

O-ALKYLATION DE LA QUERCÉTINE ET SYNTHÈSE DE LA
TETRA O-ETHYL-3,7,3',4' O-ETHYL [³H]-5 QUERCÉTINE

M. PICQ, A.F. PRIGENT*, B. CHABANNES et H. PACHECO

Laboratoire de Chimie Biologique, Bât. 406, I.N.S.A. 20 Avenue A. Einstein
69621 Villeurbanne (France) Unité INSERM 205.

P. PARENT et L. PICHAT

Service des Molécules marquées - C.E.N. Saclay - 91191 Gif sur Yvette Cédex France

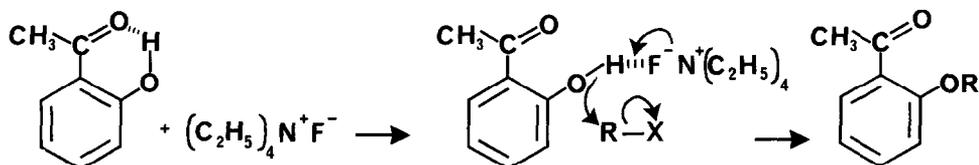
Summary : An efficient procedure is described for alkylation of quercetin with alkyl halides by use of tetraethylammonium fluoride in DMF or HMBT. The method is applied successfully to the preparation of 3,7,3',4',tetra-O-ethyl 5 [³H] O-ethylquercetin with a specific radioactivity of 45 Ci/mmol.

Parmi les dérivés penta O-alkylés de la quercétine synthétisés antérieurement², la penta O-éthylquercétine a montré les propriétés biochimiques et pharmacologiques les plus intéressantes. En particulier c'est un inhibiteur puissant des nucléotides cycliques phosphodiesterases du cerveau et du coeur avec une sélectivité particulière pour certaines formes isoenzymatiques. Elle possède également des activités pharmacologiques intéressantes dans des domaines variés³ (effet antifatique, cardiotrope, spasmolytique ...). Nous nous sommes donc attachés à l'étude de son mécanisme d'action, en particulier à l'identification et à la localisation des récepteurs cellulaires avec lesquels elle pourrait interagir de façon spécifique. La technique radiochimique d'étude de la fixation d'un ligand sur son récepteur nécessite l'emploi d'une molécule à haute activité spécifique. Le marquage au carbone ¹⁴C donnant généralement des activités spécifiques trop faibles, nous nous sommes intéressés à la synthèse de la pentaO-éthylquercétine tritiée.

La quercétine, 1, possède cinq groupements hydroxyles susceptibles d'être alkylés ; l'introduction du tritium dans la molécule se fera donc à ce niveau à l'aide d'iodure d'éthyle tritié, seul agent alkylant radioactif accessible par synthèse. Or, les alkylations totales des hydroxyflavones se font généralement à l'aide des sulfates d'alkyle⁴, les halogénures ayant l'inconvénient de laisser le groupement OH en position 5 non alkylé (celui-ci étant moins réactif du fait de sa chélation avec la cétone du cycle pyrone voisin), de plus il y a formation de produits secondaires dus à des C-alkylations⁴.

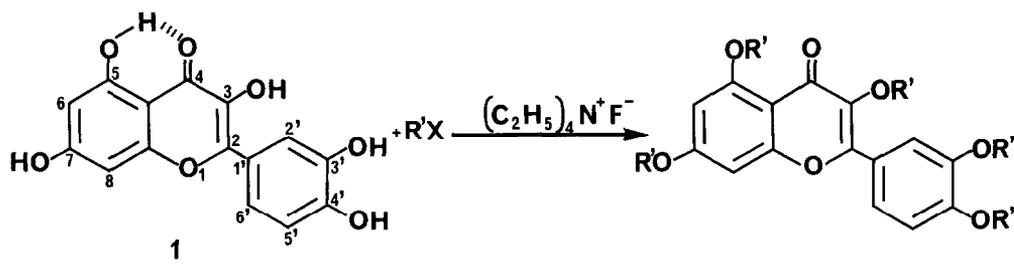
Nous avons recherché une méthode d'éthérisation de la quercétine par les halogénures d'alkyle, conduisant à un produit entièrement alkylé avec des rendements suffisamment élevés pour une synthèse radioactive et ne nécessitant pas un fort excès de réactif

alkylant. En considérant que les hydroxyflavones ont des réactivités comparables à celles des phénols, nous sommes parvenus à alkyler la quercétine par utilisation des halogénures d'alkyle en présence de fluorure de tétraéthylammonium suivant Miller et col.⁵. Les auteurs schématisent le mécanisme de la réaction pour l'O-hydroxyacétophénone de la façon suivante



Les résultats obtenus avec la quercétine sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 1 : Alkylation de la quercétine



ROH	R'X	Solvant	Durée h	Rdt ^{a)} %	F°C (litt.)	Rdt (litt.) %	Durée (litt.) h
	CH ₃ I	DMF ^{b)}	2	75	151 (151-152) ⁷	40 ^{d)}	21
<u>1</u>	C ₂ H ₅ I	DMF ^{b)}	20	70	117 (117-119) ²	72 ^{d)}	24
	C ₃ H ₇ I	HMPT ^{c)}	60	58	>260 (> 260) ²	20	24
	PhCH ₂ Br	HMPT ^{c)}	48	60	123	e)	

Mode opératoire : A du fluorure de tétraéthylammonium (3 éq par OH) séché sous vide (2 mm Hg) à 60°C en présence de P₂O₅ pendant 12 h, on ajoute une solution de 1 dans le DMF (ou l'HMPT). On laisse sous vide 10 mn à 60°C et on ajoute l'halogénure d'alkyle (1,5 éq par OH) en solution dans le solvant approprié. On laisse sous agitation à 70°C dans le ballon fermé. La réaction se fait entièrement à l'abri de l'humidité.

a) Rendement en produit purifié

b) Les produits sont isolés par précipitation dans l'eau

c) La purification des produits se fait par chromatographie sur colonne de silice (toluène/acétone : 2/1)

d) Alkylations réalisées à l'aide des sulfates d'alkyle.

e) Le bromure de benzyle ne réagit pas avec l'OH en position 5.

La première étape⁸ consiste à hydrogéner le stéarate de vinyle 2 en présence de tritium gaz. Le stéarate d'éthyle tritié 3, purifié par chromatographie sous pression (Miniprep, solv : cyclohexane/acétate d'éthyle : 98/2) a une activité spécifique de 49,3 Ci/m mole, avec la répartition de tritium suivante 87 % sur CH₃ et 13 % sur CH₂⁹. La suite réactionnelle se fait sans isolement de l'éthanol ni de l'iodure d'éthyle, celui-ci étant transféré sous vide dans le ballon réactionnel afin d'éthyliser la tétraéthyl-3,7,3',4' quercétine 4. La manipulation radioactive a ainsi été améliorée puisque la synthèse courante de l'iodure d'éthyle tritié¹⁰ comprend une étape supplémentaire à savoir la synthèse du monosel de sodium de l'éthylène glycol qui sert ensuite à saponifier le stéarate d'éthyle.

La penta-O-éthylquercétine tritiée en position 5, 5, purifiée sur Miniprep (hexane/acétate d'éthyle : 60/40) est obtenue avec une très bonne activité spécifique égale à 45 Ci/m mole. Sa pureté radiochimique est de 99 %, le tritium est réparti à 85 % sur CH₃ et 15 % sur CH₂¹¹.

REFERENCES ET NOTES

1. Ce travail a été financé par l'INSERM (U. 205), le CNRS (ERA 560) et la DRET.
2. M. PICQ, A.F. PRIGENT, G. NEMOZ et H. PACHECO, *Biochem. Pharmacol.*, 1982, 31, 2777.
M. PICQ, A.F. PRIGENT, G. NEMOZ, A.C. ANDRE et H. PACHECO, *J. Med. Chem.*, 1982, 25, 1192
3. J. LEGEHAND, A.C. ANDRE, A.F. PRIGENT et H. PACHECO, résultats non publiés.
4. T.A. GEISMANN, *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, Pergamon Press, Oxford 1962, p 413.
5. J.M. MILLER, K.H. SO et J.H. CLARK, *Can. J. Chem.*, 1979, 57, 1887.
6. J.H. CLARK, *Chem. Rev.*, 1980, 80, 429.
7. M. HUBERT-HABART, G. MENICHI, K. TAKAGI, A. CHEUTIN, M.L. DESVOYE et R. ROYER., *Chim. Théor.*, 1968, 280.
8. L. PICHAT, M. AUDINOT, G. LASCEVE, *Bull. Soc. Chim.*, 1961, p 1986.
9. La répartition du tritium est mesurée par spectre RMN ³H et spectre de masse.
10. M. AUDINOT, résultats non publiés.
11. La structure et la pureté du composé sont confirmées par CCM (hexane/acétate d'éthyle : 50/50), par spectrophotométrie UV, par HPLC, par spectrométrie de masse et RMN du tritium. Des comparaisons sont faites avec le produit "froid".

(Received in France 6 February 1984)