

N° d'ordre : 928

50376
1981
134

50376
1981
134

THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE TROISIEME CYCLE

par

Martine DEMEUNYNCK

**"REACTIVITE CHIMIQUE
D'UN AGENT CANCEROGENE :
LE N-OXYDE DE NITRO-4 QUINOLEINE (4-NQO)
ET DE SES DERIVES"**



Soutenue le 20 novembre 1981 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury :

MM. H. SLIWA

J. LHOMME

E. BISAGNI

Mme MH. LOUCHEUX-LEFEBVRE

Mme M.F. LHOMME

M. B.P. ROQUES

Président

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Examineur

DOYENS HONORAIRES De l'Ancienne Faculté des Sciences

MM. R.DEFRETIN, H.LEFEBVRE, M.PARREAU.

PROFESSEURS HONORAIRES des Anciennes Facultés de Droit
et Sciences Economiques, des Sciences et des Lettres

MM. ARNOULT, Mme BEAUJEU, BONTE, BROCHARD, CHAPPELON, CHAUDRON, CORDONNIER,
CORSIN, DECUYPER, DEHEUVELS, DEHORS, DION, FAUVEL, FLEURY, P.GERMAIN, GLACET,
GONTIER, HEIM DE BALSAC, HOCQUETTE, KAMPE DE FERIET, KOURGANOFF, LAMOTTE,
LASSERRE, LELONG, Mme LELONG, LHOMME, LIEBAERT, MARTINOT-LAGARDE, MAZET,
MICHEL, PEREZ, ROIG, ROSEAU, ROUELLE, SAVARD, SCHILTZ, WATERLOT, WIEMAN,
ZAMANSKI.

PROFESSEUR EMERITE

M. A.LEBRUN.

ANCIENS PRESIDENTS DE L'UNIVERSITE
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

MM. R.DEFRETIN, M.PARREAU, J.LOMBARD.

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

M. M.MIGEON.

PROFESSEURS - CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. DURCHON Maurice	Biologie Expérimentale
M. GABILLARD Robert	Electronique
M. HEUBEL Joseph	Chimie Minérale
M. MONTREUIL Jean	Biochimie
M. PARREAU Michel	Analyse
Mme SCHWARTZ Marie-Hélène	Géométrie
M. TRIDOT Gabriel	Chimie Appliquée
M. VIVIER Emile	Biologie Cellulaire
M. WERTHEIMER Raymond	Physique Atomique et Moléculaire

PROFESSEURS - 1ère Classe

M. BACCHUS Pierre	Astronomie
M. BEAUFILS Jean-Pierre	Chimie Physique
M. BECART Maurice	Physique Atomique et Moléculaire
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BILLARD Jean	Physique du Solide
M. BONNOT Ernest	Biologie Végétale

M. BOUGHON Pierre	Algèbre
M. BOURIQUET Robert	Biologie Végétale
M. CELET Paul	Géologie Générale
M. COEURE Gérard	Analyse
M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. CORDONNIER Vincent	Informatique
M. DEBOURSE Jean-Pierre	Gestion des Entreprises
M. DELATTRE Charles	Géologie Générale
M. ESCAIG Bertrand	Physique du Solide
M. FAURE Robert	Mécanique
M. FOCT Jacques	Génie Mécanique
M. FOURET René	Physique du Solide
M. GRANELLE Jean-Jacques	Sciences Economiques
M. GRUSON Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME Jean	Microbiologie
M. HECTOR Joseph	Géométrie
M. LABLACHE-COMBIER Alain	Chimie Organique
M. LACOSTE Louis	Biologie Végétale
M. LANSRAUX Guy	Physique Atomique et Moléculaire
M. LAVEINE Jean-Pierre	Paléontologie
M. LEHMANN Daniel	Géométrie
Mme LENOBLE Jacqueline	Physique Atomique et Moléculaire
M. LHOMME Jean	Chimie Organique Biologique
M. LOMBARD Jacques	Sociologie
M. LOUCHEUX Claude	Chimie Physique
M. LUCQUIN Michel	Chimie Physique
M. MAILLET Pierre	Sciences Economiques
M. PAQUET Jacques	Géologie Générale
M. POUZET Pierre	Analyse Numérique
M. PROUVOST Jean	Minéralogie
M. SALMER Georges	Electronique
M. SEGUIER Guy	Electrotechnique
M. STANKIEWICZ François	Sciences Economiques
M. TILLIEU Jacques	Physique Théorique
M. VIDAL Pierre	Automatique
M. ZEYTOUNIAN Radyadour	Mécanique

PROFESSEURS - 2ème Classe

M. AL FAKIR Sabah	Algèbre
M. ANTOINE Philippe	Analyse
M. BART André	Biologie Animale
Mme BATTIAU Yvonne	Géographie
M. BEGUIN Paul	Mécanique
M. BELLET Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. BKOUCHE Rudolphe	Algèbre
M. BOBE Bernard	Sciences Economiques
M. BODARD Marcel	Biologie Végétale
M. BOILLY Bénoni	Biologie Animale
M. BOIVIN Jean-Claude	Chimie Minérale
M. BONNELLE Jean-Pierre	Catalyse
M. BOSCOQ Denis	Probabilités
M. BREZINSKI Claude	Analyse Numérique
M. BRIDOUX Michel	Chimie Physique
M. BRUYELLE Pierre	Géographie
M. CAPURON Alfred	Biologie Animale
M. CARREZ Christian	Informatique
M. CHAMLEY Hervé	Géotechnique
M. CHAPOTON Alain	Electronique

M. COQUERY Jean-Marie	Psychophysiologie
Mme CORSIN Paule	Paléontologie
M. CORTOIS Jean	Physique Nucléaire et Corpusculaire
M. COUTURIER Daniel	Chimie Organique
M. CRAMPON Norbert	Hydrogéologie et Environnement
M. CROSNIER Yves	Electronique
Mlle DACHARRY Monique	Géographie
M. DEBRABANT Pierre	Géologie Appliquée
M. DEGAUQUE Pierre	Electronique
M. DELORME Pierre	Physiologie Animale
M. DEMUNTER Paul	Sociologie
M. DE PARIS Jean-Claude	Analyse
M. DEPREZ Gilbert	Physique du Solide et Cristallographie
M. DERIEUX Jean-Claude	Microbiologie
Mlle DESSAUX Odile	Spectroscopie de la Réactivité Chimique
M. DEVRAINNE Pierre	Chimie Minérale
M. DHAINAUT André	Biologie Animale
Mme DHAINAUT Nicole	Biologie Animale
M. DORMARD Serge	Sciences Economiques
M. DOUKHAN Jean-Claude	Physique du Solide
M. DUBOIS Henri	Spectroscopie Hertziennne
M. DUBRULLE Alain	Spectroscopie Hertziennne
M. DUEE Gérard	Géologie
M. DYMENT Arthur	Mécanique
Mme EVRARD Micheline	Chimie Appliquée
M. FLAMME Jean-Marie	Technologie de Construction
M. FONTAINE Hubert	Dynamique des Cristaux
M. FONTAINE Jacques	Electronique, Electrotechnique, Automatique
M. FOURNET Bernard	Biochimie Structurale
M. GERVAIS Michel	Gestion
M. GLORIEUX Pierre	Physique Moléculaire et Rayonnements Atmosphériques
M. GOBLOT Rémi	Algèbre
M. GOSSELIN Gabriel	Sociologie
M. GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M. GREVET Patrick	Sciences Economiques
M. GUILBAULT Pierre	Physiologie Animale
M. HENRY Jean-Pierre	Génie Mécanique
M. HERMAN Maurice	Physique Spatiale
M. HOUDART René	Physique Atomique et Moléculaire
M. JACOB Gérard	Informatique
M. JACOB Pierre	Probabilités et Statistiques
M. JACQUILLAT Bertrand	Gestion
M. JOURNAL Gérard	Spectroscopie Hertziennne
M. KREMBEL Jean	Biochimie
M. LAURENT François	Automatique
Mme LECLERCQ Ginette	Catalyse
Mlle LEGRAND Denise	Algèbre
Mlle LEGRAND Solange	Algèbre
Mme LEHMANN Josiane	Analyse
M. LEMAIRE Jean	Spectroscopie Hertziennne
M. LENTACKER Firmin	Géographie
M. LEROY Jean-Marie	Méthodologie
M. LEROY Yves	Electronique, Electrotechnique, Automatique
M. LEVASSEUR Michel	Sciences Economiques
M. LHENAFF René	Géographie
M. LOCQUENEUX Robert	Physique Théorique
M. LOSFELD Joseph	Informatique
M. LOUAGE Francis	Electronique
M. MACKE Bruno	Physique Moléculaire et Rayonnements Atmosphériques

M. MAHIEU Jean-Marie	Physique Atomique et Moléculaire
M. MAIZIERES Christian	Automatique
M ^{le} MARQUET Simone	Probabilités
M. MESSELYN Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. MIGEON Michel	Chimie Physique
M. MIGNOT Fulbert	Analyse Numérique
M. MONTEL Marc	Physique du Solide
M. MONTUELLE Bernard	Biologie et Biochimie Appliquées
M ^{me} N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M. NICOLE Jacques	Chimie Analytique
M. NOTELET Francis	Electronique, Electrotechnique, Automatique
M. PARSY Fernand	Mécanique
M ^{le} PAUPARDIN Colette	Biologie Physiologie Végétales
M. PECQUE Marcel	Chimie Organique
M. PEPROT Pierre	Chimie Appliquée
M. PERTUZON Emile	Physiologie Animale
M. PETIT Francis	Chimie Organique, Minérale et Analytique
M. PONSOLLE Louis	Chimie Physique
M. PORCHET Maurice	Biologie Animale
M. POVY Lucien	Automatique
M. RACZY Ladislas	Electronique
M. RAOULT Jean-François	Géologie Structurale
M. RICHARD Alain	Biologie Animale
M. RIETSCH François	Physique des Polymères
M. ROGALSKI Marc	Analyse
M. ROUSSEAU Jean-Paul	Physiologie Animale
M. ROY Jean-Claude	Psychophysiologie
M. SALAMA Pierre	Sciences Economiques
M ^{me} SCHWARZBACH Yvette	Géométrie
M. SCHAMPS Joël	Spectroscopie Moléculaire
M. SIMON Michel	Sociologie
M. SLIWA Henri	Chimie Organique
M. SOMME Jean	Géographie
M ^{le} SPIK Geneviève	Biochimie
M. STERBOUL François	Informatique
M. TAILLIEZ Roger	Génie Alimentaire
M. THERY Pierre	Electronique, Electrotechnique, Automatique
M. TOULOTTE Jean-Marc	Automatique
M. VANDORPE Bernard	Chimie Minérale
M. VERBERT André	Biochimie
M. VILETTE Michel	Résistance des Matériaux
M. WALLART Francis	Spectrochimie Infrarouge et Raman
M. WATERLOT Michel	Géologie Générale
M. WERNER Georges	Informatique Fondamentale Appliquée
M ^{me} ZINN-JUSTIN Nicole	Algèbre

M. MAHIEU Jean-Marie	Physique Atomique et Moléculaire
M. MAIZIERES Christian	Automatique
M ^{le} MARQUET Simone	Probabilités
M. MESSELYN Jean	Physique Atomique et Moléculaire
M. MIGEON Michel	Chimie Physique
M. MIGNOT Fulbert	Analyse Numérique
M. MONTEL Marc	Physique du Solide
M. MONTUELLE Bernard	Biologie et Biochimie Appliquées
M ^{me} N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M. NICOLE Jacques	Chimie Analytique
M. NOTELET Francis	Electronique, Electrotechnique, Automatique
M. PARSY Fernand	Mécanique
M ^{le} PAUPARDIN Colette	Biologie Physiologie Végétales
M. PECQUE Marcel	Chimie Organique
M. PEPROT Pierre	Chimie Appliquée
M. PERTUZON Emile	Physiologie Animale
M. PETIT Francis	Chimie Organique, Minérale et Analytique
M. PONSOLLE Louis	Chimie Physique
M. PORCHET Maurice	Biologie Animale
M. POVY Lucien	Automatique
M. RACZY Ladislas	Electronique
M. RAOULT Jean-François	Géologie Structurale
M. RICHARD Alain	Biologie Animale
M. RIETSCH François	Physique des Polymères
M. ROGALSKI Marc	Analyse
M. ROUSSEAU Jean-Paul	Physiologie Animale
M. ROY Jean-Claude	Psychophysiologie
M. SALAMA Pierre	Sciences Economiques
M ^{me} SCHWARZBACH Yvette	Géométrie
M. SCHAMPS Joël	Spectroscopie Moléculaire
M. SIMON Michel	Sociologie
M. SLIWA Henri	Chimie Organique
M. SOMME Jean	Géographie
M ^{le} SPIK Geneviève	Biochimie
M. STERBOUL François	Informatique
M. TAILLIEZ Roger	Génie Alimentaire
M. THERY Pierre	Electronique, Electrotechnique, Automatique
M. TOULOTTE Jean-Marc	Automatique
M. VANDORPE Bernard	Chimie Minérale
M. VERBERT André	Biochimie
M. VILETTE Michel	Résistance des Matériaux
M. WALLART Francis	Spectrochimie Infrarouge et Raman
M. WATERLOT Michel	Géologie Générale
M. WERNER Georges	Informatique Fondamentale Appliquée
M ^{me} ZINN-JUSTIN Nicole	Algèbre

Ce travail a été effectué dans le laboratoire de Chimie Organique Biologique de l'Université des Sciences et Techniques de LILLE, sous la direction de Monsieur le Professeur J. LHOMME.

Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour la formation qu'il m'a dispensée ainsi que pour l'aide permanente qu'il m'a apportée dans la réalisation de ce travail.

Je suis particulièrement reconnaissante à Madame M.F. LHOMME qui a dirigé mon travail pendant ces trois années et m'a fait largement profiter de ses connaissances et de son expérience.

Je tiens également à remercier Madame LOUCHEUX et son équipe pour l'accueil qu'ils m'ont réservé en toute occasion et pour les discussions fructueuses que nous avons eues.

Je remercie Messieurs H. SLIWA, B. ROQUES et E. BISAGNI qui ont bien voulu faire partie de mon Jury.

Mes remerciements s'adressent également à tous mes camarades de laboratoire pour leur aide et leur amitié ainsi qu'à Madame RICART.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	p. 1
PARTIE THÉORIQUE	p.23
<u>CHAPITRE I : Dérivé diacétylé 3</u>	p.23
A. SYNTHÈSE.....	p.23
B. ETUDE DES REACTIONS DE SOLVOLYSE	p.26
1. Milieu neutre	p.27
2. Milieu basique.....	p.29
3. Milieu acide	p.35
4. Conclusion	p.44
C. REACTIONS AVEC LES NUCLEOPHILES.....	p.45
1. Réactions dans le chloroforme.....	p.46
2. Réactions dans le diméthylsulfoxyde.....	p.49
D. INTERPRETATION.....	p.52
<u>CHAPITRE II : Dérivé monoacétylé 4</u>	p.54
A. SYNTHÈSE - STRUCTURE.....	p.55
1. Synthèse.....	p.55
2. Détermination de la structure	p.56
3. Stabilité	p.58

B.	REACTIVITE.....	p.61
	1. <i>Résultats</i>	p.61
	2. <i>Interprétation</i>	p.70
	3. <i>Discussion</i>	p.73
C.	CONCLUSION.....	p.81
 <u>CHAPITRE III : Dérivé monoacétylé 5</u>		p.84
A.	ETUDE DU DERIVE MONOACETYLE <u>5</u>	p.86
	1. <i>Synthèse - Structure</i>	p.86
	2. <i>Réactivité</i>	p.94
B.	ETUDE DE LA REACTIVITE DE LA FONCTION ACETATE D'OXIME SUR DES COMPOSES MODELES.....	p.97
	1. <i>Synthèse</i>	p.98
	2. <i>Réactivité</i>	p.100
	3. <i>Interprétation</i>	p.104
 CONCLUSION.....		p.107
 ANNEXE		p.114
 PARTIE EXPÉRIMENTALE.....		p.118
 SYNTHESES.....		p.119
 REACTIVITE.....		p.130
	<i>Réactivité de <u>3</u></i>	p.130
	<i>Réactivité de <u>4</u></i>	p.137
	<i>Réactivité de <u>5</u></i>	p.140
 BIBLIOGRAPHIE		p.146

I N T R O D U C T I O N

-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

La première relation entre cancer et environnement date de la fin du XVIIIème siècle, elle est due au chirurgien anglais PERCIVAL POTT.

Des études ultérieures ont montré que 60 à 90 % des cancers humains seraient reliés à des facteurs de l'environnement. Ces derniers sont principalement les substances chimiques, qu'elles soient synthétiques (hydrocarbures aromatiques, arylamines, N-nitrosamines...) ou naturelles (aflatoxine ...).

Les facteurs secondaires sont les radiations ionisantes et les rayons ultra-violet, causes principales des cancers de la peau.

Les cancérogènes chimiques peuvent agir soit directement, soit après transformation par les cellules (1).

Dans la première catégorie des substances actives par elles-mêmes, on trouve certains agents alkylants, tels que les halogénures d'alkyle, sulfonates d'alkyle, N-alkyl-nitrosourées ou N-alkyl N'-nitro N-nitrosoguanidines.

En fait, la grande majorité des cancérogènes appartient à la seconde catégorie. Ces composés, totalement inactifs, ne sont capables de réagir qu'après avoir été transformés en produits plus réactifs.

Parmi ces cancérogènes à action indirecte, nous pouvons citer les hydrocarbures polycycliques, dialkylnitrosamines, amides aromatiques et aflatoxines.

La nitro-4 quinoléine-1 oxyde, qui nous intéresse plus particulièrement se classe aussi dans cette dernière catégorie.

Ce sont les systèmes enzymatiques de la cellule qui assurent l'activation, mais aussi la détoxification des substances chimiques.

L'activation d'un précancérogène peut nécessiter plusieurs étapes que nous avons représentées dans le schéma 1.

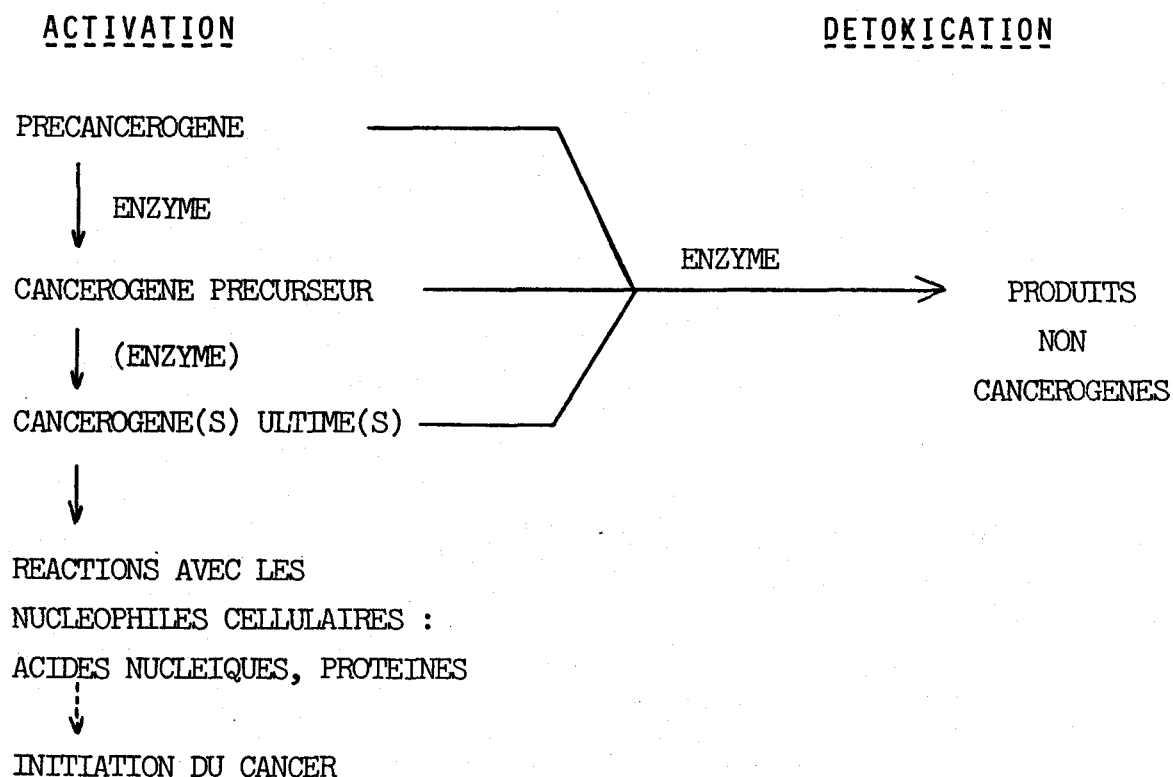


Schéma 1 : Métabolisme des substances cancérigènes

Les cancérogènes ultimes sont des composés extrêmement réactifs, susceptibles de réagir avec les macromolécules cellulaires, et en particulier avec l'ADN.

En 1970, MILLER (1) a proposé un concept qui unifie la notion de cancérogène ultime. D'après ce concept, toutes les formes réactives possèdent un caractère électrophile très puissant, qui rend ces espèces capables de réagir avec les sites nucléophiles de l'ADN.

AGENTS ALKYLANTS :

Un ion alkyldiazonium est l'intermédiaire réactif postulé pour tous les agents alkylants azotés, qu'ils soient à action directe ou indirecte (schéma 2). Dans ce dernier cas, la formation de l'espèce électrophile ne fait intervenir aucun système enzymatique, mais provient d'une décomposition spontanée dans le milieu.

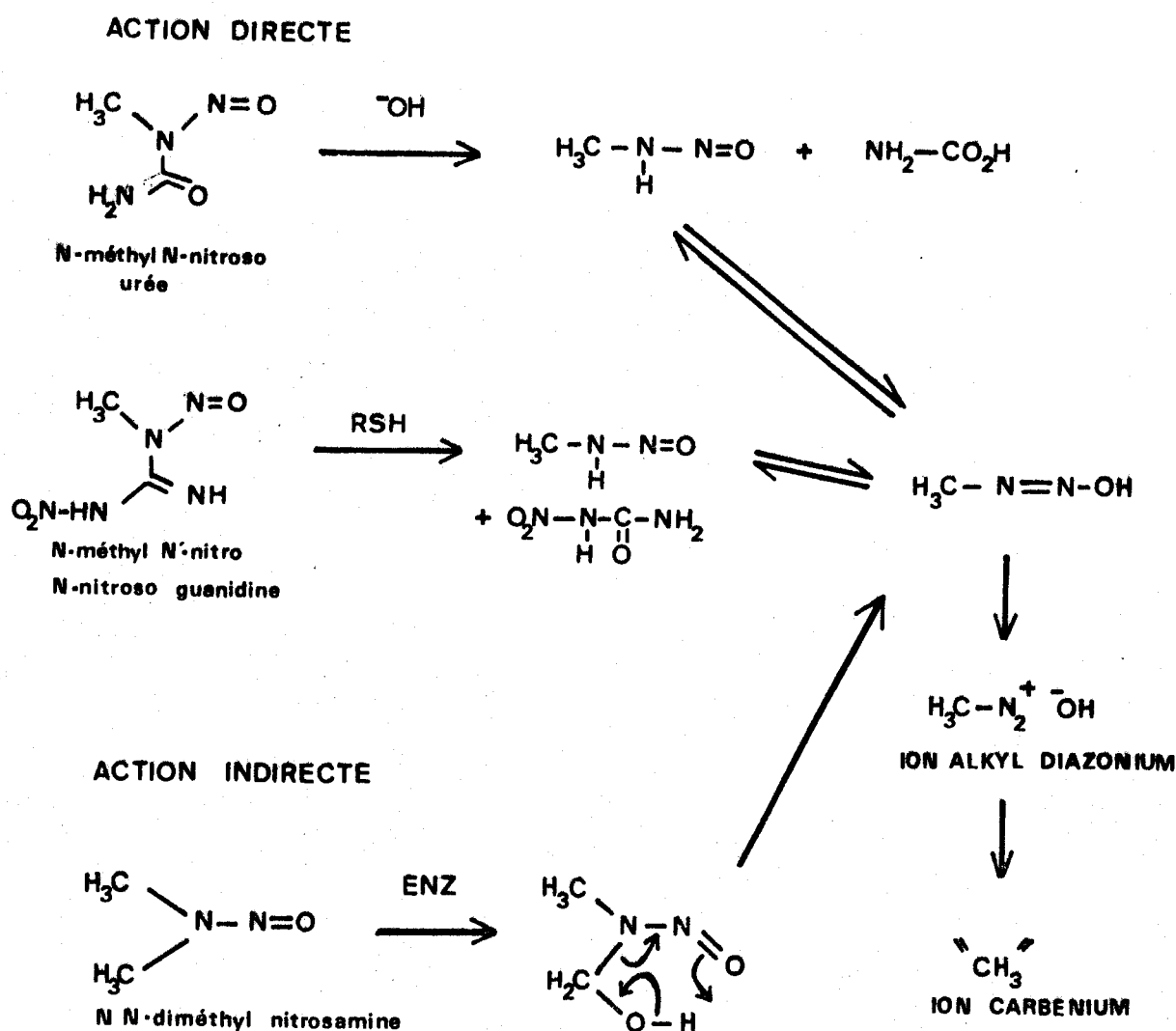


Schéma 2 : Activation des agents alkylants azotés.

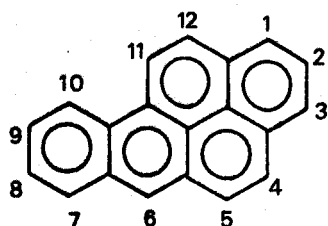
La réaction avec les sites nucléophiles de l'ADN se fait , soit par réaction directe de l'ion alkyldiazonium lui-même, soit par passage par l'ion carbénium correspondant.

On dénombre plusieurs sites d'alkylation possibles sur l'ADN.

Le site préférentiel est l'azote 7 (N_7) de la guanine (60 à 80 % de la fixation);viennent ensuite, les atomes d'azote 3 (N_3) et d'oxygène en position 6 (fonction carbonyle) de la guanine. (cf. schéma 5 p. 11).

HYDROCARBURES AROMATIQUES

Le benzo [a]pyrène est probablement l'hydrocarbure polycyclique le plus étudié et le mieux connu actuellement.



BENZO[a]PYRENE

L'activation métabolique du benzo [a]pyrène (schéma 3) s'effectue en deux étapes, la première est une époxydation (2) de la double liaison 7-8 par une monooxygénase, suivie d'hydrolyse de l'époxyde en diol trans par une époxyde hydratase. Un second cycle d'oxydation intervient avec formation d'un diol-époxyde, cancérigène ultime proposé (3).

Les espèces réactives sont donc les isomères syn et anti du diol-7 β ,8 α époxyde-9,10.

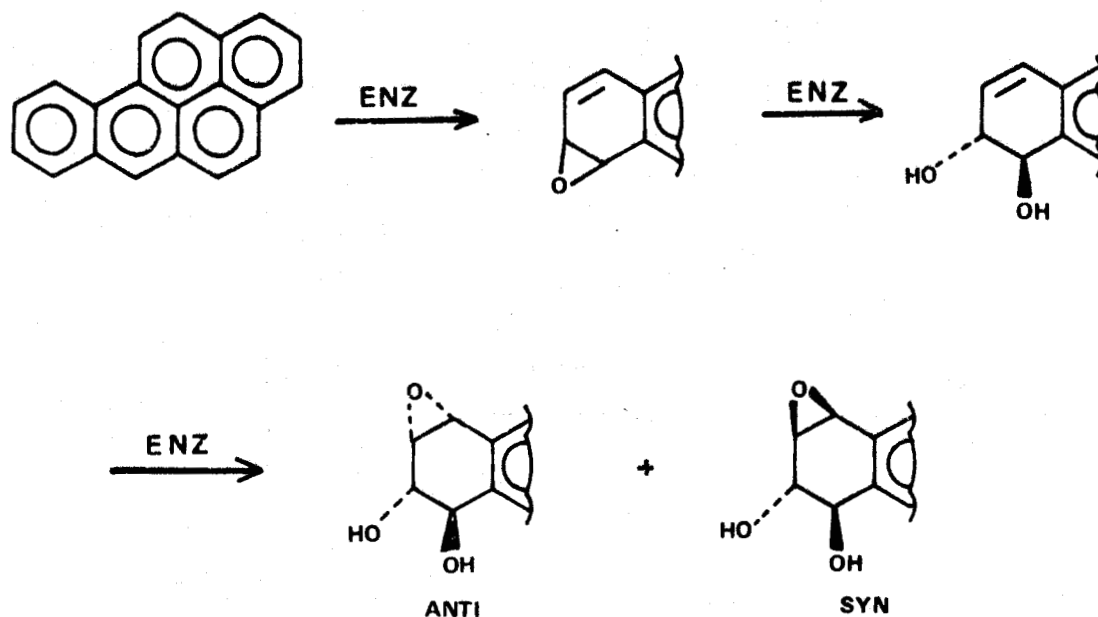
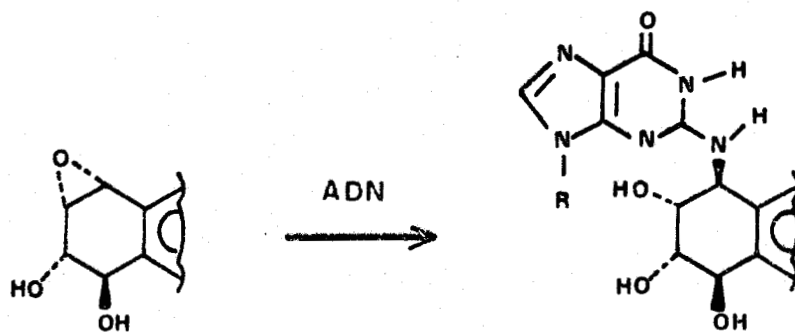


Schéma 3 : Activation métabolique du benzo[a]pyrène.

De nombreuses études ont porté sur l'influence de la stéréochimie sur la réactivité des diols-époxydes (4-7). Elles ont conclu à l'importance prépondérante de l'isomère anti dans les réactions biologiques.

La structure et la stéréochimie des produits de réaction du benzo[a]pyrène avec les bases nucléiques ont été décrites en 1976 (5).

Le cancérogène ultime (isomère anti) réagit à 90 % avec les résidus guanyles des acides nucléiques. L'isomère syn donne le même type de produits.

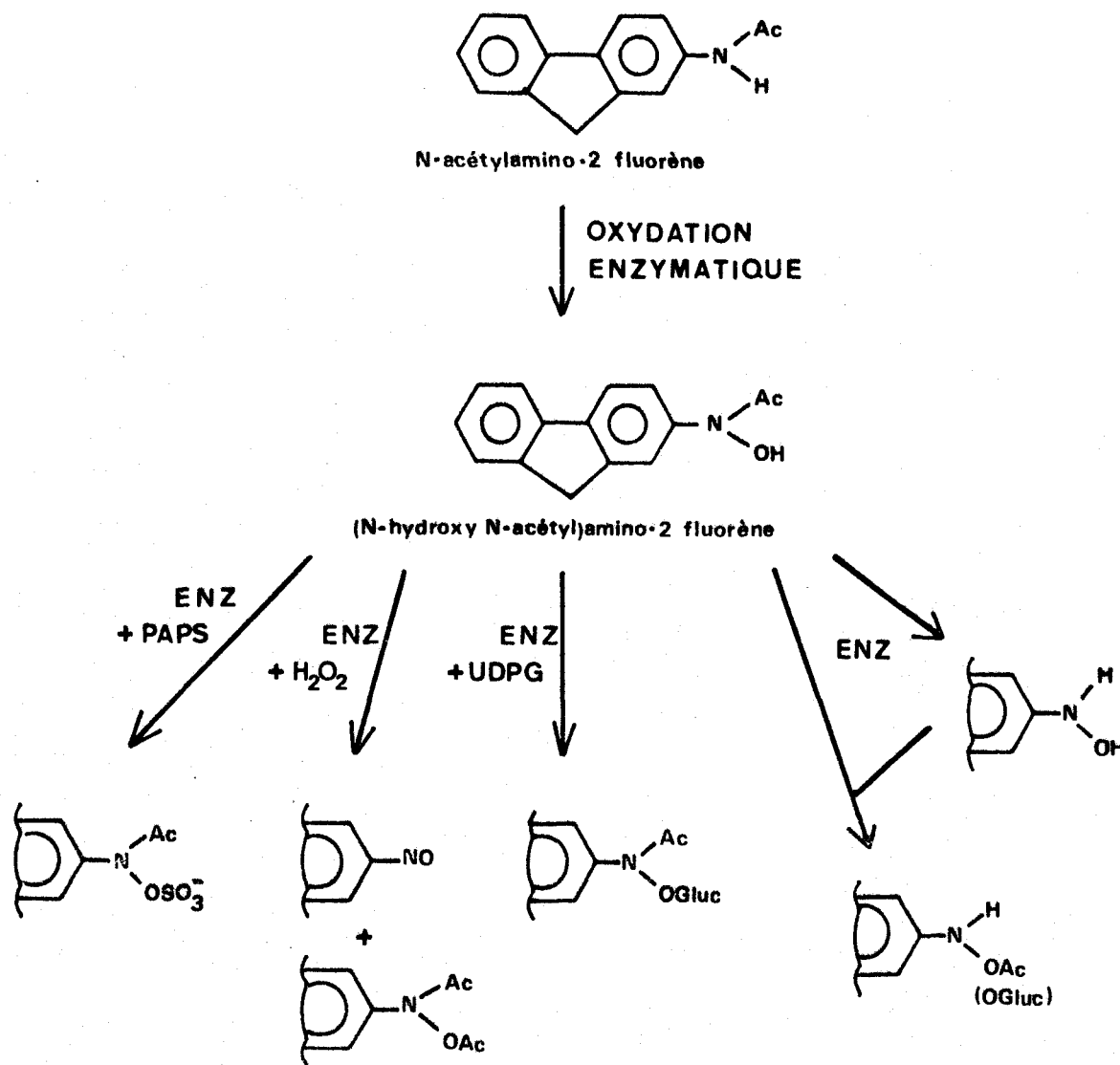


AMINES ET AMIDES AROMATIQUES

Dans cette catégorie, entrent des composés tels que la naphtyl-2 amine, l'acétylamino-4 biphényl, le N-méthylamino-4 azobenzène et les amides aromatiques.

Le modèle le mieux connu et le plus souvent présenté est l'acétylamino-2 fluorène.

Toutes les voies d'activation actuellement proposées sont représentées dans le schéma 4.



UDPG : Uridine diphosphoglucose

PAPS : Acide 3' phosphoadenosine 5' phosphosulfurique.

Schéma 4 : Activation métabolique du N-acétylamino-2 fluorène.

L'oxydation enzymatique de l'arylamide en acide hydroxamique a été démontrée en 1960 par CRAMER (8).

Le dérivé N-hydroxylé ne réagit pas in vitro avec les nucléophiles, une étape supplémentaire d'activation est nécessaire : il s'agit d'une estérification de la fonction hydroxylée.

Dans le cas des esters sulfate et glucuronique, l'intervention d'un système enzymatique a été mise en évidence par des réactions in vitro.

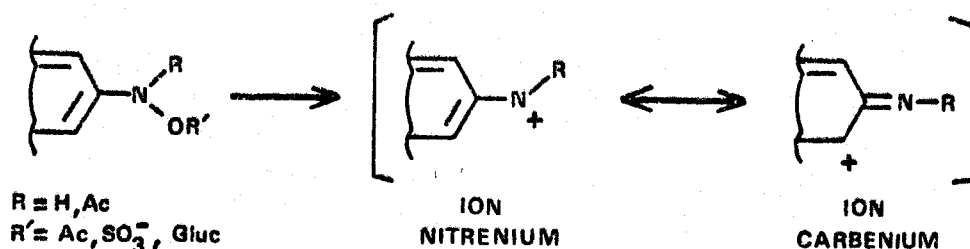
Les dérivés O-glucuroniques (9) représentent les formes d'excrétion et de transport du cancérogène. L'ester sulfate (10-11) est probablement le métabolite ultime le plus important.

L'acétylation enzymatique n'a jamais été démontrée, mais des agents acylants tels que l'acétylcoenzyme-A ou l'acétylphosphate sont capables d'acétyler l'acide hydroxamique.

Une autre voie d'activation a été proposée par BARTSCH (12). Il s'agit de l'oxydation enzymatique de l'acide hydroxamique. Le radical nitroxyde intermédiaire conduit par dismutation au dérivé N,O-diacétylé et au nitroso-2 fluorène.

Enfin des réactions enzymatiques de désacétylation et transacétylation (13) mènent à des esters d'hydroxylamines extrêmement réactifs.

Tous ces esters sont des composés électrophiles potentiels susceptibles de conduire à des ions "nitrenium" selon le schéma suivant :

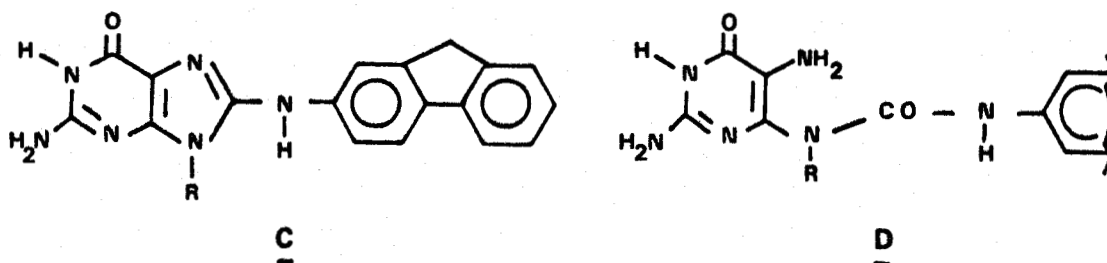
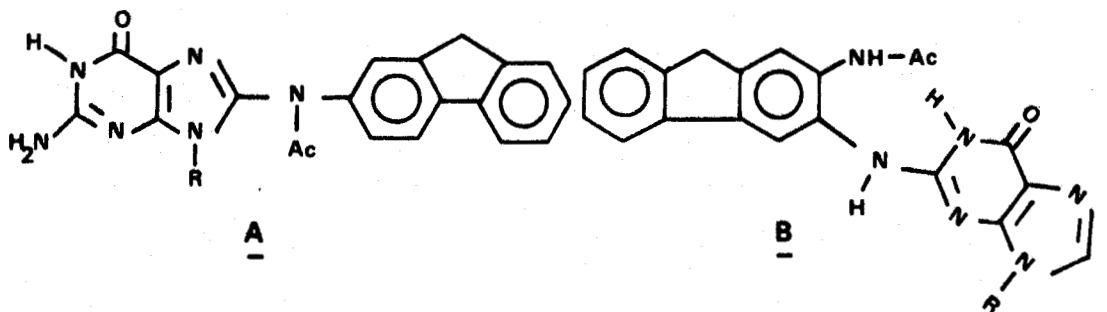


Néanmoins, il est impossible de savoir quel est le métabolite responsable de l'activité in vivo. Le dérivé N,O-di-acétylé est le plus couramment utilisé dans les études in vitro.

Des produits de fixation (14) de l' amino-4 fluorène sur les bases ont été isolés à partir de l'ADN des cellules de rat traité par le N-hydroxyacétamidofluorène, l'acétamidofluorène ou l'aminofluorène. Les produits de réaction sont les mêmes dans les trois cas. Il s'établit probablement très vite un équilibre entre produits acétylés et desacétylés (intervention d'acétylases et de desacétylases).

In vivo, on estime que 70-80 % des produits de fixation sur l'ADN sont desacétylés, 20 % seulement ont conservé une fonction amide.

Les produits de réaction identifiés à ce jour sont les suivants :



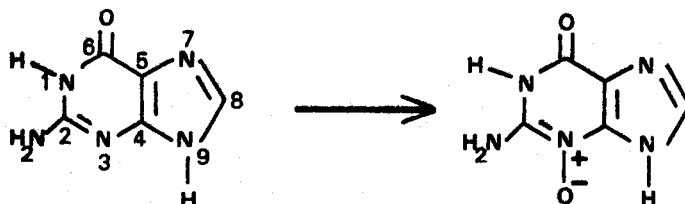
La structure des produits de réaction acétylés est bien définie, il y a 80 % de réaction sur le C₈ de la guanine (composé A) et 20 % sur le groupement aminé en position 2 de la guanine (composé B).

Par contre, seulement 10 à 15 % des produits desacétylés ont été identifiés. Il s'agit aussi d'un produit de fixation sur le C₈ de la guanine (composé C).

Le produit d'ouverture du cycle imidazole (composé D), présent dans les mélanges d'hydrolyse de l'ADN (15), peut soit provenir de la décomposition du composé C au cours de l'hydrolyse, soit constituer un quatrième produit de fixation sur l'ADN.

PURINES N-OXYDE.

L'oxydation de l'azote 3 de certaines purines, telles que la xanthine ou la guanine, produit des cancérogènes puissants.



Comme les amines ou les hydroxylamines aromatiques, les purines N-oxyde sont probablement activées en cancérogènes ultimes par estérification.

Malheureusement les propriétés biologiques de ces composés sont très mal connues.

Seules quelques études portant sur leurs propriétés chimiques ont mis en évidence le caractère électrophile du carbone en position 8 (16) des acyloxy-3 purines.

En conclusion : l'activation métabolique des cancérogènes chimiques conduit toujours à une espèce électrophile capable de réagir avec les nucléophiles cellulaires et en particulier, avec les sites nucléophiles des acides nucléiques et des protéines.

Le rôle primordial de l'ADN et de l'ARN dans le stockage et la transmission de l'information génétique, a suscité de nombreuses recherches sur la nature des perturbations induites par la fixation covalente d'un cancérogène sur ces macromolécules.

Il semble à présent certain que, si la formation d'une liaison cancérogène-ADN est une étape nécessaire dans l'initiation du cancer, d'autres phénomènes interviennent dans l'induction définitive de ce cancer.

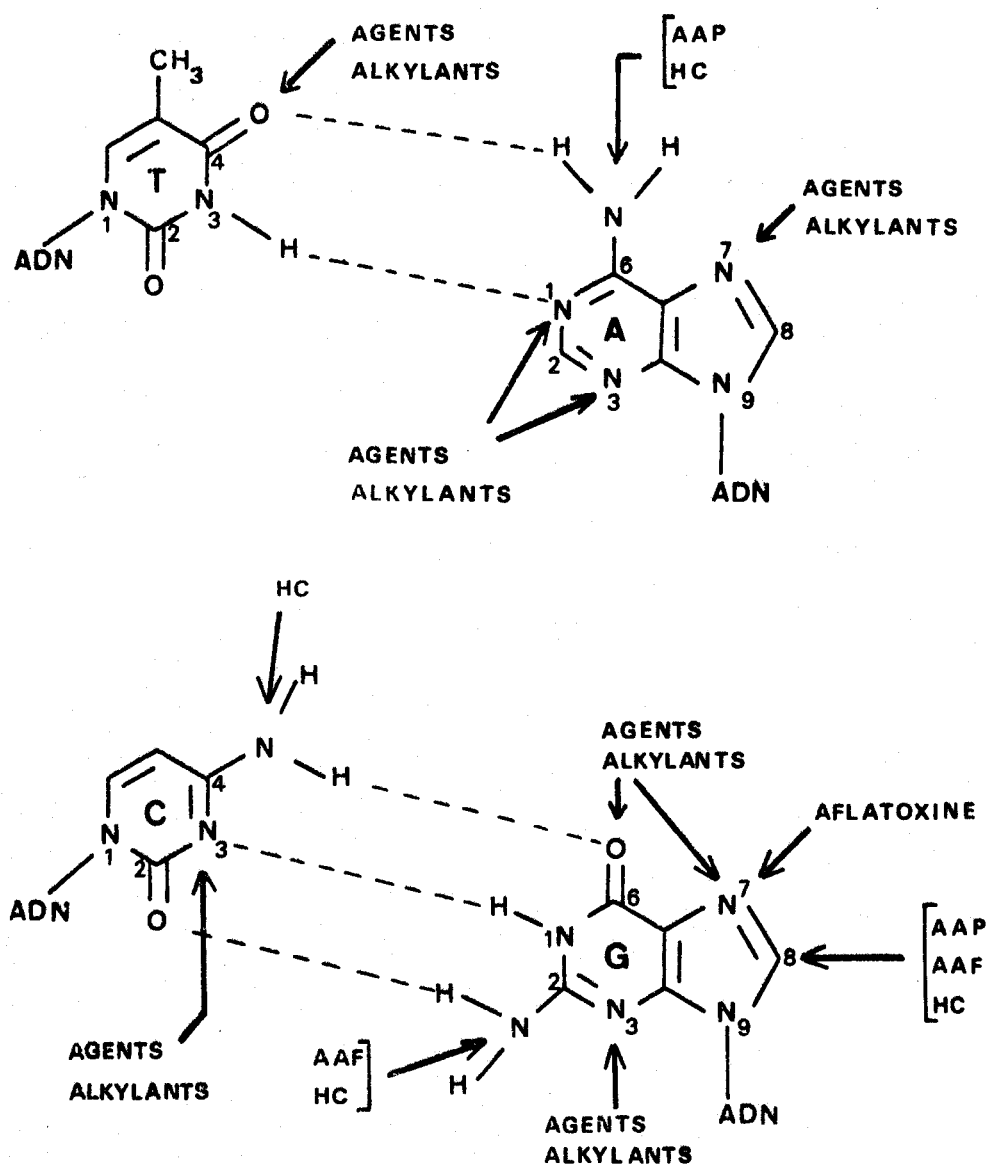
Parmi ceux-ci, les phénomènes de réparation des lésions jouent un rôle déterminant.

En effet, les cellules possèdent des systèmes enzymatiques capables d'éliminer certaines lésions induites dans l'ADN. L'induction du cancer serait, en fait, due à une défaillance de ces systèmes enzymatiques. Deux cas peuvent se présenter : la lésion est reconnue par les enzymes mais réparée de façon erronée, ou la lésion n'est pas reconnue et persiste sur l'ADN.

La nature de la lésion, ou, en d'autres termes, la nature de la modification chimique de l'ADN (type de base modifiée par le cancérogène, site de fixation sur la base...) constitue un facteur déterminant dans les processus de réparation, et par conséquent dans l'initiation du cancer.

Il en résulte qu'il devient important d'identifier les sites de réaction d'un cancérogène sur les bases de l'ADN pour bien comprendre le phénomène d'initiation du cancer.

Les travaux réalisés à ce jour montrent que les diverses classes de cancérogènes réagissent avec des sélectivités différentes sur les bases de l'ADN (schéma 5). A titre d'exemple, la guanine est attaquée essentiellement au niveau des atomes d'azotes N_7 et N_3 et sur la fonction carbonyle en position 6 par les agents alkylants, alors que les amines aromatiques se fixent préférentiellement sur le C_8 puis sur la fonction amine en position 2.



AAP : N-acétylamino-9 phénanthrène, AAF : N-acétylamino-2 fluorène
 HC : Hydrocarbures polycycliques.

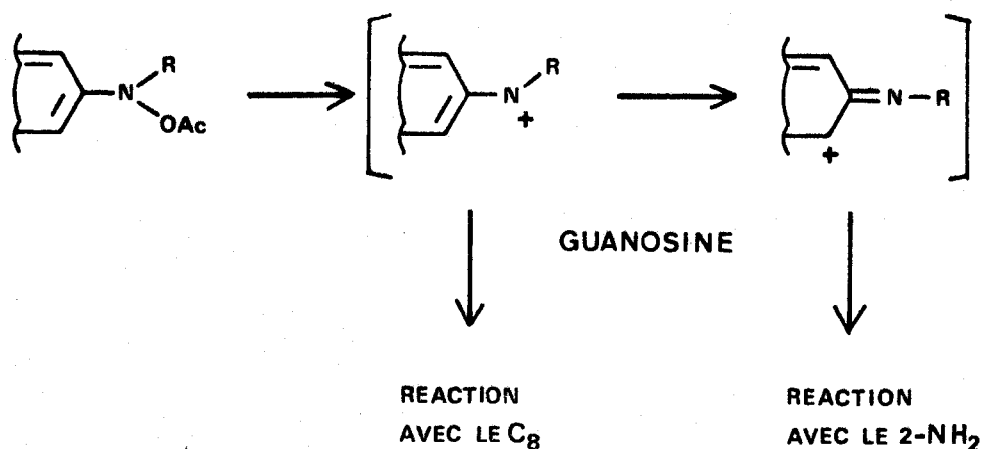
Schéma 5 : Principaux sites de réaction des cancérogènes sur les bases nucléiques.

Ainsi se pose le problème important de l'orientation de la réaction. De nombreuses hypothèses ont été avancées pour expliquer cette sélectivité.

Certains auteurs (17, 18) ont tenté d'établir des relations entre le caractère électrophile des agents alkylants et les sites de réaction sur les bases.

HATHWAY et KOLAR (19) ont utilisé la notion d'acide et base durs et mous de PEARSON pour expliquer la sélectivité des N- et O- alkylations, les bases nucléiques étant considérées comme des nucléophiles ambidants avec des sites durs et mous. Ainsi, dans la guanine, le N₇ est plus doux que l'oxygène en position 6.

Dans le cas des arylamides, la sélectivité entre le C₈ et le 2-NH₂ de la guanine a été expliquée par le fait que le cancérigène ultime réagit sous forme d'un cation délocalisé (1), présentant deux formes limites.



Mais cette hypothèse ne rend pas compte des différences de réactivité observées à l'intérieur d'une même série. Ainsi, si l'acétylamino-2 fluorène réagit exclusivement sur la guanine, l'acétylaminophénanthrène réagit avec l'adénine.

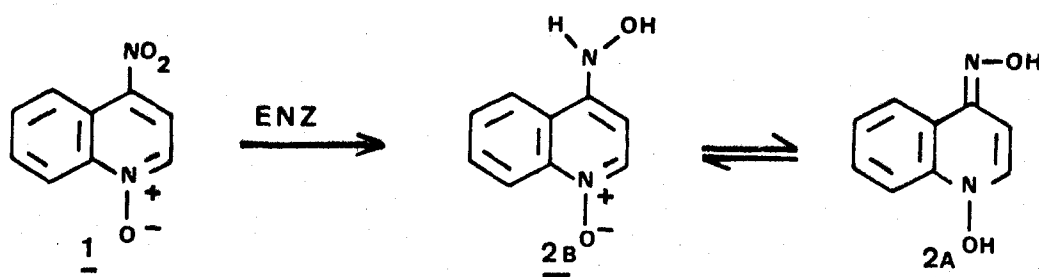
En conclusion, nous pouvons dire que si l'identification des sites de fixation des cancérigènes sur les bases est maintenant en bonne voie, les mécanismes mis en jeu lors des réactions ne sont pas encore élucidés.

NITRO-4 QUINOLEINE-1 OXYDE.

Le caractère cancérigène de la nitro-4 quinoleine-1 oxyde 1 fut établi en 1957 par NAKAHARA (20). Depuis, de très nombreuses études ont porté sur le mécanisme d'action de ce composé.

Comme la plupart des cancérigènes chimiques, le dérivé nitré 1 inactif par lui-même, est métabolisé par les systèmes enzymatiques de la cellule en cancérigène précurseur, puis en un ou plusieurs cancérigènes ultimes.

La première étape de l'activation est une réduction enzymatique du groupement nitro en hydroxylamine (21). L'enzyme qui catalyse cette réaction a été isolée et identifiée quelques années plus tard (22).



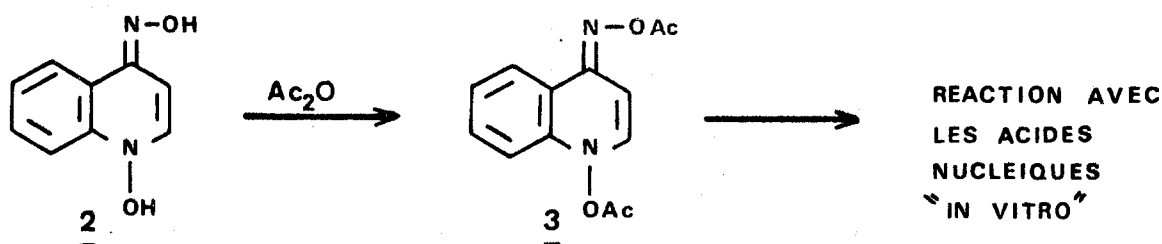
Le dérivé dihydroxylé 2 ainsi formé est le cancérigène précurseur. Plus actif que 1 in vivo, il ne réagit cependant pas in vitro avec les nucléophiles cellulaires. Une seconde étape d'activation semble donc nécessaire.

Par analogie avec le métabolisme des arylamines, une réaction d'estérification de 2 est généralement envisagée.

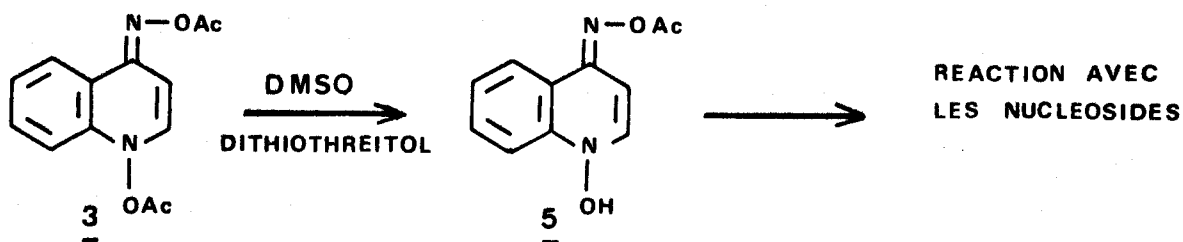
Plusieurs hypothèses ont été avancées pour la structure des métabolites ultimes.

KAWAZOE et ARAKI en 1967 (23) ont synthétisé par voie chimique le dérivé diacétylé 3, par la suite ENOMOTO

et Coll.(24) ont montré que ce diester réagissait de façon non enzymatique avec les acides nucléiques (ADN, ARN). Les acides nucléiques modifiés in vitro par le dérivé diacétylé 3 ou in vivo par le cancérogène précurseur 2 ont des propriétés spectroscopiques très voisines (études par fluorescence^{*}).



Le dérivé monoacétylé 5 (obtenu par action du dithiothreitol sur le composé diacétylé 3) réagit de façon non enzymatique in vitro avec des nucléosides (27). Les produits, analysés par HPLC, sont les mêmes que ceux obtenus avec le dérivé diacétylé 3 mais les rendements sont légèrement plus élevés.



KAWAZOE (28, 29) présente ce composé 5 comme cancérogène ultime.

D'autres monoesters ont aussi été proposés (toujours

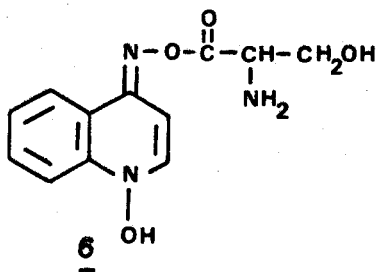
* La comparaison des ADN modifiés in vivo et in vitro a été entreprise par l'équipe du Dr. M.H. LOUCHEUX de l'Institut de Recherches sur le Cancer de Lille (25, 26).

par analogie avec le métabolisme des arylamines). Le sulfate d'oxime ou éventuellement le dérivé disulfuré correspondant sont mentionnés par MILLER (1).

Dans le cas de l'obtention des dérivés acétylés et sulfurés, aucun système enzymatique n'a jusqu'à présent été mis en évidence.

Par contre, TADA et TADA (30) ont isolé une enzyme capable d'activer in vitro le dérivé dihydroxylé 2. Cette enzyme, qui est une séryl-t-RNA synthétase est capable de transférer un groupement séryl sur une des fonctions hydroxylées de 2.

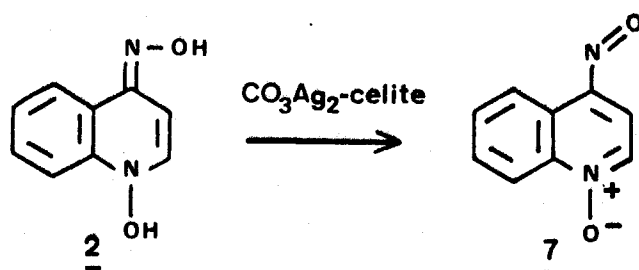
Le produit de réaction n'a jamais été isolé à cause de sa très grande réactivité. TADA et TADA (30) et plus tard KAWAZOE (29) retiennent néanmoins la structure suivante comme étant la plus probable.



Ce dernier dérivé est présenté actuellement comme étant le métabolite ultime le plus probable de la nitro-4 quinoléine-1 oxyde.

Des études très récentes (31) ont révélé le pouvoir cancérigène d'un autre métabolite possible de 2 : la nitroso-4 quinoléine-1 oxyde 7.

Ce dérivé nitrosé est préparé chimiquement par oxydation de 2 par le carbonate d'argent sur célite (32), biologiquement 7 peut être obtenu, soit par oxydation enzymatique du dérivé hydroxylé 2, soit comme intermédiaire dans la réduction de la nitro-4 quinoléine-1 oxyde 1.



In vivo, les produits de réaction de 7 avec l'ADN sont semblables à ceux obtenus avec le précancérogène 1 (comparaison par chromatographie sur papier), la réaction de 7 avec l'ADN menée in vitro conduit, malheureusement à des produits différents (31).

L'intervention de 7 dans l'activation métabolique reste donc toujours à prouver.

L'interaction de la nitro-4 quinoléine-1 oxyde 1 ou de ses métabolites avec l'ADN a fait l'objet de nombreuses publications.

La réaction la plus importante reste la formation d'une liaison covalente entre une base nucléique et la quinoléine.

In vivo, le pourcentage de fixation est de l'ordre de 1 molécule de cancérogène pour 10 000 nucléotides (33) (il est donc très difficile dans ces conditions d'isoler et d'identifier les produits de réaction).

Il a donc fallu effectuer les réactions in vitro, à l'aide de systèmes modèles, puis faire les comparaisons, in vivo - in vitro.

TADA et TADA (34) ont ainsi fait réagir le cancérogène précurseur 2 sur des homopolynucléotides, en présence d'un système enzymatique activateur. 2 se fixe exclusivement sur les bases puriques : guanine et adénine, les réactions sur les bases pyrimidiques sont négligeables. L'hydrolyse acide des polynucléotides modifiés par 2 et l'analyse des produits de

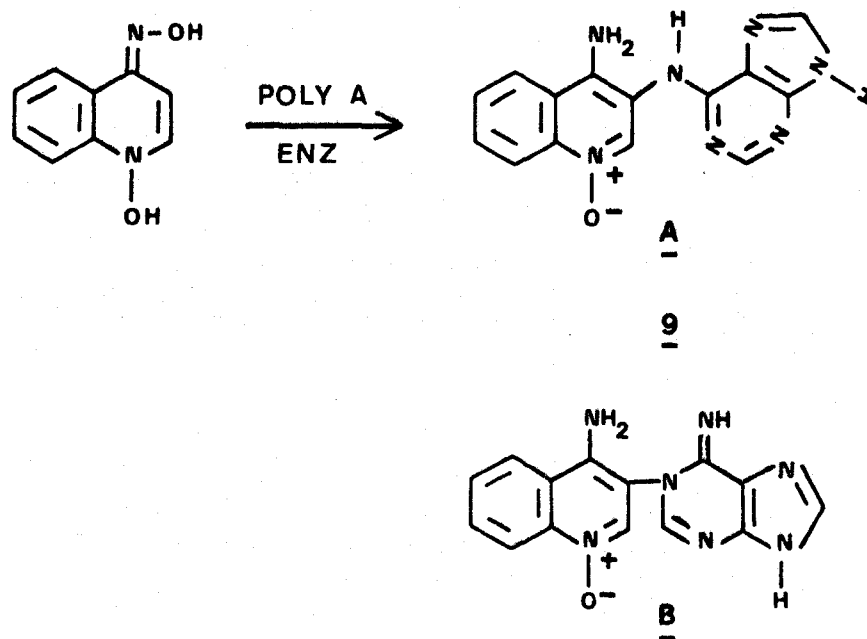
réaction par chromatographie sur papier ont révélé l'existence de quatre dérivés : deux produits de fixation de la quinoléine sur la guanine, un sur l'adénine et un dernier produit instable qui s'est décomposé en amino-4 quinoléine-1 oxyde 8 durant l'hydrolyse acide.

Les trois produits de fixation de la quinoléine sur les purines sont identiques à ceux obtenus par hydrolyse acide de l'ADN de cellules de rat traité par le précancérogène 1 (étude par chromatographie sur papier).

L'unique produit de fixation sur l'adénine a été isolé et identifié par KAWAZOE et Coll. (35).

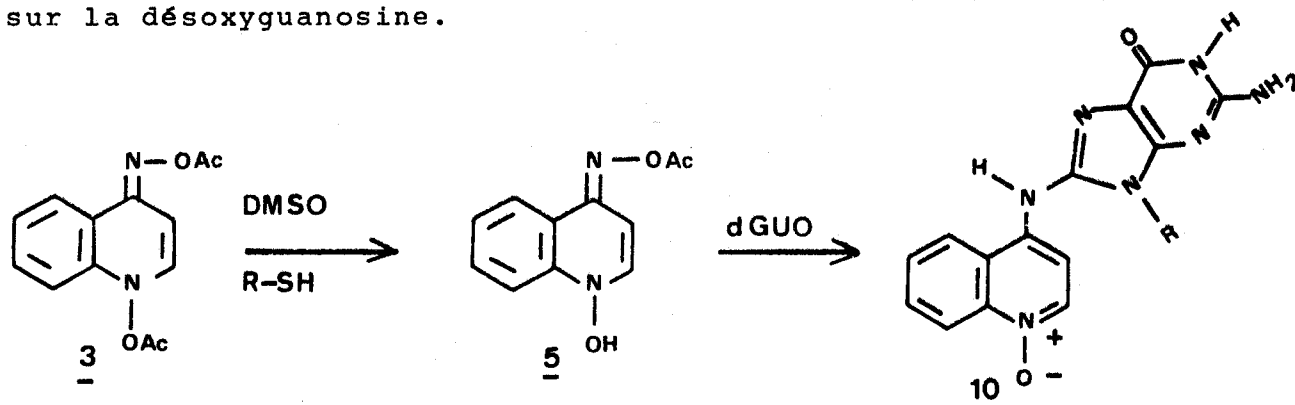
L'hydroxylamine 2, mis en présence d'un système enzymatique activateur, est additionné à une solution aqueuse d'acide polyadénylique. Le produit de réaction est isolé par chromatographie sur papier, après hydrolyse acide.

D'après les données spectroscopiques (RMN et spectrométrie de masse) et la détermination de pK, deux structures A et B sont possibles.



La structure A semble être la plus probable (A plus stable que B vis-à-vis de l'hydrolyse acide).

BAILLEUL en 1981 (27) décrit l'obtention et la caractérisation d'un produit de réaction du dérivé monoacétylé 5 sur la désoxyguanosine.



5 est préparé à partir de 3 selon la méthode décrite par KAWAZOE (28) (dithiothreitol dans le diméthylsulfoxyde). Le mélange réactionnel est additionné à une solution aqueuse de désoxyguanosine. Le produit majeur de réaction est séparé par chromatographie sur colonne.

Toutes les données spectroscopiques (RMN, spectrométrie de masse et UV) sont en accord avec la structure 10 proposée.

Les autres produits de fixation de la quinoléine sur la guanine n'ont pas encore été isolés.

Si l'identification des différents produits de réaction est actuellement en cours, la détermination des mécanismes mis en jeu est très hypothétique.

Les différents esters d'oxime proposés comme métabolites ultimes possèdent tous un caractère électrophile potentiel, ce qui est en accord avec le postulat de MILLER (1).

En utilisant le dérivé diacétylé 3 comme modèle KAWAZOE, dans une revue récente (29), propose, sans le commenter, le schéma réactionnel suivant (schéma 6).

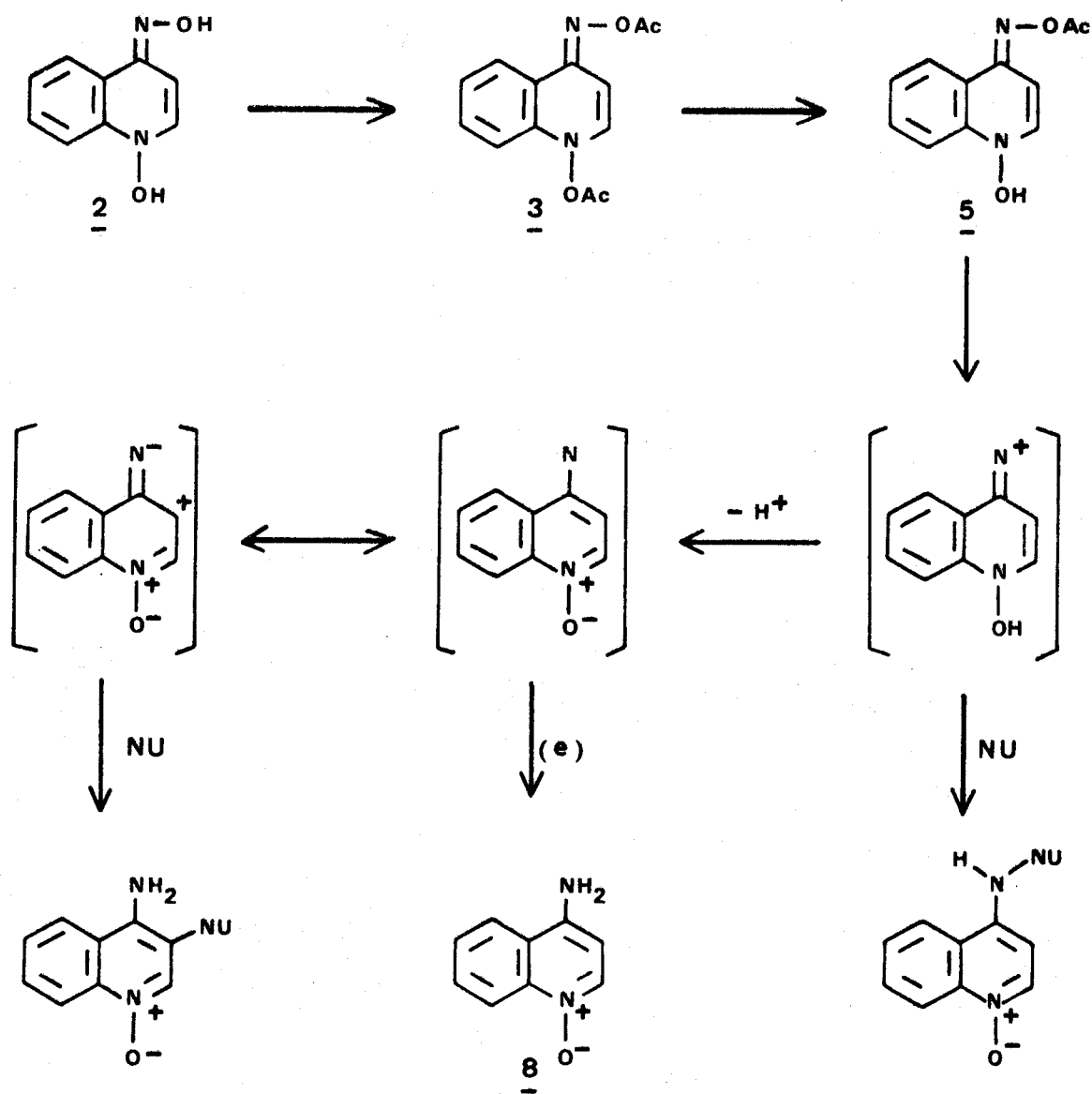


Schéma 6 : Réactivité du dérivé diacétylé **3** : mécanisme ionique.

Ce schéma fait intervenir une rupture hétérolytique de la liaison N-O avec formation d'espèces électrophiles, chacune d'elles conduisant à un produit de réaction obtenu expérimentalement.

Auparavant, les mêmes auteurs (36) proposaient une rupture homolytique de la liaison N₁-O du dérivé diacétylé **3** (schéma 7).

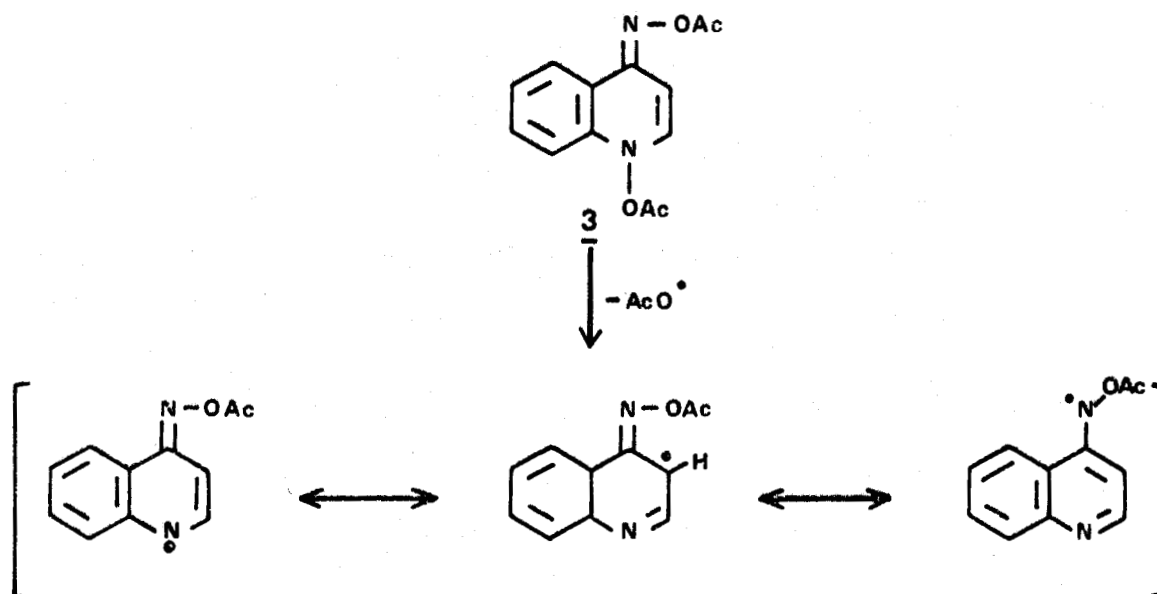


Schéma 7 : Réactivité du dérivé diacétylé 3 : mécanisme radicalaire.

Ils avaient en effet enregistré le spectre de RPE d'un radical formé par chauffage (70-80°C) d'une solution de 3 dans le dioxane. Mais aucun bilan de la réaction n'a été fait.

En fait aucune étude systématique de réactivité de 3 n'a jamais été réalisée.

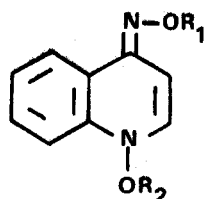
Cependant, la connaissance des propriétés chimiques de 3 permettrait de maîtriser la chimie de ce composé instable.

Rien ne permet d'affirmer par exemple que, lorsque l'on met en présence un nucléoside ou un polynucléotide avec le composé diacétylé 3, l'on isole effectivement un produit direct de réaction et non un produit de réaction entre un dérivé de dégradation de 3 et le nucléoside introduit.

En outre, une meilleure connaissance des dérivés de la série permettrait :

- 1 - de préciser les mécanismes mis en jeu et de définir le rôle respectif des deux fonctions en positions 1 et 4.

- 2 - de préparer des produits monofonctionnalisés ou fonctionnalisés différemment en 1 et 4, en vue d'étudier leurs réactivités vis-à-vis des nucléosides et polynucléotides.



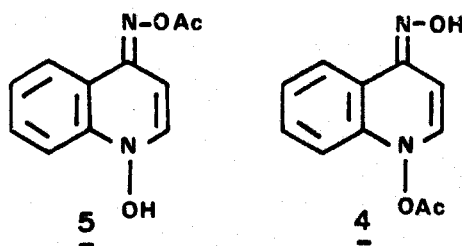
$$R_1 \neq R_2$$

R_1, R_2 : alkyle, acyle, H

Nous avons donc entrepris une étude approfondie des propriétés chimiques du dérivé diacétylé 3.

Nous avons commencé ce travail par une étude de la réactivité de 3 vis-à-vis de nucléophiles simples : réactions de solvolysse et réactions de substitution nucléophile avec des thiols, amines ou alcools.

Ces réactions nous ont permis de mettre en évidence, puis de préparer sélectivement deux dérivés monoacétylés : 4 et 5.



Ces réactions montrent en outre clairement que les deux fonctions esters de 3 n'ont pas la même réactivité.

Pour préciser les mécanismes mis en jeu au niveau de chaque fonction ester du dérivé diacétylé 3 il nous a paru nécessaire d'étudier séparément ces deux fonctions.

L'étude de la fonction acétate d'hydroxylamine N,N-disubstituée (position 1 de la quinoléine) a été effectuée sur le dérivé monoacétylé 4. A notre connaissance, ce composé n'a jamais été décrit. Nous en détaillerons donc la synthèse, les caractéristiques spectroscopiques et les propriétés chimiques dans le chapitre II.

L'acétate d'oxime 5 n'ayant jamais été isolé du milieu réactionnel, la fonction acétate d'oxime a été principalement étudiée à partir d'autres composés modèles : nous décrirons leur synthèse et les premiers résultats obtenus dans le chapitre III.

-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

PARTIE THEORIQUE

-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

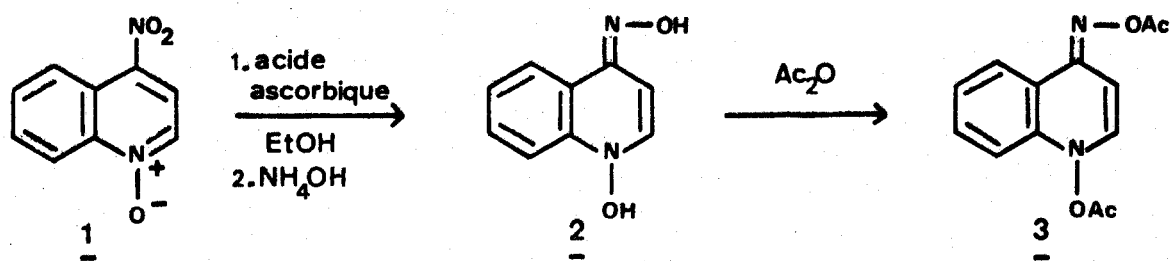
CHAPITRE I

=====

DERIVE DIACETYLE 3

A. SYNTHÈSE.

La synthèse du dérivé diacétylé 3 s'effectue en deux étapes à partir de la nitro-4 quinoléine-1 oxyde 1.



La première étape consiste en une réduction du groupe-ment nitro en hydroxylamine avec conservation de la fonction N-oxyde. La seconde étape est l'acétylation de 2 par l'anhydride acétique.

- REDUCTION.

La réduction est une étape délicate, car il faut conserver la fonction N-oxyde et arrêter la réaction au stade de

l'hydroxylamine.

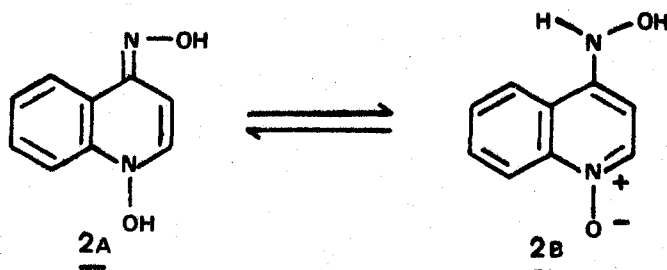
La plupart des réactifs usuels conduisent à la desoxygénation de la fonction N-oxyde et à l'obtention de mélanges d'amino, hydroxylamino et azoquinoléines.

C'est le cas des hydrogénations catalytiques (Nickel de Raney) et des réductions par le borohydrure de sodium ou par les métaux dissous (fer-acide acétique par exemple).

Deux méthodes sont décrites pour la synthèse sélective et quantitative de l'hydroxyamino-4 quinoléine-1 oxyde 2 : en 1963, OCHIAI (37) a employé la phénylhydrazine dans l'éthanol et en 1968, ENOMOTO (24) a utilisé l'acide ascorbique.

C'est ce dernier réactif que nous avons choisi. La réaction est effectuée dans l'éthanol. 2 précipite après addition d'une solution diluée d'ammoniaque, le rendement est supérieur à 85 %.

2 existe sous forme d'un équilibre tautomérique hydroxylamine 2B - oxime 2A.



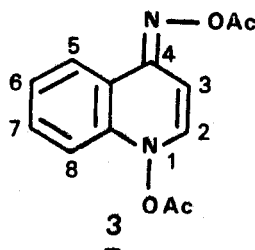
Des études récentes en RMN (28) ont montré que le tautomère 2A prédomine largement sur le tautomère 2B dans le diméthylsulfoxyde. 2 possède donc une structure d'oximino-4 hydroxy-1 dihydro-1,4 quinoléine.

- ACETYLATION

Pour l'acétylation de 2, nous nous sommes inspirés de la méthode décrite par KAWAZOE et ARAKI (23). Nous utilisons

un mélange d'anhydride acétique et acide acétique, le produit final précipite dans l'eau.

Les données spectroscopiques sont conformes à la structure 3 proposée :

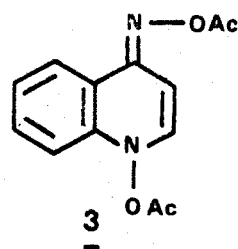
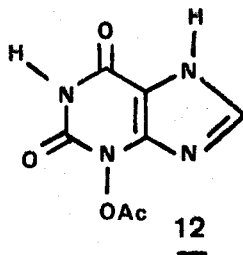
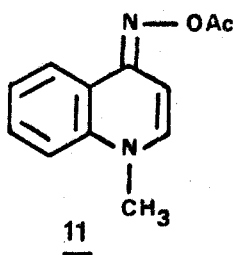


Dans le spectre de masse nous trouvons à côté du pic de masse $M^+ = 260$, des pics résultant des coupures des groupements acétyles ($m/e = 218$ et 176).

En IR, les groupements acétyles sont caractérisés par deux bandes intenses à 1750 et 1805 cm^{-1} .

Enfin la RMN* nous donne de précieuses indications sur la structure du composé : à côté des deux singulets à 2,2 et 2,4 ppm correspondant aux groupements acétyles, nous trouvons deux doublets de type AB à 7,6 et 6,2 ppm, attribués respectivement aux protons en position 2 et 3. La constante de couplage $J_{AB} = 8,4 \text{ Hz}$ est élevée ($J_{AB} = 4,5 \text{ Hz}$ pour la quinoléine). En raison de la forme dihydro-1,4 quinoléine, le caractère de double liaison de la liaison 2-3 est plus important que dans la quinoléine elle-même, ceci pourrait être à l'origine de la valeur élevée de la constante de couplage.

Pour différencier les deux fonctions acétates en RMN et IR nous avons comparé leurs données spectroscopiques à celles de deux composés modèles : l'acétoxyimino-4 méthyl-1 dihydro-1,4 quinoléine 11 et l'acétoxy-3 xanthine 12 (38).



* Pour plus de détails voir l'annexe RMN p. 114.

Le tableau 1 compare les valeurs obtenues en RMN et IR pour les trois composés.

	IR		RMN	
	CO (cm ⁻¹)		COCH ₃ (ppm)	
<u>3</u>	1750	1805	2,2	2,4
<u>11</u>	1730		2,2	
<u>12</u>		1820		2,4

Tableau 1.

En RMN, on peut ainsi attribuer la valeur la plus faible (2,2 ppm) à la fonction acétate d'oxime (position 4 de la quinoléine) et la valeur la plus élevée (2,4 ppm) au groupement acétate fixé sur l'azote hétérocyclique (position 1 de la quinoléine ou 3 des purines). On retrouve une corrélation identique pour les valeurs des fréquences de vibration dans l'IR.

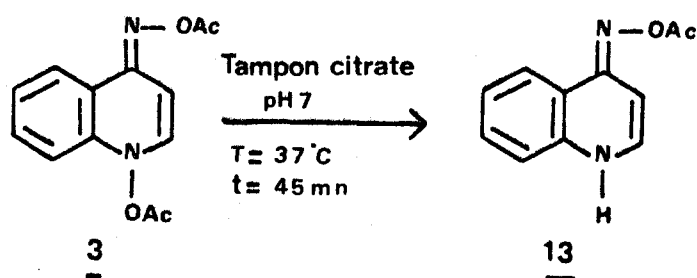
B. ETUDE DES RÉACTIONS DE SOLVOLYSE

Il n'existe dans la littérature aucune étude approfondie de la réactivité du dérivé diacétylé 3, mise à part la mention de sa très grande instabilité qui conduit à la libération spontanée d'acide acétique (36) et quelques études préliminaires d'hydrolyse.

En effet pour préciser les conditions d'étude de la réactivité de 3 avec l'ADN in vitro, S. GALIEGUE (39) avait été amenée à déterminer le temps de demi-durée de vie dans un mélange éthanol-tampon citrate pH 7, à 37°C, par étude UV, celui-ci avait été estimé à 8 mn. B. BAILLEUL (40) a précisé ce résultat en suivant l'hydrolyse à l'aide de la HPLC. Il a déterminé le temps de demi-durée de vie de 3 à 37°C dans des

mélanges tampon citrate pH 7 - éthanol, avec des pourcentages croissants d'éthanol. Il varie de 12 mn avec 20 % d'éthanol à 80 mn avec 67 % d'éthanol.

En outre, BAILLEUL (41) a isolé par HPLC, l'un des 17 produits d'hydrolyse de 3 en tampon citrate pH 7 à 37°C. L'identification du composé par les données spectroscopiques usuelles (IR, RMN, SM) a été confirmée par comparaison avec le produit de synthèse (voir synthèse des produits de référence, Chp. III). Il s'agit de l'acétoxyamino-4 quinoléine 13.



Dans le but d'avoir une connaissance globale de la réactivité de 3, nous avons commencé notre travail par l'étude de sa solvolysse en milieux neutre, basique et acide.

Nous avons deux objectifs :

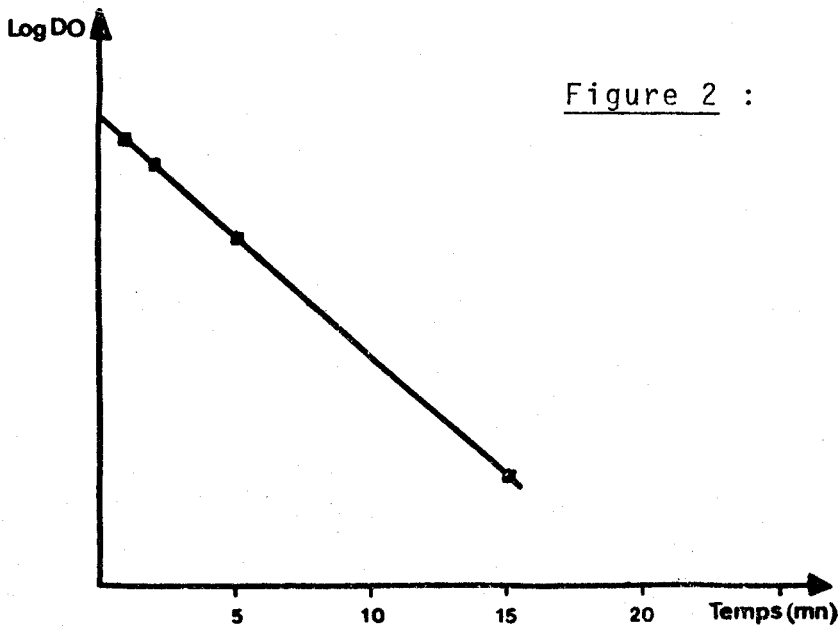
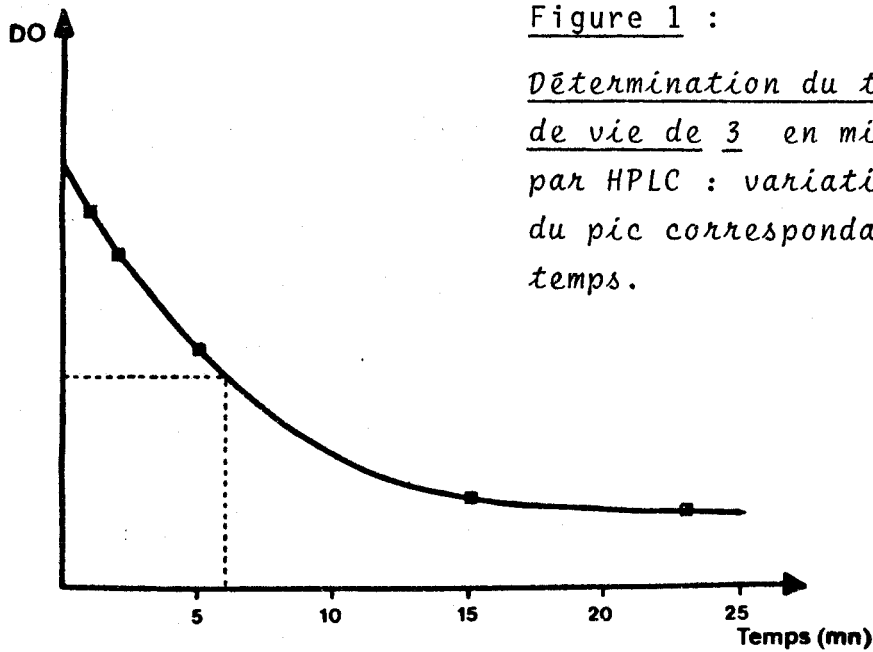
- * maîtriser la chimie de ce composé.
- * mettre au point de nouvelles voies de synthèse permettant d'obtenir de manière sélective des dérivés différemment fonctionnalisés en 1 et 4.

1/ MILIEU NEUTRE.

Nous avons utilisé un mélange méthanol - tampon phosphate pH 7 (1:1). La concentration est de l'ordre de $4 \times 10^{-3} \text{ M}$ pour une étude par HPLC.

On analyse la solution immédiatement après l'addition de 3 au solvant, 3 apparait sous la forme d'un pic unique et fin. Les résultats des injections sont reproductibles ; on peut en conclure que 3 ne se décompose pas sur la colonne.

En suivant la disparition du pic correspondant à 3, illustrée par les figures 1 et 2, on peut évaluer sa demi-durée de vie à 6 mn dans le mélange méthanol-eau pH 7 (1:1, v/v) à 20°C.



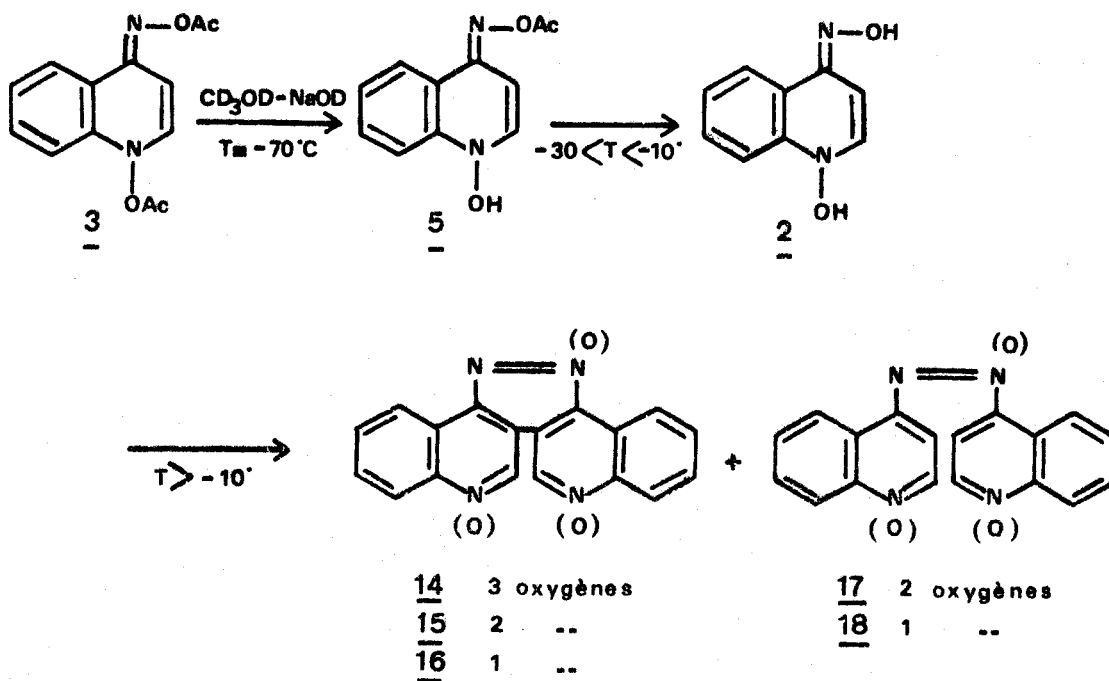
En fin de réaction, le profil chromatographique obtenu est complexe, la ligne de base est très irrégulière et le spectre peu résolu. Parmi les nombreux produits de réaction, on distingue quatre pics plus importants que nous n'avons ni séparés, ni identifiés.

Tous les mécanismes radicalaires (36,42) ou ioniques (29) proposés dans la littérature pour la décomposition de 3 étant possibles dans l'eau à pH neutre, nous avons cherché une plus grande sélectivité en opérant en milieu basique ou en milieu acide.

2/ MILIEU BASIQUE.

Nous avons effectué la réaction en milieu basique, en solution dans le méthanol ; dès l'addition de la soude la solution change de couleur et il se forme un précipité. Il est donc nécessaire d'opérer à basse température pour visualiser les produits primaires d'hydrolyse.

Bilan de la réaction :



La RMN est la seule technique qui permette de suivre l'évolution de l'hydrolyse à basse température. Le tube contenant la solution méthanolique refroidie dans l'azote liquide est placé dans la sonde stabilisée à -70°C , nous additionnons la soude détergiée juste avant d'enregistrer le spectre. Puis nous augmentons la température de la sonde par paliers de 5°C .

* Température stabilisée à -70°C .

Même à -70°C , l'addition de la soude provoque l'hydrolyse immédiate d'une fonction acétate. En effet, le spectre du produit de départ (deux singulets à 2,12 et 2,31 ppm, COCH_3 , deux doublets à 6,30 et 7,40 ppm, respectivement $\text{C}_3\text{-H}$ et $\text{C}_2\text{-H}$) a disparu. Le produit formé ne possède plus qu'une seule fonction ester (singulet à 2,15 ppm, COCH_3 , doublets à 6,25 et 7,75 ppm pour $\text{C}_3\text{-H}$ et $\text{C}_2\text{-H}$).

Le déplacement chimique du groupement acétate ($\delta=2,15$ ppm) est en accord avec la structure 5 proposée (voir annexe RMN p. 114).

5 est stable plusieurs heures à -70°C ; il reste encore stable deux heures à -30°C .

* Températures comprises entre -30 et -10°C .

Nous observons une diminution des signaux du dérivé monoacétylé 5, avec apparition de nouveaux signaux (deux doublets à 6,50 et 7,90 ppm). En fin de réaction, le spectre est superposable à celui du dérivé dihydroxylé 2 (doublets de $\text{C}_3\text{-H}$ à 6,50 ppm et $\text{C}_2\text{-H}$ à 7,92 ppm).

Deux moles d'acide acétique sont libérées par mole de dérivé diacétylé 3 (singulet à 1,95 ppm intégrant pour six protons).

* Températures supérieures à -10°C.

2 se décompose rapidement dans la soude, le spectre devient moins résolu. Progressivement l'amplitude des signaux diminue, on n'obtient plus aucun spectre. Il s'est formé un précipité important dans le tube de RMN.

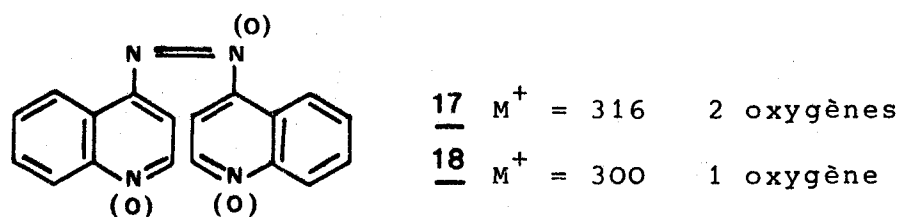
Pour préciser la nature du précipité nous avons fait la même réaction en solution plus diluée, à 0°C. Nous avons recueilli le précipité formé. Il représente 25 % de la masse initiale.

Etant donné son insolubilité dans le méthanol ou l'eau, nous n'avons pu l'analyser par HPLC. Aussi avons nous examiné sa composition à l'aide de la spectrométrie de masse.

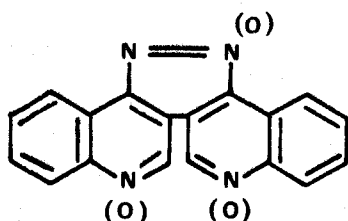
Il s'agit d'un mélange de produits de masses moléculaires élevées résultant de la dimérisation de quinoléine-1 oxyde. Nous observons deux séries de pics ($m/e=330, 314, 298, 282$ et $m/e = 316, 300, 284$), chaque coupure correspond à la perte d'un oxygène.

Par comparaison avec des dimères décrits dans la littérature (43-45), nous leur avons attribué les structures suivantes :

1. Azo ou azoxydiquinoléines



La position des deux fonctions N-oxyde n'est pas déterminée.

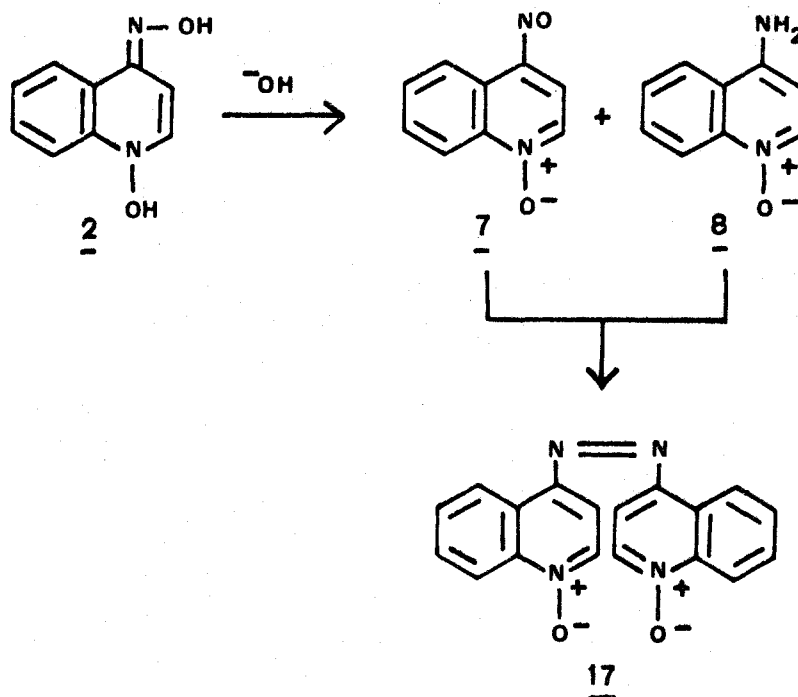
2. *Pyridazino[3,4-c ; 5,6-c']diquinoléines.*

<u>14</u>	$M^+ = 330$	3 oxygènes
<u>15</u>	$M^+ = 314$	2 oxygènes
<u>16</u>	$M^+ = 298$	1 oxygène

Les réactions de formation de ces dimères ouverts et fermés à partir du dérivé dihydroxylé 2, ont fait l'objet de nombreuses publications, souvent confuses. En effet, dès 1965, KOSUGE (43-45) décrivait une réaction d'oxydation de 2 en milieu basique (agitation de 2 dans la soude en présence d'oxygène et obtention d'un mélange de dimères avec des rendements qui varient selon les expériences de 2 à 7 %).

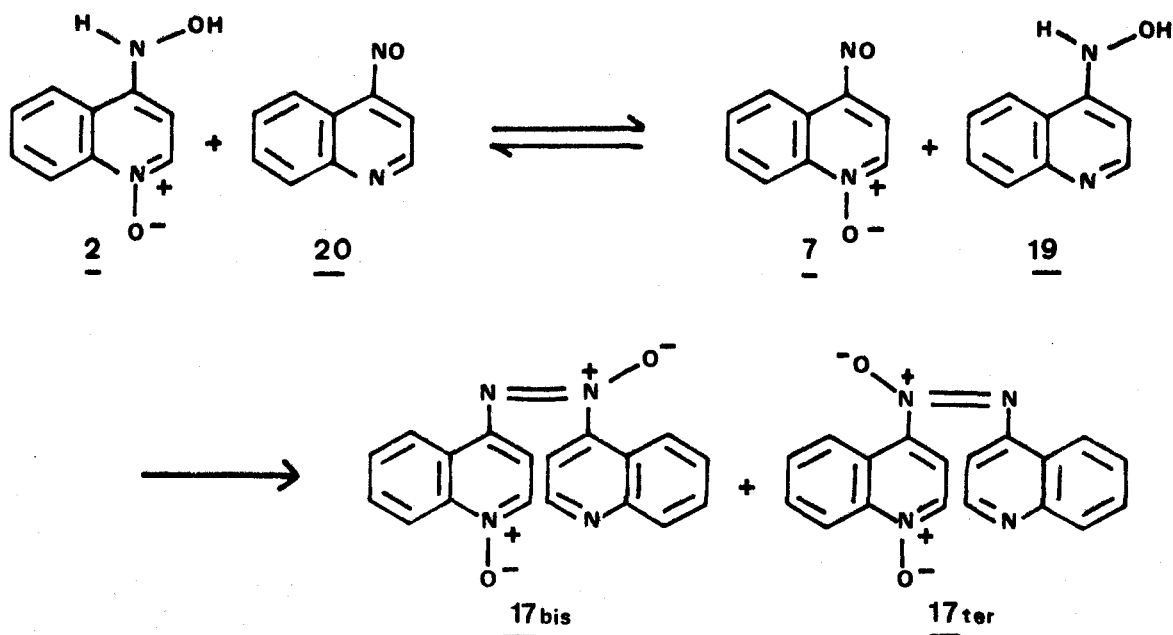
1. Azo ou azoxydiquinoléines 17 et 18.

KOSUGE (43-45) suggère l'existence d'un intermédiaire réactionnel nitrosé, la nitroso-4 quinoléine-1 oxyde 7 (la formation de 7 dans le milieu réactionnel a été confirmé en 1972 (46) par étude d'absorption UV). Il propose le mécanisme de formation suivant (43) :



Néanmoins il ne démontre pas la présence de l' amino-4 quinoléine-1 oxyde 8 dans le milieu.

La position des deux atomes d'oxygènes n'étant pas prouvée, nous pouvons proposer un autre schéma réactionnel qui ferait intervenir les produits désoxygénés 19 et 20



Cette hypothèse est basée sur deux observations :

- L'obtention de produits désoxygénés (19 et son dérivé acétylé 13) au cours des hydrolyses neutre ou acide de 3 rend probable leur existence en milieu basique.

- Une réaction d'équilibre comparable à $7+19 \rightleftharpoons 2+20$ a été décrite par DARCHEN et MOINET (47) dans le cas de condensations de nitrosobenzènes sur des phénylhydroxylamines (cf. Chp. II, décomposition spontanée de 4).

2. Pyridazinodiquinoléines 14, 15 et 16.

Pour les pyridazinodiquinoléines KOSUGE avance un mécanisme radicalaire, décrit dans le schéma suivant (44,45):

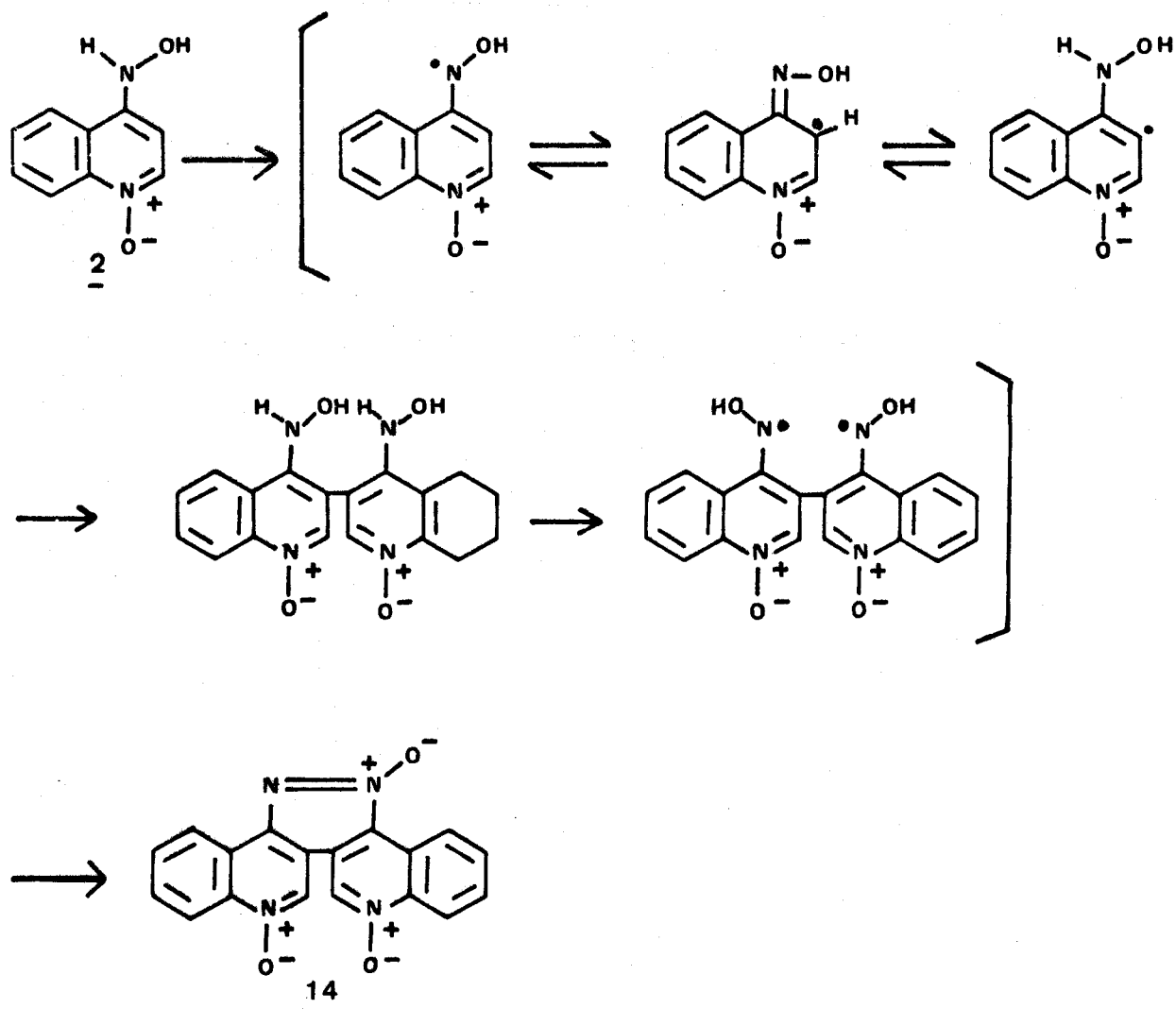


Schéma 8 : Mécanisme de formation des pyridazinodiquinoléines.

Nous n'avons pas poussé plus loin nos investigations dans le domaine des produits de dimérisation des quinoléines, car ceux-ci sont extrêmement difficiles à séparer, purifier et identifier de façon certaine.

En conclusion, en milieu basique le dérivé diacétylé 3 s'hydrolyse instantanément et sélectivement en acétate d'oxime 5. A son tour celui-ci se décompose rapidement en oxime 2.



3/ MILIEU ACIDE.

Dans un premier temps, nous avons étudié le comportement du dérivé diacétylé 3 en milieu acide, en utilisant les mêmes conditions opératoires que celles mises en jeu en milieu basique (méthanol, basse température).

Le dérivé diacétylé 3 étant stable dans le mélange réactionnel (méthanol-acide chlorhydrique) à basse température nous nous sommes limités à l'étude des réactions à température constante, à 25°C.

Nous avons étudié l'hydrolyse en fonction du temps (observation par RMN dans le méthanol) et l'influence du solvant : méthanol, diméthylsulfoxyde par les techniques de RMN et HPLC, et eau par HPLC.

a/ EVOLUTION EN FONCTION DU TEMPS : ETUDE PAR RMN.

Dans le mélange méthanol deutérié-acide chlorhydrique deutérié le spectre du dérivé diacétylé 3 est caractérisé par deux singulets correspondant aux groupements acétyles à 2,35 et 2,55 ppm et par deux doublets à 7,15 et 9,00 ppm (respectivement C_3-H et C_2-H). Le tableau 2 retrace l'évolution du spectre au cours du temps.

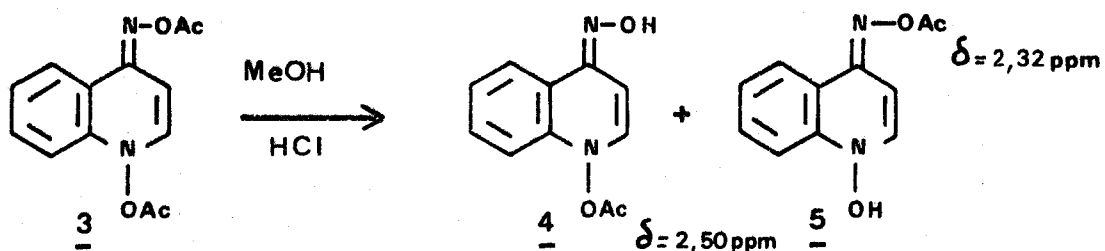
δ temps	δC_2-H		δC_3-H		$\delta COCH_3$				
t = 0	9,00		7,15		2,55	2,35			
t = 25mn	9,00	8,90	8,70	7,15	7,10	2,55	2,50	2,35	2,32
t = 30mn	8,90		8,70		7,10		2,50		2,32
t = 45mn	8,90				7,10		2,32		
t = 1h40			8,65	7,15	7,05				

Tableau 2.

Au temps $t=0$, on additionne l'acide chlorhydrique, le spectre enregistré correspond à celui du dérivé diacétylé 3.

Au temps $t = 25$ mn, on observe l'apparition de deux nouveaux singulets ($\delta=2,32$ et $2,50$ ppm), ainsi que de plusieurs doublets dans la région des protons aromatiques ($\delta= 7,10, 8,70$ et $8,90$ ppm). L'amplitude de tous les signaux du produit de départ 3 (singulets à $2,35$ et $2,55$ ppm, doublets à $7,15$ et $9,00$ ppm) a diminué. De l'acide acétique est libéré au cours de la réaction (apparition d'un singulet à $1,90$ ppm).

La présence de deux singulets à $2,32$ et $2,50$ ppm suggère la formation de deux dérivés monoacétylés. Des études ultérieures (cf. annexe de RMN) nous ont permis de leur attribuer les structures 4 ($\delta_{\text{COCH}_3} = 2,50$ ppm) et 5 ($\delta_{\text{COCH}_3} = 2,32$ ppm).



Au temps $t = 30$ mn, le spectre du produit de départ (singulets à $2,35$ et $2,55$ ppm) a totalement disparu. Le spectre correspond au mélange des deux dérivés monoacétylés : 4 (singulet à $2,50$ ppm, COCH_3 , doublets à $7,10$ et $8,70$ ppm, respectivement $\text{C}_3\text{-H}$ et $\text{C}_2\text{-H}$) et 5 (singulet à $2,32$, COCH_3 , doublets à $7,10$ et $8,90$ ppm, $\text{C}_3\text{-H}$ et $\text{C}_2\text{-H}$). 5 est formé en plus grande quantité que 4 (singulet à $2,32$ ppm plus important que celui à $2,50$ ppm).

Au temps $t = 45$ mn, on remarque la disparition des signaux de 4. Le pic de l'acide acétique (singulet à $1,90$ ppm) a considérablement augmenté. On note aussi une diminution de l'amplitude des signaux de 5.

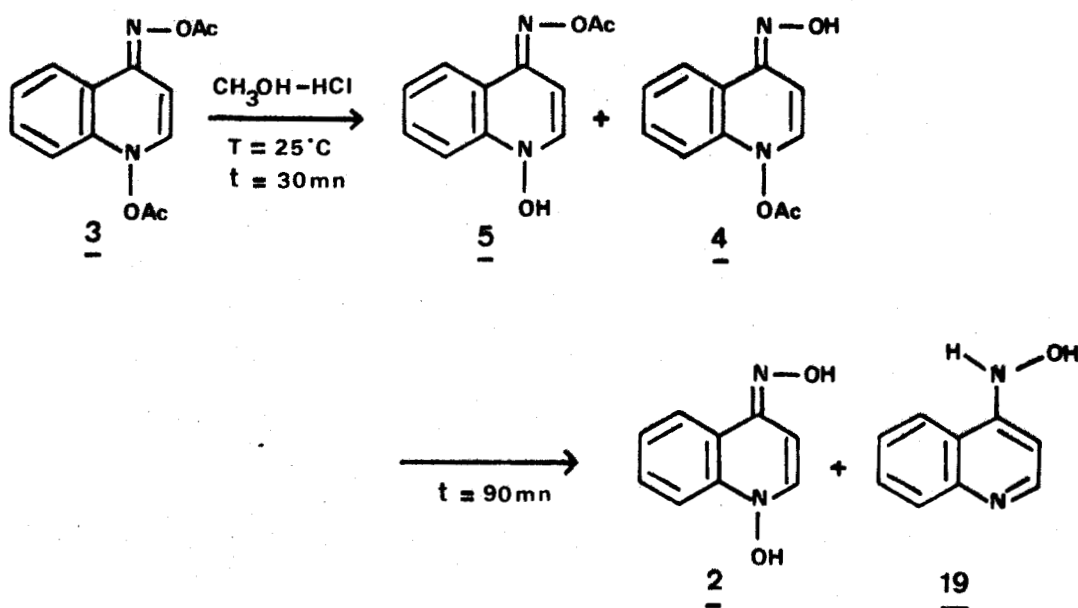
Enfin, au temps $t = 90$ mn, on ne retrouve plus le spectre de 5 (absence du singulet à $2,32$ ppm). Le spectre final

est complexe, il contient en particulier deux doublets ($\delta = 7,05$ et $7,15$ ppm) dans la région où l'on trouve habituellement les protons portés par le C_3 . Nous pouvons en conclure qu'il y a au minimum deux produits majeurs d'hydrolyse.

Une analyse par HPLC du mélange réactionnel nous a permis d'identifier les produits finaux d'hydrolyse.

Il s'agit principalement du dérivé dihydroxylé 2 ainsi qu'une faible quantité de produit désoxygéné 19 (figure 3 p. 39).

En conclusion, on peut écrire le schéma réactionnel suivant : 3 s'hydrolyse pour donner un mélange de deux dérivés monoacétylés 4 et 5, qui conduit ensuite au mélange des deux dérivés hydroxylés 2 et 19. Notons qu'à aucun moment, nous n'observons la formation sélective d'un seul dérivé monoacétylé.

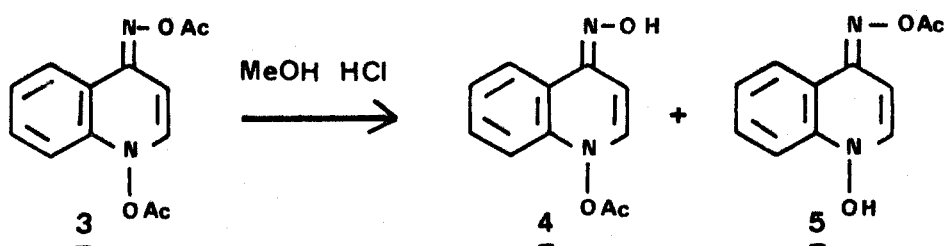


b/ INFLUENCE DU SOLVANT.

Dans le but d'accroître la sélectivité de l'hydrolyse, nous avons testé plusieurs solvants : méthanol, diméthylsulfoxyde, eau.

Le produit final de la réaction est le dérivé dihydroxylé 2 quel que soit le solvant. Nous nous sommes essentiellement intéressés aux produits primaires d'hydrolyse, c'est à dire à la formation des dérivés monoacétylés 4 et 5.

* Méthanol-acide chlorhydrique



Comme le montre l'expérience précédente réalisée en tube de RMN, la méthanolyse en milieu acide n'est pas sélective, elle conduit au mélange des deux dérivés monoacétylés 4 et 5.

Nous avons confirmé ce résultat de manière quantitative en étudiant, par analyse HPLC, le comportement du composé diacétylé 3 en fonction du temps.

La figure 3 représente les profils chromatographiques obtenus après 20 et 60 mn d'hydrolyse. On retrouve les deux pics caractéristiques de 5 (celui-ci se décompose en effet de façon répétitive sur la phase greffée en deux produits notés 5a et 5b sur les profils chromatographiques) ainsi que le pic unique correspondant à 4 (identifié par comparaison avec un échantillon authentique de 4, cf. Chp II).

Le pic du produit de départ 3, encore important après 20 mn, a pratiquement disparu après 60 mn de réaction.

On note aussi la présence de l'hydroxylamine 19, dont le pourcentage varie peu au cours du temps, et du dérivé dihydroxylé 2, produit final d'hydrolyse des deux dérivés monoacétylés 4 et 5.

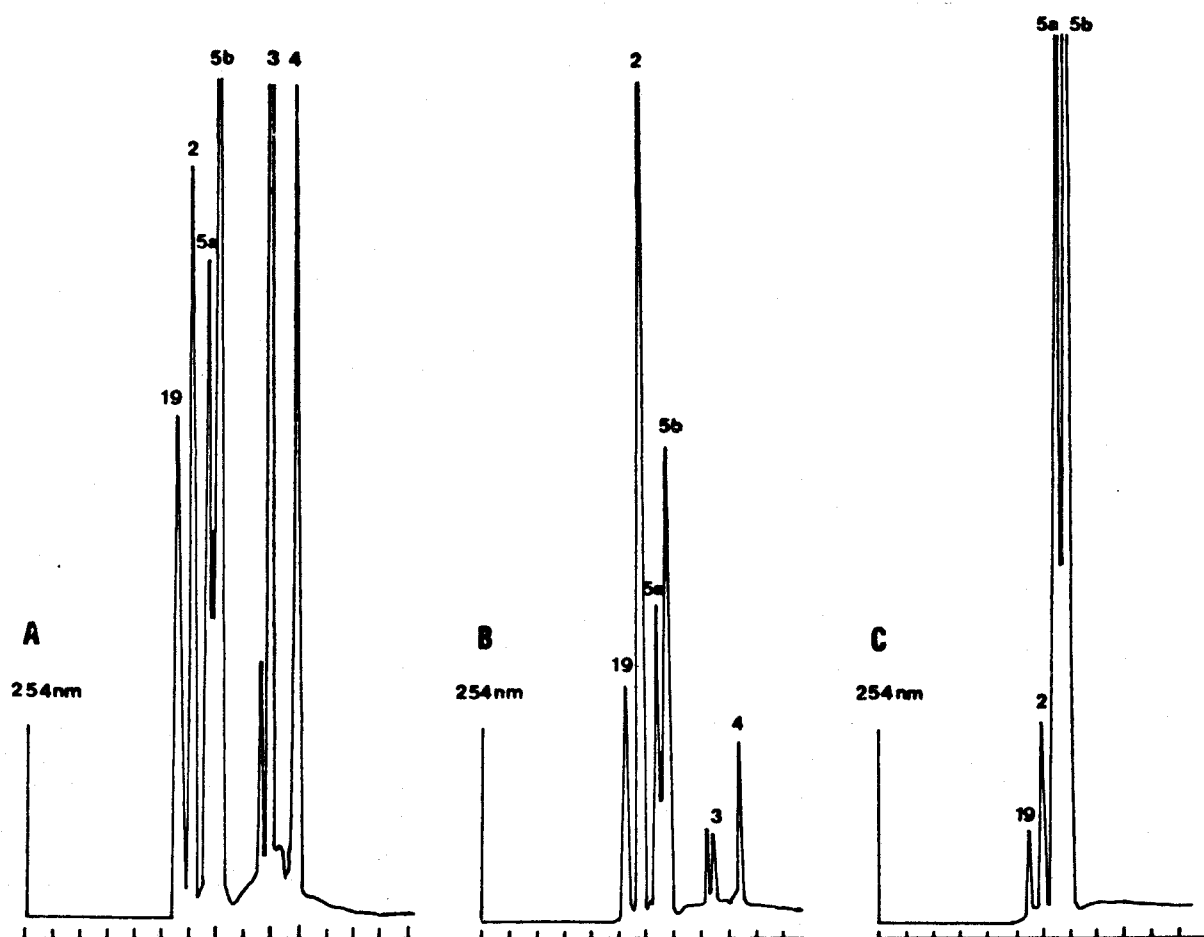
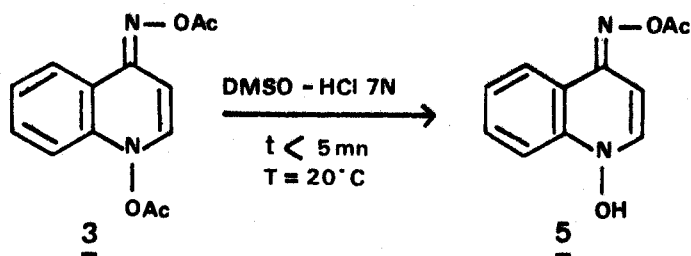


Figure 3 : Hydrolyse acide de 3, étude par HPLC :

A : Méthanol-acide chlorhydrique, $t = 20$ mn

B : Méthanol-acide chlorhydrique, $t = 60$ mn

C : Diméthylsulfoxyde-acide chlorhydrique, $t = 5$ mn.

* Diméthylsulfoxyde-acide chlorhydrique

En RMN, le spectre obtenu quelques minutes après l'addition de l'acide (DCl 7N) est celui d'un dérivé monoacétylé (singulet à 2,4 ppm, COCH_3 , doublets à 6,95 et 8,85 ppm, $\text{C}_3\text{-H}$ et $\text{C}_2\text{-H}$).

Après neutralisation par la soude diluée, nous avons comparé les déplacements chimiques des principaux signaux (singulet 2,15 ppm, COCH_3 , doublet à 6,05 pour $\text{C}_3\text{-H}$ et multiplet à 8,05 ppm pour $\text{C}_5\text{-H}$) à ceux donnés par KAWAZOE pour le dérivé monoacétylé 5 (28).

Le caractère quantitatif de la réaction est assuré par le calcul de l'intégration : formation d'une mole de 5 et d'une mole d'acide acétique par mole de 3.

Nous avons analysé par HPLC un échantillon de la solution après 5 mn de réaction (figure 3 p. 39).

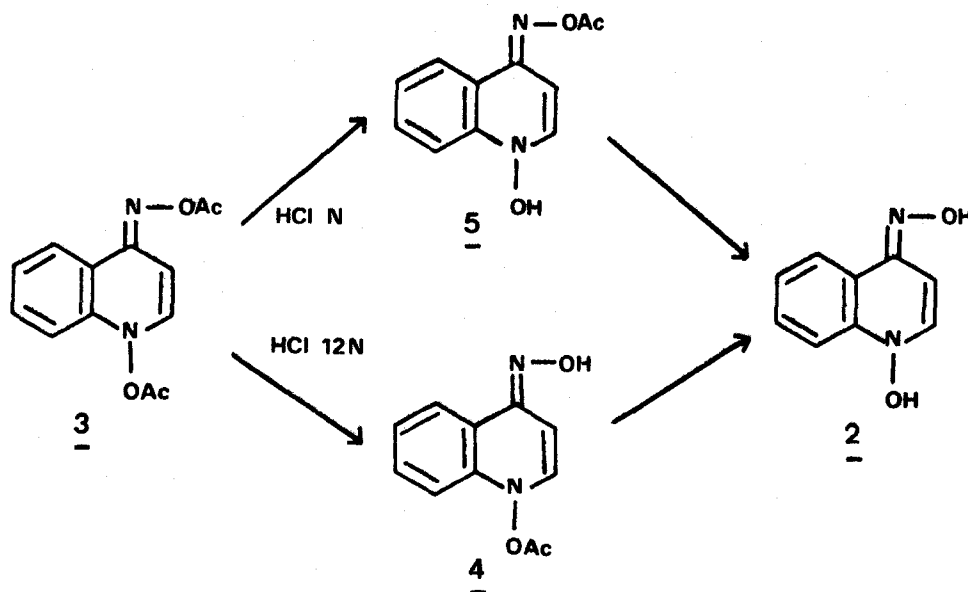
Le profil d'hydrolyse ne laisse apparaître que les deux pics 5a et 5b caractéristiques de 5, ce qui confirme le rendement quantitatif et la sélectivité de la réaction.

* Eau-acide chlorhydrique

Nous avons utilisé deux types de milieux : acide chlorhydrique normal ($\text{pH} \approx 1$) et acide chlorhydrique concentré.

Le dérivé diacétylé 3 est dissous rapidement à température ambiante et analysé immédiatement par HPLC.

Nous avons pu observer deux réactions totalement différentes :



Réactions dans l'acide chlorhydrique normal :

Les figures 4 et 5 (p.42) retracent l'évolution des profils HPLC en fonction du temps. Le temps $t = 0$ correspond à la dissolution de 3 dans le solvant.

A $t = 35 \text{ mn}$ on retrouve les deux pics caractéristiques de 5 ainsi que les pics correspondant au produit de départ 3 et au produit final d'hydrolyse 2.

Au fur et à mesure que la réaction progresse le pic 3 diminue, les pics 2, 5a et 5b augmentent. L'hydrolyse de 5 et 2 semble avoir lieu parallèlement à la formation de 5.

A $t = 40 \text{ mn}$, le produit de départ 3 s'est totalement hydrolysé, les pics 5a et 5b correspondant au dérivé monoacétylé 5 sont majeurs.

A $t = 4\text{h}30$, 2 est devenu majoritaire.

A $t = 6\text{h}$, le pic 5a a disparu, il n'existe plus de dérivé monoacétylé 5 en solution, néanmoins on observe toujours le pic 5b sur les profils chromatographiques. Dans ce

Hydrolyse de 3 dans l'acide chlorhydrique normal.

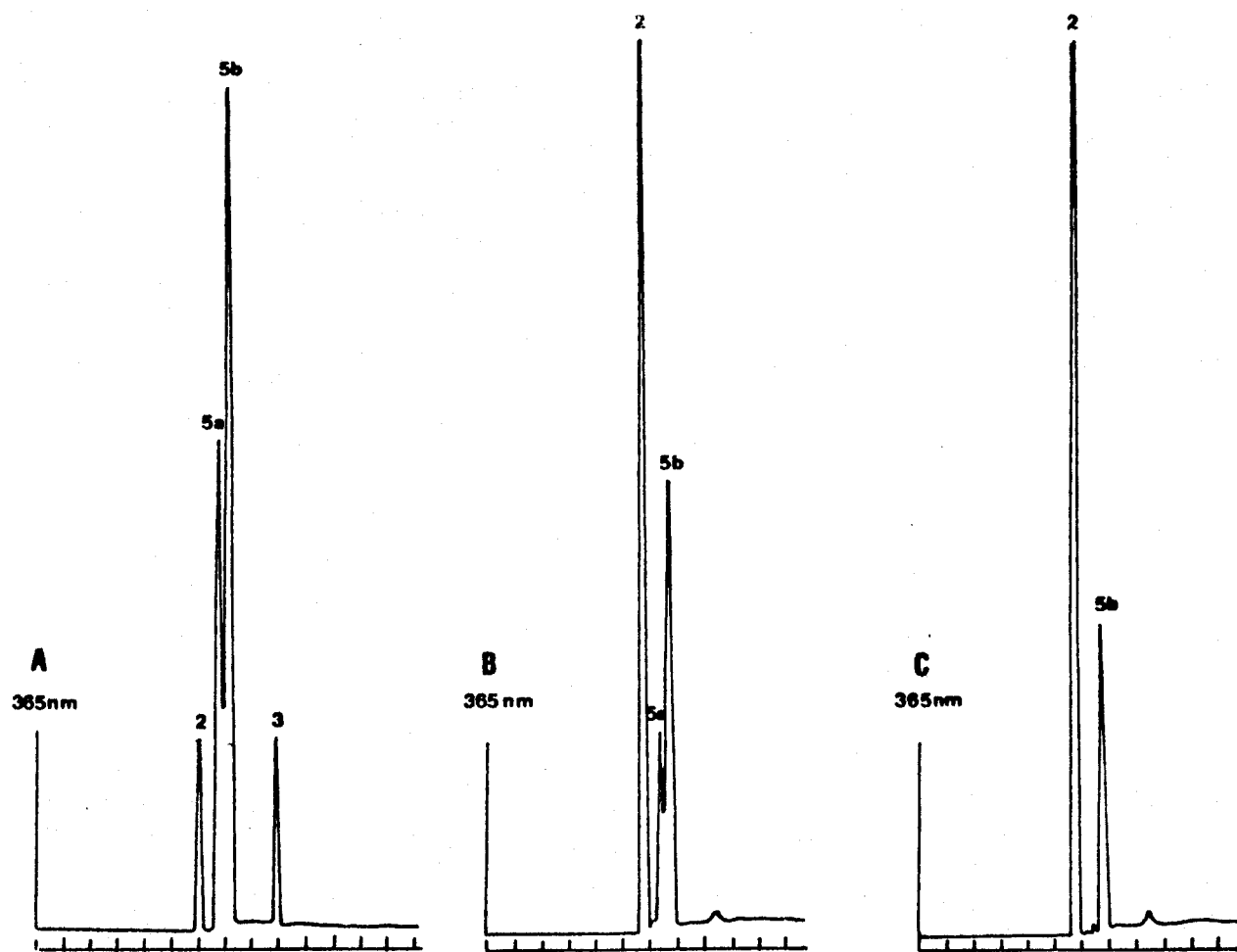


Figure 4 : Evolution des profils chromatographiques au cours du temps :
A : $t = 35 \text{ mn}$, B : $t = 35 \text{ mn}$, C : $t = 6 \text{ h}$.

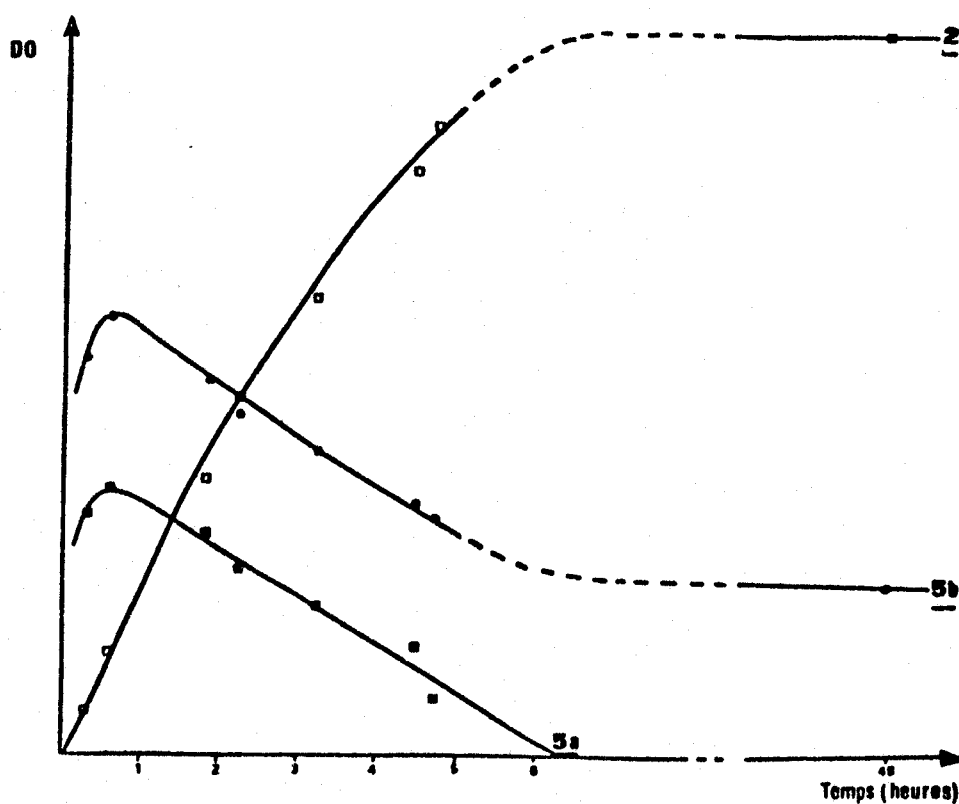
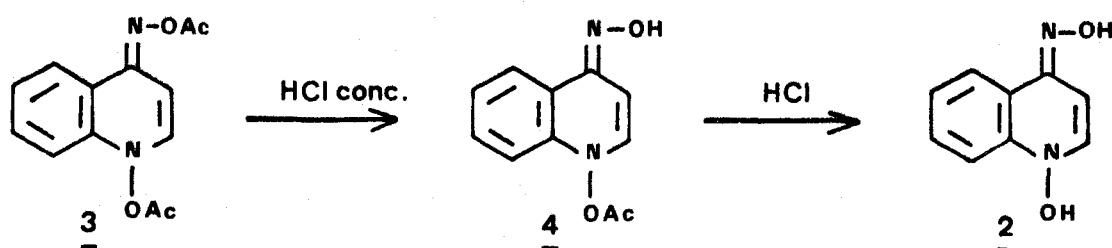


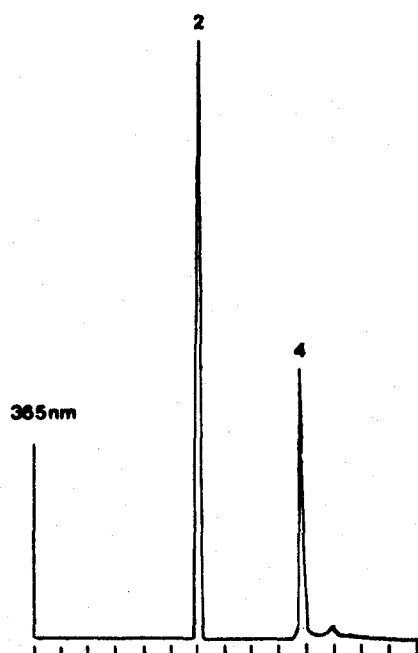
Figure 5 : Variation au cours du temps de la densité optique (DO à 365 nm) des différents pics observés par HPLC.

cas précis, le pic 5b semble donc correspondre à un produit mineur d'hydrolyse de 3, stable en milieu acide (hauteur du pic inchangé après 3 jours de réaction).

Réactions dans l'acide chlorhydrique concentré



Nous n'avons pas établi de cinétique pour cette réaction. Sur le profil d'HPLC, après 2h30 de réaction, on ne distingue que deux pics, correspondant au produit final d'hydrolyse 2 et au dérivé monoacétylé 4 (figure 6).



3 s'hydrolyse donc sélectivement en 4, il n'y a aucune trace du dérivé monoacétylé 5. Si la solution de 3 est suffisamment concentrée (environ 50 mg par cm^3), il s'amorce une cristallisation de 4 sous forme de chlorhydrate. Nous détaillons cette réaction, qui constitue une méthode de préparation de 4, dans le chapitre consacré à ce composé.

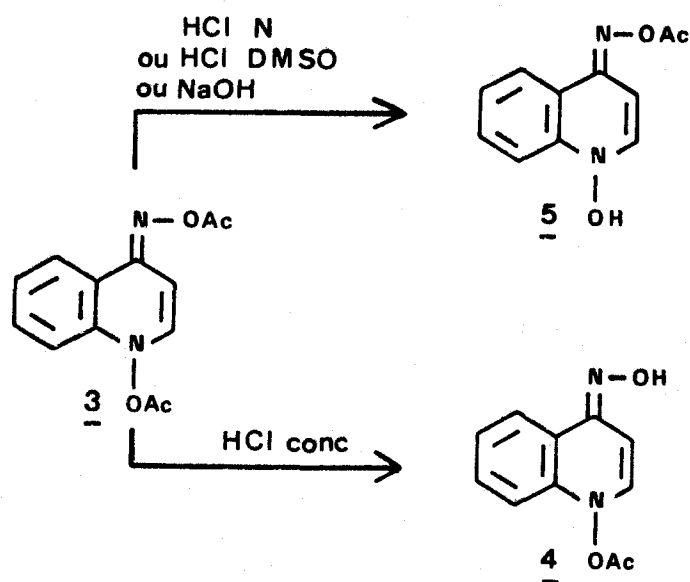
Si la solution est plus diluée (solution utilisée pour l'étude par HPLC à 1 mg par cm^3), 4 s'hydrolyse progressivement en 2.

Figure 6 : Hydrolyse de 3 dans l'acide chlorhydrique concentré :
Etude par HPLC.

4/ CONCLUSION.

Les réactions d'hydrolyse du dérivé diacétylé 3 nous ont permis de mettre en évidence l'obtention rapide et plus ou moins sélective des deux dérivés monoacétylés 4 et 5.

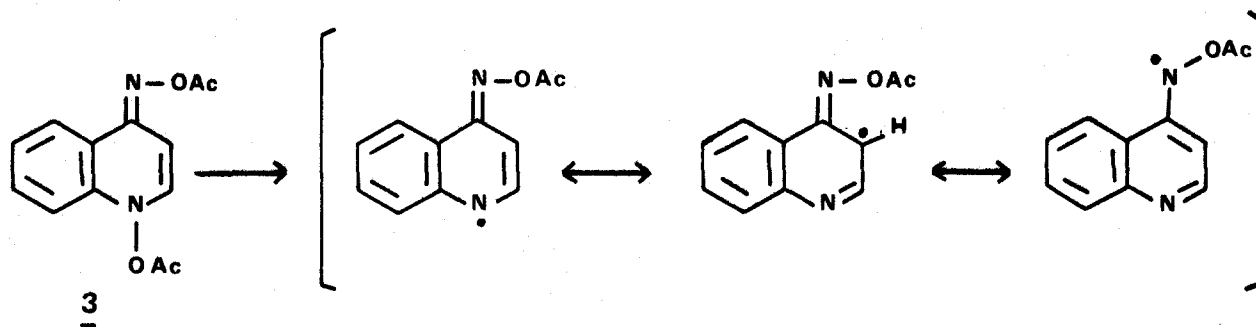
Nous avons défini les conditions de solvants et de pH par lesquelles nous pouvions orienter sélectivement la réaction vers l'un ou l'autre des dérivés monoacétylés. Ces conditions sont résumées dans le schéma suivant :



Si l'hydrolyse classique des fonctions esters conduisant à 4 et 5 est le mécanisme principal de réaction, la présence de l'acétoxyaminoquinoléine 13 et de l'hydroxylamine correspondante 19 indique que d'autres mécanismes entrent en compétition. Ces deux composés sont dûs à une rupture de la liaison N_1-O .

KAWAZOE et ARAKI (23,36) ont observé une telle rupture dans la dégradation de 3, chauffé à 70°C dans différents solvants (eau, alcools, dioxanne). Ils ont quantifié la libération d'acide acétique au cours de la réaction mais n'ont jamais établi le bilan de la réaction.

Sur la base d'études en CIDNP et RPE dans le dioxanne à 70°C, ils proposent le mécanisme radicalaire suivant (36).



Des mécanismes de coupure hétérolytique ne sont pas à rejeter mais nous n'en trouvons aucune trace dans la littérature.

C. RÉACTIONS AVEC LES NUCLÉOPHILES.

De par son importance dans le phénomène d'initiation de la cancérogénèse, la réaction avec les nucléophiles cellulaires (bases nucléotidiques, résidus soufrés ou azotés des protéines) constitue un point fondamental à élucider.

Aussi parallèlement aux réactions d'hydrolyse, avons nous effectué quelques essais préliminaires de réactivité de nucléophiles avec le dérivé diacétylé 3.

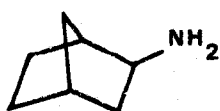
Pour cette première approche nous nous sommes limités à des nucléophiles simples -amines ou thiols- étudiés en milieu organique (chloroforme, diméthylsulfoxyde, trifluoroéthanol), dans le but de tenter de mettre en évidence des produits de fixation du nucléophile sur le noyau quinoléine du dérivé diacétylé 3.

1/ REACTIONS DANS LE CHLOROFORME

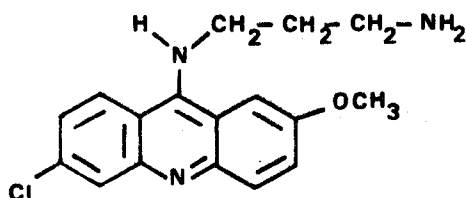
Nous avons débuté cette étude de réactivité avec les nucléophiles en utilisant des amines de hauts poids moléculaires (exo, amino-2 norbornane, "acridine-C₃-NH₂"*) aisément identifiables par analyse chromatographique sur couche mince (CCM). Nous pensions pouvoir ainsi séparer plus facilement les produits de fixation du nucléophile sur le noyau quino-
léine**

Le dérivé diacétylé 3 et l'amine, dissous dans le chloroforme sont laissés 24 h sous agitation à température ambiante. Les produits de réaction séparés par chromatographie préparative sur plaque de silice, sont analysés par spectrométrie de masse.

Dans les deux cas, amino-2 norbornane et "Acr-C₃-NH₂", nous avons isolé et caractérisé les amides correspondant au transfert d'un groupe acétyle sur la fonction amine, avec des rendements respectivement de 13 et 17 %.



AMINO-2 NORBORNANE

ACR-C₃-NH₂

* Abréviation utilisée : Acr-C₃-NH₂ : N-(amino-3 propyl-1) amino-9 chloro-6 méthoxy-2 acridine.

** Rappelons, à ce propos, les contraintes expérimentales liées à la fois à l'instabilité et au caractère cancérigène des produits à étudier. Par exemple, pour d'évidentes raisons de sécurité, les manipulations de composés tels que le dérivé diacétylé 3 sont menées en général sur des quantités de l'ordre de 1 à 10 mg.

Nous n'avons pas pu identifié les autres produits de réaction, de masses moléculaires élevées (masses plus élevées que la somme des masses moléculaires de la quinoléine et de l'amine). On retrouve, néanmoins, dans les spectres de masse des coupures caractéristiques des quinoléines et des amines, ce qui suggère l'existence de produits de fixation de l'amine sur la quinoléine.

La formation d'amide implique un mécanisme d'attaque nucléophile de l'amine sur le (ou les) groupement(s) ester(s). En vue de préciser ce mécanisme, nous avons effectué les réactions en tube de RMN, avec des nucléophiles plus simples : thiols et amines (tableau 3).

AMINES	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{OH}$ amino-3 propanol	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ amino-1 propane	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$ diamino-1,3 propane
	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{NH}_2$ aniline		
THIOLS	$\text{HS}-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ propanethiol	$\text{HS}-(\text{CH}_2)_2-\text{OH}$ β-mercaptoéthanol	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{SH}$ thiophenol

Tableau 3 :

a/ REACTION AVEC LES THIOLS.

Le dérivé diacétylé 3 est dissous dans le minimum de chloroforme, le nucléophile est ensuite additionné directement dans le tube de RMN.

Nous avons suivi l'évolution du spectre au cours du temps. Avec les thiols, la réaction est relativement lente (24 à 48 h).

Le spectre du dérivé diacétylé 3 (deux singulets à 2,2 et 2,38 ppm, COCH_3 , deux doublets à 6,2 et 6,95 ppm, respectivement $\text{C}_3\text{-H}$ et $\text{C}_2\text{-H}$) s'efface lentement. On voit apparaître les signaux de l'acide acétique (2,1 ppm) et des thioacétates (singulet vers 2,4 ppm, S-CO-CH_3).

On ne peut pas mettre en évidence un intermédiaire monoacétylé 4 ou 5.

La RMN montre donc le transfert d'un groupement acétyle sur -SH , ainsi que la libération d'acide acétique. Mais, très vite, les spectres deviennent complexes, indiquant que la réaction conduit à un mélange de produits.

b/ REACTIONS AVEC LES AMINES.

Lors de l'addition de l'amine dans le tube de RMN, il apparaît, dans certains cas, un précipité coloré (vraisemblablement des dimères de quinoléine comparables à ceux obtenus par action de la soude, cf. p. 31), ce qui rend difficile, voire impossible une analyse correcte de la réaction.

On peut cependant faire quelques remarques :

. Le temps maximal de réaction (disparition de 3) est égal à 5h pour l'aminopropane. A cause des phénomènes de précipitation, il est difficile d'évaluer la vitesse de réaction dans les autres cas.

. On note l'apparition de nouveaux sigulets vers 2 ppm attribuables aux groupements amides formés et à l'acide acétique libéré au cours de la réaction. Dans la région des aromatiques, on ne distingue plus aucun signal résolu. Il ne se forme apparemment pas de dérivés monoacétylés (absence des pics CH_3 attendus, vers 2,15 ppm pour 5 et 2,30 ppm pour 4).

2/ REACTIONS DANS LE DIMETHYLSULFOXYDE.

Nous avons utilisé les mêmes nucléophiles : thiols et amines. Les solutions sont préparées dans le diméthylsulfoxyde deutérié afin de suivre l'évolution de la réaction en tube de RMN.

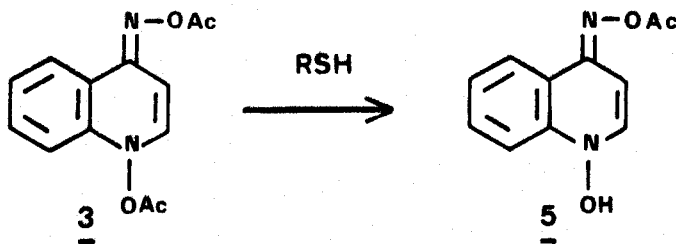
a/ THIOLS.

Le dérivé diacétylé 3 est stable 24 h en présence de propanethiol, par contre, il réagit rapidement avec le thio-3 propanol ou le thiophénol.

Quelques minutes après l'addition de thiophénol, le spectre de 3 (singulets à 2,42 et 2,20 ppm, COCH₃, doublets à 6,20 et 7,65 ppm, C₃-H et C₂-H, multiplet à 8,05 ppm, C₅-H) est remplacé par celui du dérivé monoacétylé 5 : un seul singulet à 2,16 ppm correspondant au groupement acétate (deux doublets à 6,05 et 7,60 ppm pour C₃-H et C₂-H, multiplet à 8,05 pour C₅-H). Il apparaît aussi un singulet à 2,40 ppm attribuable à l'acétate de thiophényle.

Le calcul de l'intégration confirme l'aspect quantitatif de la réaction, il se forme une mole de dérivé monoacétylé 5 et une mole d'acétate de thiophényle par mole de 3.

L'obtention de ce dérivé monoacétylé 5 par action du dithiothreitol sur 3 avait été mentionné par NAGAO en 1976 (48) et reprise par BAILLEUL (40) (cf. : Chp. III).



5 se décompose ensuite lentement (plusieurs heures à température ambiante) en libérant de l'acide acétique (singulet à 1,9 ppm).

Pour confirmer les résultats de RMN, nous avons analysé le mélange réactionnel obtenu par action du thiophénol ou du dithiothreitol sur 3, par HPLC.

Dans les deux cas après 5 mn de réaction, nous obtenons les mêmes profils chromatographiques pour le produit 5.

En raison de sa très grande pureté nous avons par la suite utilisé cette réaction avec le thiophénol pour préparer 5 et obtenir aisément des échantillons authentiques utilisables comme références pour les analyses par HPLC.

b/ AMINES.

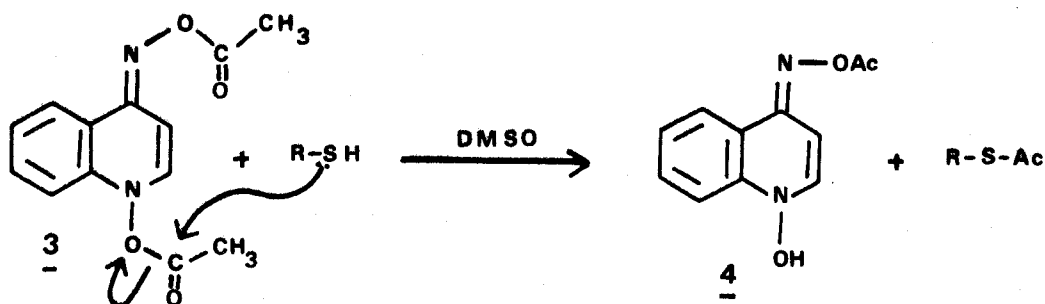
Avec l'aniline et l'aminopropane, 3 se décompose en quelques heures (respectivement en 1h15 et en 5 h) en un mélange complexe.

On observe en RMN une diminution des signaux correspondant aux deux fonctions acétyles et un élargissement de la région des aromatiques. En fin de réaction, seuls sont visibles les singulets attribuables aux groupements amides nouvellement formés et à l'acide acétique libéré.

Avec le diaminopropane ou l'amino-3 propanol la réaction est totale en moins d'une minute. Le spectre obtenu est celui du dérivé monoacétylé 5 (COCH_3 à 2,10 ppm, doublets à 5,90 et 7,35 ppm et multiplet à 7,90 ppm).

Comme avec les thiols, 5 disparaît en quelques heures pour donner un mélange de produits (nombreux signaux mal résolus en RMN) avec libération d'acide acétique (singulet à 1,8 ppm).

On retrouve les mêmes réactions avec certains thiols (thiophénol, thioalcools) et les amines bifonctionnelles (diamines ou aminoalcools), c'est à dire acétylation du nucléophile et formation de 5.



Excepté pour le thiophénol, il semble que seuls les thiols ou amines bifonctionnels donnent rapidement et quantitativement 5. Nous n'avons pas trouvé d'explication à ce phénomène.

En conclusion, Les réactions en présence d'amines et de thiols confirment l'existence de 2 types de réactions compétitives :

1. Une attaque nucléophile sur les groupements carbonyles, qui conduit à l'obtention plus ou moins sélective selon les conditions, du dérivé monoacétylé 5.

2. Une rupture homolytique ou hétérolytique d'une liaison N-O, qui libère de l'acide acétique dans le milieu.

Dans le diméthylsulfoxyde, solvant qui favorise les réactions ioniques, on observe essentiellement des réactions du premier type. Dans le chloroforme, au contraire, on obtient un mélange de réactions [1] et [2].

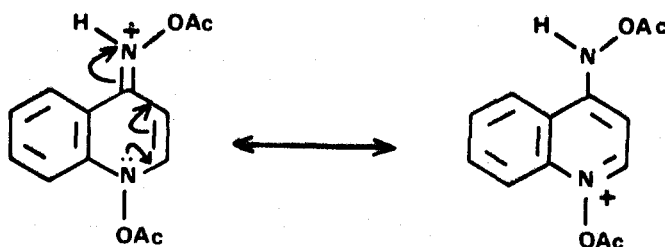
D. INTERPRÉTATION.

Dans tous les cas étudiés -réaction en présence de thiols et d'amines et hydrolyses acide et basique dans divers solvants- la première étape visible correspond à une désacétylation qui conduit à un dérivé monoacétylé 4 ou 5. On peut s'interroger sur les facteurs qui orientent la réaction vers l'un ou l'autre des produits monoacétylés. Sans pouvoir donner une interprétation définitive, on peut néanmoins faire les constatations suivantes :

1. En milieu neutre, basique, ou faiblement acide -c'est-à-dire quand le composé diacétylé 3 n'est pas protoné- on obtient toujours préférentiellement le dérivé 5. Ceci implique que la réactivité de l'acétate en 1 soit plus élevée que celle de l'acétate en 4. Or chacune des fonctions acétate est de type $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{Z}$ (Z représentant la partie quinoléine de la molécule) ; on peut s'attendre à ce que la réactivité soit d'autant plus élevée que Z est plus électro-attracteur. Une indication sur le caractère électro-attracteur de Z dans une molécule $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{Z}$ est fournie par la position de la vibration $\nu\text{C}=\text{O}$ dans l'infrarouge, un groupement fortement attracteur conduisant à une valeur élevée de la bande de vibration (49).

Dans le dérivé diacétylé 3, l'acétate d'hydroxylamine en 1 possède une bande à 1805 cm^{-1} , valeur nettement plus élevée que celle de l'acétate d'oxime en 4 à 1750. Cette corrélation : valeur plus élevée de la vibration $\nu\text{C}=\text{O}$ - caractère plus électro-attracteur de Z - réactivité plus élevée de $\text{CH}_3-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OZ}$ - pourrait rendre compte de l'hydrolyse sélective conduisant au dérivé 5.

2. En milieu acide concentré par contre, le système est protoné et les deux groupes fonctionnels



sont de type $\text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}} - \text{OZ}^\oplus$. Il faudrait alors supposer que l'effet du solvant soit suffisant pour orienter l'hydrolyse tantôt vers le produit 5 (DMSO) ou vers le produit 4 (HCl, CHCl_3).

-0-0-0-0-0-0-0-0-



CHAPITRE II

=====

DERIVE MONOACETYLE 4

L'un des résultats très pratiques des études de réactivité du dérivé diacétylé 3 avait été la mise au point d'une méthode sélective d'obtention du dérivé monoacétylé 4, produit nouveau qui n'avait jamais été mentionné auparavant.

La préparation sélective de ce dérivé, nous permettra :

1. D'étudier la réactivité de la fonction acétate d'hydroxylamine, en position 1 du dérivé diacétylé 3.
2. De synthétiser des composés fonctionnalisés différemment en 1 et 4 et étudier leur réactivité vis-à-vis des nucléophiles.
3. De vérifier in vitro avec l'ADN ou les nucléosides, si ce dérivé est un cancérigène ultime potentiel.

A. SYNTHÈSE - STRUCTURE.

1/ SYNTHÈSE.

Le dérivé monoacétylé 4 est préparé par barbotage d'acide chlorhydrique gazeux ou addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré dans une solution chloroformique de 3. Un produit précipite lentement quand la solution est laissée à -20°C .

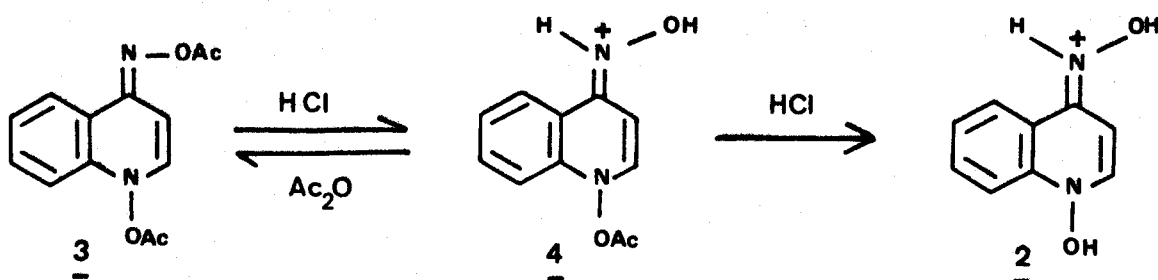
Après filtration et lavage au chloroforme, la poudre blanche obtenue doit être conservée dans un dessiccateur à basse température (-20°C). Nous avons toujours utilisé du produit fraîchement préparé pour les travaux de détermination de structure et pour l'étude des propriétés chimiques car le composé

s'est révélé être très peu stable (cf. : réactions de décomposition spontanée, p. 59).

2/ DETERMINATION DE LA STRUCTURE DE 4.

Nous avons attribué la structure 4 à ce nouveau produit sur la base des réactions chimiques et des données spectroscopiques suivantes :

1. Le composé possède un squelette identique à celui de 2 et 3, ce qui est démontré par les réactions représentées dans le schéma suivant :



* Acétylation quantitative en 3 (isolement du produit de réaction et comparaison avec un échantillon authentique ; le caractère quantitatif est déterminé par HPLC).

* Hydrolyse en dérivé dihydroxylé 2 en milieu acide (identification de 2 par HPLC et acétylation "in situ" en 3).

2. Les données spectroscopiques nous indiquent que 4 possède une fonction O-acétyl :

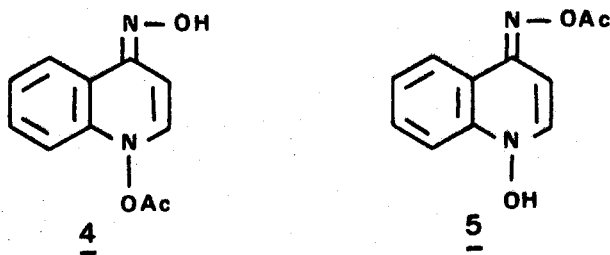
* Le spectre IR est caractérisé par une bande large à 1825 cm^{-1} . Notons que cette absorption du groupe carbonyle est plus élevée que celles du dérivé diacétylé 3. (1805 et 1750 cm^{-1}).

* Le spectre de RMN est enregistré dans le méthanol deutérié en présence d'acide chlorhydrique deutérié.

Les protons correspondant au groupement acétyle se présentent sous la forme d'un seul singulet à $\delta = 2,50$ ppm (deux singulets à 2,35 et 2,55 ppm pour les groupements acétyles de 3).

* En spectrométrie de masse, le pic de plus haute masse moléculaire $m/e = 219$ correspond à un dérivé monoacétylé de 2.

A partir de ces résultats deux structures étaient possibles :



La structure 5 peut être écartée sur la base des spectres de RMN et surtout par comparaison des temps de rétention par analyse HPLC : 4 apparaît sous la forme d'un pic unique et fin alors que 5 (préparé par action du thiophénol sur 3) donne un doublet pic caractéristique (5a + 5b).

- L'étude de la méthanolyse acide de 3 par RMN et HPLC confirme cette attribution.

En effet, par HPLC, on retrouve simultanément les deux pics caractéristiques de 5 et le pic 4 du nouveau dérivé. Ce dernier pic diminue plus rapidement que les autres au cours du temps (cf. figure 3 p. 39).

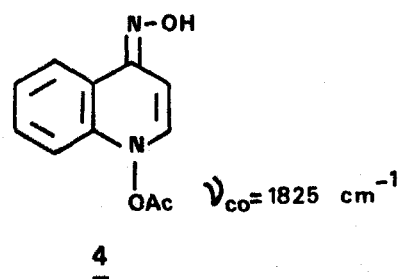
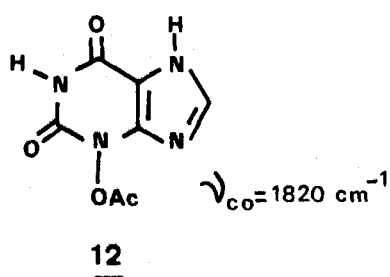
En RMN, le spectre obtenu après 30 mn de réaction est la somme des deux dérivés monoacétylés (signaux des groupements acétates à 2,32 et 2,50 ppm). L'un d'eux ($\delta = 2,50$ ppm) s'hydrolyse plus rapidement et son spectre est strictement superposable à celui du produit isolé (singulet à 2,50, COCH_3 ,

doublets à 7,10 et 8,70 C₃-H et C₂-H).

L'évolution de la réaction étant semblable dans les deux cas, nous pouvons attribuer le singulet à 2,32 ppm au dérivé monoacétylé 5 et celui à 2,50 ppm au produit 4.

La RMN est donc en parfait accord avec la structure 4.

- La valeur de l'absorption en IR à 1825 cm⁻¹, proche de celle d'un composé similaire : l'acétoxy-3 xanthine 12 (38) ($\nu_{\text{CO}} = 1820 \text{ cm}^{-1}$), est aussi en accord avec cette structure.



Cette valeur élevée (1825 cm⁻¹) ainsi que certains résultats ultérieurs de réactivité montrent que 4 existe sous forme de sel (49).

3/ STABILITE DE 4.

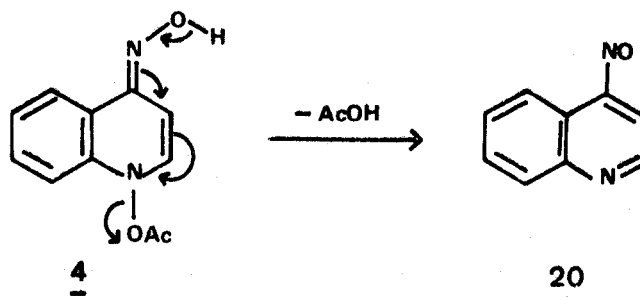
a/ ANALYSE PAR HPLC :

Pour les études de réactivité de 4 nous avons largement utilisé la technique de la HPLC pour déceler la présence de 4 dans un mélange réactionnel. Nous avons, tout d'abord, testé la validité de cette méthode.

Injecté immédiatement après dissolution dans le méthanol, 4 se présente sous la forme d'un pic fin. Une série d'expériences, nous a montré qu'en fait, le pic observé ne

correspond pas à l'élution de 4 mais à un produit de transformation que nous avons isolé par HPLC semi-préparative et auquel nous avons attribué la structure 20, par comparaison avec un échantillon authentique synthétisé au laboratoire par une voie univoque.

4 se décompose immédiatement et quantitativement en dérivé nitrosé 20, sur la phase greffée en C₁₈ en présence des solvants d'élution, méthanol et eau à pH 2,5.



Cependant, lorsque nous mentionnerons les produits 4 et 20 dans ce chapitre, nous les aurons différenciés et identifiés de manière certaine par deux manipulations complémentaires :

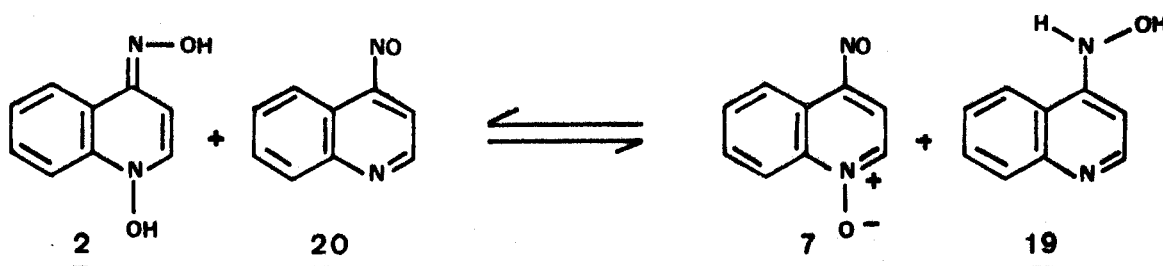
1. Etude du spectre d'absorption dans le visible. 20 absorbe à 745 nm alors que 4 n'absorbe pas.
2. Extraction au chloroforme de 20, suivie d'une identification par CCM avec le produit de synthèse (élution par l'éther).

b/ DECOMPOSITION SPONTANEE :

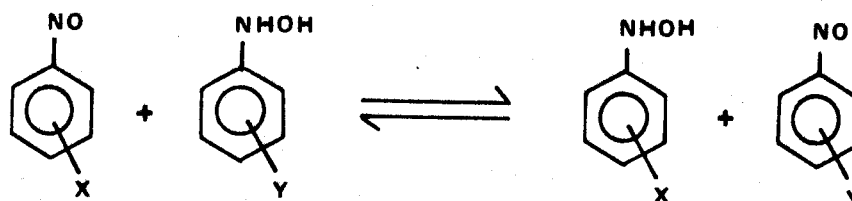
Au cours de la synthèse de 4 nous avons observé dans quelques cas, la formation de produits secondaires. Ces réactions parasites sont incontrôlables. Des expériences complémentaires nous ont montré qu'il s'agit, en fait, d'une décomposition spontanée de 4 dans le chloroforme saturé en acide chlorhydrique gazeux.

Nous avons identifié les quatre produits de réaction par HPLC et par spectrométrie de masse : il s'agit des deux dérivés hydroxylés 2 et 19, et des deux dérivés nitrosés 7 et 20.

Nous pouvons expliquer la formation de 2 par une réaction de solvolysse et celle de 20 par une réaction d'élimination du groupement acétate comme on le détaillera plus loin. La présence simultanée de 2 et 20 nous permet alors de proposer l'équilibre d'oxydoréduction suivant :



Un équilibre semblable a été décrit par DARCHEN et MOINET en série benzénique (47).



Cette réaction d'oxydoréduction, extrêmement rapide, est indépendante du mélange initial ($X-C_6H_4NO + YC_6H_4NHOH$) ou ($XC_6H_4NHOH + YC_6H_4NO$).

Dans notre laboratoire N. TOHME et M.F. LHOMME ont vérifié par HPLC que des mélanges synthétiques 2 + 20 et 7 + 19 donnaient rapidement le même profil chromatographique 2 + 20 + 7 + 19.

Cette décomposition spontanée de 4 nous oblige à toujours utiliser du produit fraîchement synthétisé pour les études de réactivité.

B. RÉACTIVITÉ.

Pour étudier la réactivité de 4 et notamment pour déceler son aptitude éventuelle à réagir avec des composés nucléophiles, nous avons commencé par examiner son comportement dans des conditions de solvolysse en milieu aqueux.

Toutes les réactions ont été faites à température ambiante (18-20°C) et l'analyse des mélanges réactionnels a été effectuée par HPLC, à partir de solution 4×10^{-3} M.

4 existant à l'état de sel, nous avons été amené à opérer à différents pH.

Il apparait immédiatement que 4 évolue de manière totalement différente selon le pH dans lequel il se trouve placé.

1. RESULTATS.

a/ Dans l'acide chlorhydrique concentré (HCl 12N), la réaction principale est une hydrolyse de 4.

Des échantillons de la solution sont analysés par HPLC, après 3 mn, 20 mn et 3 h de réaction.

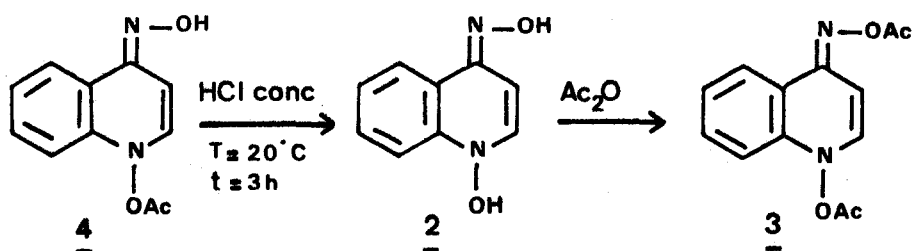
4 se présente sous la forme d'un pic unique en début de réaction. Celui-ci diminue progressivement, alors qu'apparait un nouveau pic dont le temps de rétention correspondant au dérivé dihydroxylé 2.

La réaction est relativement lente : 17 % de produit hydrolysé après 20 mn, la réaction est totale en 3 h. Le rendement (calculé par étalonnage) est supérieur à 90 %.

La structure de ce produit 2, a été confirmée de la façon suivante :

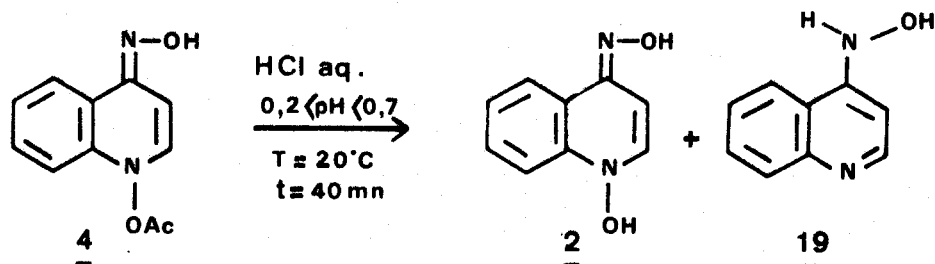
* Réacétylation en dérivé diacétylé 3 par l'anhydride acétique : 3 est identifié par son temps de rétention.

* Etude de la réaction par spectroscopie UV : Le spectre d'absorption de 4 présente deux maxima à 230 et 242 nm. L'évolution de la réaction est caractérisée par une augmentation de l'absorption à 230 nm. En fin de réaction, le spectre est superposable à celui d'un échantillon authentique de 2 (λ_{\max} (HClN) = 232 ($\epsilon = 18000$), 340 ($\epsilon = 17000$) (50).



Remarquons que l'on observe la même réaction, en faisant barboter de l'acide chlorhydrique gazeux dans une solution méthanolique de 4.

b/ Dans la gamme de pH comprise, environ, entre 0,2 et 0,7 (solutions aqueuses d'acide chlorhydrique), l'hydrolyse conduit à l'obtention de deux produits majoritaires, les dérivés hydroxylés 2 et 19, identifiés par leur temps de rétention et le rapport des absorptions UV à 254 et 365 nm ($\epsilon_{254}/\epsilon_{365}$).



Sur le plan cinétique, la figure 7 indique la vitesse de disparition du dérivé 4 en fonction du temps à pH 0,2, à 20°C, pour une concentration 4×10^{-3} M.

On voit que la demi-durée de vie peut être estimée à 10 mn.

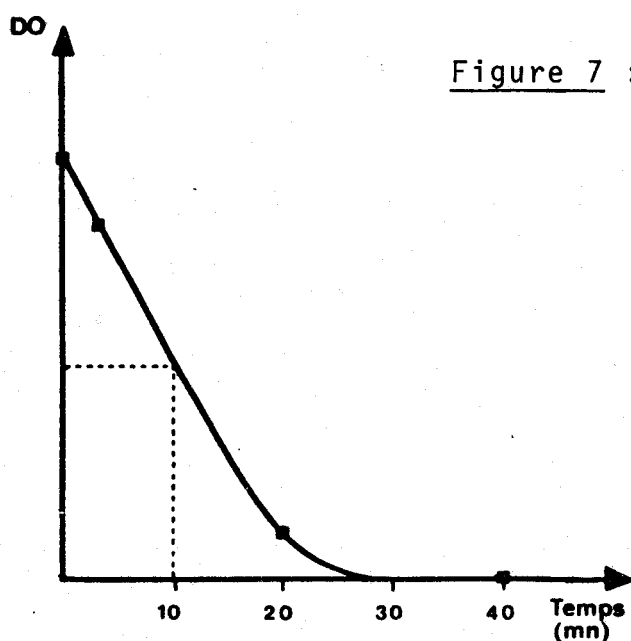
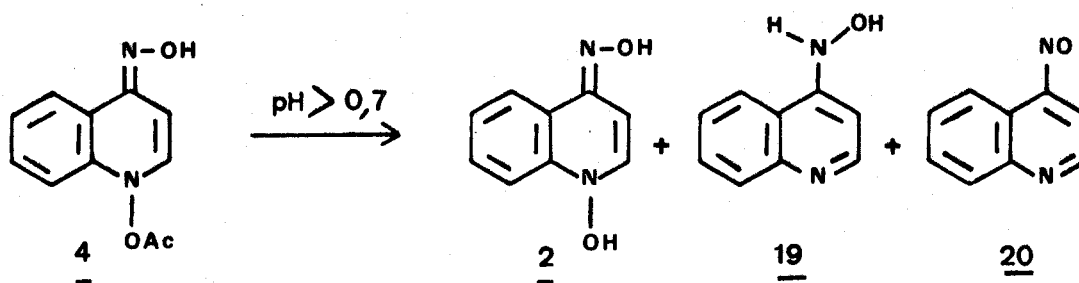


Figure 7 : Détermination du temps de demi-durée de vie de 4 à pH 0,2, par HPLC : variation de la DO à 254 nm du pic correspondant à 4 au cours du temps.

c/ A partir d'un pH que l'on peut évaluer à 0,7, on observe la formation d'un produit supplémentaire : la nitroso-4 quinoléine 20.

20 est identifié par son temps de rétention en HPLC (comparaison avec un échantillon authentique) et surtout par son absorption dans le visible (745 nm). La couleur jaune de la solution est due à la présence de 20.



Sur le tableau 4 nous avons représenté les variations des rendements en produits 2 et 19 entre pH 0,2 et 1 (valeurs obtenues par HPLC, après étalonnage avec des solutions standardisées d'échantillons authentiques).

pH	0,2	0,5	0,7	1
% <u>2</u>	13	4	2	0
% <u>19</u>	49	49	50	50

Tableau 4.

Il semble que le rendement en composé 19 varie peu. Par contre comme l'indique la figure 8, le pourcentage de 2 diminue rapidement quand le pH croît, pour devenir nul à pH 1.

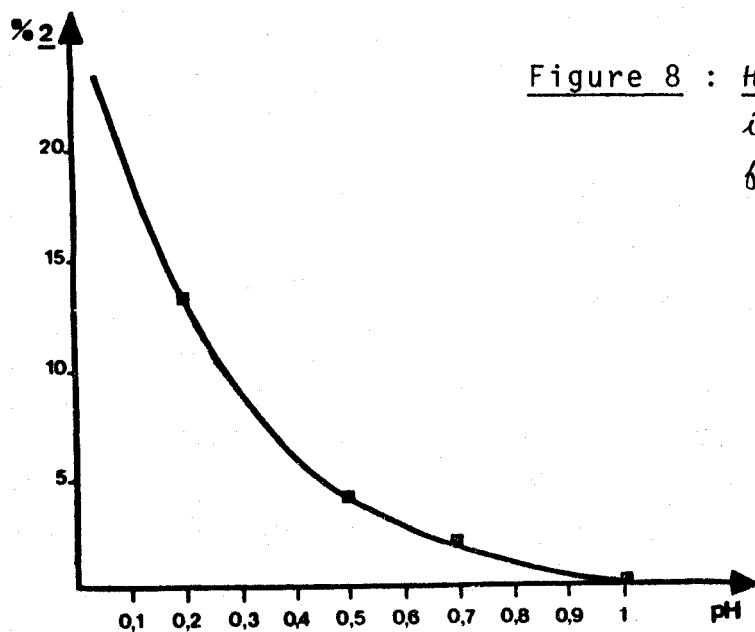
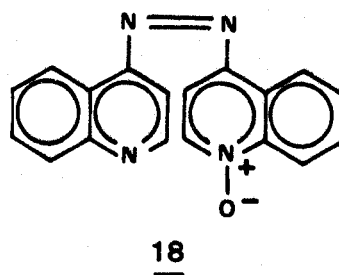
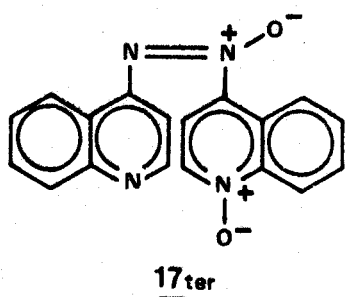
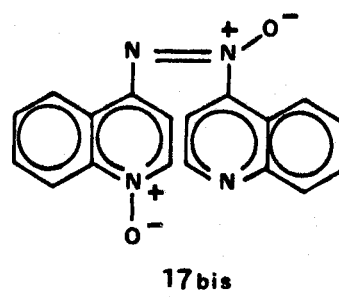
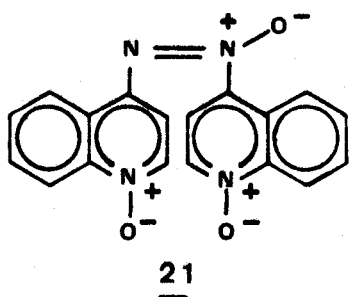


Figure 8 : Hydrolyse acide de 4 : influence du pH sur la formation de 2.

20 suit l'évolution inverse, il existe à l'état de traces à pH 0,7 et croit rapidement avec le pH.

Nous n'avons pas déterminé avec exactitude le pourcentage de 20, car il n'est que partiellement soluble dans le solvant d'éluion et il participe probablement à des réactions secondaires : il faut en effet remarquer que le pourcentage en produits identifiés diminue avec le pH de 62 % à pH 0,2 à 50 % à pH 0,7). Une partie des autres produits formés se retrouve dans les profils d'HPLC sous forme de pics faibles et peu résolus ; de plus les produits les moins polaires peuvent rester fixés sur la phase et ne sont donc pas analysés.

Par analogie avec les réactions décrites par DARCHEN et MOINET (47), la présence simultanée de 2 et 20, permet d'envisager l'équilibre d'oxydoréduction suivant : $\underline{2} + \underline{20} \rightleftharpoons \underline{19} + \underline{7}$ les hydroxylamines N-substituées réagissent facilement avec les dérivés nitrosés en une réaction de condensation. Il y a quatre condensations possibles ($\underline{2} + \underline{10}$, $\underline{2} + \underline{7}$, $\underline{20} + \underline{19}$, $\underline{7} + \underline{19}$) conduisent à un mélange d'azoxydiquinoléines.

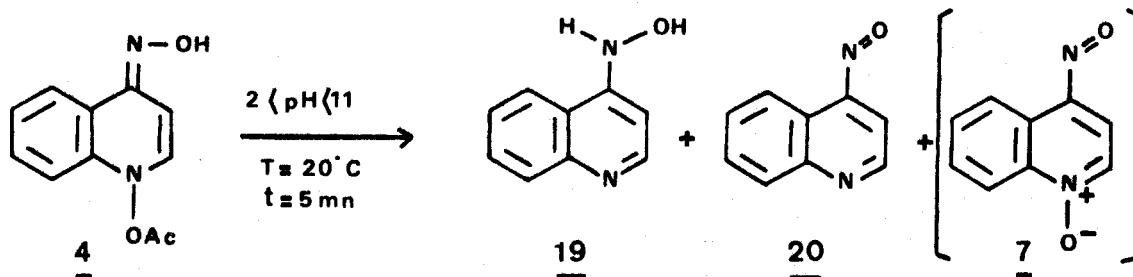


Ces composés peu polaires sont difficilement décelables par HPLC. Néanmoins, dans l'UV, une bande très large d'absorption entre 400 et 450 nm signale l'existence probable de ces dimères dans le mélange réactionnel.

d/ Pour les pH compris entre 2 et 12, la réaction d'hydrolyse devient instantanée. La solution se colore en jaune dès l'addition de 4 dans le solvant : une bande d'absorption à 745 nm apparaît immédiatement.

Nous avons analysé les produits primaires de solvolysse après 5 mn de réaction.

On observe trois pics : les deux pics majeurs correspondant à 19 et 20, déjà identifiés ; le troisième, mineur, a un temps de rétention identique à celui de la nitroso-4 quino-
léine-1-oxyde 7. Nous n'avons pu obtenir aucune autre confirmation de la structure de ce composé.

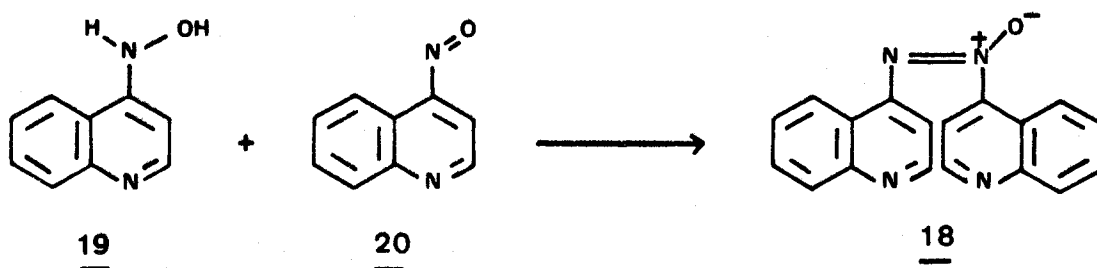


La ligne de base, irrégulière et mal résolue, laisse apparaître de nombreux produits mineurs. On retrouve dans l'UV une bande large d'absorption entre 400 et 450 nm.

Nous avons calculé les rendements à pH 7, ils sont de 52 % pour 20 et de 30 % pour 19. On constate donc que le pourcentage de 20 augmente au détriment de celui de 19 quand le pH croît (50 % de 19 et 0 % de 20 à pH 0,7).

Au cours du temps, un précipité vert se dépose. Nous l'avons étudié par spectrométrie de masse : il s'agit essentiel-

lement du composé 20 ($M^+ = 158$). Le spectre contient aussi quelques traces d'un produit de masse moléculaire plus importante $m/e = 300$. Par comparaison avec les coupures observées dans le spectre des dimères obtenus à partir de 3 (cf. : p 31), nous lui avons attribué la structure d'azoxydiquinoléine 18. La formation de 18 peut aisément s'expliquer par la réaction bien connue et lente en milieu neutre d'un dérivé nitrosé 20 avec l'hydroxylamine correspondante 19.



e/ L'addition de 4 à une solution de soude à pH supérieur à 12 provoque la formation immédiate d'un précipité que nous avons analysé par spectrométrie de masse.

Le produit de masse moléculaire la plus élevée $m/e = 300$, est analogue à l'azoxydiquinoléine 18, décrite précédemment.

La nitroso-4 quinoléine 20 est l'intermédiaire probable de la réaction. Placé dans les mêmes conditions, 20 donne un mélange de produits parmi lesquels on identifie 18 (analyse par CCM).

En conclusion, l'hydrolyse de 4 donne selon les pH, deux ou trois produits primaires de réaction : 2, 19 et 20.

* Dans la zone de pH comprise entre pH 0,7 et 1 nous sommes en présence des trois produits ; 2 se forme uniquement à un pH inférieur à 1 et 20 est observé uniquement à pH supérieur à 0,7.

Nous avons tenté de relier ce changement important de réactivité à un phénomène de protonation-déprotonation de 4.

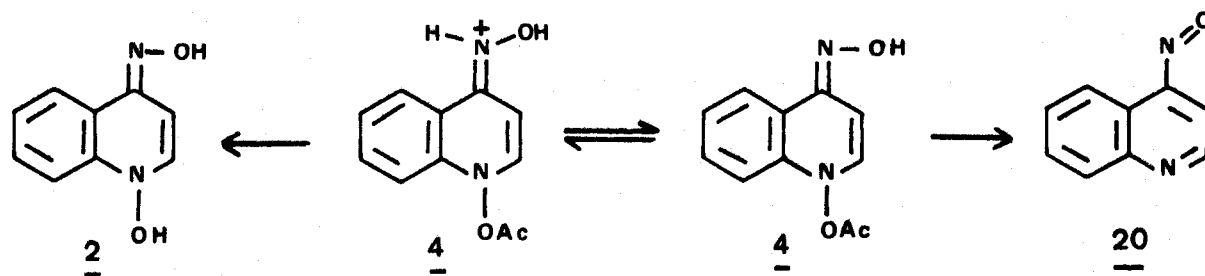
Pour vérifier cette hypothèse nous avons regardé l'évolution du spectre d'absorption UV de 4 en fonction du pH. Les spectres sont enregistrés immédiatement après dissolution de 4 dans le solvant l'eau à un pH déterminé).

La figure 9 montre l'influence du pH sur le spectre d'absorption.

Le spectre enregistré à pH 0,2 est strictement superposable au spectre enregistré dans l'acide chlorhydrique concentré (λ_{\max} à 230 et 342 nm).

On remarque surtout le déplacement de la bande d'absorption de 230 à 242 nm quand le pH croit de 0,2 à 1 : à pH 0,7 les deux bandes à 230 et à 242 nm sont nettement visibles. Les modifications de l'absorption dans la région 340-350 nm sont plus complexes et peu caractéristiques. (Nous sommes dans l'impossibilité d'enregistrer le spectre de 4 à un pH supérieur à 1 à cause de sa trop grande vitesse de décomposition).

L'ensemble de ces résultats est en accord avec le passage à pH 0,7-0,8 de la forme protonée ($\lambda_{\max} = 230$ nm) de 4 à la forme libre ($\lambda_{\max} = 242$ nm).



2 est caractéristique de la réactivité de la forme protonée et 20 de celle de la forme libre. L'analyse des produits de réaction peut être considérée comme une détermination indirecte du pK. On peut estimer ainsi que le pK a une valeur comprise entre 0,5 et 1 (à titre de comparaison, le pK de l'acide conjugué de la N,N-diméthylloxime est de 1,7 (51)).

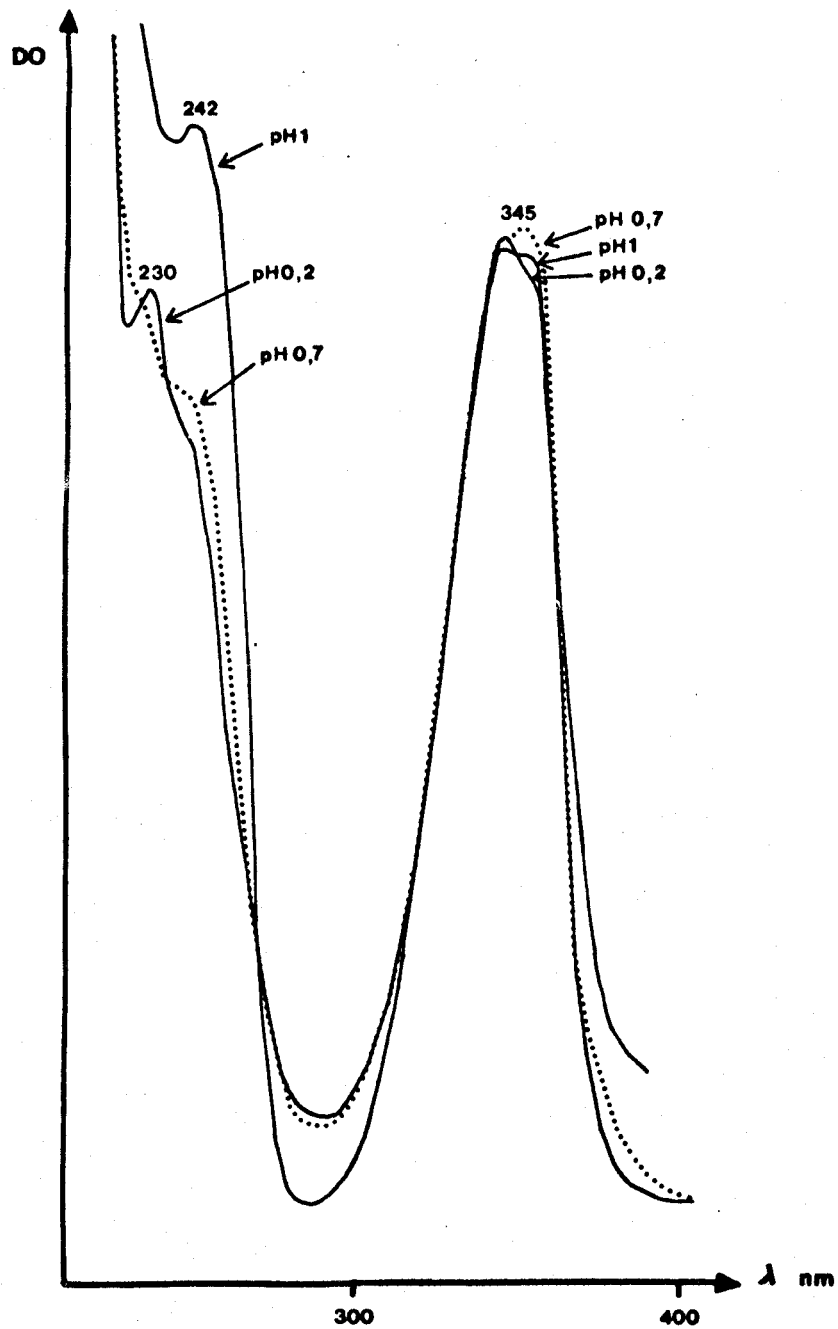
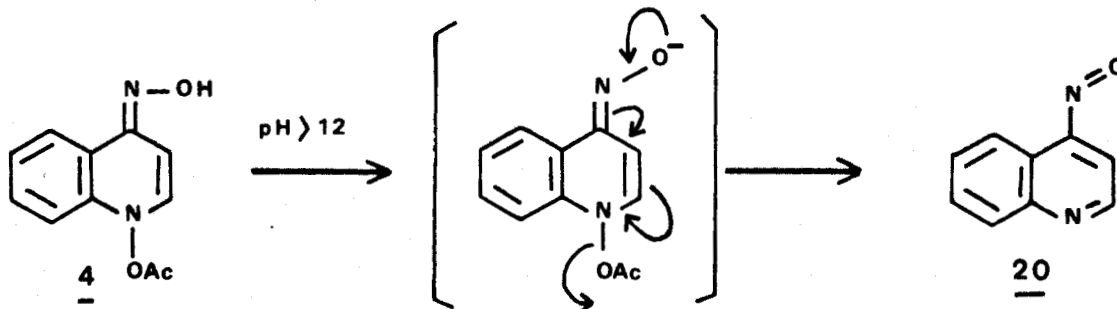


Figure 9 : Influence du pH sur le spectre d'absorption de 4

* Si l'on examine maintenant le comportement de 4 aux pH basiques, on constate une grande différence de réactivité sur le plan cinétique. La formation et la décomposition du dérivé nitrosé 20 sont extrêmement rapides. Nous pouvons expliquer cette grande vitesse de décomposition par le passage à la forme anionique de 4, ce qui favoriserait l'élimination du groupement acétate.



(En effet, le pK des N,N-dialkyloximes se situe généralement dans une zone de pH allant de pH 10 à 12 (51)).

2. INTERPRETATION.

Le dérivé monoacétylé 4, extrêmement réactif en milieu aqueux subit quatre types de réactions compétitives :

- Hydrolyse en dérivé dihydroxylé 2.
- Elimination d'une fonction acétate et obtention de la nitroso-4 quinoléine 20.
- Réduction en hydroxyamino-4 quinoléine 19.
- Dimérisation en azoxydiquinoléine 18.

Nous pouvons proposer soit des mécanismes ioniques (schéma 9 p. 71), soit des mécanismes radicalaires (schéma 12 p.82) pour ces différentes réactions. Certains d'entre-eux ont été décrits pour la réactivité de composés analogues, ce qui nous a servi de base pour une discussion ultérieure.

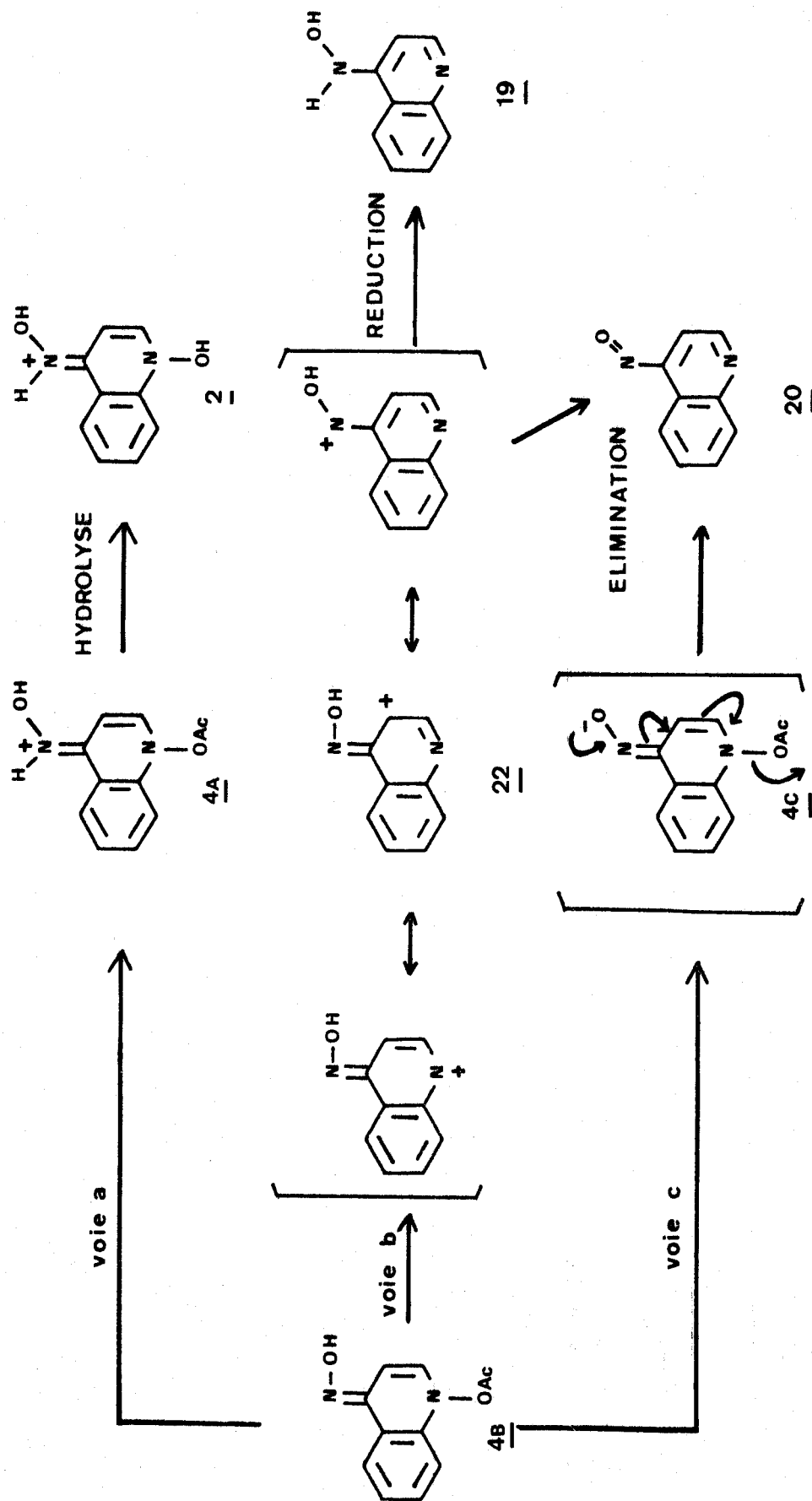
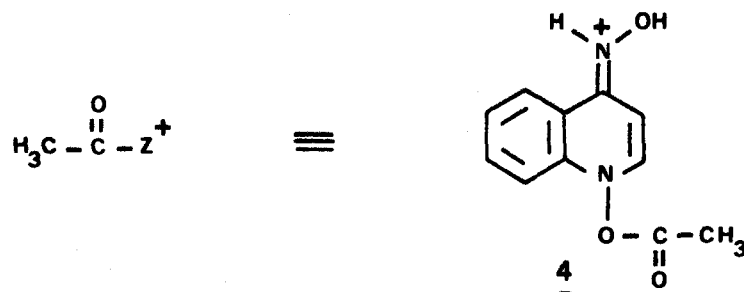


Schéma 9 : Réactivité de 4 : Mécanismes ioniques

a/ Hydrolyse : Obtention de 2.

Cette réaction a lieu uniquement quand 4 existe sous forme de sel.

4 peut être considéré comme un dérivé d'acide de type :



Il est normal que son hydrolyse soit beaucoup plus rapide que celle du dérivé non chargé correspondant $\text{H}_3\text{C}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{Z}$ fonction présente quand 4 se trouve sous forme libre, auquel cas les autres mécanismes (réduction-élimination) peuvent entrer en compétition.

b/ Élimination de l'acétate : Obtention de la nitroso-4 quinoléine 20 (schéma 9 p. 71).

L'élimination procède soit suivant la voie b par l'intermédiaire du cation délocalisé 22, soit plus rapidement selon la voie c, à partir de l'anion 4c (Ce mécanisme ne peut à l'évidence, avoir lieu quand 4 existe sous forme de sel, à pH < 0,7).

Dans la voie b, à des pH compris entre 1 et 12, 4 réagit sous forme libre 4b. La première étape est une coupure hétérolytique de la liaison N₁-O avec formation d'un cation délocalisé 22 qui donne par déprotonation 20.

Dans la voie c, qui prédomine à pH > 12, la déprotonation de la fonction oxime précède l'élimination du groupement acétate et la réaction est beaucoup plus rapide que dans le cas précédent.

Selon qu'il existe ou non d'autres produits de réaction, la nitroso-4 quinoléine 20 conduit à des produits de dimérisation de type 18. Ces condensations sont d'autant plus rapides que le pH est plus basique, conformément aux données de la littérature (52).

c/ Réduction : Obtention de l'hydroxyamino-4 quinoléine 19

L'obtention de ce composé est beaucoup plus surprenante. Un mécanisme de formation possible implique le passage par l'ion nitrénium 22 (forme limite du cation délocalisé 22) sur lequel nous reviendrons (cf. p. 76). Un mécanisme radicalaire est également possible.

3. DISCUSSION.

Des réactions comparables (hydrolyse-élimination-réduction) ont été décrites par PARHAM et Coll. (53-56) à propos de la réactivité de l'acétoxy-3 xanthine 12, autre composé cancérogène modèle.

Extrêmement réactif cet ester de purine-3 oxyde, subit trois réactions compétitives (schéma 10 p. 74).

- Une hydrolyse en hydroxy-3 xanthine 23.
- Une élimination de l'acétate qui conduit à un produit de substitution en position 8, 24.
- Une réduction en composé 25.

a/ L'hydrolyse, quantitative à pH < 3, diminue rapidement quand le pH augmente. Cette réaction est tout à fait semblable à la voie a décrite précédemment en série quinoléine (p. 71).

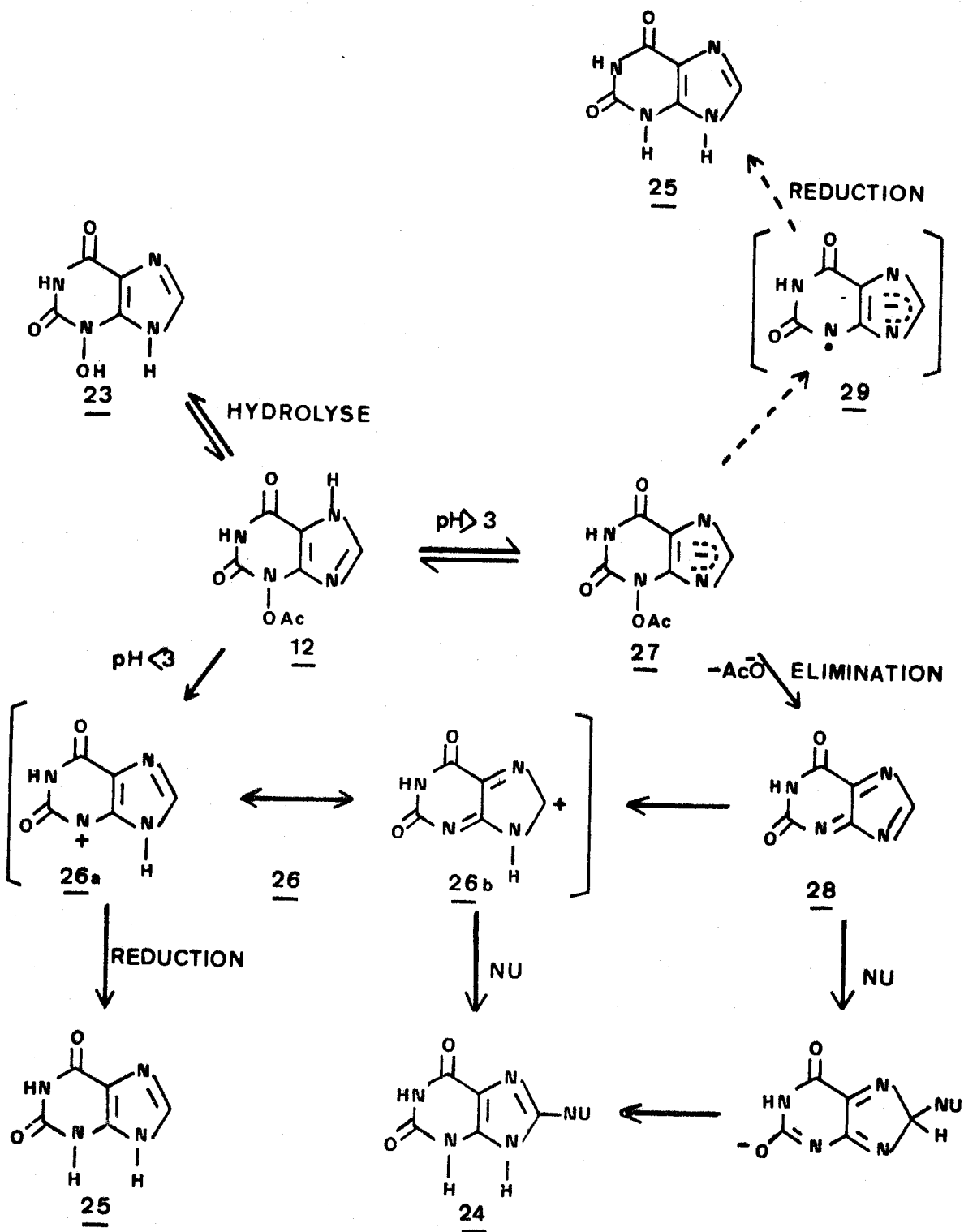


Schéma 10 : Mécanismes de réaction des acyloxy-3 purines.

b/ L'élimination de l'acétate qui conduit aux produits de substitution 24, se fait avec un rendement faible à $\text{pH} < 3$ (5 %) ; celui-ci croit rapidement avec le pH (20 % à $\text{pH} 5$).

Deux chemins réactionnels sont possibles :

- à $\text{pH} < 3$: le mécanisme proposé est de type SN_1 . La coupure hétérolytique de 12 conduit à l'intermédiaire cationique 26 dont l'ion nitrénium 26a et l'ion carbénium 26b sont deux formes limites.
- à $\text{pH} > 3$: L'accélération brutale de la vitesse de réaction ainsi que l'augmentation des rendements en produits de substitution montrent l'intervention d'un autre mécanisme réactionnel.

Les auteurs associent ce changement de mécanisme à la première ionisation de l'acétoxy-3 xanthine 12.

L'ionisation du cycle imidazole en anion 27 favorise l'élimination d'un acétate, ce qui conduit à la déhydroxanthine 28. L'attaque nucléophile a lieu soit sur l'espèce neutre 28, soit, après protonation sur la forme cationique 26, décrite précédemment.

c/ Dans tous les cas, le mélange réactionnel contient le produit de réduction 25. Dans certaines conditions opératoires (en présence d'iodure de potassium par exemple), le rendement peut atteindre 90 %.

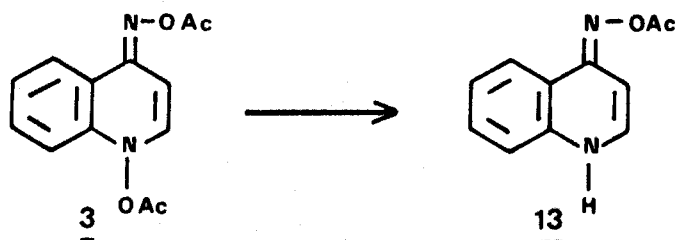
Les auteurs avancent plusieurs mécanismes pour en expliquer la formation, dont notamment une voie impliquant l'ion nitrénium 26 (53, 55).

Des mécanismes comparables peuvent être avancés pour interpréter la formation de l'hydroxyamino-4 quinoléine 19.

REACTION DE REDUCTION

On constate donc, que dans la série N-oxyde de quinoléine, de même que dans cette série N-oxyde de purine et quelques autres (57), les réactions conduisent à des pourcentages variables de produits de réduction : $>N-OAc \rightarrow >N-H$.

Il nous semble utile de discuter particulièrement ce point, dans la mesure où une réaction comparable avait déjà été observée par BAILLEUL (41) dans le cas du dérivé diacétylé 3 :



Il n'est pas exclu que cette réaction puisse être mise en jeu dans le cycle général de transformation de la nitro-4 quinoléine-1 oxyde 1 in vivo.

Divers mécanismes peuvent être avancés pour la réduction, et notamment un mécanisme ionique, par l'intermédiaire d'un ion "nitrénium" à l'état triplet issu d'une interconversion singulet-triplet.

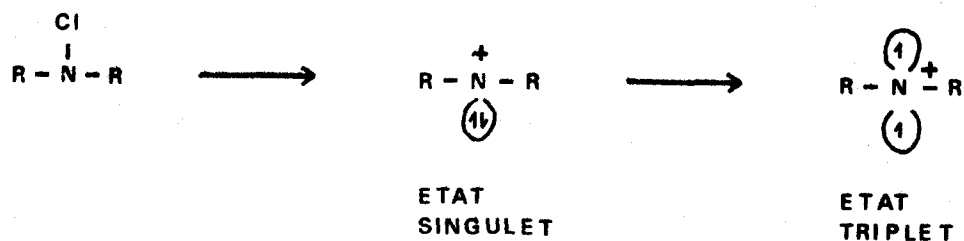
A ce stade de la discussion, nous pouvons rappeler brièvement ce qui l'on connaît sur la chimie des ions nitrénium, singulet et triplet.

Ions nitrénium singulet et triplet.

La contribution essentielle à la connaissance de ces espèces est due à P.G. GASSMAN (58). Celui-ci propose un ion

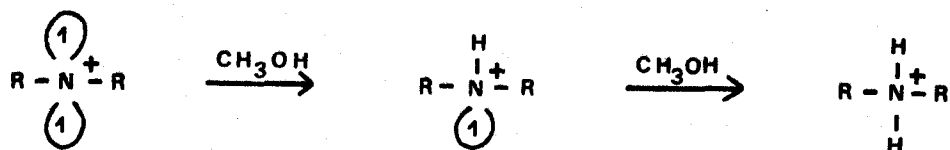
nitronium comme intermédiaire dans les réactions de solvolysse et de réarrangement des N-chloroamines (58) et des esters d'hydroxylamines (59).

Placée dans des conditions solvolytiques, la N-chloroamine s'ionise en ion nitronium à l'état singulet. Si la durée de vie du singulet est suffisante et sous l'influence de divers facteurs (effet d'atome lourd...), le singulet peut s'interconvertir en triplet.



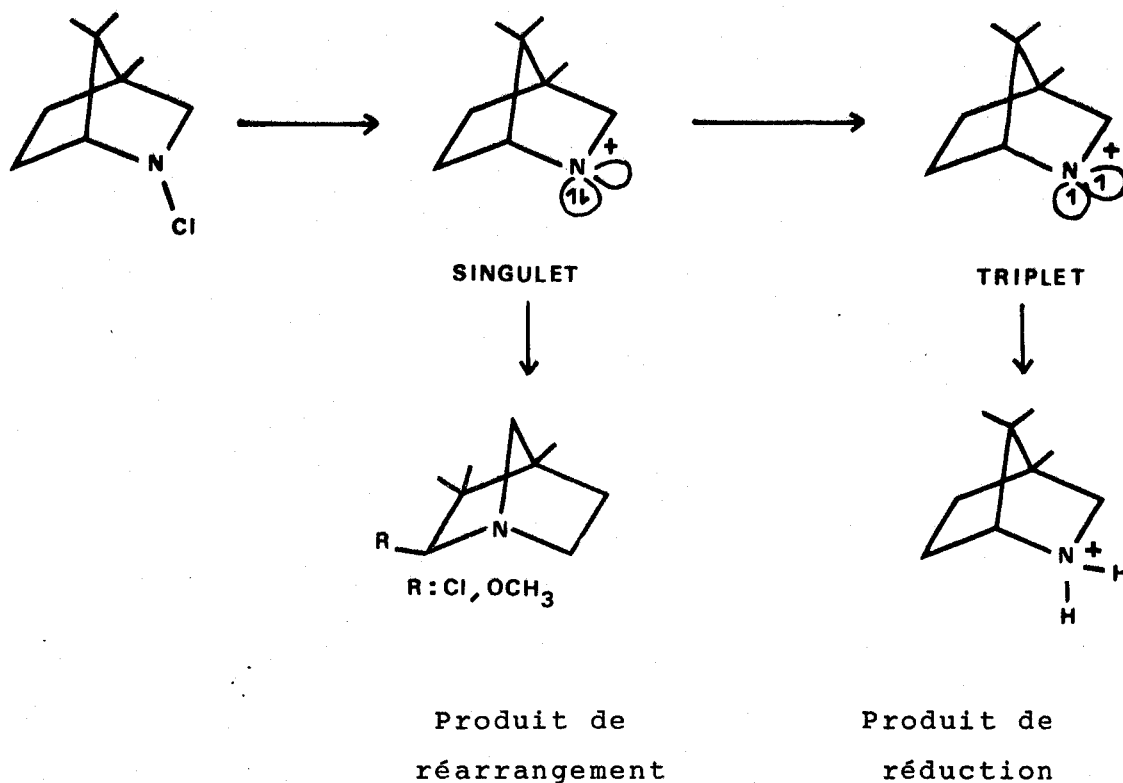
Les propriétés de l'ion nitronium à l'état singulet sont semblables à celles des ions carbénium, c'est à dire, essentiellement, des réactions de réarrangements et d'addition.

A l'état triplet, l'ion nitronium a des propriétés de biradical cation. Il est en particulier capable d'arracher les hydrogènes du solvant et de régénérer l'amine correspondante.



Pour tenter de mettre en évidence, l'interconversion singulet-triplet, GASSMAN a étudié l'influence des solvants à atomes lourds sur les pourcentages des différents produits de réaction (58).

En présence de solvants halogénés (chloroforme, bromoforme) le pourcentage des produits de réduction augmente considérablement au détriment des produits de réarrangement, ce qui est bien en accord avec l'hypothèse d'une transformation singulet-triplet de l'ion nitronium (schéma 11).



Solvant :

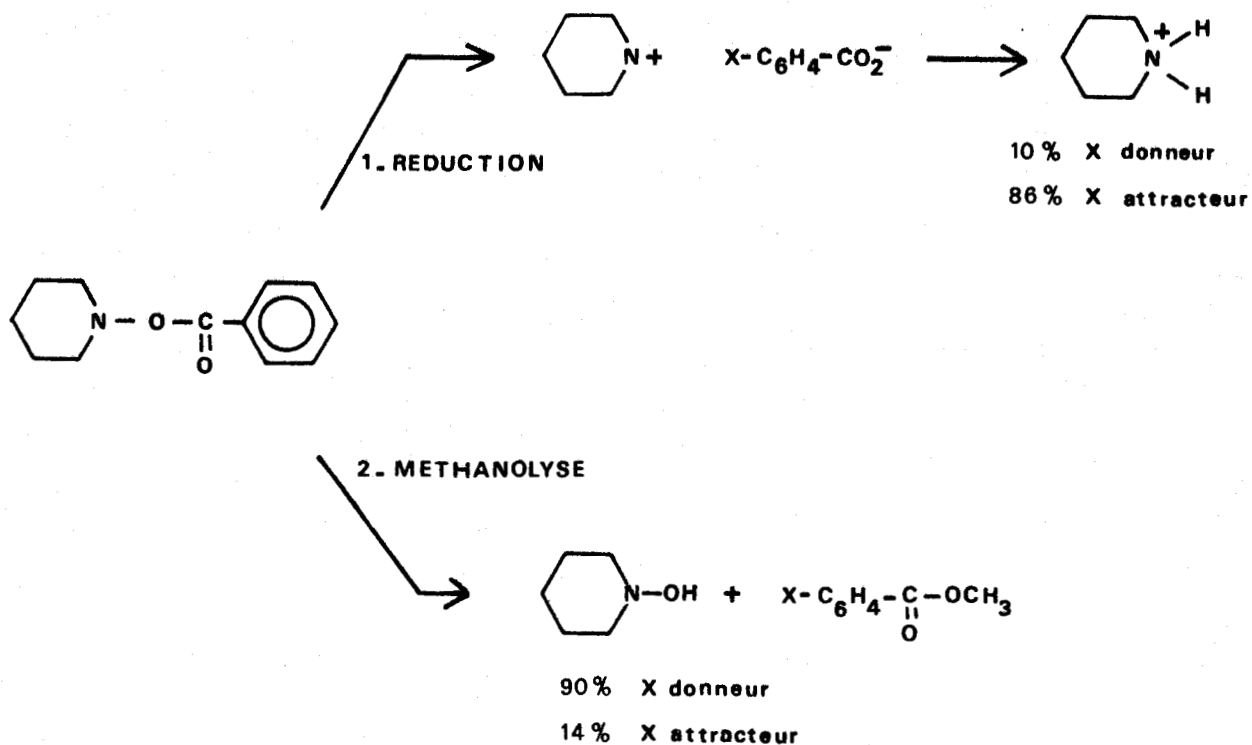
MeOH	79 %	7 %
MeOH-CHBr ₃ (1:1)	1 %	45 %
MeOH-CHCl ₃ (1:1)	4 %	63 %

Schéma 11 : Mécanisme de réaction des N-chloroamines :
Influence des solvants à atomes lourds.

En série ester d'hydroxylamines, la même équipe a étudié la méthanolyse de la benzoyloxy-1 pipéridine (59). Elle a mis en évidence deux réactions compétitives :

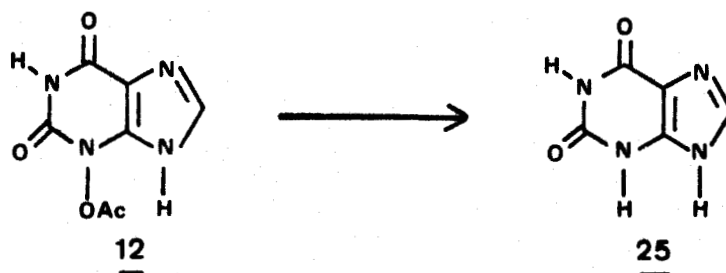
1. Réduction en pipéridine par le "nitrenium triplet"
2. Obtention d'hydroxy-1 pipéridine par une réaction de méthanolyse.





(Notons que l'on n'observe pas de produits de réactions du nitrenium à l'état singulet dans ce cas précis).

En série acyloxy-3 purine, l'acétoxy-3 xanthine 12 se décompose spontanément en xanthine 25 au cours des réactions de solvolysse à $\text{pH} > 3$ avec des rendements qui avoisinent 30 %. L'addition d'iodure de potassium favorise cette réduction (les ions iodures étant oxydés en iode).

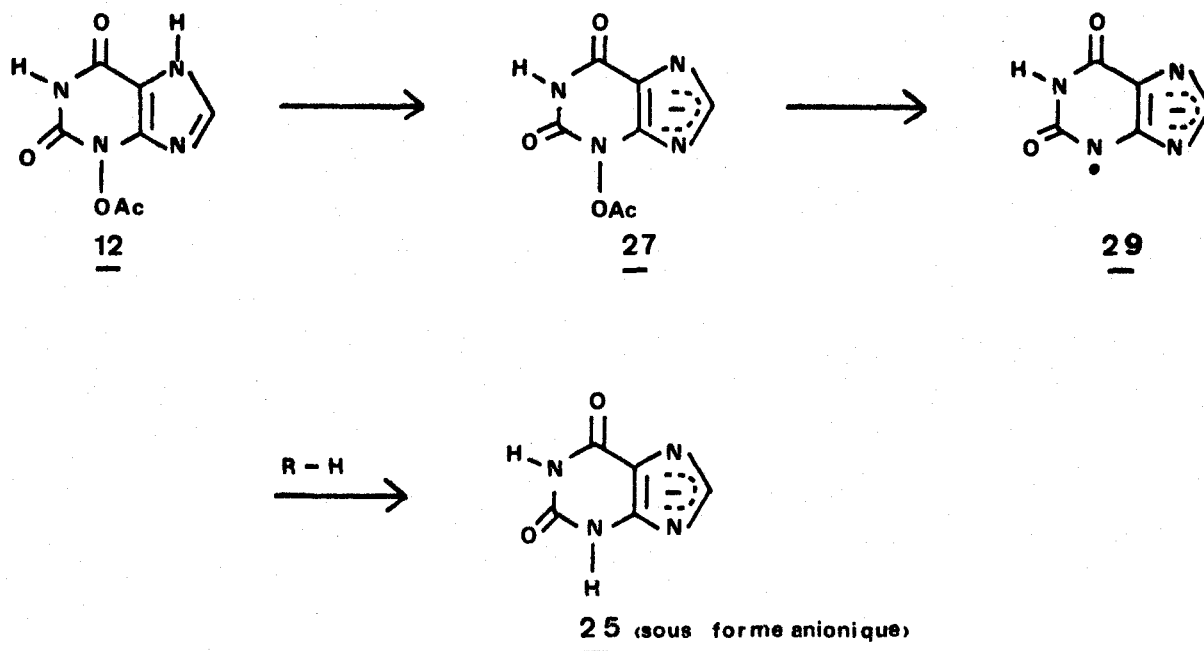


Plusieurs hypothèses ont été successivement avancées pour expliquer cette réaction. L'une d'elles fait intervenir le passage par l'ion nitrénium 26a, à l'état triplet. Cependant l'utilisation d'atomes lourds pour favoriser l'inversion de spin et augmenter ainsi le pourcentage de 25 s'est soldée par un échec (35, 55). En fait cette réaction ne permet de conclure ni dans un sens, ni dans l'autre.

Dans le cadre de notre étude sur la réactivité de 4 le passage par un intermédiaire nitrénium rendrait compte de la plupart des réactions observées et en particulier de la réduction en hydroxylamine. Des études plus poussées (effet d'atomes lourds...) sont cependant nécessaires pour la détermination des mécanismes intervenant lors de la réduction.

Notons néanmoins que d'autres mécanismes sont aussi possibles. Ainsi en série acyloxyuracine un mécanisme radicalaire a également été proposé, mais encore une fois aucune preuve n'a pu être obtenue (53).

Mécanisme radicalaire.



On peut, pour nos composés, avancer un mécanisme comparable (schéma 12 p. 82), une coupure homolytique de la liaison N₁-O conduit au radical 31 ou éventuellement au radical anion 32 (pH > 12).

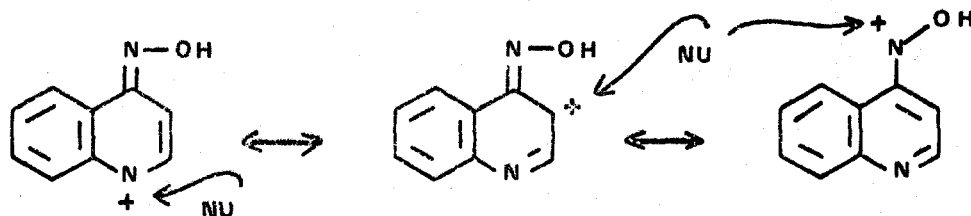
Ces radicaux donnent naissance à un produit de réduction par arrachement d'hydrogène au solvant, ainsi qu'au produit de dimérisation 18.

Une rupture homolytique similaire a été proposée par ARAKI (36), mais dans des conditions telles qu'un mécanisme radicalaire était nettement favorisé (chauffage de 3 dans le dioxanne à 80°C) (Cf. schéma 7 p. 20).

C. CONCLUSION.

Les réactions d'hydrolyse nous ont montré l'extrême réactivité de 4, qui est le site de multiples réactions, citons en particulier l'élimination qui conduit au dérivé nitrosé 20, autre composé très réactif.

Parmi les produits de réaction, nous n'avons jamais mis en évidence de composé correspondant à l'addition du nucléophile sur le noyau quinoléine. Pourtant les mécanismes les plus probables -celui qui conduit à la formation de la nitrosoquinoléine 20- impliquent le passage par une forme chargée de la quinoléine.



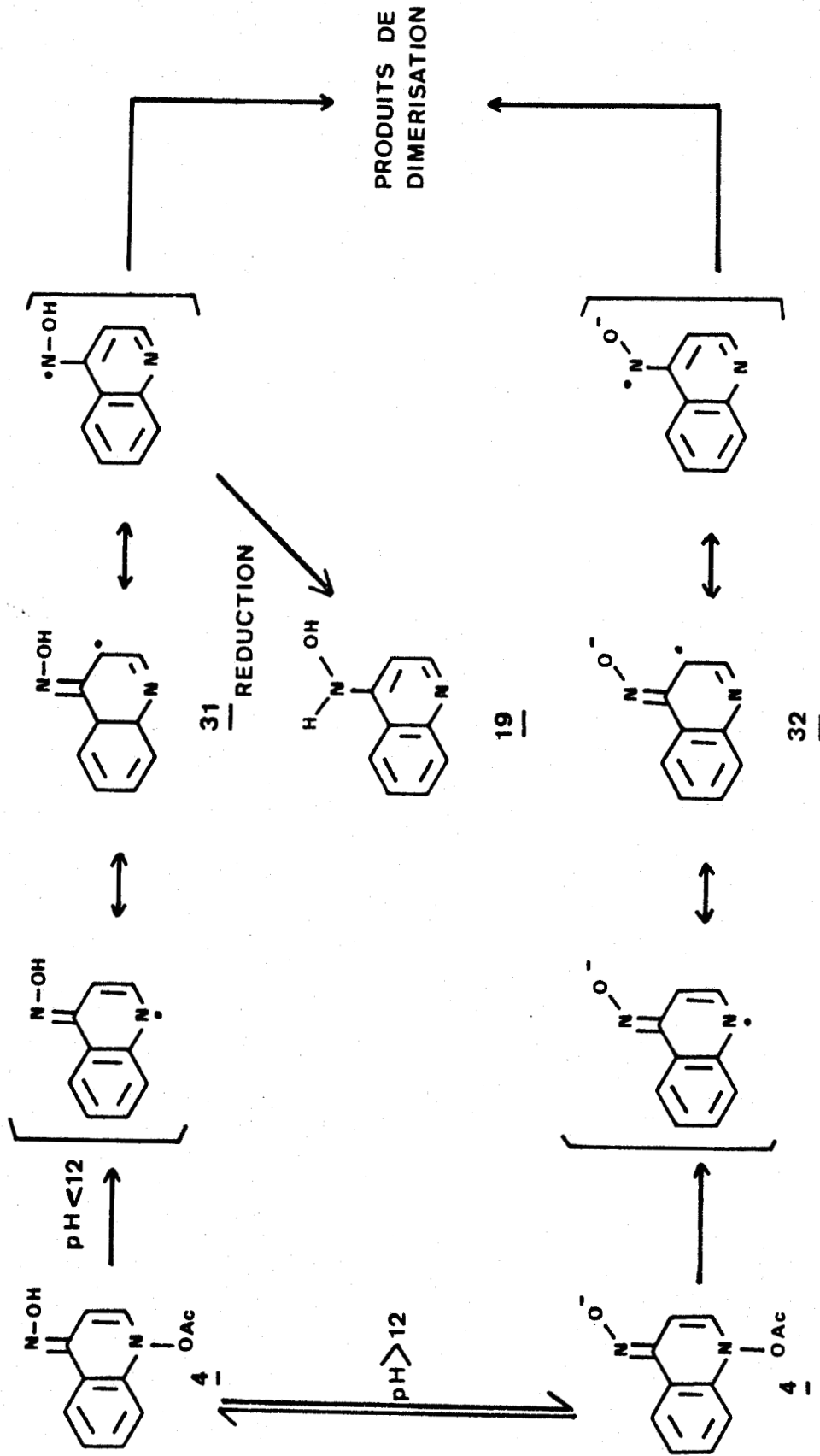


Schéma 12 : Réactivité de 4 : Mécanismes radicalaires.



Nous avons donc réalisé quelques essais préliminaires pour tenter de mettre en évidence la formation de tels composés, en utilisant le thiophénol, ou le méthyl-2 indole comme nucléophiles. Deux réactions semblent avoir lieu :

1. Une acétylation du nucléophile, mise en évidence par la libération du dérivé dihydroxylé 2 en milieu non aqueux (trifluoroéthanol utilisé comme solvant).

2. Une fixation du nucléophile sur un résidu quinoléine : on observe en effet plusieurs produits de réaction que ce soit avec le méthyl-2 indole ou le thiophénol, dont les masses élevées pourraient correspondre à la fixation de ces nucléophiles sur le noyau quinoléine.

Néanmoins, ces résultats sont très fragmentaires; en outre, il sera nécessaire de s'assurer que les produits formés ne proviennent pas de l'addition du nucléophile sur la nitrosoquinoléine 20, qui est susceptible de se former très rapidement dans le milieu.

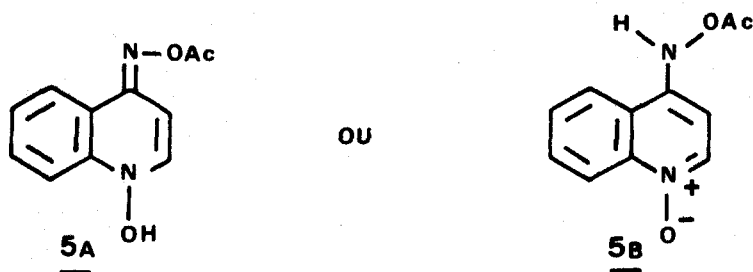
-0-0-0-0-0-0-0-0-

CHAPITRE III

DERIVE MONOACETYLE 5

=====

L'acétate d'hydroxylamine déjà décrit 4 correspond à l'une des formes monofonctionnalisées du composé diacétylé 3. Le second dérivé possible est le composé 5 que l'on peut écrire sous deux formes tautomères, acétate d'oxime 5A ou acétate



d'hydroxylamine 5B. Ce composé a également été postulé comme "cancérogène ultime" du N-oxyde de quinoléine 1 (29). Aussi son obtention à l'état pur présente-t-elle un intérêt considérable. Les équipes japonaises sont donc depuis plusieurs années attachées à le préparer, sachant que le problème est a priori compliqué, dans la mesure où, par définition même, un cancérogène ultime est une espèce extrêmement réactive.

En 1976, dans une revue générale NAGAO (48) avait mentionné le fait qu'un dérivé monoacétylé pouvant correspondre à cette structure se formait quand le composé diacétylé 3 était mis en présence de dithiothreitol dans le diméthylsulfoxyde. Mais aucune précision n'était fournie tant en ce qui concernait le mode opératoire que les caractéristiques permettant d'attribuer une structure. Dans son étude d'identification des produits de réaction entre formes ultimes du précancérogène 1 et ADN ou nucléosides, BAILLEUL (27) avait été amené à reprendre cette réaction. Il a pu montrer dans une étude par RMN que dans le diméthylsulfoxyde, en présence de dithiothreitol, 3 est converti en un composé monoacétylé.

Le spectre obtenu est compatible avec la structure 5 qui avait donc été proposée comme étant la plus vraisemblable.

Néanmoins, aucune preuve non ambiguë n'avait pu être apportée, car le produit est très instable et ne peut pas être extrait du milieu. En ajoutant des nucléosides à ce mélange réactionnel, BAILLEUL a pu mettre en évidence un point fort important, à savoir, la formation de produits identiques à ceux obtenus avec le dérivé diacétylé lui-même. Ce qui renforce l'hypothèse selon laquelle 5 serait la forme ou l'une des formes réactives du du cancérigène.

C'est pour toutes ces raisons que nous avons tenté de mettre au point d'autres voies d'obtention permettant :

- 1/ D'établir la structure de manière non ambiguë
- 2/ De préparer le composé à l'état pur.
- 3/ D'étudier sa réactivité.

C'est également dans cette perspective que nous avons multiplié les expériences décrites dans le chapitre I pour déterminer les conditions de formation de 5 à partir du composé diacétylé 3 (p.45 : réactivité vis-à-vis des nucléophiles).

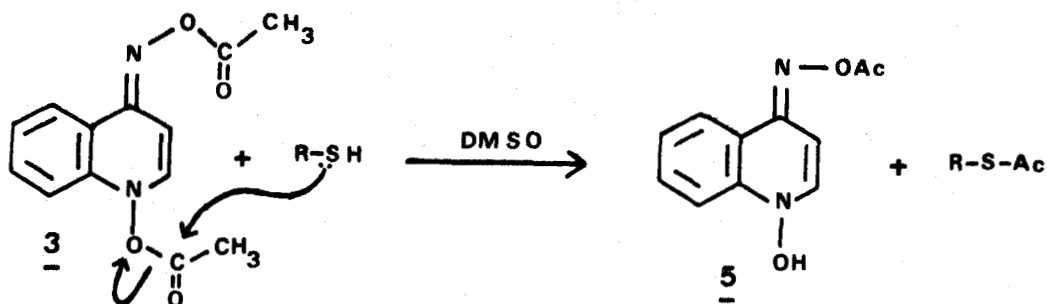
Très récemment, en 1980, alors que ce travail était en cours, KAWAZOE (28) a décrit l'obtention de ce produit par action de l'ammoniac ou du dithiothreitol sur 3 dans le diméthylsulfoxyde. Là encore, le produit n'a pas pu être isolé.

A. ETUDE DU DÉRIVÉ MONOACÉTYLÉ 5

1/ SYNTHESE - STRUCTURE.

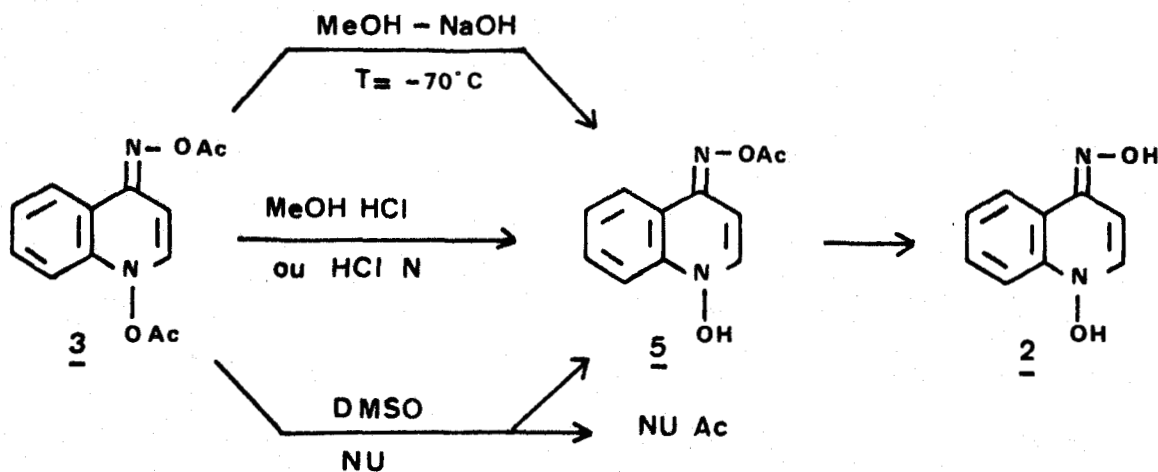
L'ensemble des résultats que nous avons obtenus, montre

que le composé monoacétylé 5 est formé par désacétylation de 3 par une série de réactifs nucléophiles (thiophénol, thiopropanol, amines aliphatiques). La réaction n'est quantitative que dans le diméthylsulfoxyde.



Nous avons montré par ailleurs (cf. Chp. I, p. 29) que 5 est aussi formé quantitativement au cours de la méthanolyse basique de 3 à basse température et avec un excellent rendement par hydrolyse acide. Dans les deux cas la réaction continue, 5 s'hydrolyse en oxime 2 au fur et à mesure de sa formation.

Toutes ces voies de synthèse sont rassemblées dans le schéma suivant :

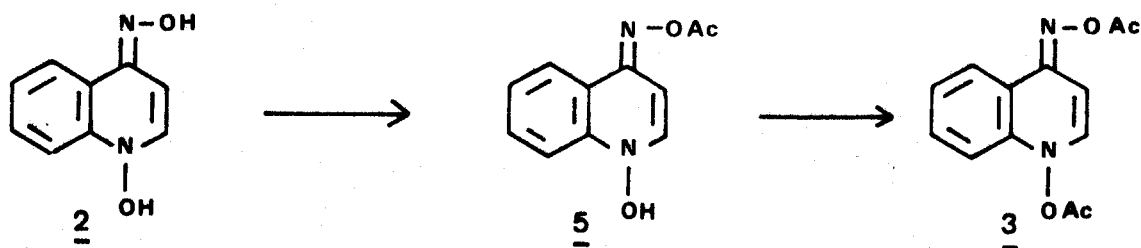


Toutes les tentatives d'extraction de 5 du milieu réactionnel ont échoué (concentration du solvant, précipitation

par l'eau). De même la réaction en deux phases, consistant à faire réagir un nucléophile fixé sur un polymère,** n'a pas abouti.

La structure de 5 a été déterminée par KAWAZOE uniquement d'après les données de RMN. Il a effectué la réaction avec le dithiothreitol dans un tube de RMN et obtenu le spectre d'un dérivé monoacétylé : un seul signal COCH_3 à 2,15 ppm (28).

Il a comparé ce spectre à ceux du dérivé non acétylé 2 et du dérivé diacétylé 3 et a étudié l'influence de l'acétylation des fonctions hydroxylées sur les déplacements chimiques des protons en position 2, 3 et 8 (tableau 5).



$\Delta\delta^*$ réactions	$\Delta\delta_{\text{H}_2}$	$\Delta\delta_{\text{H}_3}$	$\Delta\delta_{\text{H}_8}$
<u>2</u> \longrightarrow <u>5</u>	+0,15	-0,12	0
<u>5</u> \longrightarrow <u>3</u>	+0,05	+0,16	-0,28

* Un signe positif indique un déplacement vers les bas champs.

Tableau 5 :

Les déplacements positifs sont attribués au caractère électroattracteur des groupements carbonyles et les déplacements négatifs à un effet de blindage, dû à l'anisotropie magnétique du $\text{C}=\text{O}$.

La fixation du groupe carbonyle sur l'oxygène de l'oxime au cours de la première acétylation provoque le blindage du proton $\text{C}_3\text{-H}$ voisin, elle n'a aucun effet sur le déplacement du proton $\text{C}_8\text{-H}$. Par contre la fixation du second groupe

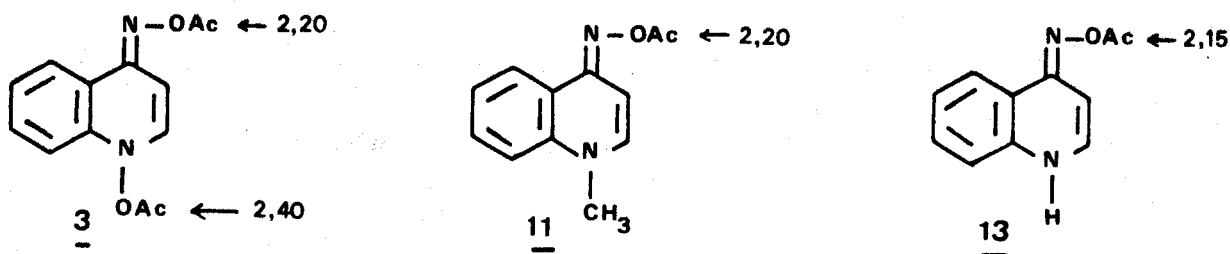
** Polymère de type : $\text{P-CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$

acétyle sur l'oxygène en position 1 influence considérablement le proton péri C₈-H.

D'après ces observations, KAWAZOE (28) propose la structure d'acétate d'oxime 5 à ce dérivé monoacétylé.

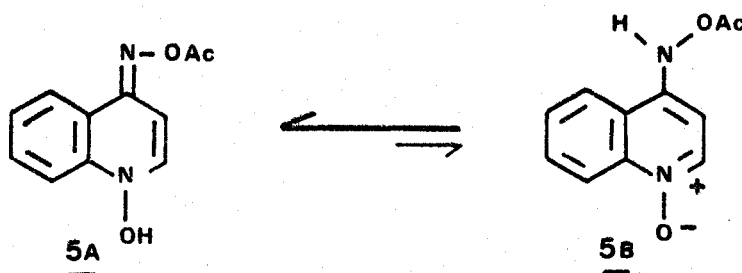
Nous pouvons apporter quelques précisions supplémentaires, basées notamment sur la comparaison avec des composés modèles que nous avons préparés 11 et 13. Dans le produit 11, la structure d'acétate d'oxime sur un noyau dihydroquinoléine est bloquée par la méthylation de l'atome d'azote N₁.

1. On retrouve des déplacements chimiques analogues pour les protons COCH₃ des composés : 13 ($\delta = 2,15$) et 11 ($\delta = 2,20$), ainsi que pour la fonction acétate d'oxime du dérivé diacétylé 3 ($\delta = 2,20$).



D'autre part, nous avons vu que cette valeur est plus élevée dans le cas des acétates d'hydroxylamines cycliques en position 1 du dérivé diacétylé 3 ($\delta = 2,40$ ppm) ou en position 3 de l'acétoxyxanthine 23 ($\delta = 2,40$ ppm) (38).

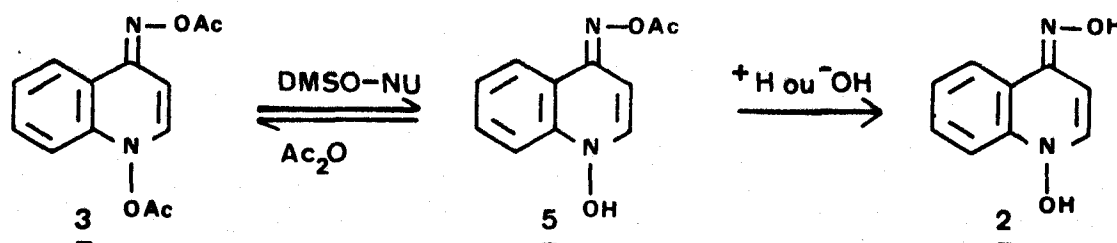
2. La valeur de la constante de couplage J₂₋₃ est d'environ 8 Hz. Cette valeur élevée peut rendre compte d'une structure dihydro-1,4 quinoléine (cf. annexe de RMN p.114).



Enfin, les propriétés chimiques suivantes, indiquent clairement que le dérivé monoacétylé a la même structure que 2 et 3.

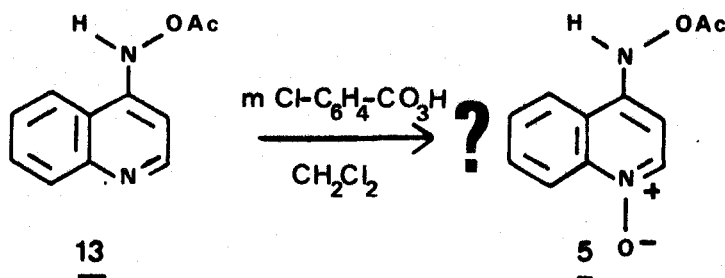
1. L'hydrolyse en présence d'acide chlorhydrique ou de soude conduit au dérivé dihydroxylé 2. Cette réaction a été observée (analyse par HPLC) après addition de l'acide ou de la base à la solution de 5 dans le diméthylsulfoxyde.

2. 5 peut être quantitativement acylé en dérivé diacétylé 3 par action de l'anhydride acétique.



Pour être en mesure d'en préparer des quantités importantes et pour établir définitivement la structure de ce composé monoacétylé 5, nous avons tenté de le synthétiser par une voie univoque ne mettant pas en jeu d'intermédiaires dangereux (pré-cancérogène 1 ou cancérogène précurseur 2) et permettant d'isoler le produit grâce à l'utilisation de solvant volatil (chlorure de méthylène).

La voie de synthèse choisie est la N-oxydation de l'acétoxyamino-4 quinoléine 13:



L'oxydation par l'acide métachloroperbenzoïque a été faite dans le chlorure de méthylène, à 0°C. Nous avons suivi la réaction par HPLC. Le produit de départ a totalement disparu après 2 h d'agitation.

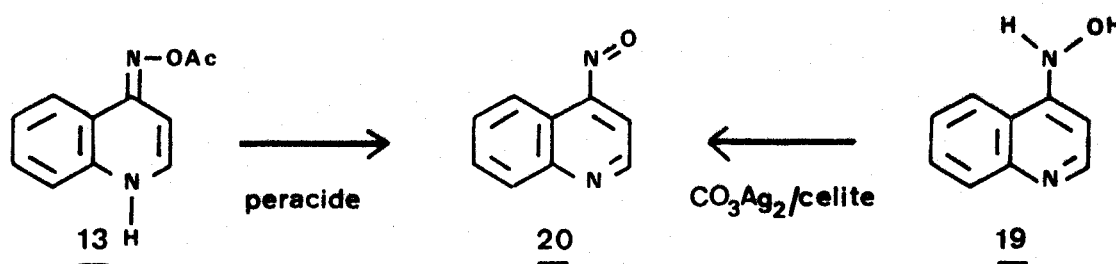
En fin de réaction nous distinguons un pic prépondérant sur le profil chromatographique. Nous avons isolé et purifié ce produit majeur de réaction.

* En RMN, dans le chloroforme deutérié, nous n'avons observé aucun signal dans les champs les plus hauts, il n'y a donc pas de groupements acétyles sur la molécule. Par contre, on distingue les deux doublets de type AB correspondant aux protons en positions 2 et 3 ($\delta = 9,1$ et $6,1$ ppm, respectivement), ainsi qu'un multiplet à $9,7$ ppm (proton en position 5 ou 8) et un massif aromatique intégrant pour trois protons.

* Le spectre de masse donne comme masse la plus élevée $m/e = 158$. Cette masse correspond à une hydroxyaminoquinoléine oxydée ($M^+ = 160 - 2$).

D'après ces données, nous pouvons proposer la structure de nitroso-4 quinoléine 20 pour le produit cristallisé.

Le produit n'ayant jamais, à notre connaissance, été décrit dans la littérature, nous avons dû préparer un échantillon authentique par synthèse. Nous avons effectué une oxydation directe de l'hydroxylamine 19 par action du carbonate d'argent sur célite (32). Nous avons identifié le produit de réaction par RMN et spectrométrie de masse.



Cette réaction anormale d'oxydation sur l'azote en position 4* peut s'expliquer, en partie, par l'existence de 13 sous la forme tautomère d'acétoxyimino-4 dihydro-1,4 quino-
léine ; deux chemins réactionnels sont alors possibles (schéma 13 p.93) :

- Voie a : L'acétate d'oxime 13 s'hydrolyse en présence de péroxyacide (celui-ci contient toujours un faible pourcentage d'acide). Le dérivé hydroxylé 19 formé est alors oxydé en nitroso-4 quinoléine 20. Les péroxyacides sont d'ailleurs utilisés dans la préparation de nitrosobenzène à partir de phénylhydroxylamine (61).

Nous n'avons aucune preuve en faveur du passage par 19, celui-ci n'apparaît pas dans les profils chromatographiques enregistrés tout au long de la réaction.

- Voie b : Nous proposons un mécanisme d'attaque électrophile de la fonction acétate d'oxime par le péroxyacide, suivie d'une élimination de l'acétate.

* Les amino-2 ou -4 pyridines sont oxydées avec un excellent rendement sur l'azote hétérocyclique dans les conditions que nous avons utilisées (60).

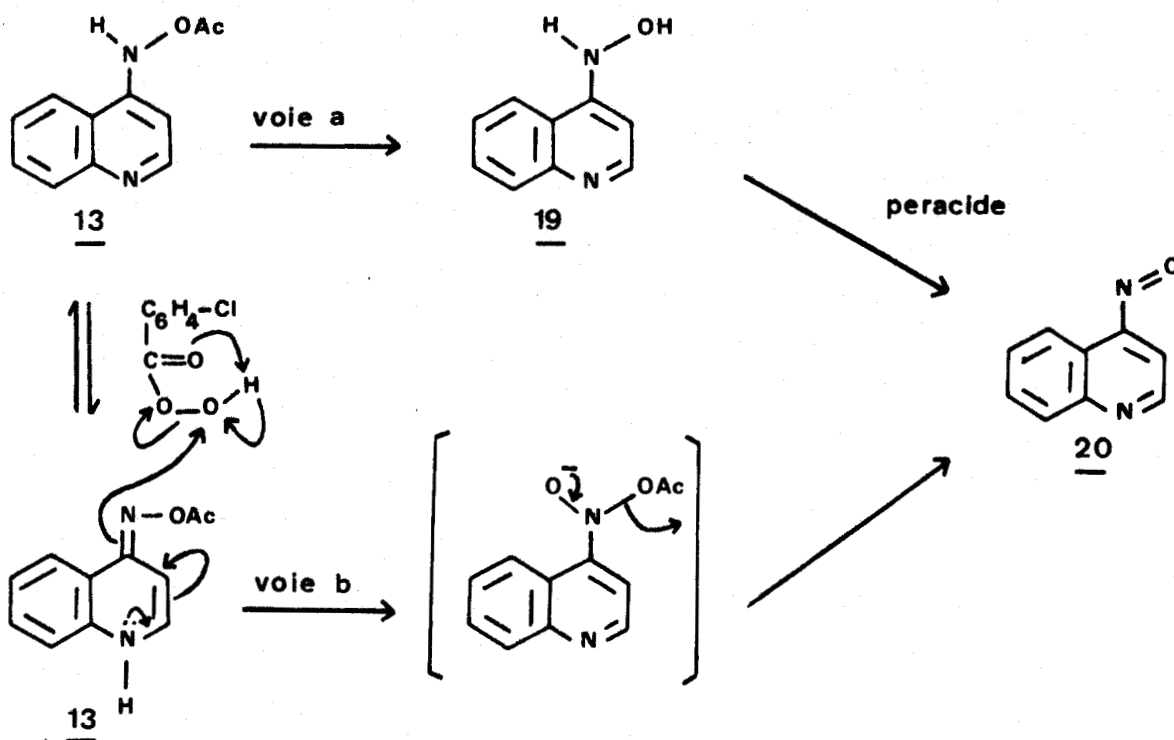
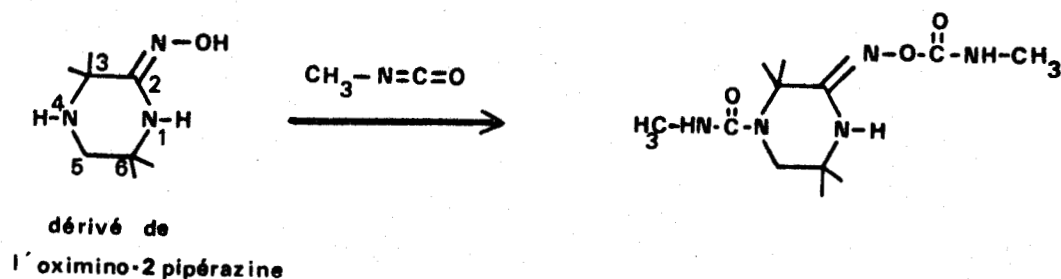


Schéma 13 : Mécanismes d'oxydation du dérivé acétylé 13.

La voie b est basée sur l'hypothèse selon laquelle le caractère nucléophile de l'atome d'azote en position 4 est plus important que celui de l'azote hétérocyclique.

Une telle hypothèse a été vérifiée dans le cas d'une amidoxime vinylogue (62).



Par rapport à la fonction oxime, la position de l'azote 1 de pipérazine est vinylogue de celle de l'azote hétérocyclique de la quinoléine. Or on observe effectivement dans la réaction

dé l'oximino-2 pipérazine avec l'isocyanate de méthyle, un caractère nucléophile plus important de l'atome d'oxygène de la fonction oxime.

2. REACTIVITE DE 5.

Nous nous sommes limités à réaliser quelques expériences préliminaires car nous n'avons pas de bonne méthode de préparation de 5. Toutes les réactions ont dû être effectuées directement sur le mélange réactionnel, c'est à dire en présence du dérivé monoacétylé 5 mais aussi du nucléophile et de l'acétate correspondant.

a/ HYDROLYSE.

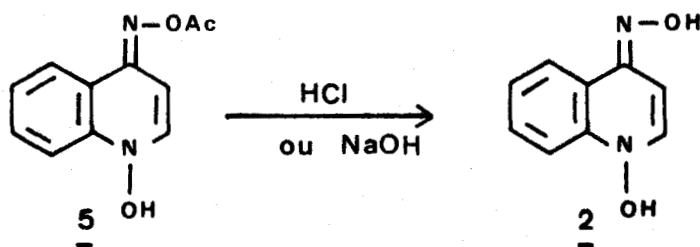
* Hydrolyse acide :

Après addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué au mélange réactionnel, 5 s'hydrolyse quantitativement en dérivé dihydroxylé 2 (analyse qualitative et quantitative par HPLC).

Nous observons la même réaction d'hydrolyse en faisant barboter l'acide chlorhydrique gazeux dans le diméthylsulfoxyde.

* Hydrolyse basique :

L'addition de soude diluée conduit au même dérivé hydroxylé 2. Si on laisse la réaction évoluer en milieu basique, 2 se décompose en dimères de quinoléine selon la réaction décrite dans le chapitre I (cf. p. 31).



b/ REACTION AVEC LES NUCLEOPHILES.

Nous avons préparé l'acétate d'oxime 5 dans le diméthylsulfoxyde en présence d'un léger excès de nucléophile (thiols).

Après avoir vérifié que la formation de 5 était quantitative, nous avons laissé évoluer la réaction à température ambiante.

* Etude par RMN :

Les concentrations utilisées en RMN sont de l'ordre de 10^{-1} molaires.

Nous avons suivi la disparition du signal acétate ($\delta = 2,15$ ppm) au cours du temps.

Avec le thiophénol comme nucléophile, la décomposition est totale après 60 mn de réaction, avec le β -mercaptoéthanol ou le dithiothreitol, la réaction est plus lente (environ 6 heures).

Dans tous les cas, on note, l'apparition d'un singulet attribué à l'acide acétique: aucun autre pic CH_3 - n'apparait

* Etude par HPLC :

L'étude par HPLC a été réalisée sur des solutions plus

diluées, de l'ordre de 4.10^{-3} molaires.

A cette concentration, la réaction est beaucoup plus lente que lors de l'étude par RMN : 24 h sont nécessaires pour avoir une réaction totale avec le thiophénol et environ 72 h avec les thioalcools (dithiothreitol, hydroxy-3 propylmercaptan).

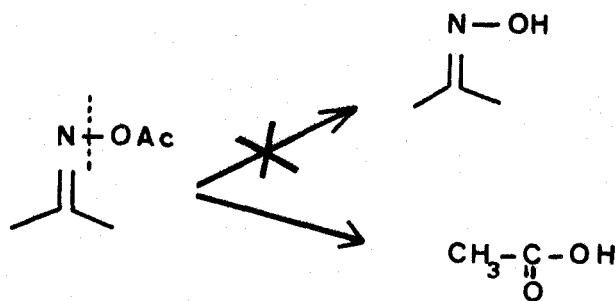
Après décomposition totale de 5, on remarque surtout l'absence de dérivé dihydroxylé 2, quel que soit le nucléophile utilisé. Avec le thiophénol (63), il se forme un produit nettement majoritaire, alors qu'avec le dithiothreitol, le mélange est plus complexe, on observe cinq pics sur le chromatogramme. Ces divers composés pourraient être des produits de fixation des nucléophiles sur le résidu quinoléine.

c/ CONCLUSION.

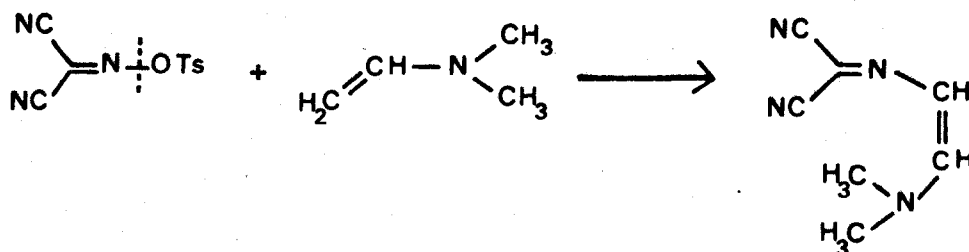
L'absence de dérivé dihydroxylé 2 dans les produits de réaction de 5 et la libération du groupement acétyle sous forme d'acide acétique, suggèrent l'intervention d'un nouveau mécanisme dans la rupture de la fonction ester.

Même en présence d'un large excès de nucléophile, 5 ne transfère pas de groupement acétyle sur le nucléophile.

La libération d'acide acétique en milieu non aqueux pourrait être due à une rupture de la liaison N-O. Nous ne sommes actuellement pas capable de préciser si cette rupture est homo ou hétérolytique.



Une réaction identique a déjà été mentionnée à propos de la réaction d'énamine sur certains paratoluènesulfonates d'oxime (70).



Le nucléophile attaque sur l'atome d'azote de l'oxime. Cette réaction est favorisée par la présence de deux groupements nitriles fortement électroattracteurs. L'acide paratoluènesulfonique est libéré dans le milieu.

B. ÉTUDE DE LA RÉACTIVITÉ DE LA FONCTION ACÉTATE D'OXIME SUR DES COMPOSÉS MODÈLES.

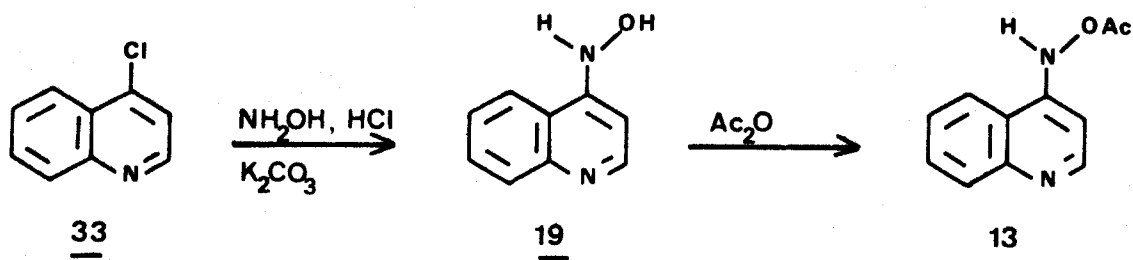
L'étude des propriétés chimiques de la fonction acétate d'oxime de 5, se heurte à deux difficultés importantes : l'impossibilité d'extraire 5 du milieu réactionnel et sa trop grande réactivité.

Dans le but de diminuer la réactivité de la fonction ester, nous avons synthétisé des composés ne portant plus de fonction hydroxylée en position 1.

Nous avons ainsi préparé les dérivés de la quinoléine et de la méthyl-1 quinoléine.

1/ SYNTHESE.a/ DERIVES DE LA QUINOLEINE.

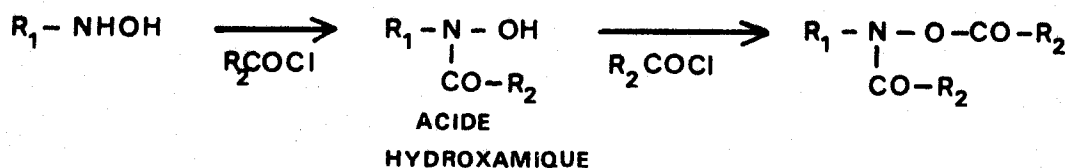
- Schéma de synthèse :



L'hydroxyamino-4 quinoléine 19 est préparée par action du chlorhydrate d'hydroxylamine sur la chloro-4 quinoléine 33 (64).

L'acétylation en 13 par l'anhydride acétique a été mentionnée par KAWAZOE (65). Nous avons amélioré le rendement en effectuant la réaction dans le diméthylformamide en présence d'imidazole. Les données spectroscopiques du produit obtenu sont en accord avec celles de la littérature (66) (IR, RMN, point de fusion).

On peut remarquer que l'acylation est sélective, on obtient uniquement le produit de O-acylation. Or l'acylation des hydroxylamines N-monosubstituées conduit généralement aux acides hydroxamiques (produits de N-acylation) puis aux hydroxylamines N,O-disubstituées selon le schéma suivant (67) :



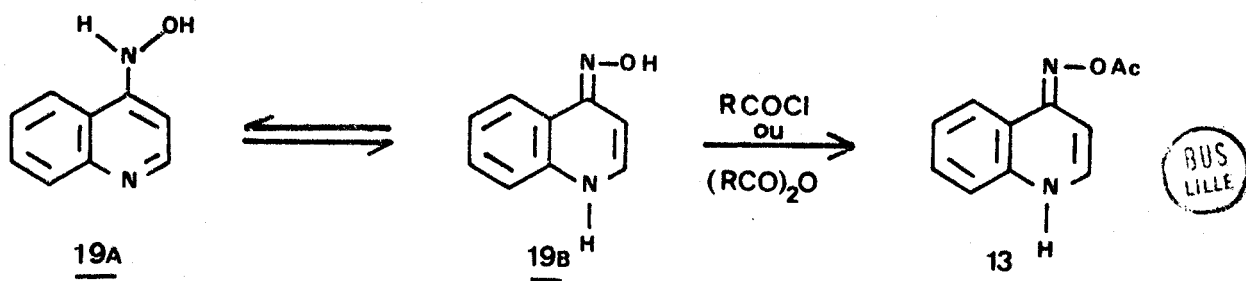
Cependant on connaît deux exceptions à cette règle :

- La O-acylation est la réaction préférentielle dans

le cas des hydroxylamines encombrées (68)
(R_1 = tert butyle...).

- JENCKS (69) rapporte aussi une O-acylation sélective d'hydroxylamines N-substituées par l'acétate ou le benzoate de paranitrophényle ou encore par le N-acétylimidazole.

Dans le cas de l'hydroxyaminoquinoléine l'obtention sélective du produit de O-acylation peut être due soit à l'effet électroattracteur de l'azote hétérocyclique qui diminue le caractère nucléophile de l'atome d'azote en position 4, soit à l'existence de 19 sous la forme tautomère 19B : oximino-4 dihydro-1,4 quinoléine.

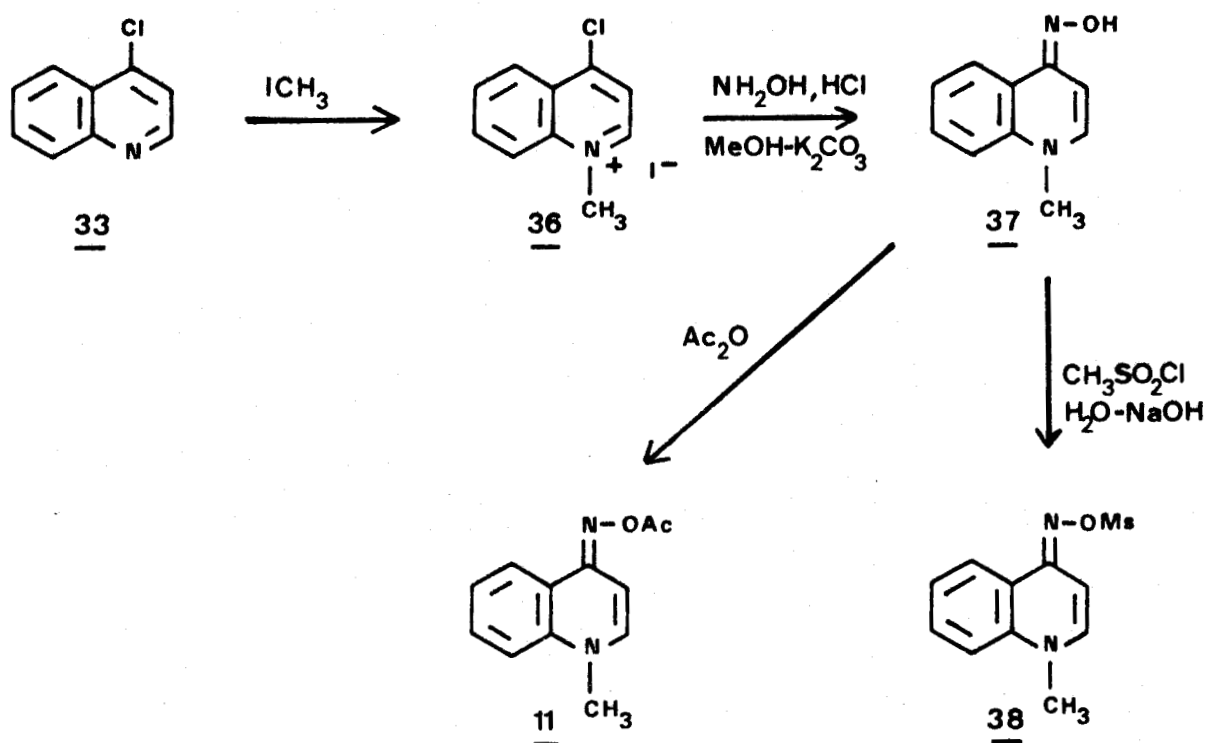


Nous avons ainsi préparé les esters acétique 13, benzoïque 34 et paratoluènesulfonique 35.

b/ DERIVES DE LA METHYL-1 QUINOLEINE.

Nous avons utilisé la même voie de synthèse qu'en série quinoléine. Le produit de départ est l'iodure de méthyl-1 chloro-4 quinoléinium 36 (préparé par action de l'iodure de méthyle sur la chloro-4 quinoléine 33).

- Schéma de synthèse :



Nous avons synthétisé les esters acétique et méthanesulfonique :

- L'acétylation par l'anhydride acétique est effectuée dans le diméthylformamide en présence d'imidazole.
- L'ester méthanesulfonique **38** est obtenu par réaction du chlorure de mésyle selon la méthode de SHOTTEN et BAUMAN.

2. REACTIVITE.

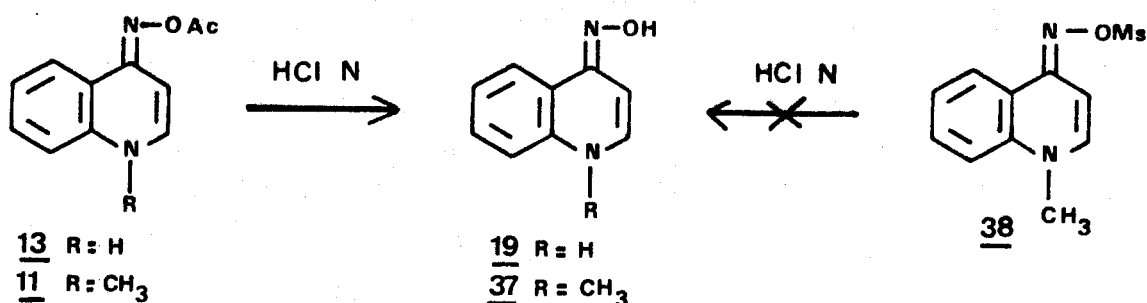
Nous avons réalisé des études préliminaires de solvolysse sur les trois dérivés **13**, **11** et **38**. Nous avons analysé les

produits de réaction par chromatographie sur couche mince, en utilisant les oximes 19 et 37 comme témoins.

a/ HYDROLYSE ACIDE.

Dissous dans l'acide chlorhydrique normal, les acétates d'oximes 11 et 13 s'hydrolysent respectivement en oxime 37 et 19.

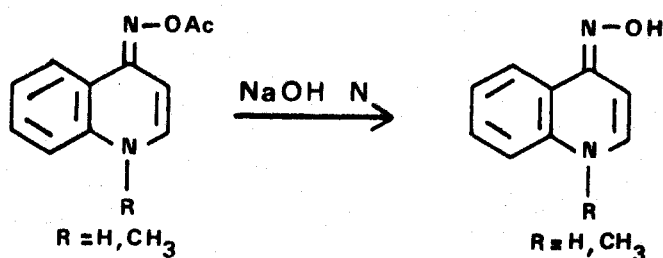
Par contre la décomposition du dérivé mésylé 38 ne conduit pas à l'oxime 37 mais à un nouveau composé très polaire (très vraisemblablement le sel 39 décrit p. 103).



b/ HYDROLYSE EN MILIEU BASIQUE.

Les dérivés acétylés 11 et 13 se dissolvent rapidement dans la soude normale.

L'hydrolyse en oximes (37 ou 19) semble quantitative et rapide.



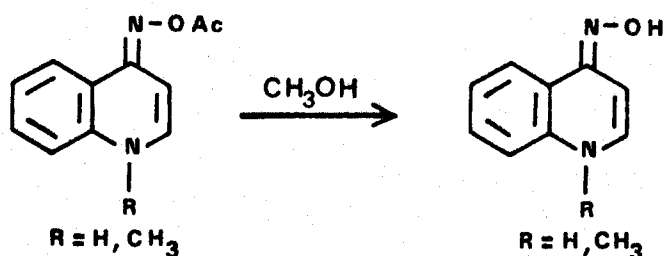
La réaction est totalement différente avec le méthanesulfonate d'oxime 38. Cet ester, très stable, reste inchangé après 60 h de réaction à température ambiante.

En conclusion, nous pouvons remarquer que les acétates d'oxime donnent lieu à des réactions classiques d'hydrolyse acide ou basique alors que les esters sulfoniques présentent une réactivité totalement différente.

c/ METHANOLYSE.

* Acétates 11 et 13 :

Nous observons une réaction lente de méthanolyse avec les dérivés acétylés 11 et 13 (plusieurs heures à température ambiante). Il se forme les oximes correspondantes 37 et 19 (identifiées uniquement par analyse en CCM).



* Méthanesulfonate 38

Ce composé est très peu réactif dans le méthanol. Pour observer la disparition totale de 38, il faut chauffer la solution méthanolique, en bombe, pendant 24 h à 100°C.

Le mélange réactionnel laisse apparaître un pic unique en HPLC. Après isolement, on obtient un produit cristallisé 39 dont nous avons étudié la structure par RMN.

Le tableau 6 compare les valeurs observées pour ce nouveau dérivé 39 à celles du produit de départ 38.

Composé δ	$-\text{SO}_2-\text{CH}_3$	$\text{N}-\text{CH}_3$	C_2-H	C_3-H	J_{2-3}
<u>38</u>	3,15	3,55	6,95	6,25	8Hz
<u>39</u>	2,25	4,05	8,45	6,75	7Jz
$\Delta\delta$	-0,9	+0,5	+1,5	+0,5	

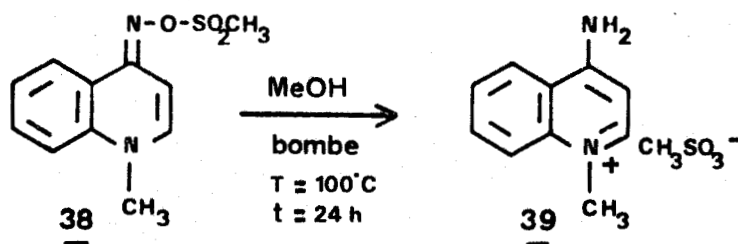
* Le spectre contient en outre deux protons échangeables à 9 ppm.

Tableau 6 :

On observe un déblindage important des protons $\text{N}-\text{CH}_3$ ($\Delta\delta=+0,5$ ppm), C_2-H ($\Delta\delta+1,5$ ppm) et C_3-H ($\Delta\delta=+0,5$ ppm). Ce déplacement vers les bas champs est en faveur du passage à une forme protonée de la quinoléine (voir annexe RMN).

On note la présence à 9,0 ppm de deux protons échangeables que nous pouvons raisonnablement attribuer à une fonction $\text{N}-\text{H}_2$.

Nous proposons donc la structure 39 pour le produit de méthanolyse du mésylate d'oxime 38.

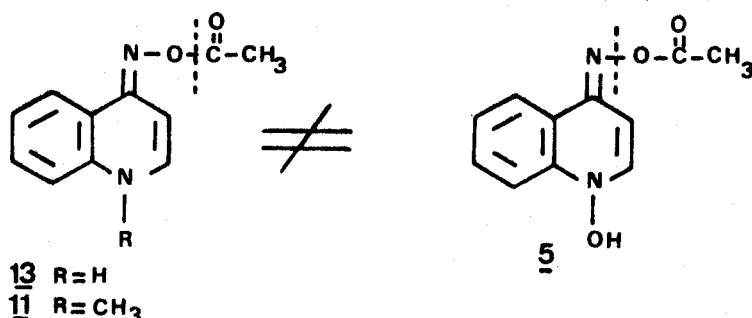


d/ INTERPRETATION.

1. En série quinoléine et N-méthyl quinoléine, les acétates d'oxime 11 et 13 sont le siège d'une réaction d'hydrolyse en oxime correspondante, et ceci, quelles que soient les conditions solvolytiques utilisées (hydrolyse acide, basique, méthanolyse).

On n'observe aucun produit correspondant à la rupture N-O, la seule qui pourrait conduire à la fixation du nucléophile sur la quinoléine.

On a donc une réactivité différente de celle du dérivé monoacétylé 5.

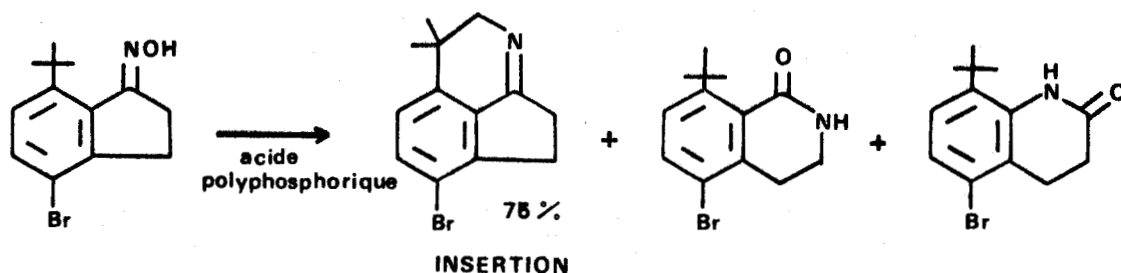


2. Le méthanesulfonate 38 a été préparé comme modèle de manière à disposer d'un système tel que seule la rupture N-O soit possible. Or nous constatons :

1) La réactivité est extraordinairement faible.

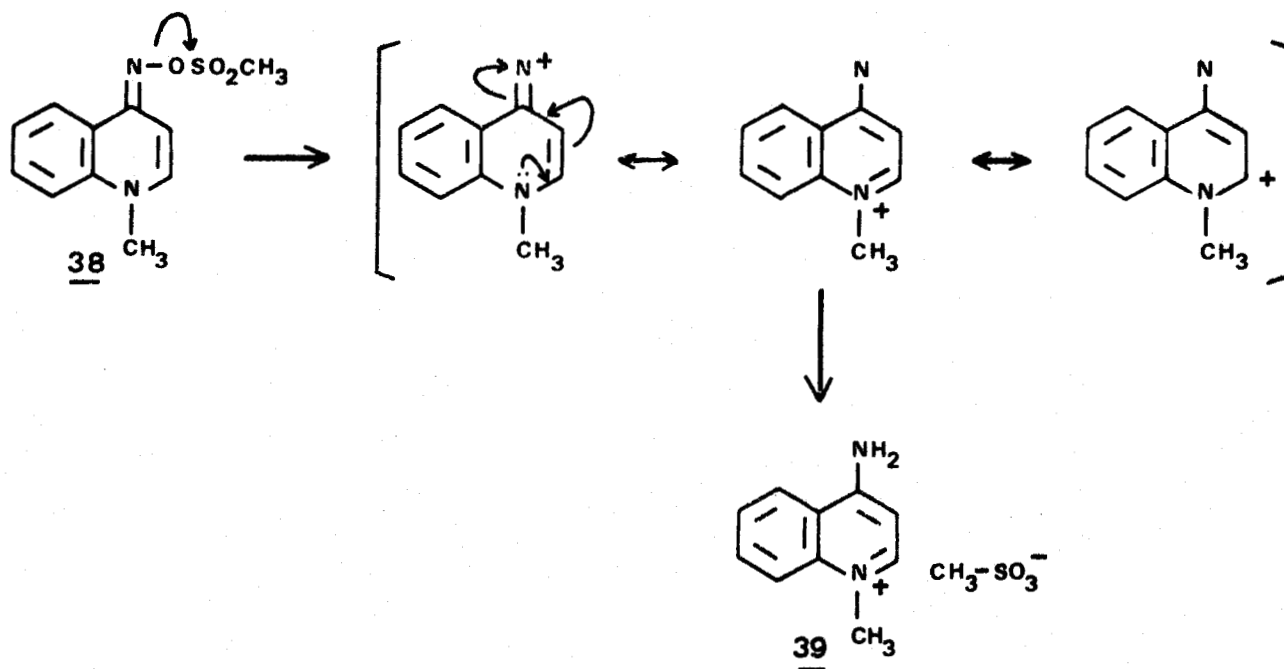
2) Le seul composé obtenu, avec un rendement quantitatif, ne correspond pas à un produit de fixation du solvant nucléophile sur la quinoléine mais il provient d'un arrachement d'hydrogène du solvant.

On peut proposer pour cette réaction un mécanisme passant par l'intermédiaire d'un ion nitrénium, en s'inspirant des résultats de LANSBURY (74) qui observe la réaction suivante :



L'ion nitrénium formé à partir de l'oxime conduit à une réaction d'insertion dans une liaison C-H voisine.

Dans notre cas, nous pouvons écrire :



La charge positive est délocalisée sur le cycle, ce qui a pour conséquence de conférer un caractère de nitrène à l'espèce intermédiaire.

Or tant dans la chimie des nitrènes que dans celle des ions "nitrénium", deux types de réaction sont possibles :

1) Réactions à l'état singulet : insertions, réarrangements....

2) Réactions à l'état triplet : capture de deux hydrogènes radicalaires du solvant, conduisant à l'amine primaire dans le cas du nitrene, ou à la forme protonée de l'amine dans le cas de l'ion "nitrenium".

Un mécanisme faisant intervenir une forme triplet pourrait rendre compte de la formation du composé 39.

On peut conclure de ces résultats que la fonction ester d'oxime en position 4 du dérivé monoacétylé 5 (ou du dérivé diacétylé 3) ne réagit certainement pas par un mécanisme comparable à ce que l'on observe pour les modèles 11, 13 et 38. La présence d'une autre fonction en position 1 est donc déterminante sur la réactivité du produit.

-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

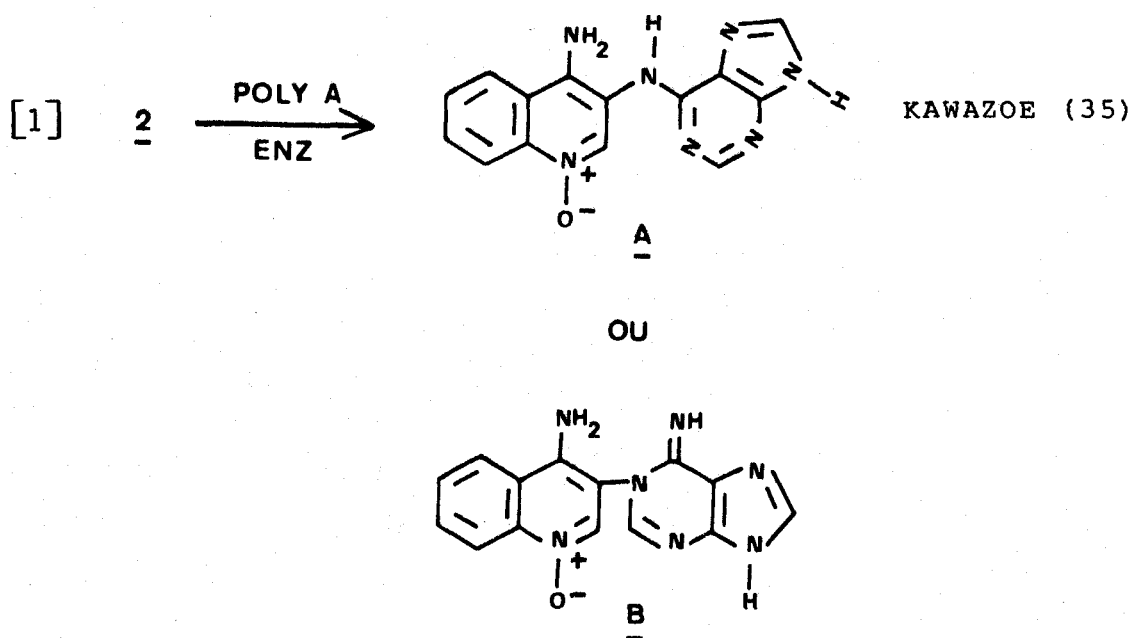
C O N C L U S I O N

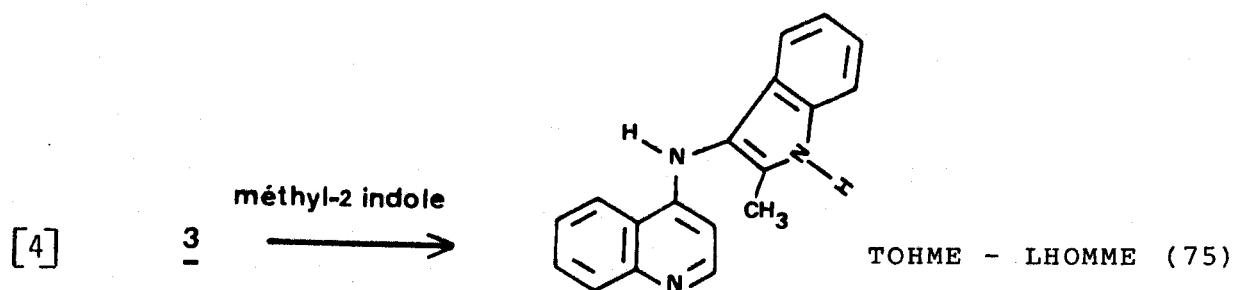
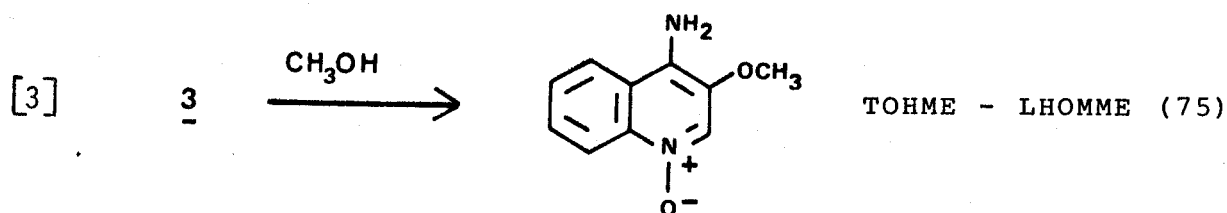
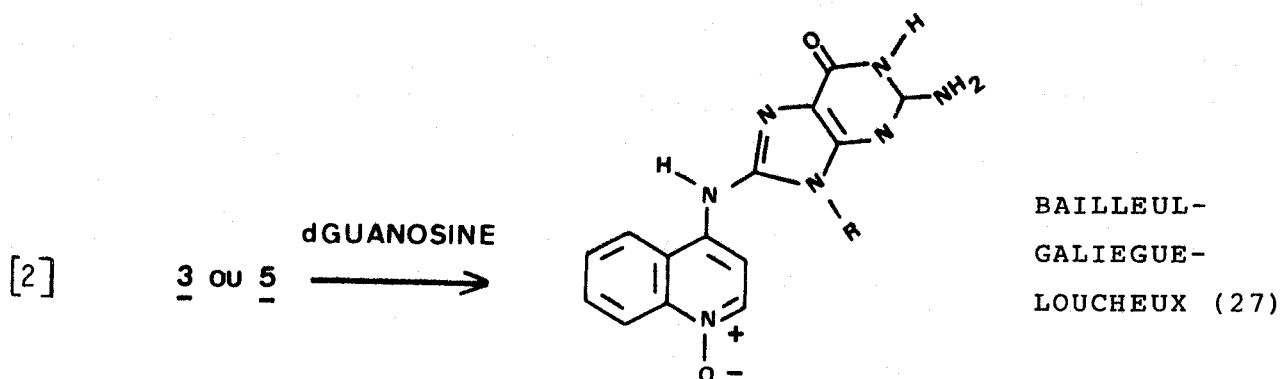
-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

Au cours de ce travail nous avons étudié successivement le dérivé diacétylé 3, les deux dérivés monoacétylés correspondants 4 et 5 et les composés modèles.

Le comportement de ces produits a été examiné dans des milieux très simples, essentiellement en conditions solvolytiques, qui sont évidemment très loin des conditions dans lesquelles le cancérigène ultime réagit sur l'ADN.

Nous allons examiner dans quelle mesure les résultats obtenus permettent d'interpréter l'ensemble des données actuellement en notre possession et que nous rappelons brièvement :





A. DANS LES CAS [1], [2] et [3], la fonction N-oxyde en position 1 est conservée.

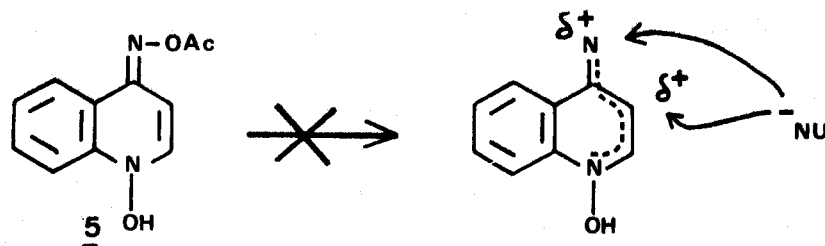
On peut rendre compte de la formation de ces produits à partir du dérivé diacétylé 3 ou du composé monoacétylé 5 par des mécanismes comparables, dans la mesure où il a été clairement démontré sur de nombreux exemples que le passage 3 \rightarrow 5 peut être réalisé de façon quantitative.

Le dérivé diacétylé 3 réagit comme réactif d'acétylation.

Par quels mécanismes peut-on interpréter les réactions [1], [2] et [3] ?

- Comme le démontre l'étude des modèles 11 et 38, un mécanisme impliquant une rupture hétérolytique N-O

de la fonction acétate d'oxime est extrêmement peu probable.

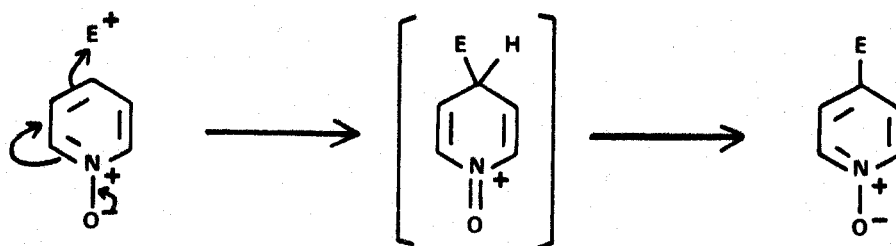


Nous avons conclu au chapitre précédent en insistant sur l'influence de la fonction N-oxyde en position 1.

- Pour rendre compte de l'extraordinaire réactivité du dérivé monoacétylé 5 comparée à celle du mé-sylate 38, il faut envisager un mécanisme dans lequel la fonction N-oxygénée en 1 participe à la rupture de la liaison N-O en position 4.

On peut faire l'hypothèse selon laquelle 5 réagirait sous la forme tautomère 5B, même si celle-ci est peu présente à l'équilibre.

La polarisabilité de la fonction N-oxyde peut alors entraîner une accélération de l'élimination de l'acétate (schéma 14 p. 110), un tel effet donneur est par exemple à l'origine de la très grande réactivité des N-oxydes de quinoléine et de pyridine en substitution électrophile (76).



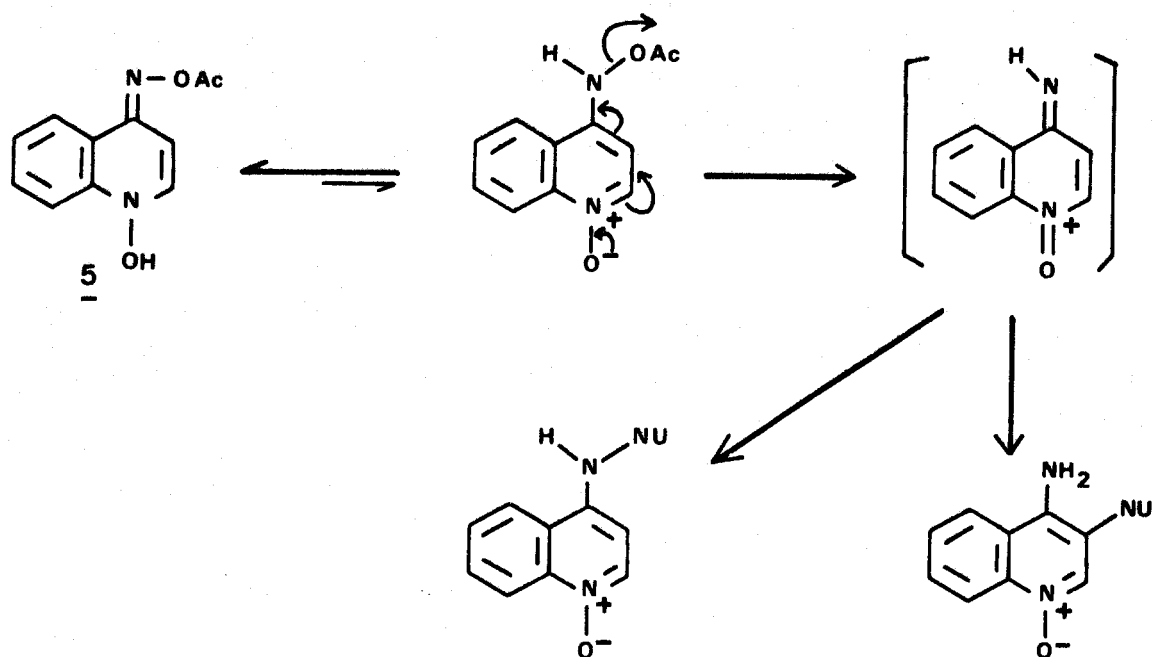
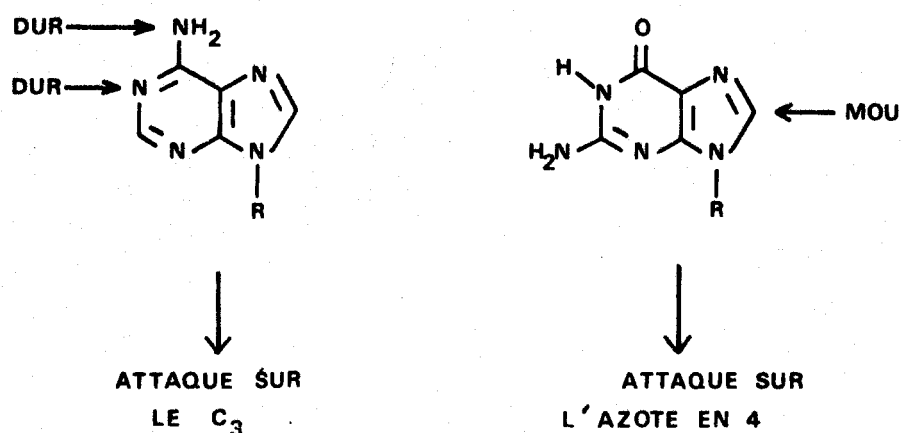


Schéma 14 : Réactivité de 5.

L'espèce intermédiaire formée est un électrophile dans lequel la charge est délocalisée sur plusieurs atomes, notamment sur l'atome de carbone C_3 et l'atome d'azote en position 4.

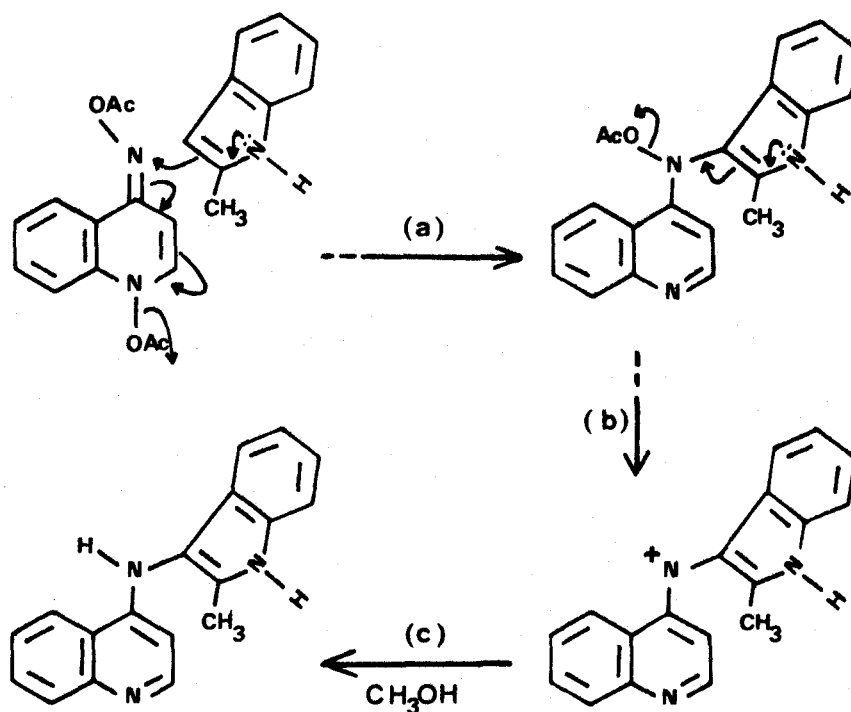
Selon le concept de PEARSON, on peut estimer que le C_3 sera un centre plus dur que l'atome d'azote en 4 (54).

On peut interpréter de cette manière la fixation sélective en C_3 du méthanol (réaction [3]) et de l'adénine, par une fonction amine (réaction [1]), ces deux réactions faisant intervenir des nucléophiles durs ; la guanosine réagit par le C_8 (réaction [2]) sur l'azote en position 4, le C_8 des purines étant considéré comme un site mou.



B. LA REACTION [4] est observée quand le dérivé diacétylé 3 est mis en réaction avec le méthylindole qui est un composé donneur, bien connu pour sa réactivité avec les électrophiles. Dans ce sens il présente des analogies avec la guanine, qui réagit bien avec les électrophiles pour donner des produits de substitution sur l'atome de carbone C₈ (cf. introduction p. 11).

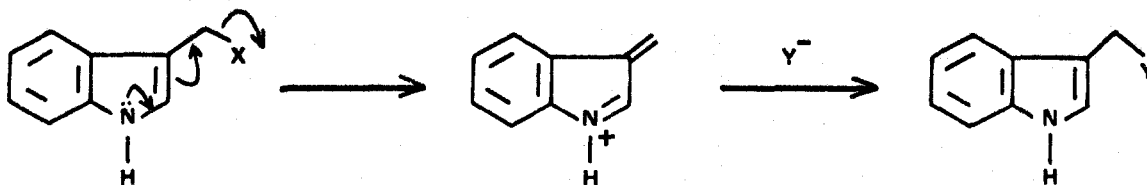
On peut proposer un mécanisme pour la réaction [4] qui s'inspire des résultats obtenus sur le dérivé monoacétylé 4 :



(a) est une substitution électrophile du noyau indole. L'électrophile est l'espèce nitrenium-carbénium issue de l'élimination de la fonction acétate du composé 3.

(b) correspond à l'élimination d'un acétate d'hydroxylamine.

Cette réaction est facilitée par la position de l'acétate d'hydroxylamine en β sur le cycle indole (77).

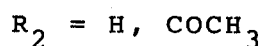
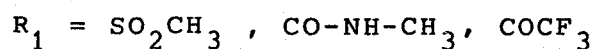
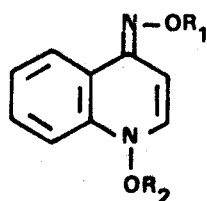


(c) correspond à la réaction triplet du nitrénium.

Tous ces mécanismes correspondent à des hypothèses de travail qui nécessitent des résultats complémentaires pour être établies.

Notre travail a permis de synthétiser sélectivement les deux dérivés monoacétylés 4 et 5. Ces deux composés sont extrêmement réactifs, parmi leurs nombreux produits de décomposition formés citons, plus particulièrement les deux nitrosos 7 et 20, eux-mêmes électrophiles puissants. Il n'est pas exclu que tous ces dérivés, issus directement du composé diacétylé, puissent jouer un rôle dans la modification chimique de l'ADN.

L'obtention des deux dérivés monoacétylés ouvre la voie à la préparation de dérivés fonctionnalisés de manière différente sur chacune des fonctions azotées.



Parmi ceux-ci un ester méthanesulfonique ($R_1 = \text{SO}_2\text{CH}_3$, $R_2 = \text{H}$) présente un grand intérêt. En effet, le faible taux de réaction des dérivés mono et diacétylé 5 et 3 avec l'ADN et les nucléosides est en grande partie dû à des réactions compétitives d'hydrolyse. Un ester méthanesulfonique ne donnant pas lieu à de telles réactions, nous pouvons prévoir une augmentation sensible des réactions de substitution.

A N N E X E

-0-0-0-0-0-0-0-0-

DESCRIPTION DES SPECTRES DE RMN

1/ ETUDE DES DEPLACEMENTS CHIMIQUES.

Nous avons rassemblé les caractéristiques principales de chacun des dérivés que nous avons synthétisé dans le tableau 7.

Nous avons classé ces dérivés en 4 groupes selon la structure du cycle quinoléine.

- Groupe I : Dihydro-1,4 quinoléine.
- Groupe II : N-oxyde de quinoléine.
- Groupe III : Quinoléine.
- Groupe IV : Sels de quinoléinium.

On peut faire les remarques suivantes :

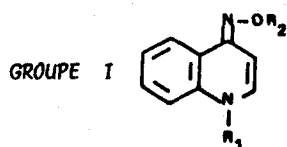
a. Les N-oxydes de quinoléine (Groupe II) sont caractérisés par le déblindage du proton péri, en position 8, ce déblindage est dû à l'effet d'anisotropie magnétique du N-oxyde (28).

Si les composés existent sous la forme tautomère d'hydroxy-1 dihydro-1,4 quinoléine (Groupe I), cet effet anisotrope disparaît (28).

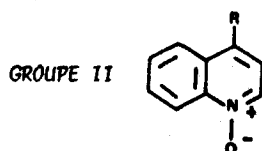
On constate en effet que les déplacements chimiques observés sont comparables à ceux obtenus en série de la méthyl-1 dihydro-1,4 quinoléine.

RMN (^1H) TABLEAU 7 :

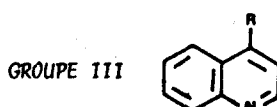
INFLUENCE DES SUBSTITUANTS PORTÉS PAR L'AZOTE HÉTÉROCYCLIQUE SUR LES DÉPLACEMENTS CHIMIQUES DES PROTONS DU CYCLE



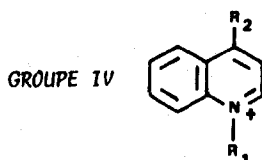
COMPOSÉS	R ₁	R ₂	SOLVANT	C ₂ -H	C ₃ -H	C ₅ -H	C ₈ -H	AR-H
<u>2</u> ^a	OH	H	DMSO d ₆	7,47	6,17	7,97	7,60	7,2-7,5
<u>5</u> ^a	OH	Ac	DMSO d ₆	7,62	6,05	8,07	7,60	7,2-7,6
<u>3</u> ^a	OAc	Ac	DMSO d ₆	7,67	6,21	8,11	7,34	7,3-7,6
<u>3</u>	OAc	Ac	CDCl ₃	6,95	6,26	8,30	7,1-7,4	7,1-7,4
<u>11</u>	CH ₃	Ac	CDCl ₃	6,88	6,23	8,37 ^b	6,9-7,6	6,9-7,6
<u>38</u>	CH ₃	MS	CDCl ₃	6,97	6,25	8,2 ^b	7,1-7,8	7,1-7,8
<u>13</u>	H	Ac	DMSO d ₆	7,34	6,10	8,05 ^b	7,1-7,6	7,1-7,6



COMPOSÉS	R	SOLVANT	C ₂ -H	C ₃ -H	C ₅ -H	C ₈ -H	AR-H
<u>8</u> ^a	NH ₂	DMSO d ₆	8,12	6,51	8,21	8,45	7,5-7,7
<u>42</u> ^{a,c}	CH ₃ -NH-	DMSO d ₆	8,28	6,35	8,28	8,55	7,6-7,8
<u>7</u>	NO	CDCl ₃	8,40	6,45	9,85 ^d	8,75	7,8-8,2



COMPOSÉS	R	SOLVANT	C ₂ -H	C ₃ -H	C ₅ -H	C ₈ -H	AR-H
<u>20</u>	NO	CDCl ₃	9,11	6,10	9,70 ^d	7,5-8,5	7,5-8,5
<u>33</u>	Cl	CD ₃ OD	8,70	7,60	7,5-8,2	7,5-8,2	7,5-8,2
<u>41</u>	H ₃ C-N(OAc)	CDCl ₃	8,7	7,2	8,05	8,05	7,4-7,7



COMPOSÉS	R ₁	R ₂	SOLVANT	C ₂ -H	C ₃ -H	C ₅ -H	C ₈ -H	AR-H
<u>2</u> ,HCl ^a	OH	NHOH	DMSO d ₆ , DC1	8,68	6,84	8,48	8,12	7,6-8
<u>8</u> ,HCl ^a	OH	NH ₂	DMSO d ₆ , DC1	8,60	6,82	8,56	8,15	7,6-8
<u>19</u> ,HCl	H	NHOH	CD ₃ OD	8,40	7,10	8,20	7,5-8	7,5-8
<u>4</u> ,HCl	OAc	NHOH	CD ₃ OD	8,7	7,05	8,4	7,5-8	7,5-8

a) Rf. 28 ; b) Multiplet attribué au C₅-H par comparaison avec les spectres des composés 2, 3 et 5.
 c) 42 : (N-méthylamino)-4 quinoléine-1 oxyde ; d) Multiplet attribué au C₅-H à cause du déblindage dû à l'effet anisotropique du groupement N=O sur le proton en position 5.

BUS
LILLE

b. L'existence du composé sous forme de sel (Groupe IV) est caractérisé par un déblindage important de tous les signaux et en particulier du doublet correspondant au proton en position 2.

A titre d'exemple, nous avons calculé les variations de déplacements chimiques observées lors du passage de la forme libre à la forme protonée de 2 (Tableau 8).

	<u>C₂-H</u>	<u>C₃-H</u>	<u>C₅-H</u>	<u>C₈-H</u>
$\Delta\delta$	+1,21	+0,67	+0,50	+0,52

Tableau 8 :

2/ VARIATIONS DE LA CONSTANCE DE COUPLAGE : J₂₋₃

Les protons en positions 2 et 3 des quinoléines substituées en position 4 sont visibles sous forme de deux doublets de type AB. Nous avons comparé J_{AB} pour tous les produits que nous avons synthétisés (Tableau 9).

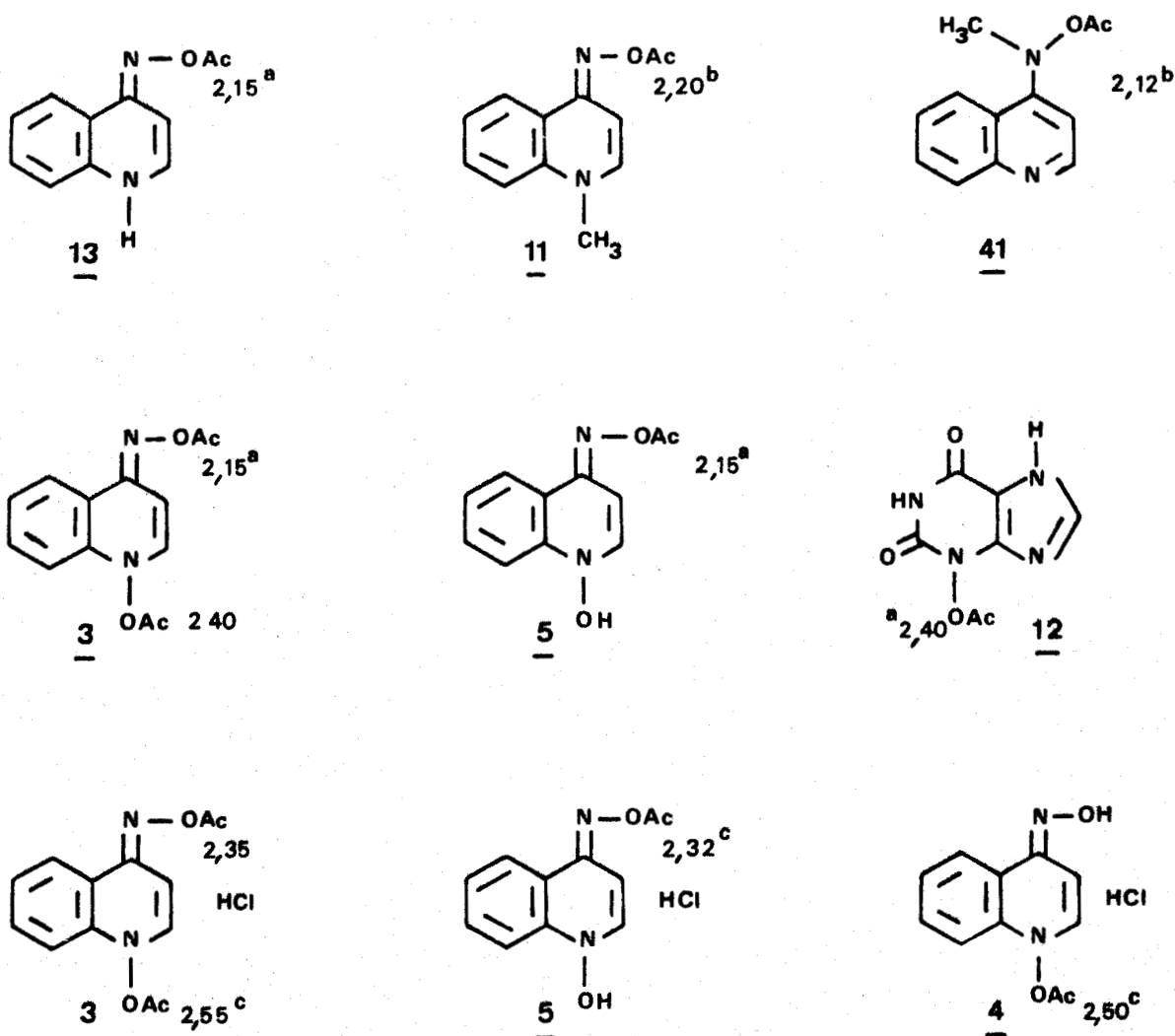
	GROUPE I						GROUPE II
	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>13</u>	<u>37</u>	<u>11</u>	<u>38</u>	<u>7</u>
J ₂₋₃ (Hz)	8	8,5	7,5	8	7,9	8	6,5
	GROUPE III			GROUPE IV			
	<u>33</u>	<u>20</u>	<u>41</u>	<u>19,HCl</u>	<u>36</u>	<u>2,HCl</u>	<u>4,HCl</u>
J ₂₋₃ (Hz)	5	4,5	5,0	6,8	6	8	8,2

Tableau 9 :

On constate que tous les composés de structure dihydro-1,4 quinoléine (Groupe I) ont une constante de couplage J_{AB} élevée, de l'ordre de 8 Hz. La quinoléine et ses dérivés (Groupe III) ont une constante J_{AB} 4,5-5 Hz.

3/ CARACTERISATION DES FONCTIONS ESTERS.

Nous avons comparé les déplacements chimiques des signaux correspondant au groupement COCH_3 de plusieurs esters. Nous avons rassemblés tous les résultats dans le schéma suivant :



a DMSO d₆
b CDCl₃
c CD₃OD

PARTIE EXPERIMENTALE

-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

METHODES D'ANALYSE :

Les points de fusion (F) ont été pris en capillaire scellé sous vide sur un appareil TOTOLI. Les spectres Ultra-Violet (UV) ont été enregistrés sur un spectromètre BECKMAN DBG7. Les spectres Infra-Rouge (IR) ont été enregistrés sur des spectromètres PERKIN-ELMER 157G et 237. Les spectres de Masse (SM) ont été enregistrés sur un RIBER MAG 10-10.

Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) ont été enregistrés sur un spectromètre PERKIN-ELMER 90 MHz à transformée de FOURIER (études de la réactivité de 3) et sur un spectromètre BRUKER WP-60 à transformée de FOURIER. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport à l'hexaméthylidisiloxane comme référence interne. Les abréviations suivantes sont utilisées dans la description des spectres : s pour singulet, d pour doublet, t pour triplet, m pour multiplet.

Les analyses par Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC) ont été faites sur appareil WATERS équipé de deux pompes M6000, un injecteur universel U6K, deux détecteurs UV M 440 (254 et 365 nm) et un programmateur de gradient M 660. Nous avons employé une colonne de phase inverse μ -Bondapak-C₁₈ (WATERS). Nous avons les conditions suivantes :

Solvant A : H₂O-H₃PO₄ pH2,5, Solvant B : MeOH-H₂O 5 % avec le programme linéaire de 10 à 70 % de solvant B dans le solvant A, en 5 mn avec un débit de 2cm³/mn. Le volume des échantillons est de 4 μ l, sauf exception mentionnée dans le texte. Les composés sont caractérisés par leur temps de rétention et par le rapport R de la DO à 254 nm sur la DO à 365 nm. Les caractéristiques des principaux composés sont données dans le tableau suivant :

Composés	<u>19</u>	<u>2</u>	<u>13</u>	<u>5a</u>	<u>5b</u>	<u>7</u>	<u>3</u>	<u>4-20</u>
Temps de rétention	5mn35	6mn	6mn50	6mn50	7mn	8mn25	8mn50	9mn50
R=DO ₂₅₄ /DO ₃₆₅	26,5	1,5	3,5	3,2	3,6	1,6	0,9	1,6

SYNTHESES

HYDROXY-1 HYDROXYIMINO-4 DIHYDRO-1,4 QUINOLEINE 2

Nous avons employé la méthode d'ENOMOTO et Coll. (24). La nitro-4 quinoléine-1 oxyde 1 commerciale (1g, 5,26 mmol) est solubilisée dans l'éthanol absolu (100 cm³) par léger chauffage (50°C). On ajoute ensuite l'acide ascorbique (5g, 28,40 mmol) puis 15 cm³ d'un mélange ammoniacque-eau (1:1, v/v). On agite vigoureusement pendant environ 15 mn. Le précipité jaune formé est filtré, lavé plusieurs fois avec une solution diluée d'acide ascorbique dans l'eau puis avec l'eau seule et séché sous vide (0,8g, Rendement 86 %).

F = 202°C (Litt. 212°C (24) ; 210°C (50)).

UV max (HClN) : 232 ($\epsilon = 18000$), 340 ($\epsilon = 17000$) nm.

IR (KBr) : 2850 (bande très large NH ou OH), 1605, 1545, 1355, 1210, 1150, 1045, 985, 755, 725 cm⁻¹.

SM:m/e (intensité relative) = 176 (M⁺, 23), 175 (M⁺-1, 24), 174 (M⁺-2, 24), 160 (100), 159 (21), 144 (48), 129 (72), 116 (67), 114 (31), 104 (54), 101 (52).

RMN (DMSO d₆ DC1): $\delta = 8,60$ (d, 1H, J = 8 Hz, C₂-H), 8,40 (m, 1H, C₅-H), 7,5-8,05 (m, 3H, C₆-H, C₇-H et C₈-H), 6,80 (d, 1H, J = 8 Hz, C₃-H).

ACETOXY-1 ACETOXYIMINO-4 DIHYDRO-1,4 QUINOLEINE 3 (23).

On ajoute le dérivé hydroxylé 2 (0,4g, 2,27 mmol) à un mélange d'anhydride et d'acide acétique (respectivement 5 et 1,5 cm³) refroidi dans un bain de glace. On maintient l'agitation, sous atmosphère d'azote jusqu'à dissolution complète du produit de départ. La solution est ensuite versée dans 20 à 30 cm³ d'eau refroidie dans un mélange glace-acétone, avec une agitation vigoureuse. Le précipité beige obtenu est filtré, lavé à l'eau et séché sous vide. (Rendement 65-70 %). Le dérivé diacétylé 3 est cristallisé dans l'éther anhydre.

F = 110 - 111°C (Litt.: 110°C (23)).

UV max (EtOH) : 260-350 nm.

IR (KBr) : 1805 et 1750 (C=O), 1615, 1545, 1460, 1415, 1360, 1215, 1175, 1150, 1005, 945, 845, 765, 760 cm⁻¹.

SM: m/e (intensité relative) = 260 (M⁺, 30), 218 (38), 202 (21), 176 (86), 174 (22), 160 (76), 144 (29), 143 (31), 129 (100), 128 (54), 116 (38), 115 (24), 102 (74).

RMN (CDCl₃) : δ = 8,30 (m, 1H, C₅-H), 7,1-7,4 (m, 3H, C₆-H, C₇-H et C₈-H), 6,95 (d, 1H, J = 8,5 Hz., C₂-H), 6,25 (d, 1H, J = 8,5 Hz, C₃-H), 2,20 et 2,35 (2s, CO-CH₃).

CHLORHYDRATE DE L'ACETOXY-1 HYDROXYIMINO-4 DIHYDRO-1,4 QUINOLEINIUM 4

On fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux pendant quelques minutes, dans une solution diluée de dérivé diacétylé 3 (0,1g, 0,38 mmol) dans le chloroforme (10 à 20 cm³). La solution est ensuite laissée à -20°C pendant 24 à 48h. Le précipité blanc formé est filtré et lavé au chloroforme. (0,06g, 61 % de rendement).

F = 118-118,5°C.

UV max (MeOH) : 242 ($\epsilon = 21000$), 354 ($\epsilon = 11300$) nm.

IR (KBr) : 3100, 3000, 2800, 1825 (C=O), 1605, 1560, 1355, 1140, 1110, 1030, 805 cm^{-1} .

SM: m/e (intensité relative) = 219 (3), 178 (9), 174 (11), 160 (27), 158 (13), 144 (100), 129 (23), 128 (22), 117 (41), 116 (26), 101 (26).

RMN (CD_3OD , DCl) : $\delta = 8,7$ (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, $\text{C}_2\text{-H}$), 8,4 (m, 1H), 7,5-8 (m, 3H), 7 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz, $\text{C}_3\text{-H}$), 2,50 (s, 3H, CO-CH_3).

NITROSO-4 QUINOLEINE-1-OXYDE 7 (32).

On met du carbonate d'argent sur célite (0,8g) en suspension dans le chlorure de méthylène (200 cm^3) et on y ajoute 2 (0,08g, 0,4 mmol). On maintient l'agitation pendant 3 h, à température ambiante et à l'obscurité. Après filtration sur célite et évaporation à froid, on obtient 7 sous forme d'une poudre jaune.

F = 134°C (Litt. : 110°C (32)).

IR (KBr) : 1450, 1425, 1390, 1365, 1300, 1245, 1190, 1140, 985, 820, 760 cm^{-1} .

SM : m/e (intensité relative) = 174 (M^+ , 94), 158 (30), 157 (30), 144 (14), 129 (18), 128 (41), 116 (100), 101 (76).

RMN (CDCl_3) : $\delta = 9,85$ (m, 1H), 8,75 (m, 1H), 8,40 (d, 1H, $J = 6,7$ Hz, $\text{C}_2\text{-H}$), 7,8-8,2 (m, 2H), 6,45 (d, 1H, $J = 6,7$ Hz, $\text{C}_3\text{-H}$).

PREPARATION DU CARBONATE D'ARGENT SUR CELITE (71).

La célite purifiée (30 g) (lavage par le mélange méthanol-acide chlorhydrique 9:1, puis par l'eau jusqu'à neutralité et séchage) est additionnée à une solution aqueuse de nitrate d'argent (30 g dans 200 cm³ d'eau). On laisse sous forte agitation puis on ajoute une solution de carbonate de sodium, 10H₂O (30 g dans 300 cm³ d'eau). Après 10 mn d'agitation, on filtre la suspension, on la lave à l'eau et on la sèche plusieurs heures à l'évaporateur rotatif à l'abri de la lumière.

CHLORO-4 QUINOLEINE 33.

On additionne l'hydroxy-4 quinoléine (2 g, 13,7 mmol) à l'oxytrichlorure de phosphore (6 cm³). Après dissolution complète, la solution est versée lentement dans de la glace pilée puis laissée 1h à température ambiante. On ajoute ensuite la soude concentrée jusqu'à pH5 (pH contrôlé au papier pH). La chloro-4 quinoléine 33 est extraite par l'éther. Les phases étherées sont séchées et évaporées (le rendement est quantitatif).

F = 37°C.

IR (KBr) : 1580, 1555, 1495, 1415, 1280, 970, 830, 765 cm⁻¹.

SM : m/e (intensité relative) = 163 (M⁺, 100), 128 (48), 101 (24).

RMN (CD₃OD) : δ = 8,7 (d, 1H, J = 4,9 Hz, C₂-H), 7,56-8,28 (m, 5H, Ar-H et C₃-H).

CHLORHYDRATE DE L'HYDROXYAMINO-4 QUINOLEINIUM 19 (64).

A une suspension de carbonate de potassium (10g, 71 mmol) et de chlorhydrate d'hydroxylamine (10g, 143 mmol)

dans le méthanol (120 cm^3), on ajoute la chloroquinoléine 33 (2 g, 12 mmol). Le mélange est chauffé à reflux jusqu'à obtention d'une solution jaune claire (3h). Le chlorure de potassium formé est éliminé par filtration, 19 précipite alors dans le filtrat, sous forme de chlorhydrate. Le rendement est quantitatif.

F = 260-262°C (Dec.) (Litt. : 262-263°C (64)).

UV max (EtOH) : 230 ($\epsilon = 24500$), 332 ($\epsilon = 27500$), 342 ($\epsilon = 28000$) nm.

IR (Nujol) : 3160 (large), 1640, 1620, 1600, 1145, 1120, 1010, 805, 760 cm^{-1} .

SM : m/e (intensité relative) = 160 (M^+ , 64), 144 (100), 129 (37), 117 (33), 116 (32), 102 (15).

RMN (CD_3OD) : $\delta = 8,4$ (d, 1H, $J = 6,8 \text{ Hz}$, $\text{C}_2\text{-H}$), 8,2 (m, 1H), 7,5-8 (m, 3H), 7,1 (d, 1H, $J = 6,8 \text{ Hz}$, $\text{C}_3\text{-H}$).

ACETOXYAMINO-4 QUINOLEINE 13 (66,72).

A un mélange stoechiométrique de 19 et d'imidazole dans le DMF, on ajoute l'anhydride acétique en excès. Après 3h d'agitation, on verse le mélange dans une solution saturée de bicarbonate de sodium refroidie dans un bain de glace. Le précipité blanc formé est filtré, lavé plusieurs fois à l'eau, séchée, puis 13 est cristallisé dans le chlorure de méthylène (Rendement 60 %).

F = 176-177°C (Litt. : 175-178°C (66), 180°C (72)).

UV max (EtOH) : 254 ($\epsilon = 22500$), 348 ($\epsilon = 27700$) nm.

IR (Nujol) : 3440 (N-H), 1730 (C=O), 1620, 1590, 1550, 1350, 1250, 790 cm^{-1} .

SM : m/e (intensité relative) = 202 (M^+ , 23), 160 (54), 144 (100),
129 (27), 117 (39), 116 (52), 102 (21).

RMN (DMSO d_6) : δ = 10,9 (s, 1H, N-H), 8,05 (m, 1H), 7,1-7,6 (m,
4H dont un doublet centré à 7,34, $J=7,5$ Hz, C_2 -H), 6,10
(d, 1H, $J = 7,5$ Hz, C_3 -H), 2,15 (s, 3H, CO- CH_3).

BENZOYLOXYAMINO-4 QUINOLEINE 34.

Ce dérivé se prépare suivant la méthode de SCHOTTEN et BAUMAN à partir de l'hydroxylamine 19. 19 (0,2 g, 1 mmol) est dissous dans l'eau (100 cm^3). Le pH est ajusté à 7 avec de la soude diluée. Après refroidissement dans un bain de glace, on ajoute le chlorure de benzoyle (0,2 cm^3 , 1,7 mmol). On maintient l'agitation jusqu'à disparition du chlorure d'acide. Le précipité blanc formé est filtré, lavé au chlorure de méthylène et cristallisé dans l'éthanol absolu (0,09 g, 35 % rendement).

F = 186°C.

IR (Nujol) : 3230 (N-H), 1700 (C=O), 1625, 1620, 1545, 1505, 1060 cm^{-1} .

SM : m/e (intensité relative) = 264 (M^+ , 5), 167 (4), 149 (6), 144 (46),
122 (40), 117 (20), 105 (94).

RMN (DMSO d_6) : δ = 10,9 (s, 1H, N-H), 7,15-8,15 (m, on distingue un
doublet centré à 7,35, $J = 7$ Hz, C_2 -H), 6,25 (d, 1H,
 $J = 7$ Hz, C_3 -H).

TOSYLOXYAMINO-4 QUINOLEINE 35.

On emploie la méthode de SHOTTEN et BAUMAN décrite pour 34, en utilisant le chlorure de tosyloyle. Le précipité formé

est un mélange de 35 et d'acide para-toluène sulfonique. Une cristallisation dans l'éther de pétrole décompose le produit, aussi extrait-on le mélange à l'éther. Après séchage de la phase étherée on fait précipiter 35 sous forme de chlorhydrate par barbotage d'acide chlorhydrique gazeux.

F = 106°C (sous forme chlorhydrate).

RMN (CD₃OD) : δ = 8,6 (d, 1H, J = 6,5 Hz, C₂-H), 7,7-8,1 (m, 6H),
7,45 (d, 2H), 7,15 (d, 1H, J = 6,5 Hz,
C₃-H), 2,25 (s, 3H, CH₃).

NITROSO-4 QUINOLEINE 20.

19 (0,5 g, 2,5 mmol) est mis en suspension dans le chloroforme (250 cm³). Sous forte agitation, on additionne du carbonate d'argent sur célite (5g) fraîchement préparé. L'agitation est maintenue pendant 3h, à l'obscurité et à température ambiante (18-20°C). La solution jaune obtenue après filtration sur célite, est évaporée sous vide, à froid. 20 se présente sous forme d'une poudre jaune (Rendement 60 %).

F = 82°C.

UV max (CHCl₃) : 242 (ϵ = 20140), 364 (ϵ = 8400) nm.

SM : m/e (intensité relative) = 158 (M⁺, 76), 156 (51), 139 (47),
128 (100), 113 (11), 111 (31), 101 (59).

RMN (CDCl₃) : δ = 9,7 (m, 1H), 9,11 (d, 1H, J = 4,2 Hz, C₂-H),
7,5-8,5 (m, 3H), 6,1 (d, 1H, J = 4,2 Hz, C₃-H).

(N-HYDROXY, N-METHYLAMINO)-4 QUINOLEINE 40 (73).

On ajoute le chlorhydrate de N-méthylhydroxylamine (2,9 g, 34 mmol) à une suspension de carbonate de potassium (2,9 g, 21 mmol) dans le méthanol (50 cm³). On additionne ensuite la chloro-4 quinoléine 33 (0,54 g, 3,3 mmol). Le mélange est chauffé à reflux pendant 2h. Après filtration et évaporation du solvant, l'huile jaune résiduelle est purifiée sur colonne de silice (élution par chloroforme-méthanol 5 %). On obtient ainsi 40 (0,2g, 35 %) sous forme de cristaux jaunes dans la fraction la plus pure, et 0,2 g (36 %) de produits présentant des traces d'impuretés.

F = 218°-219°C (HCl : 207-209°C, Litt. : 200-202°C (73)).

UV max (EtOH) : 218 ($\epsilon = 49000$), 240 ($\epsilon = 19500$), 340 ($\epsilon = 21700$),
352 ($\epsilon = 22600$) nm.

IR (Nujol) : 3400 (large), 3200 (large), 2680, 1615, 1590, 1550,
1425, 1220, 1140, 790, 760 cm⁻¹.

SM : m/e (intensité relative) : 174 (m⁺, 100), 158 (54), 157 (62),
156 (81), 149 (18), 129 (27), 128 (22), 117 (14), 101 (18).

RMN (CD₃OD) : $\delta = 8,99$ (m, 1H), 8,21 (d, 1H, J = 7,3 Hz, C₂-H),
7,4-8 (m, 3H), 6,75 (d, 1H, J = 7,3 Hz, C₃-H), 3,72
(s, 3H, CH₃).

(N-ACETOXY N-METHYLAMINO)-4 QUINOLEINE 41 (66).

40 (0,05 g, 0,28 mmol) est mis en suspension dans l'anhydride acétique (0,5 cm³) contenant une trace d'acide acétique. Après 2h d'agitation à température ambiante, la solution est devenue limpide. On verse le mélange dans une solution saturée de bicarbonate de potassium. Le dérivé acétylé 41 est extrait à l'éther. Après séchage de la phase étherée et évaporation, on

obtient 41 sous forme d'huile incolore.

IR (Nujol) : 1775 (C=O), 1590, 1570, 1500, 1390, 1370, 1200, 1175, 995, 765 cm^{-1} .

IR du chlorhydrate (Nujol) : 3360 (large), 2650 (large), 1800 (C=O), 1620, 1605, 1590, 1530, 1150, 1140, 815, 770 cm^{-1} .

RMN (DMSO d_6) : δ = 8,8 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz, $C_2\text{-H}$), 7,6-8,1 (m, 4H), 7,34 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz, $C_3\text{-H}$), 3,25 (s, 3H, CH_3), 2,12 (s, 3H, COCH_3).

IODURE DE METHYL-1 CHLORO-4 QUINOLEINIUM 36.

La chloro-4 quinoléine 33 dissoute dans l'iodure de méthyle est chauffée à 40°C pendant 24 h. 36 précipite au fur et à mesure de sa formation. Après filtration, lavage à l'éther et séchage, on obtient 36 sous forme de poudre jaune, le rendement est quantitatif (96 %).

F = 115-116°C.

SM : $m/e = 163 (M^+ - 15)$.

RMN (CD_3OD) : δ = 9,34 (d, 1H, $J = 6,05$ Hz, $C_2\text{-H}$), 7,99-8,74 (m, 5H), 4,6 (s, 3H, CH_3).

METHYL-1 HYDROXYIMINO-4 DIHYDRO-1,4 QUINOLEINE 37.

On chauffe un mélange de 36 (1,6 g, 5,3 mmol), de chlorhydrate d'hydroxylamine (3,7 g, 53,2 mmol) et de carbonate de potassium (5g, 35,7 mmol) dans le méthanol (50 cm^3), à 60°C pendant 3h. Après filtration du chlorure de potassium formé,

on laisse le filtrat à température ambiante, 37 précipite sous forme de sel. La base libre est libérée par agitation vigoureuse du précipité dans une solution aqueuse de bicarbonate de potassium, à 0°C. La cristallisation s'opère dans le méthanol.

F = 157-159°C.

UV max (EtOH): 256 ($\epsilon = 21600$), 265 ($\epsilon = 21800$), 365 ($\epsilon = 21700$) nm.

SM : m/e (intensité relative) = 174 (M^+ , 100), 159 (11), 143 (49),
131 (8), 115 (11), 102 (6).

RMN (CD_3OD) : $\delta = 8,04$ (m, 1H), 7,1-7,8 (m, 4H dont un doublet centré à 7,37, $J = 8$ Hz, C_2-H), 6,44 (d, 1H, $J = 8$ Hz, C_3-H), 3,62 (s, 3H, CH_3).

Analyse : $C_{10}H_{10}N_2O$: Calc. % :	C	68,95	H	5,79	N	16,08
Tr. % :		68,70		5,74		16,02

METHYL-1 ACETOXYIMINO-4 DIHYDRO-1,4 QUINOLEINE 11.

L'oxime 37 (0,05 g, 0,3 mmol) est dissoute dans le DMF (1 cm³) en présence d'imidazole (0,02 g, 0,3 mmol). On ajoute l'anhydride acétique (0,5 cm³) et on maintient l'agitation pendant 5h. La solution est ensuite versée dans 6 cm³ d'eau saturée en bicarbonate de potassium et refroidie dans un mélange glace-acétone. 11 précipite dans le milieu (0,031 g, 48 % rendement).

F = 121-123°C.

IR (Nujol) : 1730 (C=O), 1635, 1610, 1580, 1410, 1000, 940, 750,
740 cm⁻¹.

SM : m/e (intensité relative) = 216 (M^+ , 26), 174 (100), 158 (14),
143 (45), 129 (3), 115 (6), 102 (2).

RMN (CDCl_3) : δ = 8,37 (m, 1H), 6,9-7,6 (m, 3H), 6,88 (d, 1H, J = 7,8Hz, $\text{C}_2\text{-H}$), 6,23 (d, 1H, J = 7,8 Hz, $\text{C}_3\text{-H}$), 3,53 (s, 3H, N-CH_3), 2,19 (s, 3H, COCH_3).

METHYL-1 MESYLOXYIMINO-4 DIHYDRO-1,4 QUINOLEINE 38.

Nous employons la méthode de SHOTTEN et BAUMAN.
L'oxime 37 (0,1 g, 0,57 mmol) est solubilisée dans l'eau (50 cm^3) refroidie dans un mélange glace-acétone. On ajuste le pH à 12 avec de la soude normale. Puis on ajoute le chlorure de mésyle en excès ($0,1 \text{ cm}^3$, 1,29 mmol). On maintient l'agitation jusqu'à disparition totale de l'oxime. Après filtration et séchage, le précipité blanc formé est cristallisé dans le méthanol (0,073 g, rendement 51 %).

F = 170-172°C.

IR (Nujol) : 4 bandes très intenses 1370, 1335, 1280, 1265 cm^{-1} .

SM : m/e = 252 (M^+), 137, 158, 157, 143, 131, 128, 115, 101.

RMN (CDCl_3) : δ = 8,2 (m, 1H), 7,1-7,8 (m, 3H), 6,97 (d, 1H, J = 8 Hz, $\text{C}_2\text{-H}$), 6,25 (d, 1H, J = 8 Hz, $\text{C}_3\text{-H}$), 3,56 (s, 3H, N-CH_3), 3,16 (s, 3H, $-\text{SO}_2\text{-CH}_3$).

REACTIVITE

RÉACTIVITÉ DE 3

RÉACTIONS DE SOLVOLYSE.

1. MILIEU NEUTRE.

Etude par HPLC. Nous avons utilisé une solution de 10^{-3} g de 3 par cm^3 de solvant. Nous avons employé un mélange méthanol-tampon phosphate pH 7 (1:1, v/v) (39 cm^3 de solution aqueuse 0,2 N de phosphate monosodique- 61 cm^3 de solution 0,2 N de phosphate disodique). La réaction est effectuée à température ambiante (18-20°C).

Les valeurs de la DO à 254 nm du pic correspondant à 3 sont rassemblées dans le tableau suivant :

Temps (mn)	1	2	5	15	23
DO ₂₅₄	0,27	0,24	0,17	0,06	0,05
Log DO ₂₅₄	-0,57	-0,62	-0,77	-1,20	-1,30

2. MILIEU BASIQUE.

Etude par RMN. 3 (0,02 g, $7,69 \times 10^{-2}$ mmol) est dissous dans le deutérométhanol ($0,8 \text{ cm}^3$) sous argon ; la solution

est ensuite congelée dans l'azote liquide toujours sous argon. On ajoute la soude deutériée 13N ($0,020 \text{ cm}^3$, $0,26 \text{ mmol}$) juste avant de placer le tube dans la sonde stabilisée à -70°C . La température est augmentée par palier de 5°C .

$-70 < T < -30^\circ\text{C}$ δ (ppm) = 8,25 (m, 1H), 8,05 (m, 1H), 7,3-7,8 (m, 3H dont un doublet centré à 7,75, $\text{C}_2\text{-H}$), 6,25 (d, 1H, $\text{C}_3\text{-H}$), 2,15 (s, 3H, COCH_3).

$-30 < T < -10^\circ\text{C}$ δ (ppm) = 7,3-8,2 (m, 5H dont 2 multiplets à 8,2 et 8,1 et un doublet à 7,90, $J = 7,5 \text{ Hz}$, $\text{C}_2\text{-H}$), 6,50 (d, 1H, $J = 7,5 \text{ Hz}$, $\text{C}_3\text{-H}$).

Addition de DCl 7N en excès à la solution précédente :

δ (ppm) = 8,6 (d, 1H, $J = 8 \text{ Hz}$, $\text{C}_2\text{-H}$), 7,7-8,4 (m, 4H, Ar-H), 7,05 (d, 1H, $J = 8 \text{ Hz}$, $\text{C}_3\text{-H}$).

Etude par spectrométrie de masse . 3 ($0,03 \text{ g}$, $0,11 \text{ mmol}$) est dissous sous azote dans le méthanol (3 cm^3). La solution est refroidie à 0°C puis on ajoute la soude N (1 cm^3). L'agitation est maintenue 30 mn puis le précipité rouge formé est filtré, lavé au chloroforme et séché. Il représente 25 % de la masse initiale.

SM : m/e (intensité relative) = 330 (5), 316 (1), 314 (7),
300 (2), 298 (29), 284 (5), 282 (46), 254 (47), 242 (16),
226 (15), 144 (1), 141 (2), 128 (10), 127 (9), 114 (10), 102
(11), 100 (28).

3. MILIEU ACIDE.

A/ METHANOL-ACIDE CHLORHYDRIQUE

Etude cinétique par RMN . 3 ($0,02 \text{ g}$, $7,7 \times 10^{-2} \text{ mmol}$)

est dissous dans le deutérométhanol ($0,8 \text{ cm}^3$). On ajoute, sous argon, l'acide chlorhydrique deutérié 7N ($0,04 \text{ cm}^3$, $0,28 \text{ mmol}$). Le tube est placé dans la sonde stabilisée à $+30^\circ\text{C}$. La température est constante tout au long de la réaction. Le temps $t=0$ correspond à l'addition de l'acide dans le tube. Les spectres observés sont décrits dans le tableau suivant :

$t = 0$	$\delta(\text{ppm}) = 9,0$ (d, 1H, $J = 8 \text{ Hz}$, $\text{C}_2\text{-H}$), $8,5$ (m, 1H), $7,9\text{-}8,4$ (m, 3H, Ar-H), $7,15$ (d, 1H, $J = 8 \text{ Hz}$, $\text{C}_3\text{-H}$), $2,55$ et $2,35$ (2s, COCH_3).
$t = 25 \text{ mn}$	δ (ppm) = $9,0$ (d, 1H, $\text{C}_2\text{-H}$ de <u>3</u>), $8,90$ (d), $8,70$ (d), $8,50$ (m, 1H, $\text{C}_5\text{-H}$ ou $\text{C}_8\text{-H}$ de <u>3</u>) $7,8\text{-}8,9$ (massif complexe), $7,15$ (d, 1H, $\text{C}_3\text{-H}$ de <u>3</u>), $7,12$ (d), $2,55$ et $2,35$ (2s, COCH_3 de <u>3</u>), $2,50$ et $2,32$ (2 nouveaux singulets).
$t = 30 \text{ mn}$	δ (ppm) = $8,90$ (d), $8,70$ (d), $7,8\text{-}8,5$ (massif complexe), $7,10$ (m, 2H), $2,50$ et $2,32$ (2s).
$t = 45 \text{ mn}$	δ (ppm) = $8,90$ (d, 1H, $J = 8 \text{ Hz}$), $8,65$ (d), $7,7\text{-}8,5$ (massif complexe), $7,10$ (d, 1H, $J = 8 \text{ Hz}$), $7,05$ (m), $2,32$ (s, 3H, COCH_3).
$t = 1\text{h}40$	δ (ppm) = $8,65$ (d), $7,7\text{-}8,6$ (massif complexe), $7,1$ (m).

Etude par HPLC. Nous avons utilisé la même solution que pour l'étude par RMN. Nous avons injecté les échantillons après 20 et 60 mn de réaction.

Nous avons identifié les produits suivants par leur temps de rétention et le rapport des DO : 19, 2, 5, 3 et 4.

B/ DIMETHYLSULFOXYDE - ACIDE CHLORHYDRIQUE

Etude par RMN. Les concentrations utilisées sont les

mêmes que précédemment. Le spectre du produit d'hydrolyse 5, est le suivant :

δ (DMSO d_6 , DCI) : 8,85 (d, 1H, J = 8 Hz, C_2 -H), 8,5 (m, 1H, C_5 -H ou C_8 -H), 7,5-8,2 (m, 3H, Ar-H), 6,95 (d, 1H, J = 8 Hz, C_3 -H), 2,38 (s, 3H, $COCH_3$).

Après neutralisation par la soude deutériée 13N :

δ (DMSO d_6 , DCI + NaOD) : 8,05 (m, C_5 -H), 7,1-7,7 (m, Ar-H et C_2 -H), 6,05 (d, C_3 -H), 2,15 (s, $COCH_3$).

Etude par HPLC. Nous avons injecté 2 μ l du mélange réactionnel, après 5 mn de réaction. Nous avons observé les produits suivants : 19, 2 et 5. Les pics correspondants à 19 et 2 sont négligeables à côté de ceux de 5 (5a et 5b).

C/ EAU-ACIDE CHLORHYDRIQUE

Etude par HPLC. Les solutions employées sont de 10^{-3} g de 3 ($3,7 \cdot 10^{-3}$ mmol) par cm^3 de solvant. Les réactions ont été effectuées, à température ambiante (20°C).

Avec l'acide chlorhydrique normal on observe 3 produits 2, 3 et 5. L'évolution de la DO à 365 nm des pics correspondants à chacun de ces produits est représentée dans le tableau suivant.

Temps	2	5a	5b	3
20mn	$1,12 \times 10^{-2}$	6×10^{-2}	$9,9 \times 10^{-2}$	$13,1 \times 10^{-2}$
35mn	2,45 -	6,6 -	10,9 -	3,3 -
1h50	6,9 -	5,5 -	9,3 -	0 -
2h15	8,9 -	4,6 -	8,5 -	
3h15	11,4 -	3,7 -	7,6 -	
4h30	14,6 -	2,7 -	6,3 -	
4h45	15,7 -	1,4 -	5,9 -	
2 jours	18 -	0 -	4,4 -	

Avec l'acide chlorhydrique concentré : après 2h30 de réaction, on observe deux pics correspondant à 2 et 4. Après 72 h, il ne reste que 2.

RÉACTIONS AVEC LES NUCLÉOPHILES.

1. REACTIONS DANS LE CHLOROFORME.

Isolement des produits de réaction. Nous avons utilisé deux amines : l'exo, amino-2 norbornane et l'Acr-C₃-NH₂*. On dissout 3 (0,057 g, 0,22 mmol) et le nucléophile en excès (0,44 mmol : 0,048 g pour l'exo, amino-2 norbornane et 0,138 g pour l'Acr-C₃-NH₂) dans le chloroforme (10 cm³). On laisse les solutions 24h sous atmosphère inerte (azote) puis le solvant est évaporé sous vide et à 0°C. En ajoutant du méthanol au solide obtenu, on sépare une fraction insoluble qui est recueillie par filtration et séchée. Le filtrat est mis sur plaque préparative de silice (élution par le mélange : méthanol-ammoniaque 1 %). L'extraction des différents produits se fait par le méthanol. Le précipité et les différents produits séparés par chromatographie ont été analysés par spectrométrie de masse (voir tableau suivant).

* Acr-C₃-NH₂ : Abréviation utilisée pour la N-(amino-3 propyl-1)amino-9 chloro-6 méthoxy-2 acridine.

NUCLEOPHILE	ECHANTILLON	m/e observées
Exo, amino-2 norbornane $M^+ = 111$	<u>Précipité</u> <u>Filtrat</u> Fraction 1 Fraction 2 Fraction 3	312 153, 110 167 500
Acr-C ₃ -NH ₂ $M^+ = 315$	<u>Précipité</u> <u>Filtrat</u> Fraction 1 Fraction 2	341 359, 285, 271, 257, 243, 215, 200. 556, 285, 271, 257, 243, 215, 200, 144, 129.

Nous avons isolé et identifié par comparaison avec des produits de référence, les amides suivantes :

- Acr-C₃-NH-COCH₃ (0,061 g , 17 % de rendement).

F = 178°C.

IR (Nujol) : 1640 (C=O) cm⁻¹

SM : m/e = 359 (M⁺), 285, 271, 257, 243, 215, 200.

RMN (CD₃OD) $\delta = 7,2-8,3$ (m, 6H), 4,05, (s, 3H, OCH₃), 3,4-3,9 (2m, 4H), 2,05 (s, 3H, CO-CH₃), 1,9 (m).

- Exo, N-acetylamino-2 norbornane.

F = 140-141°C.

IR (Nujol) : 3280 (N-H), 1650 (C=O) cm⁻¹.

SM : m/e = 153 (M⁺), 110.

Etude cinétique par RMN. Le dérivé diacétylé 3 (0,02 g, $7,7 \times 10^{-2}$ mmol) est dissous dans le deutérochloroforme ($0,06 \text{ cm}^3$), on ajoute 10^{-2} cm^3 de nucléophile (amine ou thiol) à la solution. La réaction s'effectue dans la sonde stabilisée à $+30^\circ\text{C}$. Le tableau suivant donne les concentrations millimolaires de chaque nucléophile.

THIOLS	propane-thiol	β -mercaptoéthanol	thiophénol
	$11,2 \times 10^{-2}$ mmol	$19,2 \times 10^{-2}$ mmol	$9,7 \times 10^{-2}$ mmol
AMINES	amino-3 propanol-1	amino-3 propane	diamino-1,3
	$13,1 \times 10^{-2}$ mmol	$12,2 \times 10^{-2}$ mmol	$11,9 \times 10^{-2}$ mmol
	aniline		
	$10,9 \times 10^{-2}$ mmol		

2. REACTION DANS LE DIMETHYLSULFOXYDE : SYNTHÈSE DE 5

Nous avons employé les mêmes conditions que pour l'étude de RMN effectuée dans le chloroforme

Réactions avec les thiols. Avec le propane-thiol on n'observe aucune modification du spectre. Avec le thiopropanol ou le thiophénol, le spectre enregistré après 5 mn de réaction est le suivant :

$\delta(\text{DMSO } d_6) = 8,04$ (m, 1H, $C_5\text{-H}$), $7,1\text{-}7,7$ (m, 4H, Ar-H et $C_2\text{-H}$), $6,05$ (d, 1H, $J = 8 \text{ Hz}$, $C_3\text{-H}$), $2,16$ (s, 3H, CH_3).

$C_2\text{-H}$ apparaît sous forme d'un doublet centré à $7,60 \text{ ppm}$.

Les attributions des signaux ont été faites par comparaison avec le spectre de 5 décrit par KAWAZOE (28).

Réactions avec les amines. Le spectre du produit obtenu après 5 mn de réaction de 3 avec l' amino-3 propanol et le diamino-1,3 propane est le suivant :

δ (DMSO d_6) = 7,90 (m, 1H), 7-7,6 (m, 4H dont un doublet centré à 7,35, $J = 7,5$ Hz, C_2-H), 5,90 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, C_3-H), 2,15 (s, 3H, $COCH_3$).

RÉACTIVITÉ DE 4

1. ACETYLATION DE 4

Etude quantitative par HPLC. 4 (5×10^{-3} g, $1,96 \times 10^{-2}$ mmol) est solubilisée dans l'anhydride acétique (2 cm^3). Après 2h d'agitation, la solution est diluée par addition de 2 cm^2 de DMF. On injecte 1 μ l de solution, on observe un pic unique correspondant à 3, la DO à 254 nm est égale à 0,17. Nous avons comparé cette valeur à celle obtenue par injection de 1 μ l d'une solution témoin de 3 ($5,1 \times 10^{-3}$ g, $1,96 \times 10^{-2}$ mmol, dans 4 cm^3 de DMF). La DO du témoin est de 0,14.

Etude qualitative : Isolement du produit d'acétylation. 4 (60×10^{-3} g, 0,23 mmol) est mis en suspension dans l'anhydride acétique (5 cm^3) sous atmosphère d'azote. L'agitation magnétique est maintenue jusqu'à dissolution totale. La solution est ensuite versée dans de l'eau refroidie par un mélange glace-acétone, sous forte agitation. 3 précipite sous forme de poudre blanche. Les spectres de RMN et de spectrométrie de masse sont identiques à ceux d'un échantillon authentique de 3.

2. STABILITE DE 4

Analyse par HPLC. On injecte $0,5 \text{ cm}^3$ d'une solution méthanolique de 4 (10^{-3} g/cm^3) et on récupère le produit élué dans le méthanol pur.

Le produit est identifié par CCM (solvants : 1) acétate d'éthyle, 2) éther) et par absorption dans l'UV, par comparaison avec le produit nitrosé 20 authentique.

Décomposition spontanée. 4 est laissé en suspension dans une solution de chloroforme saturé en acide chlorhydrique gazeux pendant plusieurs jours (2 à 7 jours). Par HPLC, on identifie quatre produits par leur temps de rétention : 2, 19, 7 et 20. La solution est mise sur plaque préparative (migration dans le mélange chloroforme-acétate d'éthyle 1:1, v/v). On sépare les deux dérivés nitrosés 7 et 20 qui sont identifiés par comparaison avec des échantillons authentiques.

3. HYDROLYSE :

Etude par HPLC. Nous avons suivi l'hydrolyse de 4 en solution aqueuse à différents pH. Toutes les réactions ont été faites à 20°C . Les solutions utilisées sont de 10^{-3} g de 4 par cm^3 de solvant (solution $4 \times 10^{-3} \text{ M}$). Les solutions aux différents pH (0,1 à 12) sont préparées en additionnant une solution aqueuse de soude diluée à une solution d'acide chlorhydrique normale (pH contrôlé au pH-mètre). Les différents produits de réaction sont identifiés par leur temps de rétention et par le rapport R des DO à 254 et 365 nm. Les rendements sont déterminés par comparaison de la DO à 254 nm de chaque produit avec celle des solutions étalons suivantes :

Composé	Concentration 10^{-3} g/cm	DO ₂₅₄ *
<u>2</u>	0,25	0,22
<u>19</u>	0,53	0,28
<u>20</u>	1	0,48

* Volume de l'échantillon 1 μ l

Acide chlorhydrique concentré. On note l'apparition d'un pic unique correspondant à 2. La réaction est totale en 3 h : le rendement est estimé supérieur ou égal à 90 %.

$$0,2 \leq \text{pH} \leq 1.$$

Temps de demi-durée de vie : Nous avons déterminé le $\tau^{1/2}$ en traçant la courbe de variation de la DO à 254 nm de 4 en fonction du temps.

t (mn)	0	3	20	40
DO ₂₅₄	0,38	0,32	0,04	0

Evolution de la composition du mélange réactionnel en fonction du pH : on identifie trois produits de réaction 2, 19 et 20. Pour les pH compris entre 0,2 et 1 les solutions sont analysées après 40 mn de réaction.

pH \ %	0,2	0,5	0,7	1
<u>2</u>	13	4	2	0
<u>19</u>	49	49	50	50

2 ≤ pH ≤ 12.

- L'analyse du mélange réactionnel est faite après 5 mn de réaction. On identifie deux produits de décomposition : 19 et 20. Le pourcentage de chaque produit a été calculé à pH 7 : 19 : 30 %, 20 : 52 %.

- Analyse du précipité formé par spectrométrie de masse :

SM (temp. # 250°C) : m/e (intensité relative) = 174 (0,1), 158 (81),
144 (4), 128 (100), 101 (77).

SM (temp. 270°C < T < 470°C) : m/e (intensité relative) = 316 (2);
300 (10), 284 (12), 282 (12), 144 (100), 129 (25),
128 (25), 118 (49).

pH > 12. Il se forme un précipité dès l'addition de la soude normale. Nous avons étudié sa composition par spectrométrie de masse.

SM : m/e (intensité relative) = 300 (35), 284 (22), 282 (39), 271 (33),
149 (34), 144 (28), 142 (40), 141 (33), 128 (100), 115 (23).

RÉACTIVITÉ DE 5

1. SYNTHÈSE - STRUCTURE.

Préparation par solvolysse partielle de 3.

Cf. p. 136.

Préparation par oxydation de l'acétoxyamino-4-quinoléine 13 : Obtention de la nitroso-4 quinoléine 20.

On dissout 9 (0,3 g, 1,48 mmol) dans du chlorure de méthylène (75 cm³) dégazé et saturé en azote. La réaction est effectuée à 0°C. On additionne un excès d'acide métachloroperbenzoïque (0,37 g, 2,1 mmol) en trois fractions égales, à des intervalles de temps d'environ 20 mn. Après 2 h d'agitation, le mélange refroidi à -20°C, est lavé par une solution aqueuse de bicarbonate de sodium (0,18 g, 2,2 mmol dans 50 cm³ d'eau). La phase organique est séchée (sur tamis 4Å) puis évaporée sous vide. La poudre obtenue est placée sur colonne de silice. Un produit est élué par l'éther. Il cristallise dans ce solvant à basse température -20°C (rendement 41 %).

UV max (CH₂Cl₂) : 250-360 nm.

SM : m/e = 158 (M⁺), 144, 128, 116, 101.

RMN (CDCl₃) : δ = 9,7 (m, 1H), 9,11 (d, 1H, J = 4,4 Hz, C₂-H),
7,5-8,5 (m, 3H, ArH), 6,1 (d, 1H, J = 4,4 Hz, C₃-H).

Détermination de la structure de 5 : Acétylation quantitative de 5 analysée par HPLC.

5 est préparé par action du dithiothreitol (8x10⁻³ g, 5,1x10⁻² mmol) sur 3 (10⁻² g, 3,8x10⁻² mmol) dans le DMSO (1 cm³).

Quand la réaction est totale (disparition du pic correspondant à 3 sur le profil d'HPLC), on ajoute 1 cm³ d'anhydride acétique et on injecte 1µl de solution sur la colonne. Le pic unique observé a les mêmes caractéristiques que 3 (temps de rétention, rapport R des DO).

Pour confirmer le caractère quantitatif de la réaction, nous avons comparé la DO à 254 nm du produit d'acétylation de 5 avec celle d'une solution témoin de 3 (10⁻² g,

$3,8 \times 10^{-2}$ mmol dans 1 cm^3 de DMSO).

Acétylation : $DO_{254} = 1,3$

Témoin : $DO_{254} = 1,4$

Le rendement de la réaction est d'environ 93 %.

2. REACTIVITE.

Hydrolyse acide.

On ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique normal au mélange réactionnel contenant 5. La solution est ensuite laissée 4h à température ambiante.

Hydrolyse basique.

On additionne une goutte de soude normale, la solution devient instantanément verte. On neutralise immédiatement par l'acide chlorhydrique normal pour éviter toute décomposition ultérieure des produits de réaction.

Dans les deux cas on observe un seul produit d'hydrolyse dont les caractéristiques correspondent à celles de 2.

Réaction avec les nucléophiles.

- Vitesse de décomposition.

5 est préparé selon le mode opératoire décrit p.136. Les concentrations sont de l'ordre de 10^{-1} M pour l'étude par RMN et de $4 \times 10^{-3} \text{ M}$ pour l'étude par HPLC.

Par RMN, nous avons suivi la disparition du signal correspondant au groupement acétate de 5.

Par HPLC, nous observons la disparition des pics caractéristiques de 5.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant :

Nucléophile	Etude par RMN	Etude par HPLC
Thiophénol	60 mn	24 h
β -mercapto-éthanol	6 h	-
Dithiothreitol	6 h	72 h
Hydroxy-3 propyl-mercaptan	-	72 h

- Vitesse de réaction : Etude par HPLC.

Après 72 h de réaction de 5 avec le dithiothreitol, on injecte 4 μ l de solution. On note la formation de 5 produits que nous n'avons ni séparés ni identifiés.

RÉACTIVITÉ DES COMPOSÉS MODÈLES : 11, 13 ET 38

1. HYDROLYSE.

Chaque composé (5×10^{-3} g) est dissous dans environ 1 cm³ de solvant. Les réactions sont suivies par CCM (élution par le mélange chloroforme-éthanol 1:1, v/v).

Les solutions utilisées sont :

- a) acide chlorhydrique normal,
- b) soude normale.

- L'acétate d'oxime 13 s'hydrolyse dans les deux milieux (acide ou basique) en oxime 19.
- L'acétate 11 s'hydrolyse dans les mêmes conditions en oxime 37.
- Le méthane-sulfonate d'oxime 38, est stable en milieu basique ; il s'hydrolyse en un produit très polaire non identifié en milieu acide (dans le méthanol Rf = 0,2).

2. METHANOLYSE.

Réaction des esters acétiques 11 et 13.

Les réactions ont été effectuées à température ambiante. Nous avons analysés les produits de réactions par CCM (élution par l'acétate d'éthyle).

Les réactions sont très lentes (plusieurs jours à 20°C). Dans les deux cas les produits identifiés sont les oximes correspondantes 8 et 14.

Méthanolyse de l'ester sulfonique 38.

38 (0,06 g, 0,2 mmol) est dissous dans le méthanol (15 cm³) séché sur tamis et dégazé.

Le mélange mis dans une bombe métallique est chauffé pendant 24 h à 100°C.

On évapore le solvant sous vide puis l'huile obtenue est triturée dans le chloroforme. Il se forme un précipité blanc qui est filtré et séché.

Analysé par HPLC ce nouveau composé 39 donne un pic unique : temps de rétention : 7 mn 10, qui absorbe uniquement à 254 nm.

F = 197-199°C.

UV max (HClN) : 216, 230, 239, 330, 342 nm.

(tampon phosphate pH 7) :

216, 230, 239, 330, 342 nm.

(NaOH N) : Diminution des pics à 230 et 330 et apparition d'un pic à 360 nm.

RMN (DMSO d_6) : δ = 8,98 (s, 2H échangeables), 8,46 (d, 2H), 7,6-8 (m, 3H), 6,75 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, C_3 -H), 4,05 (s, 3H, N_1 - \underline{CH}_3), 2,27 (s, 3H).

-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

- BIBLIOGRAPHIE -

1. J.A. MILLER, *Cancer Research*, (1970), 30, 559.
2. P.L. GROVER, A. HEWER, P. SIMS, *FEBS Letters*, (1971), 18, 76.
3. P. SIMS, P.L. GROVER, A. SWAISLAND, K. PAL, A. HEWER, *Nature*, (1974), 252, 326.
4. P.B. HULBERT, *Nature*, (1975), 256, 146.
5. I.B. WEINSTEIN, A.M. JEFFREY, K.W. JENNETTE, S.H. BLOBSTEIN, R.G. HARVEY, C. HARRIS, H. AUTRUP, H. KASAI, K. NAKANISHI, *Science*, (1976), 193, 592.
6. H.W.S. KING, M.R. OSBORNE, F.A. BELAND, R.G. HARVEY, P. BROOKES, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, (1976), 73, 2679.
7. W.M. BAIRD, L. DIAMOND, *Biochem. Biophys. Research Comm.*, (1977), 77, 162.
8. J.W. CRAMER, J.A. MILLER, E.C. MILLER, *J. Biol. Chem.*, (1960), 235, 885.
9. E.C. MILLER, P.D. LOTLIKAR, J.A. MILLER, B.W. BUTLER, C.C. IRVING, J.T. HILL., *Mol. Pharmacol.*, (1968), 4, 147.
10. C.M. KING, B. PHILLIPS, *Science*, (1968), 159, 1351.
11. J.R. DE BAUN, E.C. MILLER, J.A. MILLER, *Cancer Research*, (1970), 30, 577.
12. H. BARTSCH, M. TRAUT, E. HECKER, *Biochim. Biophys. Acta*, (1971), 237, 556.
13. F.A. BELAND, W.T. ALLABEN, F.E. EVANS, *Cancer Research*, (1980), 40, 834.
14. E. KRIEK, J.G. WESTRA : "Chemical Carcinogens and DNA", (P.L. GROVER Ed.), CRC Press, (1979), Vol II, p. 1.
15. E. KRIEK : "Environmental Carcinogenesis" (P. EMMELOT, E. KRIEK Eds) Elsevier/North Holland Biomedical Press, (1979), p. 143.

16. N.J.M. BIRDSALL, U. WOLCKE, T.C. LEE, G.B. BROWN, *Tetrahedron* (1971), 27, 5969.
17. D.S.R. SARMA, S. RAJALAKSHMI, E. FARBER "Cancer 1 : A comprehensive Treatise", (F. BECKER Ed.), Plenum Press, (1975), 1, p. 235.
18. P.D. LAWLEY : " Chemical Carcinogens", ACS Monograph 173, (C. SEARLE Ed.), American Chemical Society Washington D.C., (1976), p. 83.
19. D.E. HATHWAY, G.F. KOLAR, *Chem. Rev.*, (1980), 9, 241.
20. W. NAKAHARA, F. FUKUOKA, T. SUGIMURA, *Gann.*, (1957), 48, 129.
21. T. OKABAYASHI, A. YOSHIMOTO, *Chem. and Pharm. Bull. (Japan)*, (1962), 10, 1221.
22. T. SUGIMURA, K. OKABE, M. NAGAO, *Cancer Research* (1966), 26, 1717.
23. Y. KAWAZOE, M. ARAKI, *Gann* (1967), 58, 485.
24. M. ENOMOTO, K. SATO, E.C. MILLER, J.A. MILLER, *Life Science*, (1968), 7, 1025.
25. S. GALIEGUE, B. BAILLEUL, M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, *European, J. Cancer*, (1980), 16, 1283.
26. S. GALIEGUE, G. LECOCQ, M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, *Biochim. Biophys. Acta* (1980), 609, 383.
27. B. BAILLEUL, S. GALIEGUE, M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, *Cancer Research*, (1981), sous presse.
28. Y. KAWAZOE, O. OGAWA, *Tetrahedron*, (1980), 36, 2933.
29. Y. KAWAZOE : "Carcinogenesis : a comprehensive Survey", (T. SUGIMURA Ed.), Raven Press, (1981), Vol 6, p. 1.
30. M. TADA, M. TADA, *Nature*, (1975), 255, 510.
31. K. TAKAHASHI, Y. KAWAZOE, M. TADA, M. TADA, N. ITO, M. OKADA, *Gann*, (1978), 69, 499.
32. R.A. ABRAMOVITCH, E.M. SMITH, *J. Heterocyclic Chem.*, (1975), 12, 969.

33. M. TADA, M. TADA, *Chem. Biol. Interact.*, (1971), 3, 225.
34. M. TADA, M. TADA, *Biochim. Biophys. Acta*, (1976), 454, 558.
35. Y. KAWAZOE, M. ARAKI, G.F. HUANG, T. OKAMOTO, M. TADA, M. TADA, *Chem. and Pharm. Bull.*, (Japan), (1975), 23, 3041.
36. M. ARAKI, Y. KAWAZOE, C. NAGATA, *Chem. and Pharm. Bull. (Japan)*, (1969), 17, 1344.
37. E. OCHIAI, H. MITARASHI, *Ann. Report ITSUU Lab.*, (1963), 13, 19.
38. N.J.M. BIRDSALL, T.C. LEE, U. WOLCKE, *Tetrahedron* (1971), 27, 5961.
39. S. GALIEGUE, *Thèse de 3e Cycle*, Lille (1978).
40. B. BAILLEUL, *Thèse de 3e Cycle*, Lille (1979).
41. B. BAILLEUL, S. GALIEGUE, M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, M. DEMEUNYNCK, M.F. LHOMME, J. LHOMME, soumis à publication.
42. Y. KAWAZOE, M. ARAKI, *Chem. and Pharm. Bull. (Japan)*, (1971), 19, 1278.
43. T. KOSUGE, M. YOKOTA, *Yakugaku Zasshi*, (1965), 85, 69.
44. T. KOSUGE, H. ZENDA, M. YOKOTA, H. SAWANISHI, Y. SUZUKI, *Chem. and Pharm. Bull. (Japan)*, (1969), 17, 2181.
45. T. KOSUGE, H. ZENDA, H. SAWANISHI, *Chem. and Pharm. Bull.*, (Japan), (1969), 17, 2389.
46. A. MATSUYAMA, C. NAGATA, *Proceeding of the International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Res. Fund.*, (1972), p. 35.
47. A. DARCHEN, C. MOINET, *Bull. Soc. Chim. France*, (1976), 812.
48. M. NAGAO, T. SUGIMURA, *Adv. Cancer Research*, (1976), 23, 132.
49. J.P. FREEMAN, *J. Am. Chem. Soc.*, (1958), 80, 5954.
50. E. OCHIAI, A. OHTA, H. NOMURA, *Chem. and Pharm. Bull.*, (Japan), (1957), 5, 310.
51. P.A.S. SMITH : " The Chemistry of Open-Chain Nitrogen Compounds" W.A. Benjamin Inc. New-York, Amsterdam (1966), Vol II, p.31.

52. J. MARCH, "Advanced Organic Chemistry : Reactions, Mechanisms and Structures" 2nd edition, Mc. Graw-Hill (1977), p. 581.
53. N.J.M. BIRDSALL, J.C. PARHAM, U. WOLCKE, G.B. BROWN, *Tetrahedron*, (1972), 28, 3.
54. M.A. TEMPLETON, J.C. PARHAM, *J. Org. Chem.*, (1978), 43, 544.
55. J.C. PARHAM, M.A. TEMPLETON, M.N. TELLER, *J. Org. Chem.*, (1978), 43, 2325.
56. J.C. PARHAM, M.A. TEMPLETON, *Tetrahedron*, (1980), 36, 709.
57. Y. HASHIMOTO, T. OHTA, K. SHUDO, T. OKAMOTO, *Tetrahedron Letters*, (1979), 18, 1611.
58. P.G. GASSMAN, *Accounts Chem. Research*, (1970), 3, 26.
59. P.G. GASSMAN, G.D. HARTMAN, *J. Am. Chem. Soc.*, (1973), 95, 449.
60. L.W. DEADY, *Synthetic Comm.*, (1977), 7, 509.
61. S.R. SANDLER, W. KARO, "Organic Chemistry : Organic Functional Group Preparations" (A.T. BLOMQUIST Ed.) Academic Press N.Y. London, (1971), Vol. 12 II, p. 415.
62. D.F. BUSHEY, F.C. HOOVER, *J. Org. Chem.*, (1980), 45, 4198.
63. N. TOHME, *mémoire de DEA*, Lille (1981).
64. M. HAMANA, K. FUNAKOSHI, *K. Yakugaku Zasshi*, (1964), 84, 42.
65. Y. KAWAZOE, O. OGAWA, *Heterocycles* (1980), 14, 1093.
66. O. OGAWA, Y. KAWAZOE, H. SAWANISHI, *Chem. and Pharm. Bull.* (Japan), (1980), 28, 3029.
67. D. BARTON, W.D. OLLIS, "Comprehensive Organic Chemistry" Pergamon Press, (1979), Vol 2, p. 197.
68. H.O. HOUSE, D.T. MANNING, D.G. MELILLO, L.F. LEE, O.R. HAYNES, B.E. WILKES, *J. Org. Chem.*, (1976), 41, 855.
69. W.P. JENCKS, *J. Am. Chem. Soc.*, (1958), 80, 4581.
70. J.P. FLEURY, *Communication Personnelle*.

71. M. FIESER, R.L. DANHEISER, W. ROUSH, "Reagents for Organic Synthesis" (FIESER-FIESER Eds) J. Wiley and Sons, (1969), Vol 2, p. 363.
72. K. SATO, T. SAITO, M. ENOMOTO, Japan, J. Exp. Med., (1970), 40, 475.
73. H. SAWANISHI, Y. KAMIYA, Yakugaku Zasshi, (1976), 96, 725.
74. P.T. LANSBURY, J.G. COLSON, N.R. MANCUSO, J. Am. Chem. Soc., (1964), 86, 5225.
75. N. TOHME, M.F. LHOMME, Communication personnelle.
76. A.R. KATRITZKY, J.M. LAGOWSKI, "Chemistry of the Heterocyclic N-oxides" (A.T. BLOMQUIST Ed.), Academic Press, London, NY, (1971), p. 231.
77. D. BARTON, W.D. OLLIS, "Comprehensive Organic Chemistry", (P.G. SAMMES Ed.), Pergamon Press, (1979), Vol 4, p. 453.

-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

