

Synthèse d'un herbicide tritié à forte activité spécifique : le Thifensulfuron méthyle

J. Bastide et F. Ortega
GERAP URA CNRS 461 Centre de Phytopharmacie
Université de Perpignan 52, Avenue de Villeneuve
66860 Perpignan France

SUMMARY

In order to study the binding on acetolactate synthase, a tritiated herbicide sulfonylurea (thifensulfuron methyl) of high specific activity was synthesized. By use of C^3H_3I for esterification of an acid group, a rapid incorporation of tritium into this compound may be achieved.

Key words : herbicide, thifensulfuron methyl, sulfonylurea.

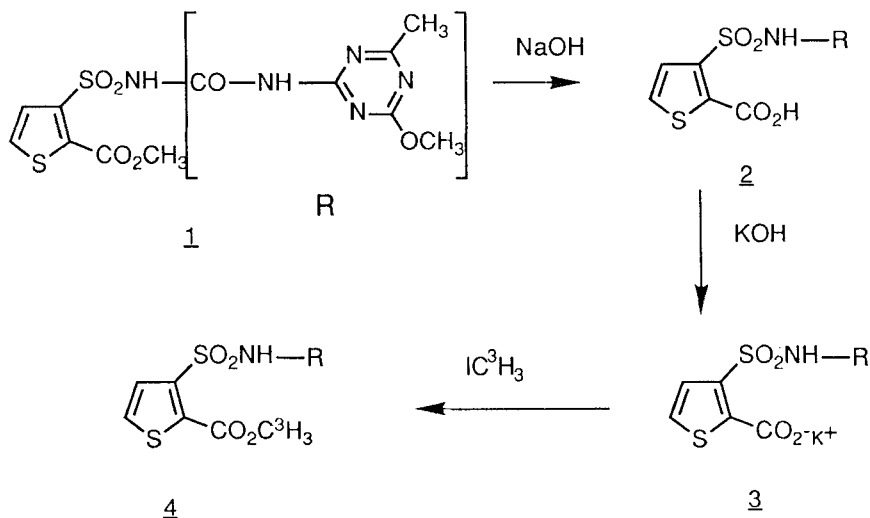
INTRODUCTION

Les sulfonylurées sont des herbicides qui agissent sur une enzyme intervenant dans la biosynthèse des acides aminés : l'acétolactate synthase (1). Cette enzyme est peu abondante dans les plantes et instable (2). Pour préciser le mode de fixation de ces inhibiteurs, des essais de liaison avec l'enzyme ont été réalisées avec des ^{14}C sulfonylurées. Si, avec une enzyme bactérienne, les quantités d'enzymes obtenues permettent d'avoir des résultats assez satisfaisants (3); avec l'enzyme végétale le faible taux de fixation observé pose des problèmes pour l'analyse des résultats (4). Il paraît donc intéressant de disposer d'une sulfonylurée à forte activité spécifique pour ces études.

RESULTATS ET DISCUSSION

Nous avons choisi comme sulfonylurée le thifensulfuron méthyle 1 (TFM) car ce produit permet d'obtenir facilement l'acide correspondant le

thifensulfuron 2 (5). Cet acide peut être ensuite traité sous forme de sel de potassium 3 par l'iodure de méthyle tritié pour conduire à l'ester correspondant 4.



La réactivité du sel de potassium avec l'iodure de méthyle est fonction de deux paramètres: le solvant et la concentration. Pfiffer et Silbert (6) ont mis en évidence une relation entre la solvation du contre-ion et la réactivité du carboxylate. Owensky (7) a part ailleurs décrit l'influence favorable de solvants aprotiques dipolaires sur la solvation de l'ion potassium. Le solvant donnant les meilleurs résultats est le diméthylformamide (DMF), toutefois l'iodure de méthyle tritié étant préparé dans le toluène on doit utiliser un mélange toluène-diméthylformamide. L'influence de la composition de ce mélange sur le rendement de la réaction a été étudié (tableau 1).

Tableau 1 : Rendement de la synthèse du thifensulfuron méthyle en fonction de la proportion relative de toluène et de DMF dans le milieu réactionnel ([ICH₃] = 1,55 mM; [TFM] = 4,64 mM; 22°C; 10 jours).

Toluène/DMF (en %)	80/20	65/35	50/50	35/65
Rendement (en%)	25,5	40,2	60,3	100

L'introduction de toluène dans le milieu réactionnel diminue nettement le rendement de la réaction. Une proportion de 50% de DMF est nécessaire pour

avoir un rendement satisfaisant. L'augmentation de cette proportion de DMF augmente la dilution du milieu réactionnel, nous avons donc étudié l'influence de cette dilution sur le rendement (tableau 2).

Tableau 2 : Rendement de la synthèse du thifensulfuron méthyle en fonction de la concentration des réactifs en solution dans un mélange toluène/DMF 52/48 (concentration en TFM = 3 fois la concentration en ICH₃; 10 jours à 22°C).

[ICH ₃] en mM	0,81	0,37	0,25	0,19	0,08
Rendement %	72	52	44	38	24

La dilution entraîne une diminution du rendement. Un compromis a donc dû être trouvé entre dilution et proportion de DMF dans le milieu réactionnel. A partir d'un conditionnement spécifique de C³H₃I réalisé par Amersham avec une concentration de 3,7 TBq mL⁻¹ dans le toluène, nous avons fait une dilution avec le DMF pour avoir une proportion 52/48 toluène/DMF.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les échantillons radioactifs sont comptés sur un spectromètre Intertechnique SL 2000 en utilisant du Dynagel (Baker) comme scintillant liquide. Les plaques chromatographiques sont analysées avec un système Berthold modèle LB 283. Le rendement des réactions avec les produits non radioactifs sont déterminés par HPLC (colonne Ultrabase C8, éluant acétonitrile/eau/acide acétique: 60/40/0,5; débit 1 ml/mn; λ mesure 254 nm)

Synthèse du Thifensulfuron 2.

1 (0,1 g) est dissout dans l'eau (10 mL) et une solution de NaOH (0,2M, 25 mL) est ajoutée. Après 1 h à la température ambiante, le mélange est neutralisé par l'acide chlorhydrique. La solution est extraite par l'acétate d'éthyle (3x20 mL), séchée et évaporée pour donner 2 (0,08g, 80%), p.f. 179°C ¹H NMR (δ ppm) : 2,52 (s, CH₃) , 4,05 (s, OCH₃) , 7,72 (d, CH=) , 7,94 (d, CH=) , 9,75 (s, NH). ¹³C NMR (δ ppm) : 25,2 (CH₃), 55,2 (OCH₃), 131,1 (C4 thiophène), 131,6 (C5 thiophène), 135,8 (C3 thiophène), 140,8 (C2 thiophène), 149,1 (C1 triazine), 160,6 (CO₂H), 163,9 (C5 triazine), 170,1 (NHCONH), 178,4 (C3 triazine).

Synthèse du sel de potassium du Thifensulfuron 3.

2 (2.4 mg) sont dissout dans 1,1 mL d'acétone, on rajoute 0,55 mL de solution méthanolique de KOH (1 g L⁻¹). On évapore à sec au rotavapor. le résidu obtenu est repris par 0,916 mL de diméthylformamide et cette solution est utilisée directement pour l'étape ultérieure.

Synthèse du Thifensulfuron méthyle tritié 4.

A la solution de C³H₃I (370MBq, 0,117 µmole) dans le toluène (100µL) à -20°C, on rajoute le sel de potassium du thifensulfuron 3 (0,35 µmole) en solution dans le diméthylformamide sec (90 µL). La solution est laissée 12 jours à 22°C. Elle est alors déposée sur plaque de silice préparative (Merck) et éluée par un mélange acétate d'éthyle-acide acétique 99,5/0,5 Rf = 0,39. La zone correspondante au thifensulfuron méthyle est récupérée et le produit est désorbé de la silice par l'acétonitrile (2x1,8 mL). La pureté du produit est contrôlée par radio-CCM (plaque silice Merck éluant acétate d'éthyle-acide acétique 99,5/0,5 Rf = éluant acétate d'éthyle/méthanol/acide acétique: 80/20/0.5. Rf = 0,62. On obtient 4 (6,98 nmoles, 22 MBq, Rdt 6%, activité spécifique 3,15 TBqmole⁻¹).

REFERENCES

- 1- Ray T.B. - Plant Physiol. 75 : 827 (1984).
- 2- Muhitch M.J., Shaner L.D. and Stidham M.A. - Plant Physiol. 83: 451 (1987).
- 3- LaRossa R.A. and Schloss J.V. - J. Biol. Chem. 259 : 8753 (1984).
- 4- Durner J., Gailus V. and Borger P. - Plant Physiol. 95 : 1144 (1991).
- 5- Smith A.E., Sharma M.P. and Aubin A.J. - Can.J.Soil Sci. 70 : 485 (1990).
- 6- Pfeffer P.E. and Silbert L.S. - J.Org. Chem.41 : 1373 (1979).
- 7- Owersby D.A., Parker A.J. and Diggle J.W. - J.Am.Chem.Soc. 96 : 2682 (1974).