

## NOTES

SYNTHÈSE DE LA BETA-NAPHTOFLAVONE  $^{14}\text{C}$ -4 OU  $^{14}\text{C}$ -5 A PARTIR DE L'ACIDE PHENYLPROPIOLIQUE (CARBOXYLE  $^{14}\text{C}$ ) OU DU  $\beta$ -NAPHTOL  $^{14}\text{C}$ -8 \*

NGUYEN-HOANG NAM, DO-CAO THANG, P. QUEVAL\*\* et L. PICHAT\*\*\*

INSERM - Unité de Recherche de Toxicologie Expérimentale  
Hôpital F. Widal, 200 rue du Faubourg Saint-Denis  
75475 PARIS Cedex 10 (FRANCE)

\*\* Laboratoire de Pathologie Pleuropulmonaire, F.R.A. 16  
INSERM - Hôpital Laennec, 42 rue de Sèvres - 75007 PARIS

\*\*\* Service des Molécules Marquées - CEN-SACLAY  
BP N° 2 - 91190 GIF-SUR-YVETTE (FRANCE)

## SUMMARY

Carbonation with  $^{14}\text{CO}_2$  of phenylethynyl-lithium has given rise to (carboxyl- $^{14}\text{C}$ ) phenylpropionic acid with 75 % yield based on  $^{14}\text{CO}_2$ . The latter condensed with 2-naphthol by treating with polyphosphoric acid afforded (4- $^{14}\text{C}$ )  $\beta$ -naphthoflavone, purified by silica-gel low pressure liquid chromatography; 22 % overall yield based on  $^{14}\text{CO}_2$ , SA = 13 mCi/mM. Similar run of 2-(8- $^{14}\text{C}$ ) naphthol with phenylpropionic acid gave (5- $^{14}\text{C}$ )  $\beta$ -naphthoflavone; 28 % yield based on radioactive 2-naphthol, SA = 7.2 mCi/mM.

Key words : (Carboxyl- $^{14}\text{C}$ ) Phenylpropionic acid, (4- $^{14}\text{C}$ )  $\beta$ -Naphthoflavone, (5- $^{14}\text{C}$ )  $\beta$ -naphthoflavone, microsomial enzymes induction-lungs.

La  $\beta$ -naphthoflavone ou benzo-5,6 flavone est un excellent inducteur d'enzymes microsomiales de différents tissus, en particulier au niveau du tissu pulmonaire (1,2).

Par ailleurs, dès 1976 nous avons montré que cette molécule, qui ne possède pas de propriétés cancérogènes ni mutagènes connues, est cependant capable d'accélérer l'apparition des tumeurs

\* Ce travail fait l'objet d'un contrat ATP n° 64.78.96-11 de l'INSERM. Il est effectué au Service des Molécules Marquées, CEN-SACLAY.

chez le rat en phase de latence de cancers pulmonaires induits par le radon-222 (3,4). On pouvait alors se demander dans quelle mesure l'inhalation de radon n'a pas provoqué une modification de l'équipement enzymatique microsomal favorisant la formation ou la rétention d'un métabolite cancérigène.

Dans cet ordre d'idée, il nous a paru intéressant de comparer le métabolisme de cette molécule dans le poumon normal et dans le poumon précancéreux.

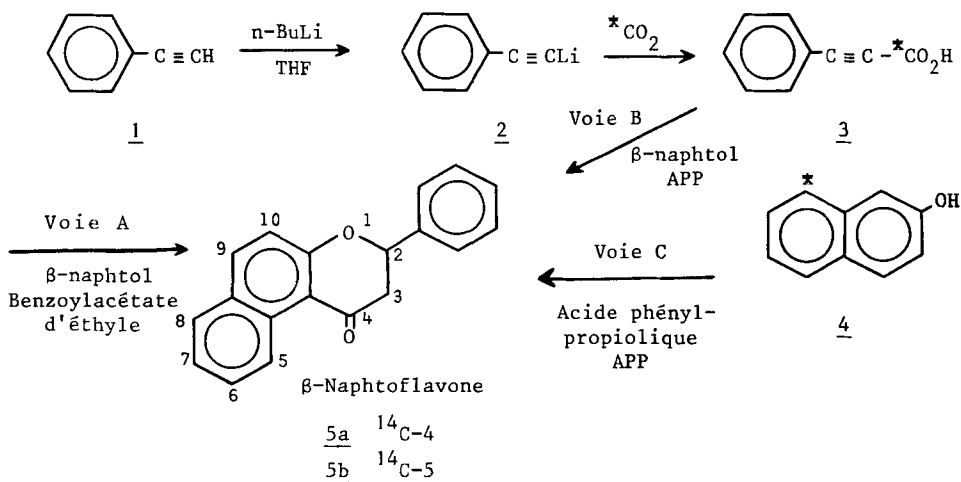
Or, pour une telle étude, il est indispensable d'utiliser le produit marqué au carbone 14.

A notre connaissance, la  $\beta$ -naphtoflavone marquée au  $^{14}\text{C}$  n'est pas encore décrite dans la littérature.

Nous avons préparé ce dérivé flavonique non radioactif selon Pillon et Massicot (5) en condensant le  $\beta$ -naphtol avec le benzoylacétate d'éthyle (Schéma I, voie A).

Comme cette méthode n'est pas facilement adaptable à une microsynthèse radioactive, nous avons préféré adopter celle décrite par Hasebe (6) qui consiste à chauffer un mélange de  $\beta$ -naphtol et d'acide phénylpropionique en présence d'acide polyphosphorique (APP). Ainsi à partir de deux matières premières radioactives différentes, cette méthode nous a permis d'accéder à la  $\beta$ -naphtoflavone marquée au  $^{14}\text{C}$  sur deux positions, l'une dans le noyau du pyrane et l'autre, dans celui du naphthalène (Schéma I)..

Schéma I



Ce qui offre un avantage appréciable pour la poursuite de notre travail, car le fait de disposer d'un produit marqué convenablement à deux positions différentes aiderait beaucoup à la compréhension de la biotransformation de cette substance.

La  $\beta$ -naphtoflavone  $^{14}\text{C}$ -4 a été préparée, par la voie B, à partir de l'acide phénylpropionique (carboxyle  $^{14}\text{C}$ ) qui, à notre connaissance, n'est pas décrit dans la littérature. La lithiation du phénylacétylène 1 par action de n-BuLi dans le THF à la température ambiante (7) fournit le lithien 2. La carbonatation de ce dernier d'abord à 0° C puis à la température ambiante donne l'acide phénylpropionique (carboxyle  $^{14}\text{C}$ ) 3 avec un rendement radiochimique de 75 % par rapport à  $^{14}\text{CO}_2$ . L'acide 3 chauffé avec le  $\beta$ -naphtol et l'APP à 100-105° C pendant 2 h (6) conduit finalement à la  $\beta$ -naphtoflavone  $^{14}\text{C}$ -4 5a avec une pureté radiochimique d'environ 60 %. Elle est purifiée par chromatographie liquide sur colonne à basse pression. Le rendement radiochimique du dérivé flavonique 5a par rapport à l'acide 3 est de 29 %, littérature (6) = 21 %, ou de 22 % basé sur  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ , activité spécifique : 13 mCi/mMole.

La  $\beta$ -naphtoflavone  $^{14}\text{C}$ -5 5b a été obtenue, par la voie C, à partir du  $\beta$ -naphtol  $^{14}\text{C}$ -8 4 dont la synthèse a été mise au point dans notre laboratoire (8), activité spécifique : 7,2 mCi/mMole.

Les puretés chimique et radiochimique ont été contrôlées par chromatographie en couche mince, par spectrométrie ultraviolette et de masse.

#### PARTIE EXPERIMENTALE

La chromatographie en couche mince (CCM) a été effectuée sur des plaques finies gel de silice Merck 60 F 254. Les spectres ultraviolets (UV) ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Beckman DK 2 A et les spectres de masse (SM), sur un appareil Varian CH 7 par introduction directe de l'échantillon dans la source.

Tableau I

CCM - Révélateur = UV

Produits	Solvants - Rf					
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)
<u>3</u>	0,65	0,83	0,73		0,06	
<u>4</u>	0,85	0,94		0,91	0,47	0,69
<u>5a</u> , <u>5b</u>	0,92	0,96		0,84	0,73	0,71
(a) C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> - MeOH-AcOH	60:35:5		(d) EtOH - NH <sub>4</sub> OH	99:1		
(b) n-BuOH - AcOH - H <sub>2</sub> O	50:25:25		(e) C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> - MeOH	95:5		
(c) EtOH - NH <sub>4</sub> OH	80:20		(f) C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> - Ether	70:30		

ACIDE PHENYLPROPIOLIQUE (Carboxyle <sup>14</sup>C) 3a) Phényléthynyl-lithium 2

A une solution de 5 mMoles de phénylacétylène dans 5 ml de THF refroidie à 0° C sont ajoutées goutte à goutte, sous agitation et sous atmosphère d'azote sec, 4 mMoles d'une solution de n-BuLi dans l'hexane (2,3 Mole/L). La solution est agitée pendant 15 mn à 0° C, puis 45 mn à la température ambiante.

b) Carbonatation

La solution précédente étant congelée par l'azote liquide, on fait le vide dans le ballon réactionnel puis condense 3 mMoles (39 mCi) de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>. La carbonatation est effectuée à 0° C pendant 30 mn, puis 1 h à la température ambiante. Après hydrolyse par de l'eau, on évapore le THF sous vide et acidifie avec H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>N. L'acide brut est extrait en continu par l'éther et purifié par extraction à l'éther en continu de la solution alcaline. Après acidification de la solution alcaline, l'extraction par l'éther donne 29,3 mCi d'acide 3 (rendement radiochimique = 75 %). Par CCM (Tableau I) on ne détecte qu'une seule tache radioactive.

β-NAPHTOFLAVONE <sup>14</sup>C-4 5a

On mélange les solutions éthanoliques de 1 mMole (13 mCi) d'acide 3 et de 1,2 mMoles de β-naphtol fraîchement purifié par sublimation et évapore à sec. On ajoute 7 mMoles d'acide polyphos-

phorique, chauffe le mélange à 100-105° C avec agitation magnétique pendant 2 h, et laisse refroidir à la température ambiante. Le résidu rouge foncé est repris par de l'eau glacée et la suspension est alcalinisée avec de la soude à 20 %. Une extraction en continu au chloroforme permet de recueillir 7,2 mCi de produit qui contient environ 60 % de β-naphtoflavone <sup>14</sup>C-4 5a.

#### Purification

On purifie le produit précédent par chromatographie liquide sur colonne à basse pression : gel de silice H 60 Merck, élution sous 3 kg de pression avec un gradient du mélange benzène-éther (de 9:1 à 7:3).

On obtient 3,8 mCi de β-naphtoflavone <sup>14</sup>C-4 5a avec un rendement radiochimique de 22 % par rapport à Ba<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> et une activité spécifique de 13 mCi/mMole. Les puretés chimique et radiochimique sont contrôlées par radiochromatographie en couche mince (Tableau I), par spectrométrie UV dans l'éthanol et de masse.

#### β-NAPHTOFLAVONE <sup>14</sup>C-5 5b

La β-naphtoflavone <sup>14</sup>C-5 5b est préparée comme pour le dérivé 5a, à partir de 0,5 mMole (3,6 mCi) de β-naphtol <sup>14</sup>C-8 4 (8), 0,6 mMole d'acide phénylpropionique et 3,5 mMoles d'acide polyphosphorique. Après purification comme précédemment, on obtient 1 mCi de 5b, rendement radiochimique par rapport à 4 : 28 %, AS = 7,2 mCi/mMole.

#### REFERENCES

1. Wattenberg L.W., Leong J.L. et Galbraith A.R. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 127, 467 (1968)
2. Queval P. et Beaumatin J. - Rev. Fr. Mal. Resp., 6, 191 (1978)
3. Morin M., Queval P. et Lafuma J. - Colloque International sur les effets biologiques différés des rayonnements ionisants, A.I.E.A., Vienne 13-17 Mars (1978)
4. Queval P., Beaumatin J., Morin M., Courtois D. et Lafuma J. - soumis pour publication à Biomedecine.
5. Pillon D. et Massicot J. - Bull. Soc. Chim. France, 26 (1954)
6. Hasebe N. - Nippon Kagaku Zasshi, 78, 1102 (1957) ; C.A. 53, 21919<sup>1</sup>
7. Naruse M., Utimoto K. et Nozaki H. - Tetrahedron Letters, 21, 1847 (1973)
8. Nguyen-Hoang-Nam, Nguyen-Dat-Xuong, Herbert M. et Pichat L. - Bull. Soc. Chim. France, 4632 (1967)