableau I.

RMN (CDCl₃) = 3,86 (s, 3H, CH₃), 6,80-7,90 (m, 8H, Ar).

Alcool méthoxy-5 phénoxy-3 benzylique (α - ^2H) 4b :a) Préparation de LiBH_4 deutérié :

On ajoute 12 μl d'oxyde de deutérium (> 99 %, 0,65 mmol) à 1 ml d'une solution titrée de LiBH_4 dans le THF anhydre (0,6 mmol). La solution est refluxée pendant 30 min : il se forme un précipité blanc, le mélange est refroidi et utilisé directement pour la réduction.

b) Réduction :

Une solution de 52 mg (0,20 mmol) d'ester 2 dans 1 ml d'éther anhydre est ajoutée au mélange réducteur et refluxée pendant 1 h. On laisse refroidir, hydrolyse avec 5 ml d'eau, agite pendant 15 min et évapore à sec. On enlève les deutériums labiles par évaporation à sec de la solution éthanolique. Les microcristaux incolores obtenus sont dissous dans de l'eau, et la solution est acidifiée avec HCl 10 %. Après extraction à l'éther, lavages et évaporation à sec on obtient 48 mg d'alcool brut 4b qui est purifié par CCM préparative (C_6H_6 -AcOEt-MeOH 85:13:2), Rdt : 51 %. L'analyse par RMN montre qu'on a 24 % d'incorporation du deutérium uniquement en α de la fonction alcool, et le SM donne 21 % d'enrichissement isotopique avec un mélange d'alcools mono et dideutériés. CCM = Tableau I.

RMN (CDCl_3) = 1,84 (s, H, OH), 3,75 (s, 3H, OCH_3), 4,59 (s, 2H, CH_2), 6,48-7,38 (m, 8H, Ar)

SM = m/e 230 (M+ 100 %), 231 (M+1 67,6 %), 232 (M+2 16,6 %)

Alcool méthoxy-5 phénoxy-3 benzylique (α - ^3H) 4c :a) Préparation de LiBH_4 tritié :

L'eau tritiée est obtenue par réduction de PtO_2 , H_2O (30 mg) dans le THF anhydre (2 ml) avec du tritium gaz (25 Ci, 1 Ci = 37 GBq). A l'eau tritiée ainsi préparée, on ajoute 0,6 ml d'une solution titrée de LiBH_4 (1 M) dans le THF anhydre. Le mélange est refluxé pendant 30 min.

b) Réduction :

La réduction de l'ester 2 (0,20 mmol) dans 1 ml d'éther anhydre se fait comme pour le produit deutérié.

Après traitement et purification par CCM préparative comme précédemment, on obtient 118 mCi (1 mCi = 37 MBq) de 4c dans 118 ml d'éthanol, AS = 6 Ci/mmol.

Son spectre de RMN- ^3H montre que le produit est marqué uniquement sur le carbone de la fonction alcool, avec 82 % de CTH et 18 % de CT_2 .

La pureté chimique et radiochimique, contrôlée par CCM, spectrométrie UV et CLHP, est supérieure à 98 %.

CCM = Tableau I.

UV (EtOH) = λ_{max} 277 nm, min. 254 nm.

CLHP phase inverse = Colonne Prolabo silice greffée C18 ODS, MeOH (65) - H_2O (35), 1,5 ml/min, détection = UV et radioactivité, temps de rétention = 7 min. 22 sec.

Alcool hydroxy-5 phénoxy-3 benzylique (α - ^2H) 5b :

Préparé à partir de 0,16 mmol d'ester 3.

CCM = Tableau I.

RMN (CDCl_3) = 17 % d'incorporation du deutérium uniquement en α de la fonction alcool.

SM = 19 % d'enrichissement isotopique ;

m/e 216 (M+ 100 %), 217 (M+1 63,2 %), 218 (M+2 13,4 %)

Alcool hydroxy-5 phénoxy-3 benzylique (α - ^3H) 5c :

Préparé à partir de 0,13 mmol d'ester 3. Après purification on obtient 41 mCi de 5c dans 12 ml d'éthanol, AS = 1,2 Ci/mmol, avec une pureté chimique et radiochimique supérieure à 98 %.

CCM = Tableau I.

UV (EtOH) = λ_{max} . 277 nm, min. 253,5 nm.

RMN- ^3H ($\text{DMSO } d_6$) = marquage uniquement sur la fonction alcool, avec 88 % de CTH et 12 % CT₂.

CLHP = mêmes conditions que pour 4c, temps de rétention = 3 min. 48 sec.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement la Direction du Service des Molécules Marquées du C.E.N. à Saclay : Messieurs A. VANHOVE, Chef de Service et J.B. BEAUCOURT, Responsable Scientifique, d'avoir bien voulu nous accueillir (DCT, NHN) et de nous faire bénéficier de toutes les installations du Service.

REFERENCES

- 1 - K. UEDA., L.C. GAUGHAN, and J.E. CASIDA,
Pestic. Biochem. Physiol., 1975, 5, 280-294.
- 2 - A.J. GRAY., T.A. CONNORS., H. HOELLINGER., and NGUYEN-HOANG-NAM.
Pestic. Biochem. Physiol., 1980, 13, 281-293.
- 3 - C. GRAILLOT., and H. HOELLINGER.
Toxicol. Appl. Pharmacol., 1982, 66, 313-318.
- 4 - H. HOELLINGER., M. SONNIER., J. PICHON., A. LECORSIER., DO-CAO-THANG,
and NGUYEN-HOANG-NAM
Toxicol. Lett., 1983, 19, 179-187.
- 5 - H. HOELLINGER, M. SONNIER, A.J. GRAY, T.A. CONNORS, J. PICHON, and
NGUYEN-HOANG-NAM.
Toxicology and Applied Pharmacology., 1985, 77, 11-18.
- 6 - DO-CAO-THANG., NGUYEN-HOANG-NAM., H. HOELLINGER et L. PICHAT.
J. Label. Comp. and Radiopharm., 1985, 22, 755-760.

- 7 - L. CROMBIE and S.V. JAMIESON.
J. Chem. Soc. Perkin, Trans. I., 1982, 1467-1475
- 8 - A. AFZALI et al.
Synthetic Comm., 1983, 13, 335-339.
- 9 - R.D. STEPHENS and C.E. CASTRO.
J. Org. Chem., 1963, 28, 3313-3315.
- 10 - R.H. CORNFORTH.
Tetrahedron., 1974, 30, 3933-3934.