

NOTES

SYNTHÈSE DE LA COLCHICINE (MÉTHOXYLE- 1^{14}C)

R. PONTIKIS, NGUYEN-HOANG-NAM, H. HOELLINGER et L. PICHAT*.
INSERM - Unité de Recherche de Toxicologie Expérimentale
Hôpital Fernand Widal, 200 rue du Faubourg Saint Denis
75475 Paris Cedex 10, France.

* Service des Molécules Marquées, CEN-Saclay
91191 GIF-sur-Yvette Cedex, France.

SUMMARY

1-demethylcolchicine obtained by selective demethylation of colchicine was condensed with $(^{14}\text{C})\text{CH}_3\text{I}$ to give (1-methoxy ^{14}C) colchicine 4. After two purifications by silicagel column chromatography 4 was obtained in a 40% yield from $(^{14}\text{C})\text{CH}_3\text{I}$ and a radiochemical purity of 99% (specific activity : 57 mCi/mmole).

Key Words : (1-methoxy ^{14}C)colchicine, metabolism.

La colchicine 1, alcaloïde extrait des graines et bulbes du "Colchicum autumnale", est utilisée depuis des siècles dans le traitement de l'inflammation goutteuse (1) et, plus récemment, contre la maladie périodique (2).

Quoique largement employée en thérapeutique et en dépit de nombreux phénomènes étudiés (interactions avec les tubulines (3), relation structure-activité (4), pharmacocinétique chez l'homme et l'animal (5)...), le mode d'action de la colchicine est encore très mal connu, de même que son métabolisme. Schönharting et al. (6), en utilisant des microsomes de foie de mammifères, ont montré que la colchicine était métabolisée en produits résultant essentiellement de monodéméthylation en position 2 et 3 et très faiblement en position 10 (colchicéine).

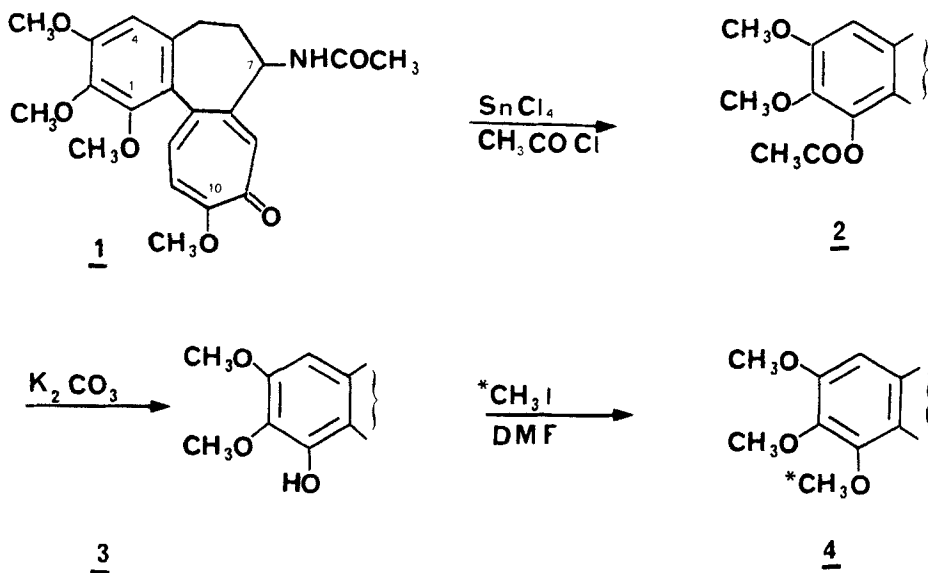
Hunter et al. (7), en étudiant la biotransformation "in vivo" de ce médicament chez différents mammifères, ont également mentionné l'existence d'un tel métabolite déméthylé, mais sans en préciser la nature exacte.

Ces travaux ont été réalisés à l'aide de molécules marquées sur les groupements méthoxylés en position 3 ou 10 et de faibles radioactivités spécifiques.

* Ce travail a été effectué dans sa totalité au Service des Molécules Marquées, CEN-Saclay.

En vue d'une étude approfondie du métabolisme de la colchicine chez le rat, nous avons donc entrepris le marquage à haute radioactivité spécifique de ce médicament sur un groupement décrit comme non métabolisable (6), le groupement métoxy en position 1.

La synthèse de la desméthyl-1 colchicine 3 a été décrite récemment par A. Bladé-Font (8). La déméthylation sélective en position 1 s'effectue à l'aide du chlorure stannique en présence de chlorure d'acétyle et conduit à l'acétate 2 ; celui-ci, en milieu alcalin, conduit au dérivé phénolique 3 ; son spectre de masse, à notre connaissance non décrit dans la littérature, montre les mêmes pics de fragmentation que ceux des dérivés déméthylés en position 2 et 3 (9). La méthylation de ce phénol, pratiquement insoluble dans de nombreux solvants organiques, a pu être effectuée dans la diméthylformamide (DMF) par de l'iodure de méthyle ^{14}C ; la pureté radiochimique de 4, contrôlée par chromatographie en couche mince, est supérieure à 99% ; les caractéristiques physiques sont analogues à celles de la colchicine commerciale. L'activité spécifique mesurée par spectrométrie de masse sur le pic moléculaire à $M = 401$ est de 57 mCi/mmole.



PARTIE EXPERIMENTALE

La chromatographie en couche mince (CCM) est effectuée sur des plaques de gel de silice Merck 60 F₂₅₄. Les spectres ultraviolets ont été obtenus au moyen d'un spectromètre Beckman DK-2A, les spectres de masse (SM) à l'aide d'un spectromètre Varian CH7. La chromatographie liquide haute performance (CLHP) est effectuée sur un appareil Waters muni d'un détecteur UV Schoeffel SL-700-HM 770 à bande variable.

DESMETHYL-1 COLCHICINE 3 :

Ce composé phénolique a été synthétisé selon (8), à partir de la colchicine commerciale (Aldrich), avec un rendement de 31%. Une analyse par CLHP sur une colonne Radpack C 18 (éluant CH₃ CN, CH₃ OH, H₂O : 17-10-73), montre que le produit est analytiquement pur.

SM : [M]⁺ : 385 ; [M-CO]⁺ : 357 ; [M-NH₂ COCH₃]⁺ : 325 ; [M-NH₂ COCH₃, -CO]⁺ : 298.

COLCHICINE (METHOXYLE-1 ¹⁴C) 4 :

Dans un ballon muni d'une queue de cochon, sont introduits 290 mg (0,75 mmole) du dérivé 3, 120 mg (0,87 mmole) de carbonate de potassium et 20 ml de DMF anhydre. Au mélange congelé par l'azote liquide, on transfère sous vide 0,82 mmole (48 mCi) d'iodure de méthyle ¹⁴C fraîchement préparé (10) à partir de ¹⁴CO₂Ba (A.S. : 59 mCi/mole). Le ballon réactionnel est alors scellé sous vide, puis agité durant 30 heures à la température ambiante. On branche le ballon sur la rampe à vide, casse la queue de cochon et l'on recueille les produits volatiles dans un piège refroidi à - 195°. Le mélange réactionnel est alors évaporé sous vide, puis extrait par un mélange eau/chloroforme. La phase organique qui ne représente que 55% de la radioactivité de départ (la méthylation n'étant pas totale), contient le dérivé 4 de pureté radiochimique 96%.

Une première purification par chromatographie sur colonne de silica-gel (TLC-Kiessigel 60 H Merck) éluée par le mélange CHCl₃-MeOH-DEA : 97-3-1, permet de séparer la colchicine de son précurseur phénolique. Une seconde purification avec l'éluant CH₂Cl₂- MeOH : 95-5, permet d'obtenir 4 avec une pureté radiochimique, supérieure à 99% (radiochromatographie en couche mince, éluants :

CHCl₃ -acétone-DEA : 70-20-10 ; RF : 0,55

CH₂Cl₂ - MeOH : 90-10 ; RF : 0,36).

SM : [M]⁺ = 401 ; [M-CO]⁺ : 373 ; [M-CO, -NH₂ COCH₃]⁺ : 314

Spectre UV (éthanol)

λ max. : 349 nm - λ min. : 289 nm.

.../...

L'activité spécifique de 57 mCi/mmole est calculée d'après le SM sur le pic $[M]^+$ = 401, et à partir du dosage par spectrométrie UV et du comptage par scintillation.

REFERENCES

1. Hartung E.- Ann. Rheum. Dis., 13, 190-200 (1954).
2. Goldfinger S.E.- New Engl. J. Med., 288, 1301 (1973).
3. Borisy G., Taylor E.- J. Cell Biol., 34, 525-533 (1967).
4. Rösner M., Capraro H., Jacobson A., Atwell L., Brossi A., Iorio M., Williams T., Sik R., Chignell C.,- J. Med. Chem., 24, 257-261 (1981).
5. Halkin H., Dany S., Greenwald M., Shnaps Y., Tirosh M.,- Clin. Pharmacol. Ther., 28, 82-87 (1980).
6. Schönharting M., Mende G., Siebert G., Hoppe-Seyler's Z., Physiol. Chem., 355, 1391-1399 (1974).
7. Hunter A., Klaassen C.,- J. Pharmacol. Exp. Ther., 192, 605-617 (1975).
8. Bladé-Font A.,- Afinidad, 36, 329-331 (1979).
9. Schönharting M., Pfaender P., Ricker A., Siebert G., Hoppe-Seyler's Z., Physiol. Chem., 354, 421-436. (1973).
10. Barret C., Pichat L.,- Rapport C.E.A., 99 (1951).