

50376
1983
145

THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE TROISIEME CYCLE

par

Najat TOHME

**MODE D'ACTION DE SUBSTANCES CANCEROGENES :
SYNTHESE ET REACTIVITE DE METABOLITES
DU N-OXYDE DE NITRO-4 QUINOLEINE (4-NQO)**



Soutenue le 30 Novembre 1983 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury :	MMrs	R.	CARRIE	Président
		J.	LHOMME	Rapporteur
		B.	ANCIAN	Examineur
	MMes	M.H.	LOUCHEUX	Examineur
		M.F.	LHOMME	Examineur

DOYENS HONORAIRES DE L'ANCIENNE FACULTE DES SCIENCES

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

PROFESSEURS HONORAIRES DES ANCIENNES FACULTES 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, M. MIGEON.

PRESIDENT DE L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE LILLE

M. J. CORTOIS.

PROFESSEURS - CLASSE EXCEPTIONNELLE

M. CONSTANT Eugène	Electronique
M. FOURET René	Physique du Solide
M. GABILLARD Robert	Electronique
M. MONTREUIL Jean	Biochimie
M. PARREAU Michel	Analyse
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. BEUFILS Jean Pierre	Chimie physique
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BILLARD Jean	Physique du solide
M. BOILLY Bénoni	Biologie

M. BOUGHON Pierre	Algèbre
M. BOURIQUET Robert	Biologie végétale
M. BREZINSKI Claude	Analyse numérique
M. CELET Paul	Géologie générale
M. CHAMLEY Hervé	Géotechnique
M. COEURE Gérard	Analyse
M. CORDONNIER Vincent	Informatique
M. DEBOURSE Jean-Pierre	Gestion des entreprises
M. DYMENT Arthur	Mécanique
M. ESCAIG Bertrand	Physique du solide
M. FAURE Robert	Mécanique
M. FOCT Jacques	Métallurgie
M. GRANELLE Jean-Jacques	Sciences économiques
M. GRUSON Laurent	Algèbre
M. GUILLAUME Jean	Microbiologie
M. HECTOR Joseph	Géométrie
M. LABLACHE COMBIER Alain	Chimie organique
M. LACOSTE Louis	Biologie végétale
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 économiques
M. PAQUET Jacques	Géologie générale
M. POUZET Pierre	Analyse numérique
M. PROUVOST Jean	Minéralogie
M. ROUSSEAU Jean-Paul	Physiologie animale
M. SALMER Georges	Electronique
M. SEGUIER Guy	Electrotechnique
M. STANKIEWICZ François	Sciences économiques
M. TILLIEU Jacques	Physique théorique
M. VIDAL Pierre	Automatique
M. ZEYTOUNIAN Radyadour	Mécanique

PROFESSEURS - 2ème classe

M. AL FAKIR Sabah	Algèbre
M. ALLAMANDO Etienne	Electronique et électrotechnique
M. ANCIAN Bernard	Spectrochimie
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. BERZIN Robert	Analyse
M. BKOUCHE Rudolphe	Algèbre
M. BODARD Marcel	Biologie végétale
M. BOIVIN Jean-Claude	Chimie minérale
M. BONNELLE Jean-Pierre	Catalyse
M. BOSCO Denis	Probabilités
M. BOUQUELET Stéphane	Biochimie structurale
M. BRASSELET Jean-Paul	Géométrie et topologie

.../...

M. BRIDOUX Michel	Chimie physique
M. BRUYELLE Pierre	Géographie
M. CAPURON Alfred	Biologie animale
M. CARREZ Christian	Informatique
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. DAUCHET Max	Informatique
M. DEBRABANT Pierre	Géologie appliquée
M. DEGAUQUE Pierre	Electronique
M. DELORME Pierre	Physiologie animale
M. DE MASSON D'AUTUME Antoine	Sciences économiques
M. DEMUNTER Paul	Sociologie
M. DENEL JACQUES	Informatique
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 économiques
M. DOUKHAN Jean-Claude	Physique du solide
M. DUBOIS Henri	Spectroscopie hertzienne
M. DUBRULLE Alain	Spectroscopie hertzienne
M. DUBUS Jean-Paul	Spectrométrie des solides
M. DUPONT Christophe	Vie de la firme (I.P.A.)
Mme EVRARD Micheline	Chimie appliquée
M. FONTAINE Hubert	Dynamique des cristaux
M. FOUQUART Yves	Optique atmosphérique
M. FOURNET Bernard	Biochimie structurale
M. FRONTIER Serge	Ecologie numérique
M. GAMBLIN André	Géographie urbaine, industrielle et démographie
M. GLORIEUX Pierre	Physique moléculaire et rayonnements atmosphériques
M. GOBLOT Rémi	Algèbre
M. GOSSELIN Gabriel	Sociologie
M. GOUDMAND Pierre	Chimie Physique
M. GREMY Jean-Paul	Sociologie
M. GREVET Patrick	Sciences économiques
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. JEAN Raymond	Biologie des populations végétales
M. JOFFRE Patrick	Vie de la firme (I.P.A.)
M. JOURNEL Gérard	Spectroscopie hertzienne
M. KREMBEL Jean	Biochimie
M. LANGRAND Claude	Probabilités et statistiques

Mme LECLERCQ Ginette	Catalyse
M. LEFEVRE Christian	Pétrologie
Mlle LEGRAND Denise	Algèbre
Mlle LEGRAND Solange	Algèbre
Mme LEHMANN Josiane	Analyse
M. LEMAIRE Jean	Spectroscopie hertzienne
M. LE MAROIS Henri	Vie de la firme (I.P.A.)
M. LEROY Jean Marie	Chimie appliquée
M. LEROY Yves	Electronique, électrotechnique, automatique
M. LESENNE Jacques	Electrotechnique
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. MESMACQUE Gérard	Génie mécanique
M. MESSELYN Jean	Physique atomique et moléculaire
M. MESSERLIN Patrick	Sciences économiques
M. MIGNOT Fulbert	Analyse numérique
M. MONTEL Marc	Physique du solide
M. MONTUELLE Bernard	Biologie et biochimie appliquées
Mme MOUNIER Yvonne	Physiologie des structures contractiles
Mme N'GUYEN VAN CHI Régine	Géographie
M. NICOLE Jacques	Chimie analytique
M. NOTELET Francis	Electronique, électrotechnique, automatique
M. PARSY Fernand	Mécanique
M. PASZKOWSKI Stéphan	Analyse numérique
Mlle PAUPARDIN Colette	Biologie physiologie végétales
M. PECQUE Marcel	Chimie organique
M. PERROT 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. POYV 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. ROY Jean-Claude	Psychophysiologie
M. SCHAMPS Joël	Spectroscopie moléculaire
Mme SCHWARZBACH Yvette	Géométrie
M. SIMON Michel	Sociologie
M. SLIWA Henri	Chimie organique
M. SOMME Jean	Géographie
Mlle SPIK Geneviève	Biochimie
M. STERBOUL François	Informatique
M. TAILLIEZ Roger	Génie alimentaire
M. THERY Pierre	Electronique, électrotechnique, automatique
M. TOULOTTE Jean-Marc	Automatique
M. TURREL Georges	Spectrochimie infrarouge et Raman
M. VANDORPE Bernard	Chimie minérale
M. VAST Pierre	Chimie inorganique
M. VERBERT André	Biochimie
M. VERNET Philippe	Génétique
M. VILETTE Michel	Résistance des matériaux

M. WALLART Francis	Spectrochimie infrarouge et Raman
M. WARTEL Michel	Chimie inorganique
M. WATERLOT Michel	Géologie générale
M. WERNER Georges	Informatique fondamentale appliquée
M. WOSNIAK Michel	Hydrométallurgie
Mme ZINN Justin Nicole	Algèbre

A mes parents,

pour tous les sacrifices qu'ils ont fait pour moi.

Ce travail a été réalisé au 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 m'avoir accueillie dans son laboratoire durant ces trois dernières années et m'avoir donné l'occasion de vivre une expérience riche en enseignements sur les plans scientifique et humain.

J'exprime ma reconnaissance à Mme M.F. LHOMME qui a guidé mes premiers pas dans ce travail de recherche et qui m'a constamment suivie, aidée et conseillée.

Je remercie Melle M. DEMEUNYNCK pour sa collaboration fructueuse et pour m'avoir si souvent accueillie dans sa famille.

J'exprime mes vifs remerciements à Mrs R. CARRIE, B. ANCIAN et à Mme M.H. LEFEBVRE-LOUCHEUX qui ont accepté de constituer le jury de cette thèse.

Je tiens également à remercier Mr. B.P. ROQUES qui nous a rendu un grand service en réalisant les études de nos produits par RMN du proton à 270 MHz dans son laboratoire.

Je tiens à remercier particulièrement Mr. le Professeur R. CARRIE et les personnes de son laboratoire qui se sont chargés de la prise des spectres de masse de haute résolution de nos produits et ont participé à leurs interprétations.

Je remercie mes camarades de laboratoire qui ont su par leur gentillesse me faire oublier que j'étais loin de mon pays et de ma famille.

Je tiens également à remercier tous ceux qui ont permis la réalisation de ce mémoire.

Mrs B. MOUCHEL et P. WATKIN du service de RMN.

Mr G. RICART responsable du spectromètre de masse.

Mme J. RICART qui a réalisé avec beaucoup de mérite la dactylographie de ce mémoire.

Mme L. SAINLEGER qui en a réalisé l'impression.

Mme R. DRUON et Mr. F. DUPLATEAU pour tous les services rendus durant ces trois ans et aussi pour leur participation avec beaucoup de gentillesse à la réalisation de ce manuscrit.

SOMMAIRE

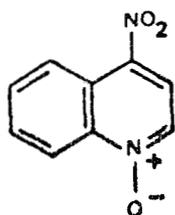
INTRODUCTION.....	1
PARTIE THEORIQUE.....	25
CHAPITRE I : SYNTHESES.....	26
CHAPITRE II : REACTIVITE AVEC LES NUCLEOPHILES.....	32
A. REACTIVITE AVEC LES ALCOOLS	33
1. REACTION DU DIACETATE <u>3</u> AVEC LE METHANOL	33
N-oxyde de l' amino-4 méthoxy-3 quinoléine <u>57</u>	34
Réaction du monoacétate <u>4</u> avec le méthanol.....	39
2. REACTION DU DIACETATE <u>3</u> AVEC L'ETHANOL.....	40
L'acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine <u>58</u>	40
3. REACTION DU DIACETATE <u>3</u> AVEC LE TRIFLUOROETHANOL.....	44
Nitroso-4 quinoléine <u>6</u>	45
Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine <u>58</u>	46
Azo ou azoxydiquinoléines <u>51b</u>	47
B. REACTIVITE AVEC LES INDOLES.....	49
1. REACTION DU DIACETATE <u>3</u> AVEC LE METHYL-2 INDOLE <u>61</u>	49
N-oxyde de l' amino-4(méthyl-2 indolyl)-3 quinoléine <u>62</u>	51
Réaction du monoacétate avec le méthyl-2 indole <u>61</u>	54
2. REACTION DU DIACETATE AVEC LE METHOXY-5 METHYL-2	
INDOLE <u>63</u>	55
N-oxyde de l' amino-4 (méthoxy-5 méthyl-2 indolyl)-3	
quinoléine <u>64</u>	56

C.REACTIVITE AVEC LES BASES ET LES NUCLEOSIDES	59
1. REACTION DU DIACETATE <u>3</u> AVEC LA PROPYL-9 ADENINE <u>65</u>	60
Amino-12 quinolino[2',3' : 5,4], imidazo [1,2-i] propyl-3 purine <u>66</u>	61
Deuteriation de la propyl-9 adénine <u>65</u> et réaction avec le diacétate <u>3</u>	65
Acétylamino-12 propyl-3 quinolino[2',3' : 5,4]imidazo [1,2-i] purine <u>67</u>	66
-Réaction du dérivé monoacétylé <u>4</u> avec la propyl-9 adénine <u>65</u>	67
-Réaction de la nitroso-4 quinoléine <u>6</u> avec la propyl-9 adénine <u>65</u>	67
2. REACTION DU DIACETATE <u>3</u> AVEC L'ADENOSINE <u>69</u>	68
Amino-12 ribofuranosyl-3 quinolino[2',3' : 5,4]imidazo [1,2-i] purine <u>70</u>	70
3. REACTION DU DIACETATE <u>3</u> AVEC L'AMINO-2 PYRIDINE <u>71</u>	73
N-oxyde de l'amino-4 (amino-2 pyridinyl)-3 quinoléine <u>72</u> .	74
Amino-12 quinolino[2',3' : 5,4]imidazo [1,2-a] pyridine <u>75</u>	79
Azoxydiquinoléines <u>51c</u>	80
CONCLUSION	83
PARTIE EXPERIMENTALE.....	93
BIBLIOGRAPHIE	118

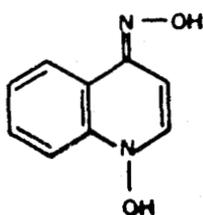
I N T R O D U C T I O N

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

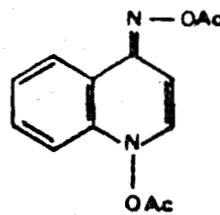
Le but de notre travail est l'étude d'un cancérogène, le N-oxyde de nitro-4 quinoléine 1. Nous avons mis au point les conditions d'obtention et examiné la réactivité de certains de ses métabolites et/ou dérivés : le N-oxyde de l'hydroxyamino-4 quinoléine 2 ; l'acétoxy-1 acétoxy-imino-4 dihydro-1,4 quinoléine (diacétate 3) ; l'hydroxy-1 acétoxyimino-4 dihydro-1,4 quinoléine (monoacétate 4) ; le chlorhydrate de l'acétoxy-1 hydroxyimino-4 dihydro-1,4 quinoléine (monoacétate 5) ; la nitroso-4 quinoléine 6 ; le N-oxyde de l'amino-4 quinoléine 7, l'amino-4 quinoléine 8 ; le N-oxyde de nitroso-4 quinoléine 9.



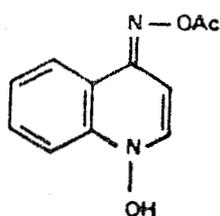
4-NQO 1



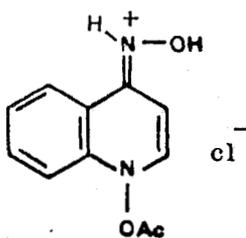
4-NHOH 2



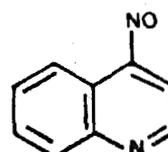
Diacétate 3



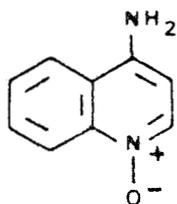
Monoacétate 4



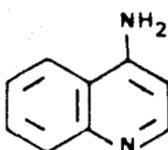
Monoacétate 5, HCl



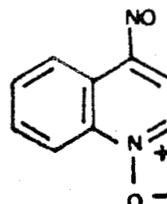
4-HAQO 6



4-AQO 7



4-AQ 8



4-HAQO 9

Pour mieux situer le problème nous essayerons dans un premier temps de faire le point sur la cancérogénèse chimique, les principales classes

de cancérogènes et les différents types "d'adduits".

Nous nous intéresserons principalement aux amines aromatiques et à leurs dérivés, le 4-NQO 1 pouvant être rattaché à ce type de cancérogènes.

Nous poursuivrons en mentionnant une classe particulière de réactions qui conduisent à la formation d' "éthéno-nucléosides" ou d' "éthéno-bases" puisque comme nous le verrons dans le chapitre II (p.60 et suivante) nous avons isolé des "adduits" de ce type.

Enfin nous nous attarderons sur le 4-NQO 1 lui-même et sa réactivité.

On estime actuellement que 60 % à 90 % des cancers humains sont liés à des facteurs de l'environnement, et parmi ceux-ci les substances chimiques jouent probablement un rôle déterminant. Elles se fixent en effet de façon covalente sur les macromolécules cellulaires et en particulier sur les acides nucléiques, ADN et ARN et perturbent ainsi tout le métabolisme de la cellule.

En règle générale les cancérogènes chimiques sont transformés "in vivo" par les systèmes enzymatiques en métabolites ultimes, extrêmement réactifs, de nature électrophile et susceptibles de réagir avec les sites nucléophiles des bases puriques (adénine et guanine) ou pyrimidiques (thymine et cytosine), constituants principaux des acides nucléiques (1).

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

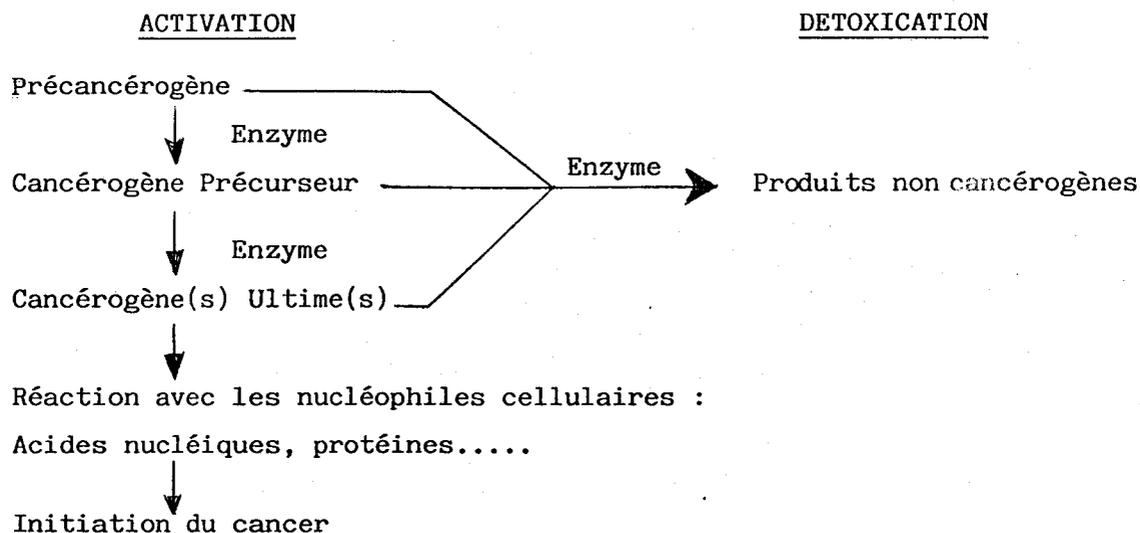


Schéma 1 : Métabolisme des substances cancérogènes.

On considère que l'on peut classer l'ensemble des cancérogènes en 2 grands groupes.

- Ceux qui agissent sans activation préalable comme les agents alkylants....
- Ceux qui nécessitent une activation métabolique : amines aromatiques, hydrocarbures polycycliques, aflatoxines....

Nous allons mentionner quelques grandes classes de cancérogènes.

A. LES AGENTS ALKYLANTS :

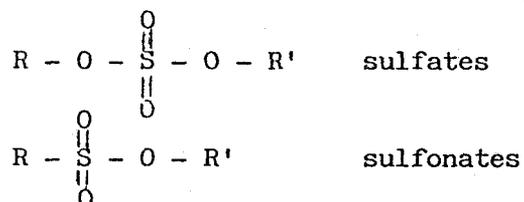
Ils représentent un large groupe. On y rencontre les sulfonates, les époxydes, les moutardes (soufrées ou azotées), certaines lactones, nitrosamines et nitrosamides...

Tous les oxygènes et les azotes des polynucléotides peuvent être alkylés en solution aqueuse et à pH physiologique.

Un alkylant bifonctionnel peut conduire à la formation de ponts entre deux nucléotides proches, sur le même brin ou entre deux brins de l'ADN.

1. LES SULFATES ET SULFONATES D'ALKYLE :

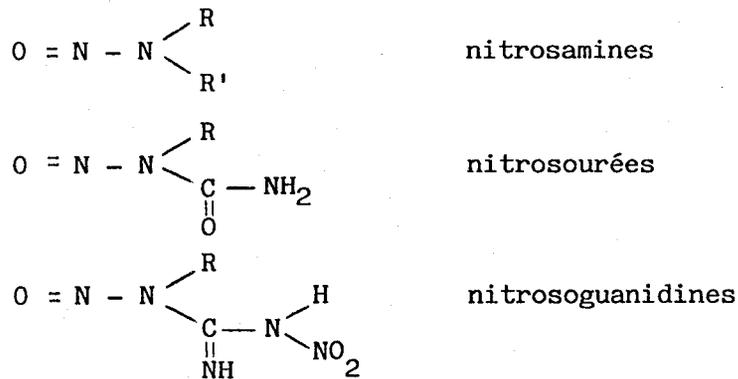
Ce sont des composés à faible activité mutagène ; ils réagissent directement sur les bases, sans activation métabolique et se fixent essentiellement sur les atomes d'azote : ils sont de type :



2. LES DERIVES N-NITROSES :

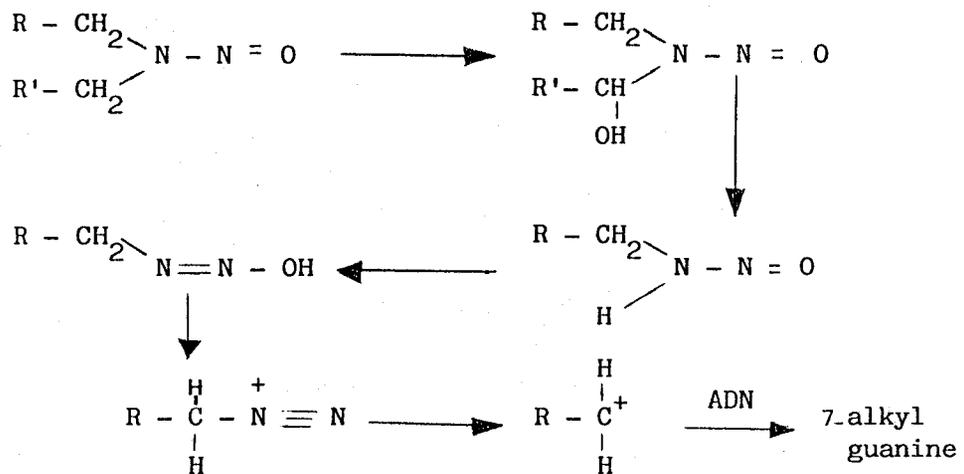
Ce sont des cancérogènes plus puissants que les précédents. Ils se fixent essentiellement sur les oxygènes des bases nucléiques.

Ce sont des composés de type :



Il ne semble pas que l'homme soit très exposé à ces composés (rares dans son environnement) ; cependant il a été prouvé que certaines amines présentes dans l'alimentation peuvent se transformer dans le tube digestif en nitrosamines.

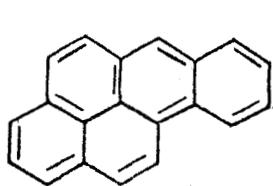
Ce sont des mutagènes qui ont besoin d'une activation métabolique avant de pouvoir réagir : l'espèce alkylante est probablement un carbocation (2).



B. LES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES (HAP) :

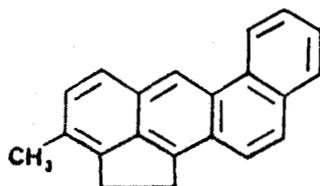
Ils constituent une classe de composés qui a fait l'objet de travaux intenses, certains ont été isolés du pétrole, goudron, suie, fumée de tabac, et même des aliments fumés. Ils induisent de nombreuses tumeurs

expérimentales. Chez l'homme l'apparition de cancers bronchiques est due dans la majorité des cas à la cigarette. On ne connaît pas le composé chimique directement responsable, il s'agirait d'un mélange d'HAP.



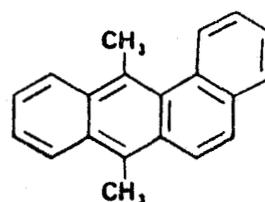
benzopyrène

10



méthyl-3 cholentrène

11



diméthyl 7,12 benzantracène

12

L'activation métabolique du benzo|a|pyrène 10 s'effectue en deux étapes (schéma 2). La première est une époxydation (3) 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 (4).

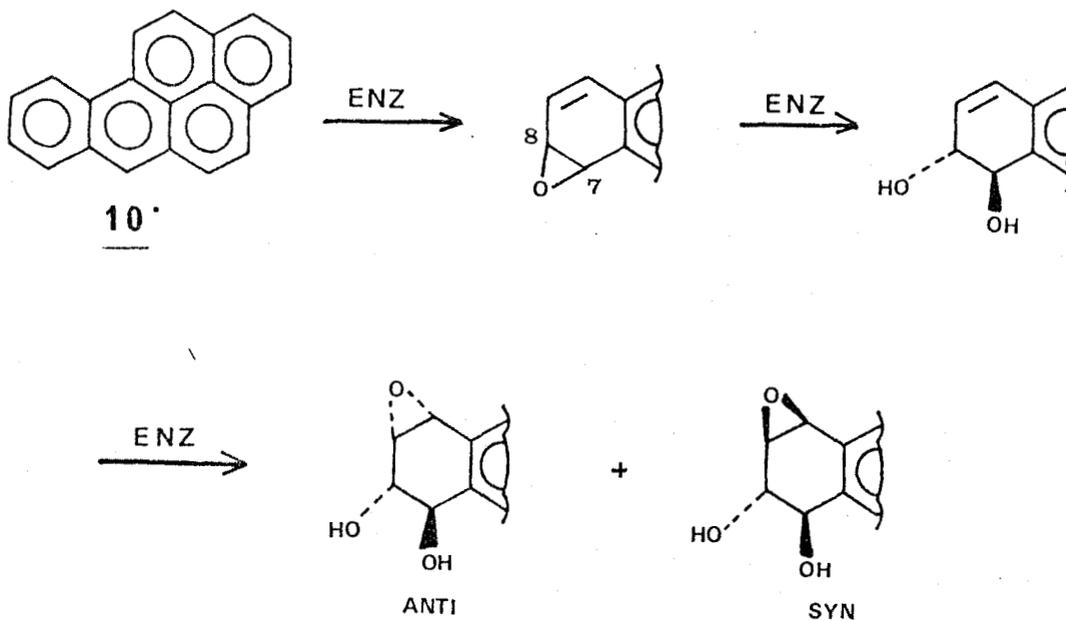
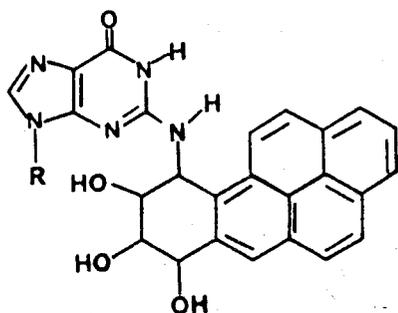
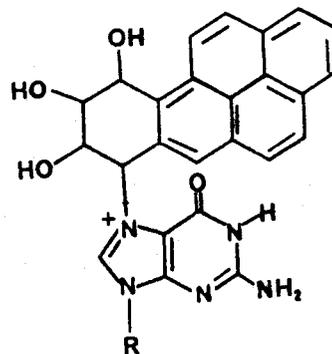


Schéma 2 : Activation métabolique du benzo|a|pyrène.

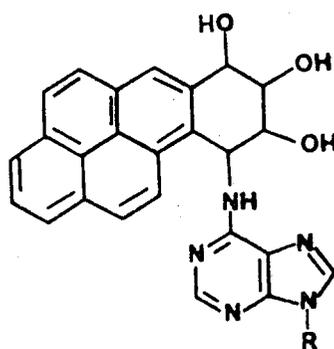
On a pu aussi isoler les produits de réaction correspondant à une addition sur les atomes d'azote des bases 13(5) ; 14(6) ; 15(7).



13



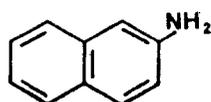
14



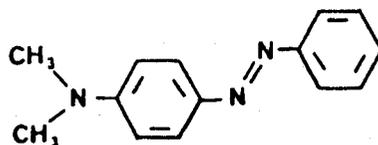
15

C. LES AMINES AROMATIQUES :

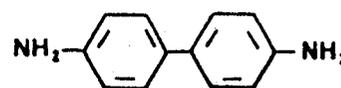
Dans cette catégorie entrent des composés comme l'amino-2 naphthalène 16, le N,N-diméthylamino-4 azobenzène 17, la benzidine 18 ou l'acétylamino-2 fluorène (AAF) 19.



16

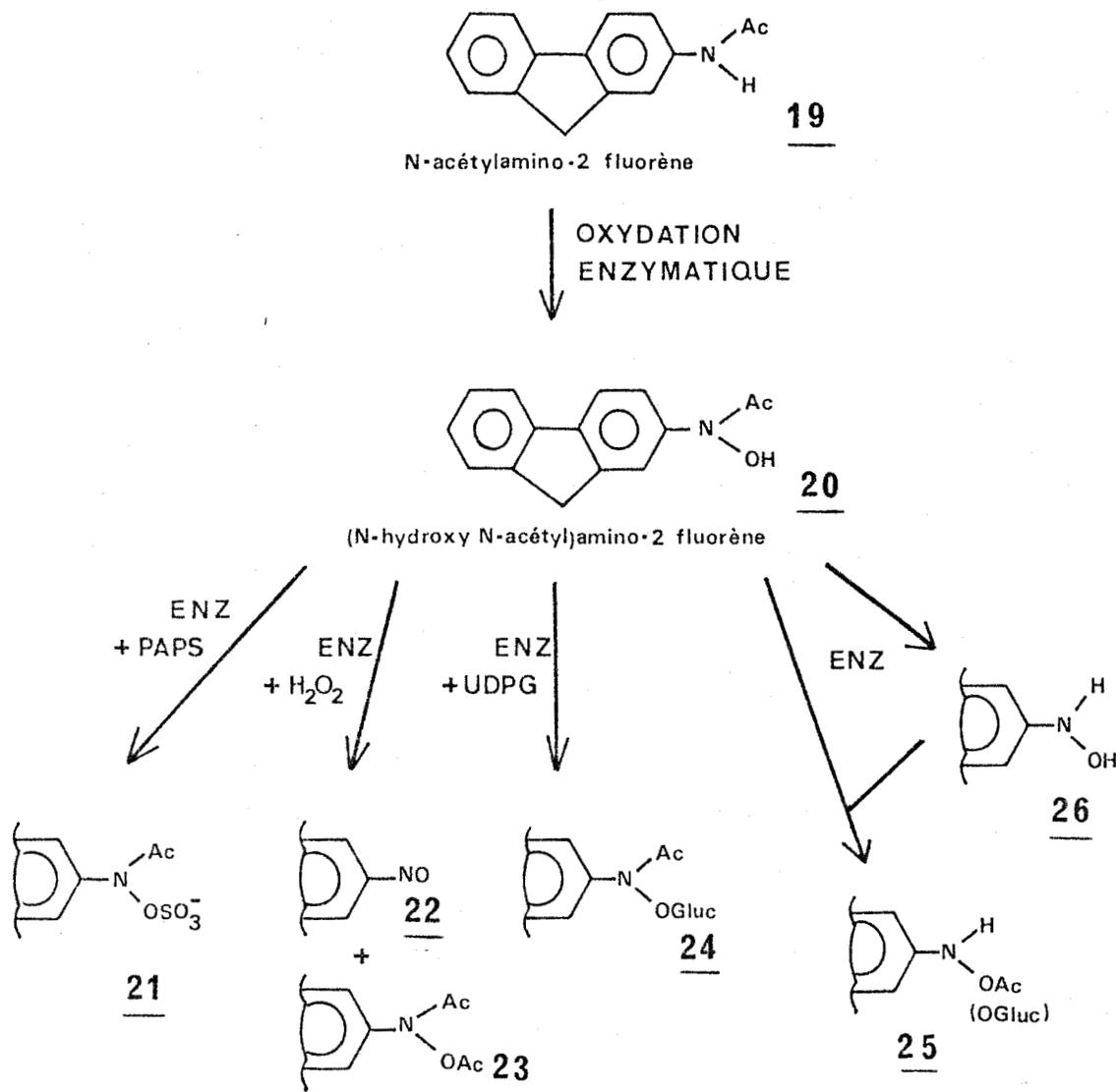


17



18

1. L'ACÉTYLAMINO-2 FLUORENE (AAF) 19 qui appartient à cette famille est souvent utilisé comme système modèle. Ce composé ne réagit pas lui-même avec les macromolécules cellulaires mais est estérifié de différentes manières conduisant ainsi aux cancérogènes ultimes (schéma 3).



UDPG : Uridine diphosphoglucose

PAPS : Acide 3' phosphoadénosine 5' phosphosulfurique

Schéma 3 : Activation métabolique de l'acétylamino-2 fluorène 19.

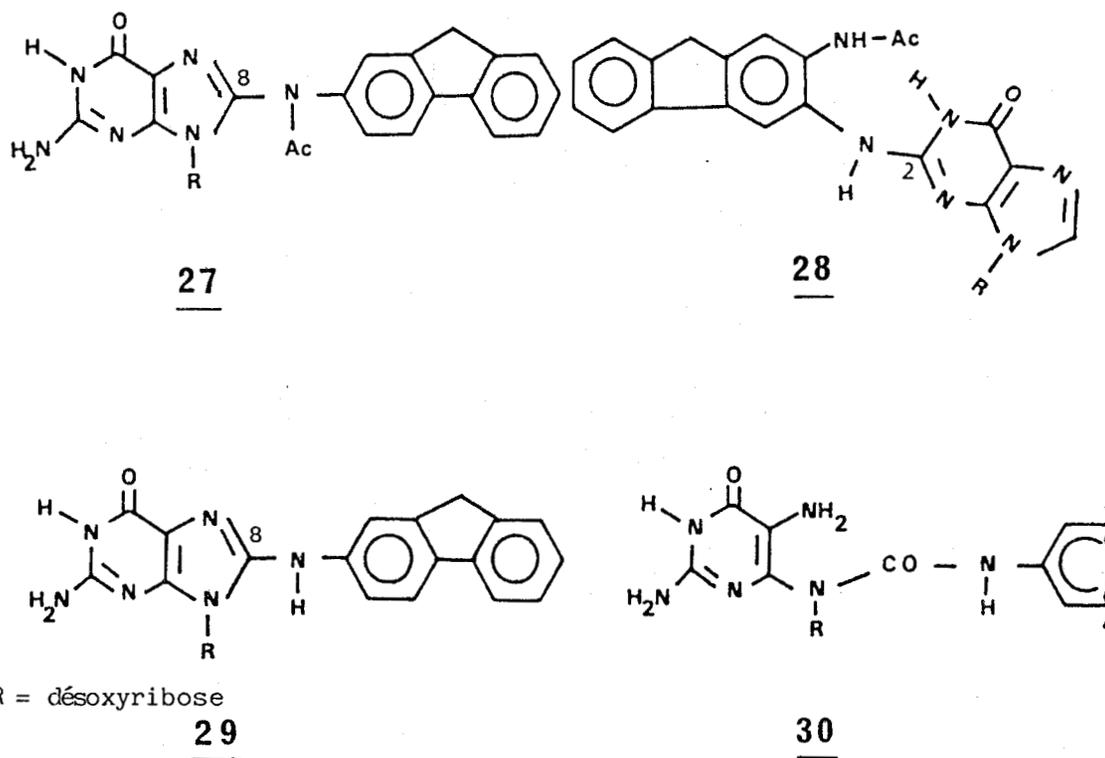
La N-hydroxylation des amines aromatiques semble une étape obligatoire pour leur activation en composés à activité cancérogène (exemple : composé 20). L'estérification des dérivés N-hydroxylés aboutit à la formation de réactifs électrophiles qui semblent être les cancérogènes ultimes (1). L'ester sulfate 21 est probablement le métabolite clé de la

fixation des résidus AAF sur l'ADN et l'ARN du foie (8). L'ester synthétique AAAF 23 est utilisé comme modèle de cancérogène ultime (1, 9, 10).

Une autre voie d'activation a été proposée par BARTSCH (11). Il s'agit de l'oxydation enzymatique de l'acide hydroxamique et la formation de radicaux libres qui donnent par dismutation un dérivé N-O diacétylé 23 et le nitroso-2 fluorène 22. Les dérivés O-glucuroniques 24 représentent les formes d'excrétion et de transport (12).

Enfin des réactions enzymatiques de désacétylation et de transacétylation (13) mènent à des esters d'hydroxylamine extrêmement réactifs 25, 26.

Des produits d'addition du dérivé fluorène sur les bases nucléiques ont été isolés. Ce sont des produits de fixation sur le C₈ et sur le N₂ de la désoxyguanosine.



L'AAAF 23 réagit avec la désoxyguanosine *in vitro* pour donner un produit d'addition le composé 27 ; ce produit a été aussi isolé de l'ADN hépatique de rats traités par NOHAAF 20.

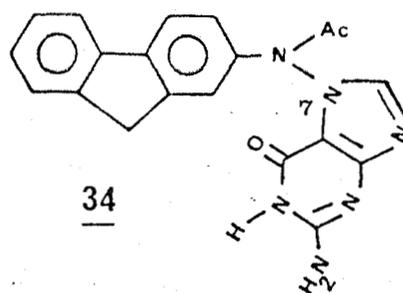
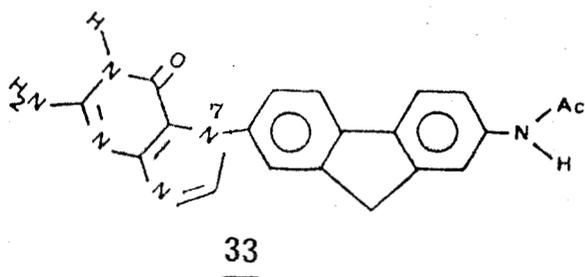
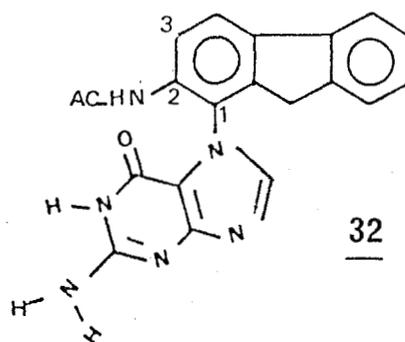
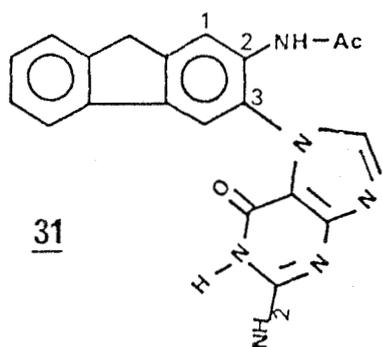
Un autre adduit 28 a été isolé à partir d'un ADN traité avec l'AAAF 23 in vitro. C'est un dérivé substitué par la désoxyguanine en ortho de la fonction amide. Il a été retrouvé in vivo dans l'ADN hépatique.

Le produit 29 a été isolé in vivo.

Le produit d'ouverture du cycle imidazole 30 présent dans les mélanges d'hydrolyse de l'ADN (14) peut soit provenir de la décomposition du composé 29 au cours de l'hydrolyse, soit constituer un quatrième produit de fixation sur l'ADN.

Les anticorps correspondant à ce dérivé ont été isolés chez des lapins immunisés par du dérivé à cycle ouvert greffé sur l'albumine de sérum bovin (15). Ces anticorps ont été utilisés pour titrer l'adduit formé dans l'ADN du foie de rat ayant subi l'action du NOHAAF 20 ; ces dérivés ouverts représentent environ 10 % des adduits de fixation sur le C₈ de la désoxyguanosine.

Récemment TARPLEY et MILLER (16) ont mis en évidence la formation de 4 nouveaux produits 31, 32, 33 et 34, pour lesquels ils proposent les structures suivantes :



Les quatre adduits sont fixés sur l'azote en position 7 de la guanine, site nucléophile préférentiel des agents alkylants, des moutardes azotées (17, 18) et de l'aflatoxine B₁ (19, 20).

L'étude conformationnelle de l'ADN modifié par l'AAF 19 a conduit FUCHS et DAUNE à proposer le modèle d'insertion dénaturation représenté sur le schéma 4 (21-25).

La substitution du C₈ de la deoxyguanosine par ce groupement volumineux qu'est l'AAF 19 favorise la rotation de la base modifiée autour de la liaison glycosidique ; elle passe de la conformation anti à syn. Le noyau fluorène est inséré dans la double hélice alors que la guanine se trouve rejetée à l'extérieur, il s'ensuit une déformation locale de la double hélice. Un modèle similaire appelé déplacement de base, est établi par WEINSTEIN et Coll. (26-28).

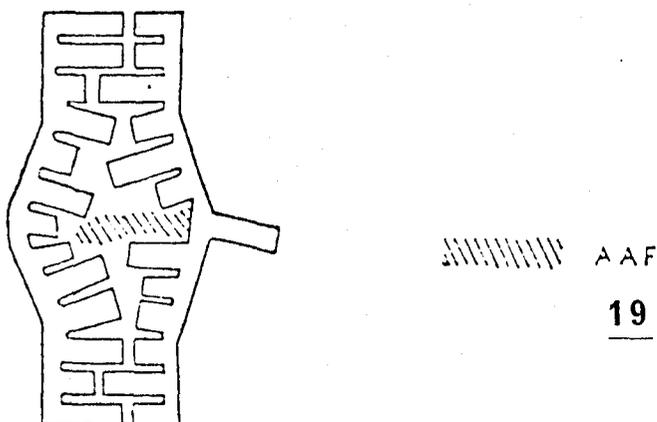


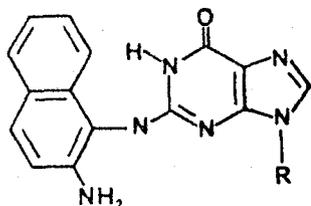
Schéma 4 : *Modèle d'insertion-dénaturation.*

2. L'AMINO-2 NAPHTALENE 16, constitue un autre exemple d'amine aromatique. C'est un des premiers produits chimiques identifié comme cancérigène.

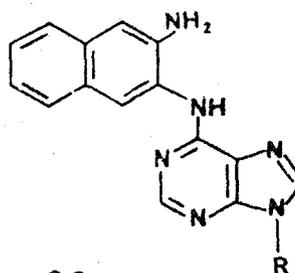
Ce composé, marqué au tritium est administré par voie orale au chien. On le retrouve dans le foie et la vessie où il provoque des tumeurs (29).

Les adduits 35, 36 et 37 ont été identifiés par spectrométrie de masse, spectroscopies UV et de RMN. Le produit majeur est un produit

d'ouverture de la désoxyguanosine substituée sur le C₈ ; 37. Ce composé est capable de se deshydrater pour donner le cycle fermé en milieu non aqueux.

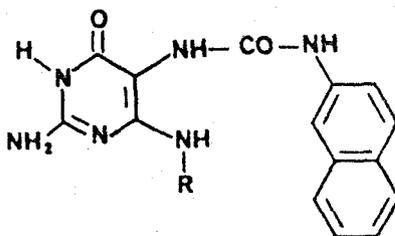


35



36

R = désoxyribose

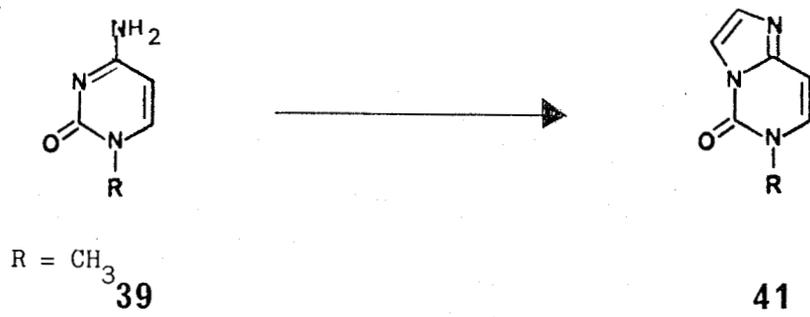
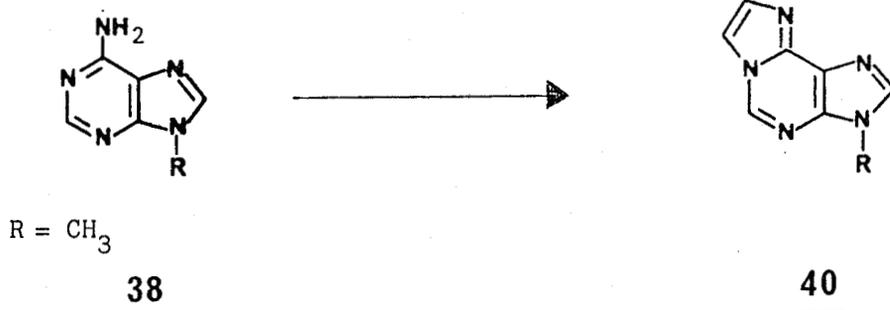


37

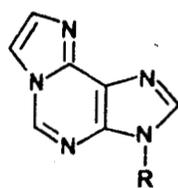
D. REACTIONS PARTICULIERES DES BASES AVEC CERTAINS CANCEROGENES BIFONCTIONNELS : FORMATION "D'ETHENO-BASES" ET "ETHENO-NUCLEOSIDES".

Les époxydes aliphatiques tels que l'oxyde d'éthylène ou de propylène ne sont pas des mutagènes puissants, mais l'oxyde de chloroéthylène et son dérivé à cycle ouvert, le chloroacétaldéhyde sont des métabolites mutagènes du chlorure de vinyle (30, 31).

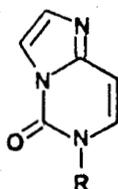
C'est KOCHETKOV (32) qui le premier a isolé et caractérisé les produits de fixation du chloroacétaldéhyde sur la méthyl-9 adénine 38 et la méthyl-4 cytosine 39 : il s'agit de composés cycliques 40 et 41 possédant un groupement "éthéno" dans la molécule.



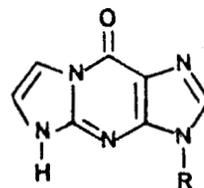
Les réactions du chloracétaldéhyde avec les nucléosides ont été intensivement étudiées: des dérivés fluorescents comme l'éthéno-adénosine (ϵ A) 42 (33, 35-37), l'éthéno-cytidine (ϵ C) 43 (33-36) et l'éthéno-guanosine (ϵ G) 44 (38) ont été préparés.



42



43



44

Le mécanisme réactionnel probable serait une première attaque de l'azote du cycle suivie de la formation rapide d'un cycle à 5 chaînons. La déshydratation est une étape lente particulièrement pour le dérivé de la cytosine 43 (schéma 5).

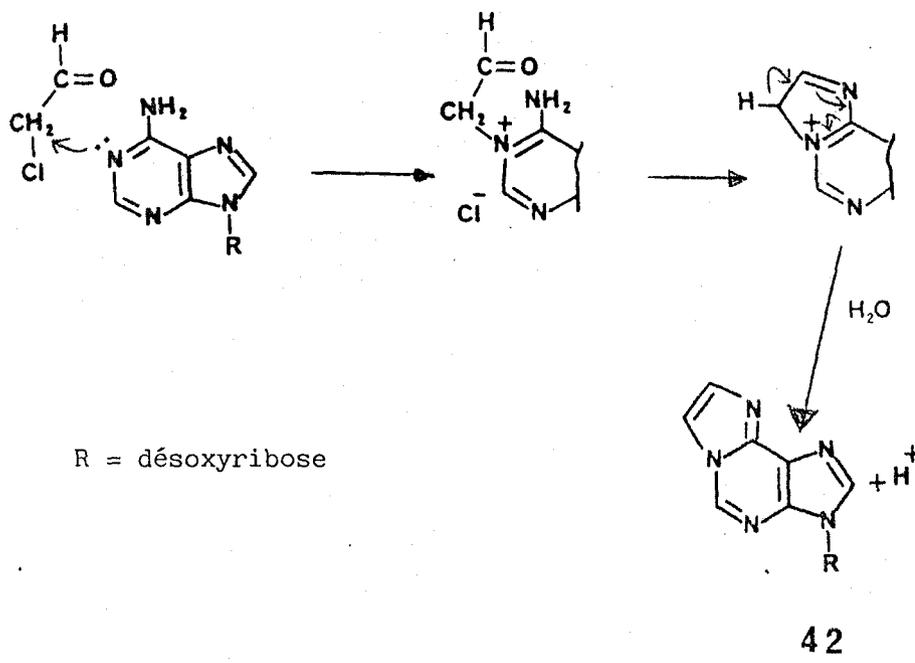
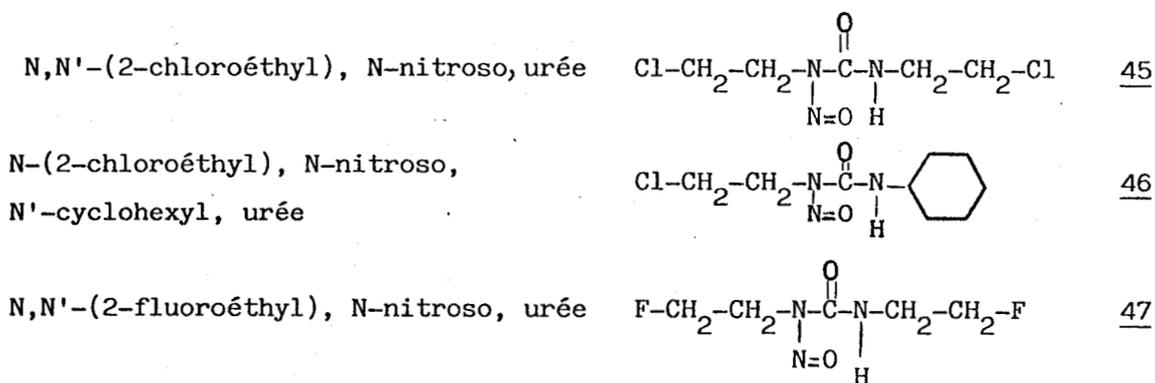


Schéma 5 : Mécanisme de formation des éthéno-nucléosides

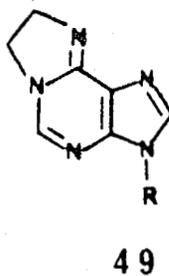
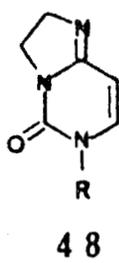
Le taux de réaction du chloracétaldéhyde diminue fortement dans le cas des polynucléotides double brin (39).

Il réagit avec l'ADN de thymus de veau et donne l'éthéno- adénosine 42 et l'éthéno-désoxycytidine ; ces mêmes produits ont été isolés du foie de rat exposé au chlorure de vinyle (36). Cette imidazocyclisation des résidus puriques et pyrimidiques semble être une lésion biochimique importante.

Remarque : Certaines réactions des halonitrosourées 45, 46, et 47 sont comparables (40, 41).



Ces composés réagissent avec l'ADN pour former avec l'adénine et la cytosine des dérivés éthano-cycliques 48 et 49.



L'époxyde d'acroléine qui possède une fonction alkylante et une fonction aldéhydique réagit, à pH faiblement alcalin, avec la désoxyguanosine en formant un pont éthéno-substitué entre l'azote en position 1 et la fonction amine en position 2 (42) selon la voie suivante (schéma 6), ce qui conduit à une éthéno-désoxyguanosine 50a ou 50b.

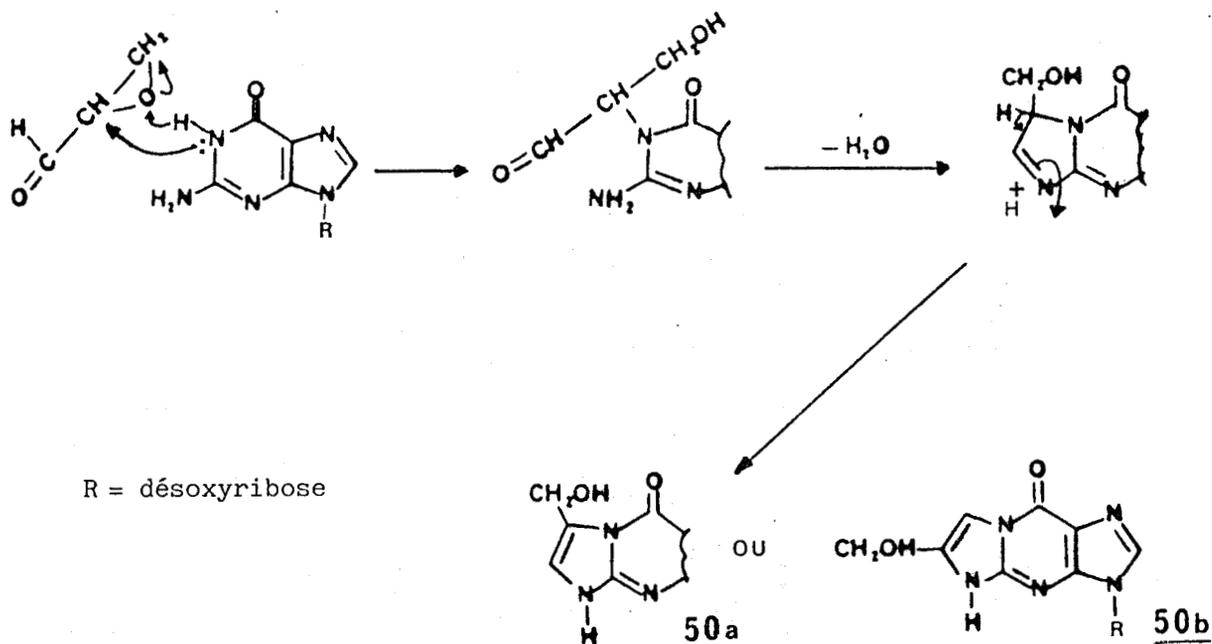
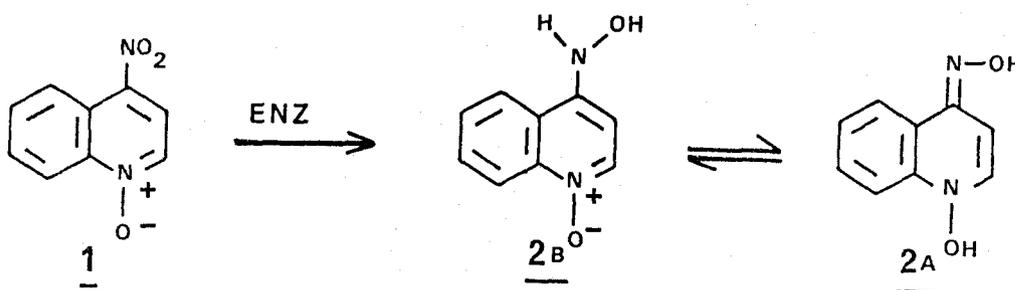


Schéma 6 : Réaction de la désoxyguanosine avec l'époxyde d'acroléine.

E. LE N-OXYDE DE NITRO-4 QUINOLEINE (4-NQO) 1 :

Le N-oxyde de la nitro-4 quinoléine 1 est un cancérrogène synthétique puissant dont l'activité a été établie par NAKAHARA et Coll. (43).

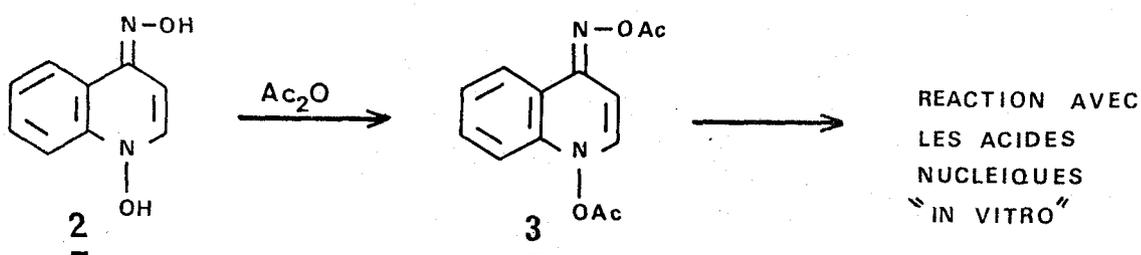
Le dérivé nitré 1 est activé, par voie enzymatique, en cancérrogène précurseur : l'hydroxylamino-4 quinoléine-1 oxyde (4-HAQO) 2 (ce composé peut exister sous deux formes tautomères 2a et 2b). L'enzyme responsable de cette étape a été isolée (44).



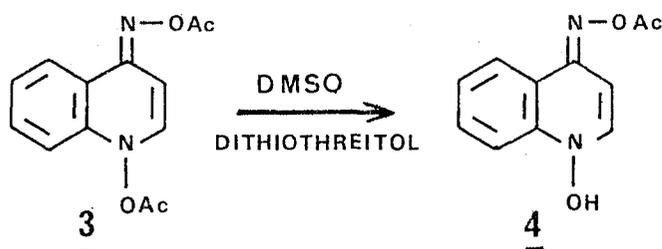
Le dérivé dihydroxylé 2 est plus actif que 1 in vivo mais il ne réagit pas in vitro avec les nucléophiles cellulaires. Une seconde étape est donc nécessaire. L'activation de ce métabolite n'a pas été démontrée.

Par comparaison avec les arylamines cancérrogènes dont l'activation consiste en une hydroxylation suivie d'une estérification, il est tentant de proposer un chemin réactionnel identique pour le N-oxyde de la nitro-4 quinoléine 1. TADA et TADA (45) ont isolé une enzyme capable d'activer in vitro le dérivé dihydroxylé 2. Cette enzyme est une séryl-t-ARN synthétase. L'ADN modifié isolé à partir de ce système enzymatique est identique à l'ADN modifié par le dérivé dihydroxylé 2 ou le dérivé nitré 1 in vivo.

KAWAZOE et ARAKI (46) ont synthétisé le dérivé diacétylé 3. Par la suite ENOMOTO et Coll. (47) ont montré que ce diester réagissait de façon non enzymatique avec les acides nucléiques.

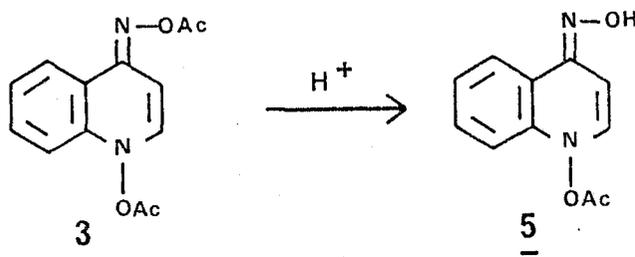


KAWAZOE (47') a décrit un autre dérivé, le monoacétate 4 préparé par action du dithiothréitol (DTT) sur le dérivé diacétylé 3 dans le diméthylsulfoxyde. Le dérivé monoacétylé 4 n'a pas été isolé mais le mélange réactionnel réagit de manière covalente et sans activation enzymatique avec le poly A.



Ce monoacétate 4 est considéré comme étant un des cancérigènes ultimes.

Cependant DEMEUNYNCK et al. (48) ont isolé un autre dérivé monoacétylé 5 obtenu par hydrolyse acide du dérivé diacétylé 3.



Ce produit a été identifié par ses données spectroscopiques et par sa réactivité. Il est capable de se réacétyler, pour donner le dérivé 3. Il peut aussi subir une hydrolyse et donner le dérivé dihydroxylé 2. Les données spectroscopiques de RMN et d'IR sont différentes de celles du monoacétate 4. Ce produit 5 est très réactif ; en solution ses propriétés dépendent du pH du milieu. Elles sont résumées dans le schéma 7.

Dans un mélange HCl-eau ou HCl-méthanol il se désacétyle pour donner le dérivé dihydroxylé 2. En milieu neutre, il se décompose en hydroxylamino-4 quinoléine 52 et en nitroso-4 quinoléine 6. En milieu basique un mélange d'azoquinoléines 51 se forme dans le milieu.

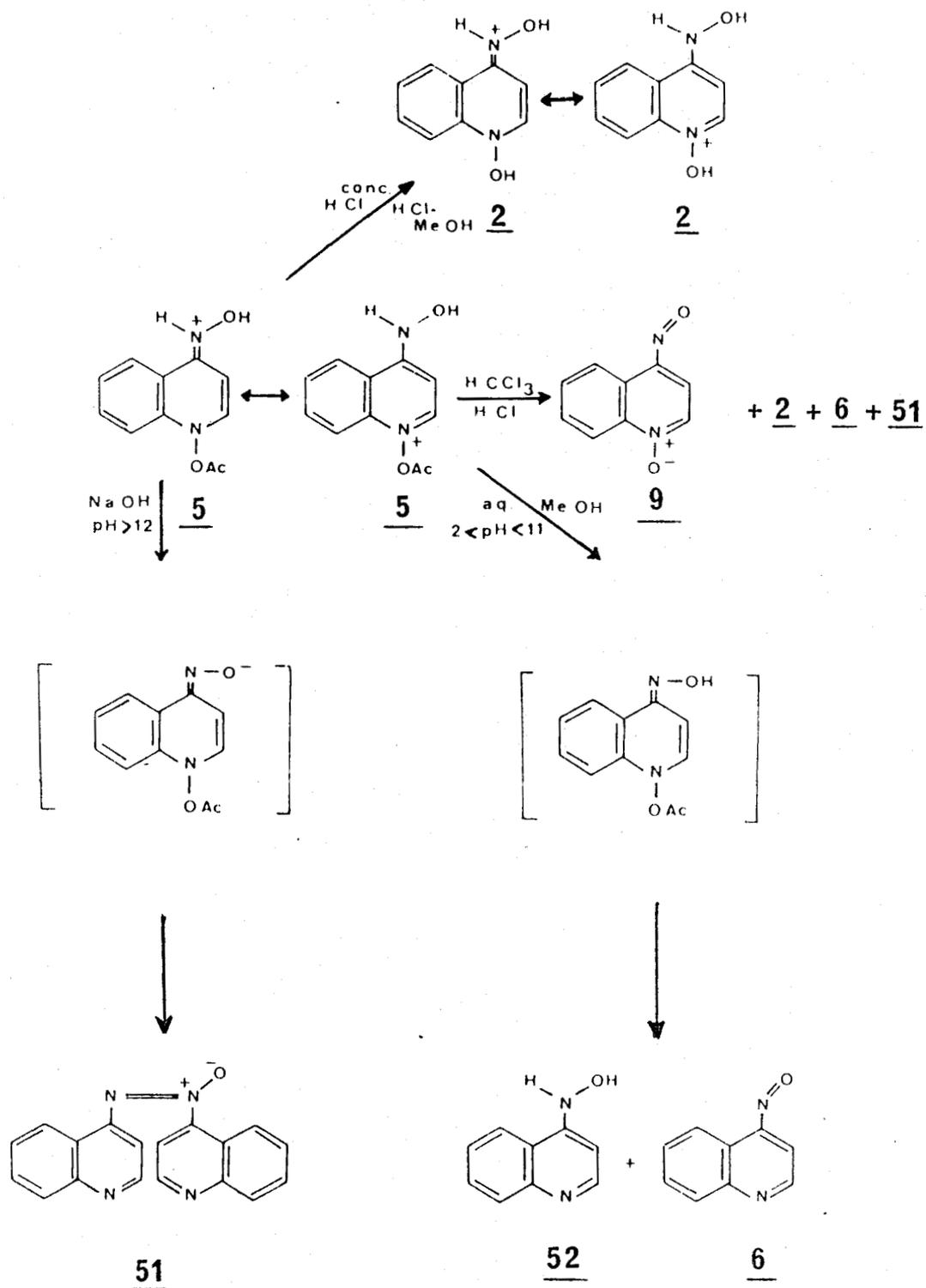


Schéma 7 : Réaction du monoacétate 5.



Le diacétylé 3 est donc capable de donner, selon les conditions utilisées, l'un ou l'autre des dérivés monoacétylés 4 ou 5. Une étude de la solvolysé (49) de ce dérivé 3 était devenue nécessaire pour essayer de définir les meilleures conditions qui permettent une désacétylation sélective en position 1 ou 4 :

- Solvolysé en milieu acide (schéma 8) : la solution HCl-méthanol (12N) est le milieu idéal pour la formation sélective de dérivé monoacétylé 5 alors que le dérivé monoacétylé 4 se forme dans un milieu HCl-méthanol (1N).

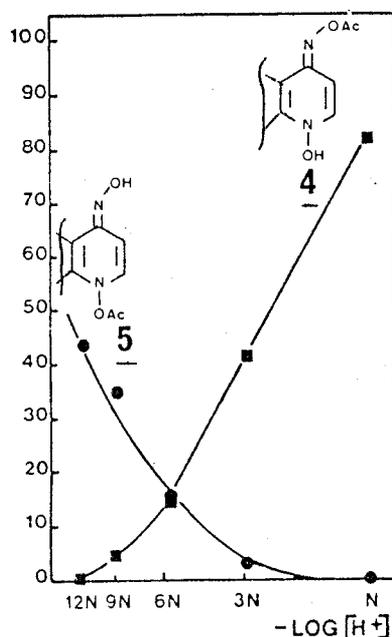


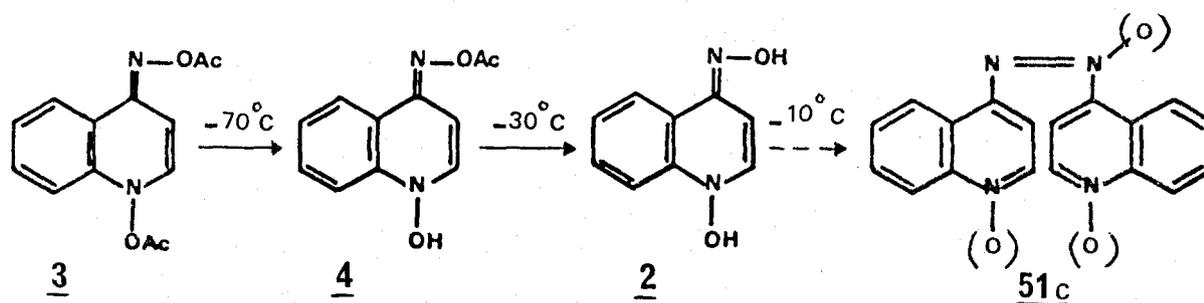
Schéma 8 : Solvolysé du diacétate 3 en milieu acide.

- Solvolysé en milieu basique : à température ambiante le diacétate 3 donne, dans une solution [NaOH-méthanol (N)] un précipité correspondant aux azoquinoléines 51.

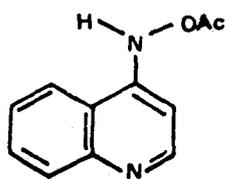
à -70° C le monoacétate 4 se forme uniquement.

à -30° C on n'observe que le dérivé dihydroxylé 2.

à -10° C les azoquinoléines 51 se forment.

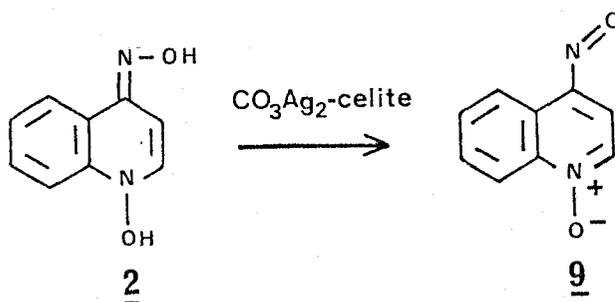


- Solvolyse en milieu neutre : la réaction est fort complexe. Le produit majoritaire a été isolé et identifié (50). Ce composé a été préparé aussi par synthèse (50). Il s'agit de l'acétoxyamino-4 quinoléine 53. Son activité cancérogène a été étudiée ; il est cent fois moins actif in vivo que le dérivé dihydroxylé 2.



53

Des études très récentes (51) ont révélé le pouvoir cancérogène d'un autre métabolite possible de 2 : le N-oxyde de nitroso-4 quinoléine 9. Ce dérivé nitrosé est préparé chimiquement par oxydation de 2 par le carbonate d'argent sur célite (52). Biologiquement, le dérivé 9 peut-être obtenu, soit par oxydation enzymatique du dérivé hydroxylé 2, soit comme intermédiaire dans la réduction du N-oxyde de nitro-4 quinoléine 1.

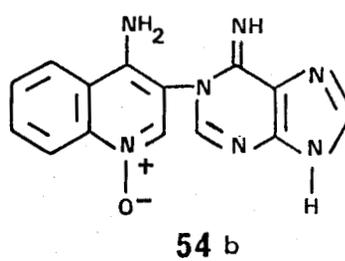
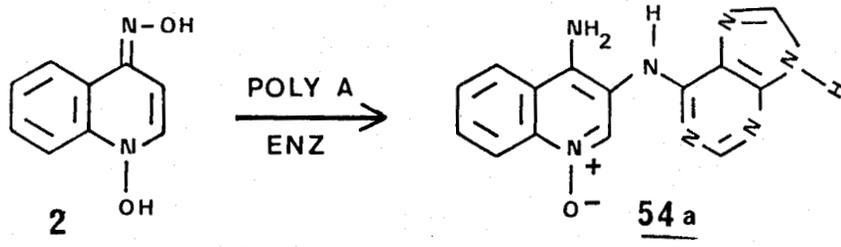


La modification de l'ADN par ces divers métabolites du 4-NQO 1 a fait l'objet d'un certain nombre de travaux.

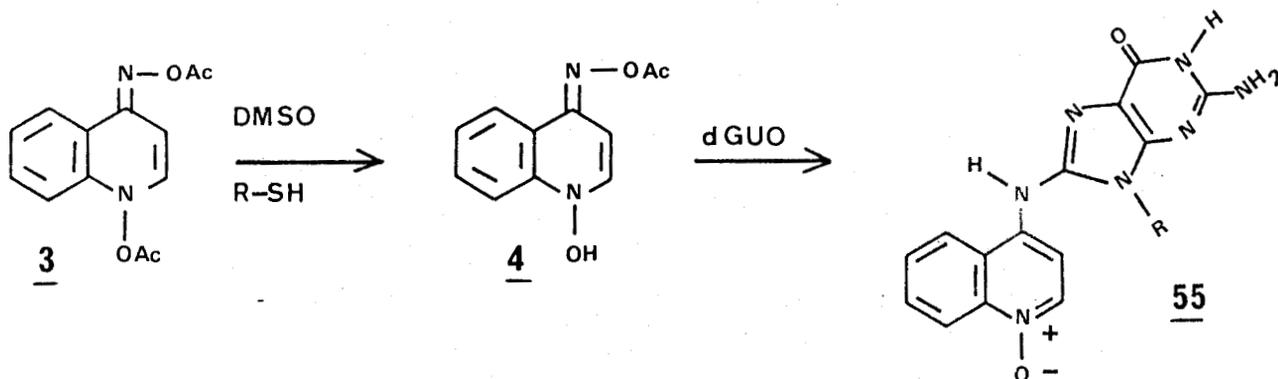
L'équipe de l'Institut de Recherche du Cancer de LILLE s'est d'abord intéressée aux propriétés physico-chimiques de l'ADN altéré par le cancérigène. Qu'il s'agisse du dérivé diacétylé 3 ou du dérivé monoacétylé 4, la fixation de ces 2 cancérigènes ultimes supposés entraîne une destabilisation thermique de l'ADN. La température de fusion de l'ADN modifié est d'autant plus basse que l'exposition au cancérigène a été plus forte (53, 54). Les adduits "cancérigène-bases" observés après hydrolyse enzymatique de l'ADN traité avec le dérivé diacétylé 3 ou monoacétylé 4 sont identiques. Cependant, avec le dérivé monoacétylé 4, on observe un taux de fixation 2 à 3 fois plus élevé qu'avec le diacétate 3.

Certains des adduits ont été isolés et identifiés. L'équipe japonaise de KAWAZOE a isolé à partir de l'ADN modifié par le dérivé nitré 1 et le dérivé dihydroxylé 2 *in vivo* et *in vitro* (2 + système enzymatique) 3 adduits que TADA et TADA (55) ont dénommé quinoléine-adénine II, quinoléine-guanine I' et quinoléine-guanine II'.

KAWAZOE (56) a décrit la structure de l'adduit "quinoléine-adénine II" qui est le plus stable. 1 mg de produit fut isolé et les études par spectrométrie de masse et spectroscopie de RMN ont permis de proposer les structures suivantes 54a ou 54b.



BAILLEUL et al. (57) ont étudié *in vivo* et *in vitro* la réaction du dérivé diacétylé 3 et du dérivé monoacétylé 4 avec l'ADN. Le même mélange réactionnel est obtenu dans tous les cas : un adduit majeur dGIII 55 a été isolé. C'est un produit de fixation du cancérogène sur la guanine. La structure proposée est la suivante :



Le rendement en dGIII 55 est 3,5 fois plus élevé quand l'ADN de départ est dénaturé plutôt que natif (54). Il est très important aussi quand le cancérogène est le dérivé monoacétylé 4 plutôt que son homologue diacétylé 3.

Les études de dichroïsme circulaire effectuées par GALIEGUE et al. (58) sur le polymère poly (dG-dC) modifié par le dérivé mono-acétylé 4 ont montré que ce dernier prend une conformation Z plus rapidement que le poly (dG-dC) natif. Cependant dans les conditions où le poly (dG-dC) natif est complètement sous forme Z le polymère modifié est partiellement sous forme B.

L'explication proposée est que la fixation du cancérigène sur le C₈ de la guanine favorise la transition de la forme B en Z. Mais l'absence de conversion totale en conformation Z peut-être expliquée par la présence d'adduits d'une autre nature dans le polymère modifié.

Notons que le polymère modifié est sensible à l'action de l'endonucléase S₁, ce qui signifierait qu'il contient des régions simple brin dues à la fixation du cancérigène. Ce résultat est en accord avec la baisse de la température de fusion de l'ADN modifié.

-O-O-O-O-O-O-O-O-O-O-

En conclusion il apparaît que de nombreux travaux ont déjà été consacrés au mode d'action du 4-NQO 1 et de ses métabolites au niveau de l'ADN.

Néanmoins les modifications précises induites sur l'ADN sont encore mal connues en termes structuraux : seuls deux produits de réaction ont pu être identifiés, à savoir 54 et 55, bien que de nombreux autres composés aient été mis en évidence par des techniques chromatographiques. En outre même pour ces composés, leur mode de formation à partir des deux composés acétylés 3 et 4 n'est pas clairement interprété.

Nous nous sommes donc attachés à préciser quelques aspects de la réactivité de ces dérivés acétylés, tout d'abord vis-à-vis de nucléophiles simples, tels que les alcools, puis vis-à-vis de systèmes modèles tels que l'indole et enfin vis-à-vis des bases et nucléosides. Dans un premier temps nous décrirons la synthèse des métabolites postulés, dérivés acétylés 4 et 5 et des dérivés nitrosés 6 et 9. Nous examinerons ensuite leur réactivité.

-O-O-O-O-O-O-O-O-O-

PARTIE THEORIQUE

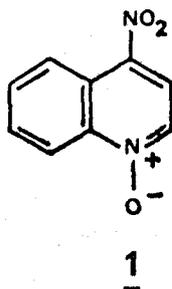
-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

CHAPITRE I

SYNTHESES

A. SYNTHÈSE DU DÉRIVÉ DIACÉTYLÉ 3 :

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



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

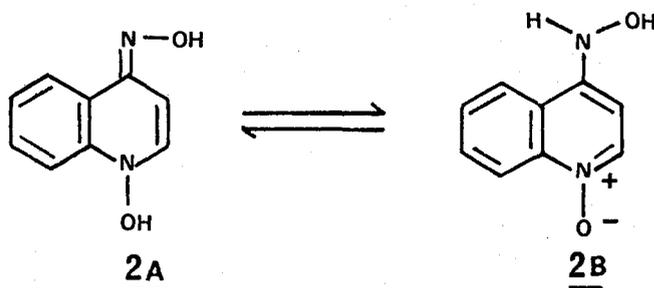
REDUCTION :

La réduction est une étape délicate, car il faut conserver la fonction N-oxyde et arrêter la réaction au stade de l'hydroxylamine 2.

Deux méthodes sont décrites pour la synthèse sélective et quantitative du N-oxyde de l'hydroxylamino-4 quinoléine 2 : en 1963, OCHIAI (59) a employé la phénylhydrazine dans l'éthanol et en 1968, ENOMOTO (47) 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 %.

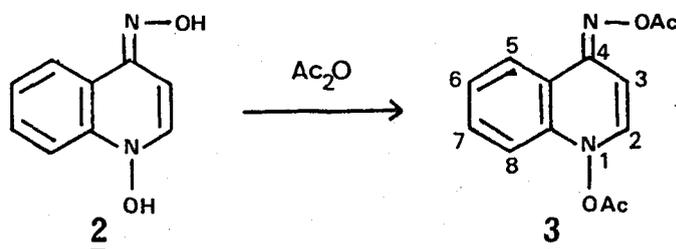
2 existe sous forme d'un équilibre tautomérique hydroxylamine 2B-oxime 2A.



Des études récentes en RMN (47') ont montré que le tautomère 2A prédomine largement sur le tautomère 2B dans le DMSO. 2 possède une structure d'oximino-4 hydroxy-1 dihydro-1,4 quinoléine 2A.

ACETYLATION :

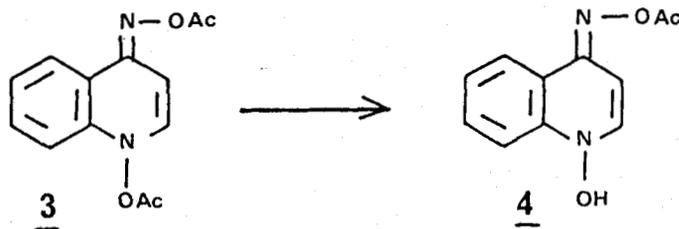
Pour l'acétylation de 2, nous nous sommes inspirés de la méthode décrite par KAWAZOE et ARAKI (46). Nous utilisons un mélange d'anhydride acétique et acide acétique, le produit final précipite dans l'eau. Bien que très réactif (sensibilité à l'air, à l'oxygène, aux traces



d'eau), il peut être obtenu à l'état pur et caractérisé par ses diverses données spectroscopiques. Il est "suffisamment stable" pour pouvoir être analysé par CLHP en apparaissant sous forme d'un pic unique.

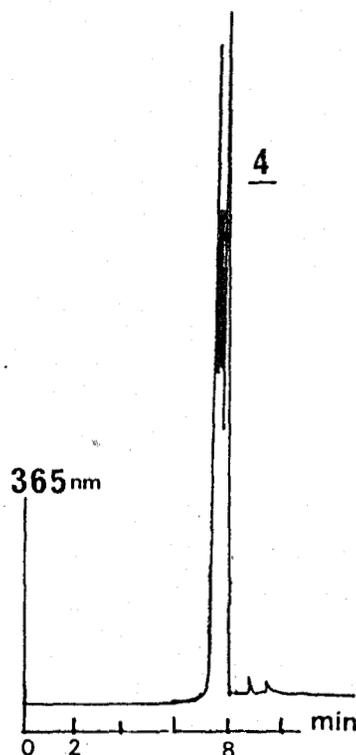
B. SYNTHÈSE DU DÉRIVÉ MONOACÉTYLÉ 4 :

Ce composé est préparé par désacétylation de 3 par des réactifs nucléophiles (thiophénol - pipéridine) dans le DMSO, selon un mode opératoire mis au point par M. DEMEUNYNCK et M.F. LHOMME.



Cette réaction est propre et quantitative comme l'indique la Résonance Magnétique Nucléaire. Par contre le produit est tellement réactif et instable que toutes les tentatives d'extraction de 4 du milieu réactionnel ont échoué (47').

Nous contrôlons sa formation dans le milieu réactionnel par la technique de la CLHP. Ce monoacétate 4 a un signal caractéristique : il se décompose sur la colonne pour donner une série de trois pics (le rapport d'absorption R et le temps de rétention de ces trois signaux sont absolument reproductibles).

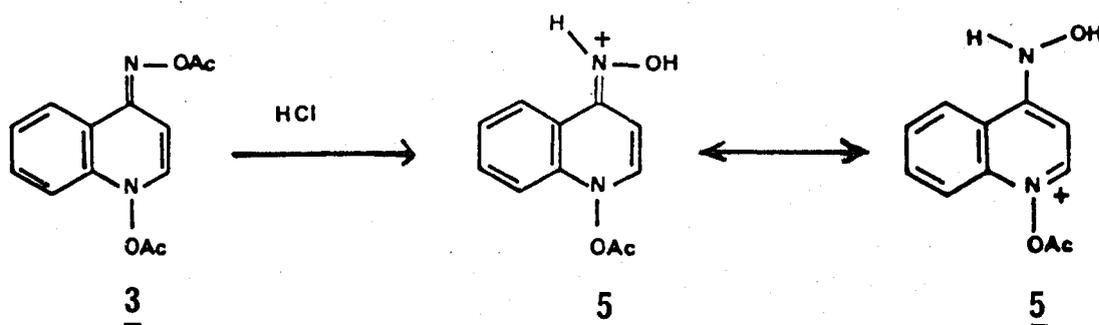


Spectre de CLHP du dérivé 4. $t = 20$ mn.

C. SYNTHÈSE DU DÉRIVÉ MONOACÉTYLÉ 5 :

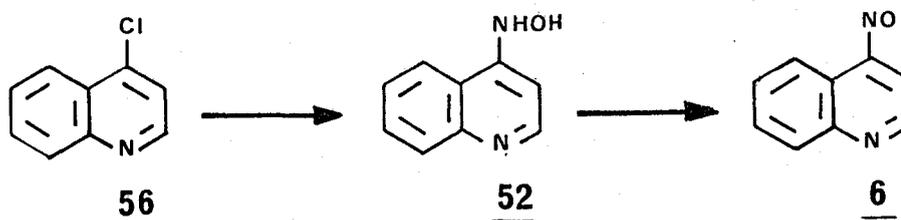
Ce produit a été préparé pour la première fois par M. DEMEUNYNCK et M.F. LHOMME (48). Il est obtenu par barbotage d'acide chlorhydrique gazeux ou addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré dans une solution chloroformique de 3. Un produit précipite lentement quand la solution est laissée à -20°C .

Après filtration et lavage au chloroforme, la poudre blanche obtenue doit être conservée dans un dessiccateur à basse température (-20°C).



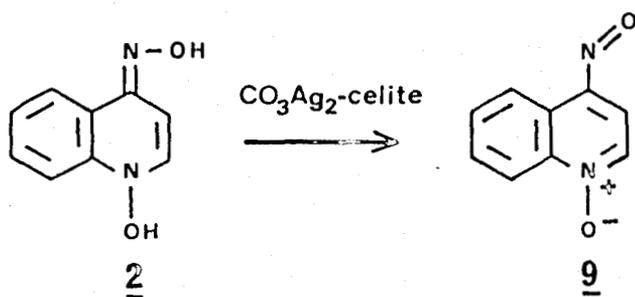
D. SYNTHÈSE DE LA NITROSO-4 QUINOLÉINE 6 :

Ce dérivé est synthétisé en deux étapes à partir de la chloro-4 quinoléine 56 qui réagit avec le chlorhydrate d'hydroxylamine en présence de carbonate de potassium pour donner l'hydroxylamino-4 quino-
léine 52. Cette dernière sera oxydée par le carbonate d'argent sur célite en dérivé nitrosé 6 (60).



E. SYNTHÈSE DU N-OXYDE DE LA NITROSO-4 QUINOLÉINE 9 :

Le dérivé nitrosé 9 a été synthétisé par action du carbonate d'argent sur célite sur le dérivé dihydroxylé 2 (52).



-O-O-O-O-O-O-O-O-O-

A. RÉACTIVITÉ AVEC LES ALCOOLS :

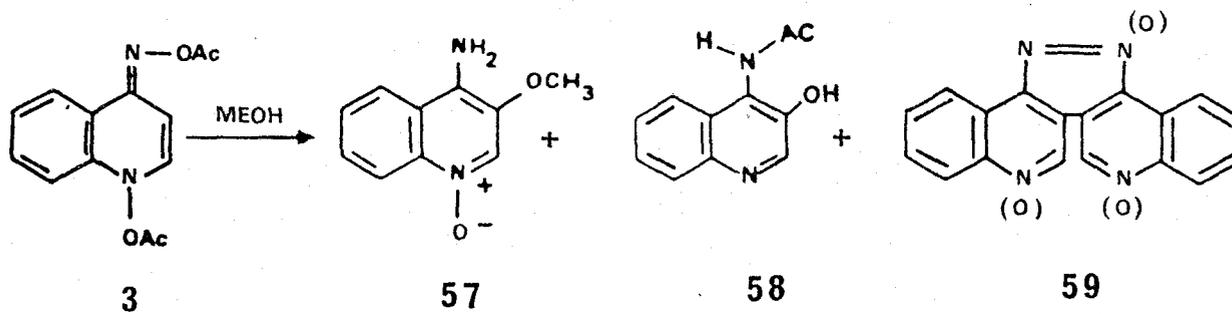
Dans une première phase nous avons examiné la réactivité du diacétate 3 et du monoacétate 4 vis-à-vis de nucléophiles simples tels que les alcools. Nous avons utilisé successivement le méthanol, l'éthanol et le trifluoroéthanol dans le but de mettre en évidence d'éventuels effets liés à la nucléophilie et au pouvoir ionisant différents de ces trois types d'alcools.

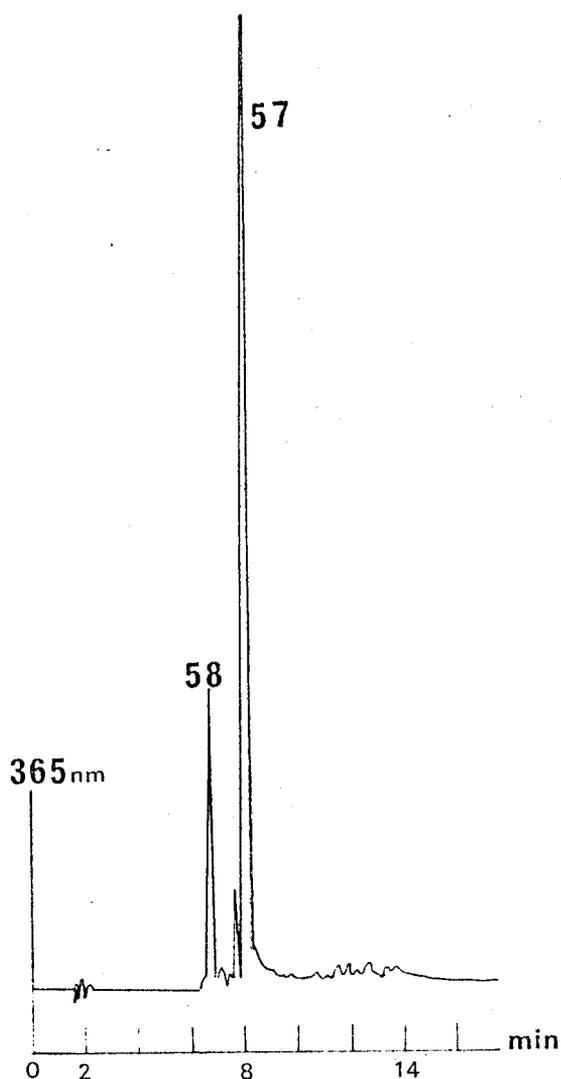
1. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LE METHANOL : N-oxyde de l' amino-4 méthoxy-3 quinoléine 57 :

Le dérivé diacétylé 3 réagit avec le méthanol à température ambiante et à l'obscurité. La réaction est plus ou moins complexe selon la concentration. Pour éviter le maximum de réactions secondaires nous avons utilisé des solutions diluées de l'ordre de 2×10^{-3} M.

Au bout de trois jours de réaction dans le méthanol, le dérivé 3 a disparu et un précipité s'est formé. On filtre le précipité que l'on étudiera ultérieurement (p. 38).

Après concentration de la solution, on sépare les différents produits formés sur colonne de silice. On isole ainsi trois substances.





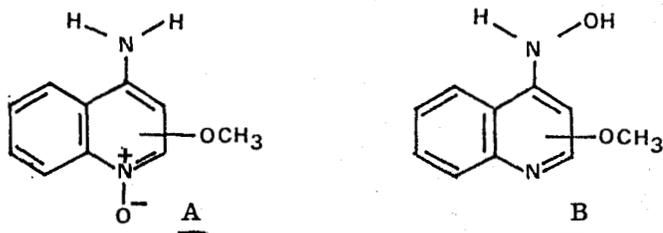
Spectre de CLHP à t = 3 jours.

a) N-oxyde de l' amino-4 méthoxy-3 quinoléine 57 :

C'est le produit majoritaire (30 à 40 %). La structure a été déterminée par RMN à 270 MHz, par spectrométrie de masse haute résolution et par UV.

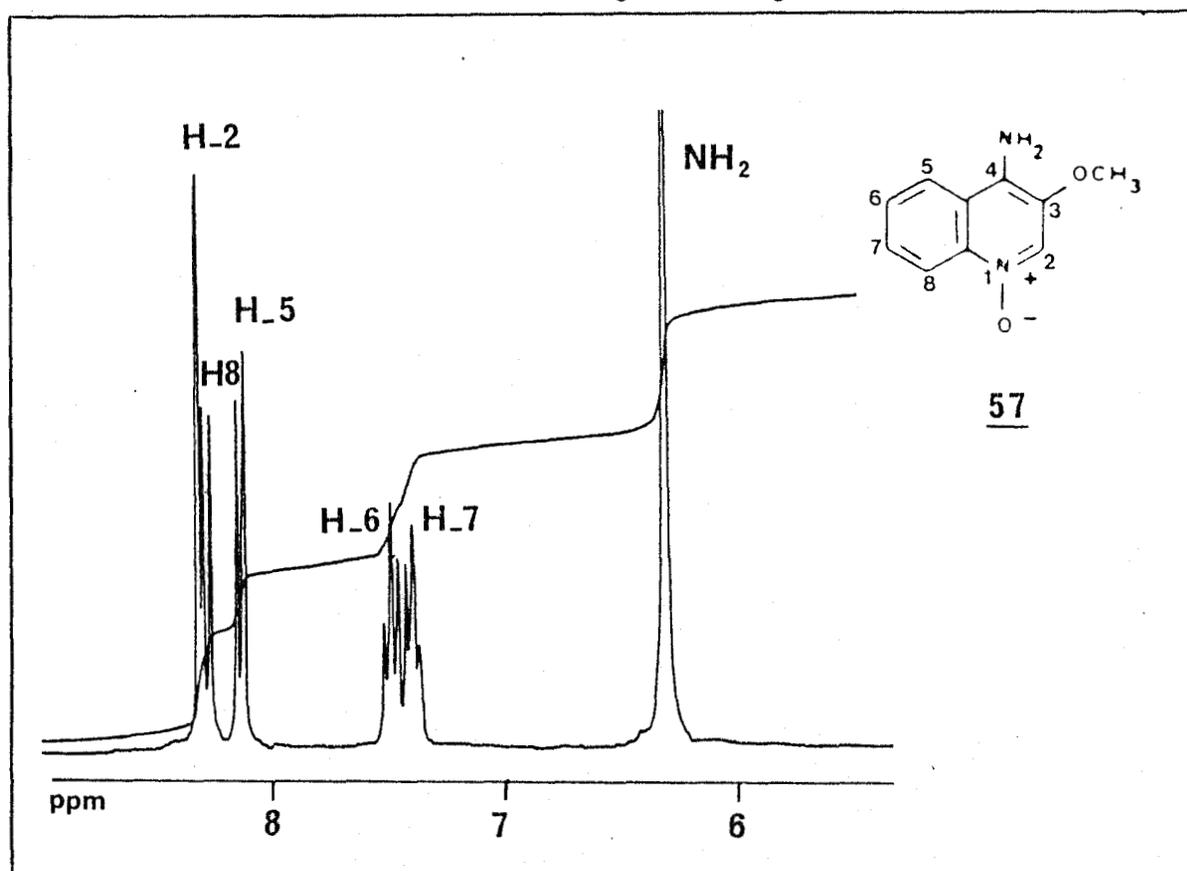
L'examen du spectre de masse de haute résolution montre un pic moléculaire à $m/e = 190$, on observe une première coupure à $m/e = 174$, correspondant au départ d'un oxygène ($M^+ - 16$), puis un pic important à $m/e = 159$, correspondant à une amino-4 quinoléine mono-oxygénée. La masse $m/e = 190$ serait en accord avec un produit de fixation du méthanol sur la quinoléine.

Deux structures sont donc possibles A et B.



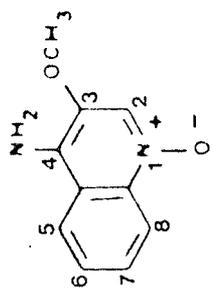
L'étude du spectre de RMN à 270 MHz dans le DMSO deutérié montre que la molécule a perdu ses deux fonctions acétates. Par contre on peut observer un signal fin à 3,81 ppm, intégrant pour trois protons, que l'on attribue à un groupement $-OCH_3$.

En outre les deux doublets dûs aux protons C_2-H et C_3-H ont disparu, remplacés par un singulet à 8,33 ppm. La valeur de ce déplacement chimique permet d'attribuer ce signal au proton C_2-H ce qui a pour conséquence de fixer le groupement OCH_3 sur le C_3 de la quinoléine.

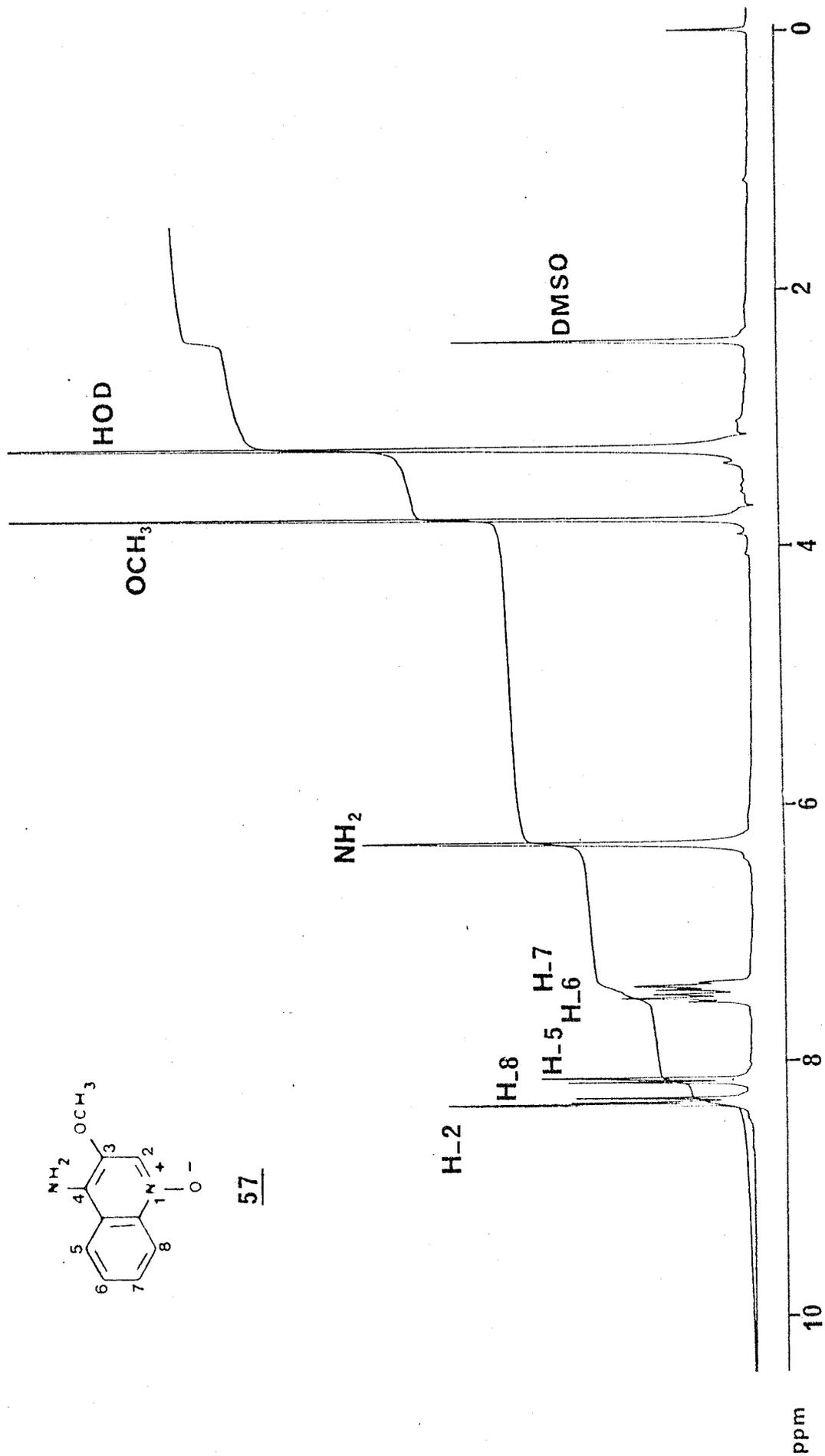


On observe aussi deux doublets très nets à 8,15 et 8,31ppm intégrant chacun pour un proton et dont la constante de couplage est de 9 Hz ; ils sont attribuables aux hydrogènes C_5-H et C_8-H ; les protons C_6-H et C_7-H résonnent à 7,22 et 7,56 ppm sous forme de deux multiplets

Spectre de RMN ^1H à 270 MHz du produit 57 dans le DMSO d_6



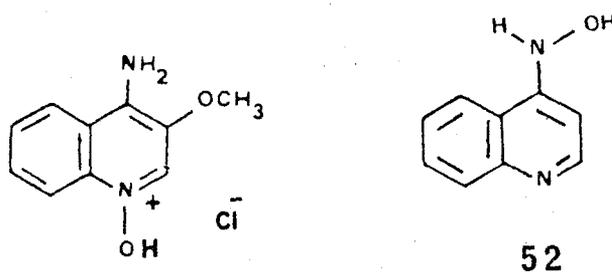
57



intégrant chacun pour un proton. Le spectre montre également un singulet élargi à 6,33 ppm, intégrant pour deux protons et qui disparaît par addition de D₂O à la solution.

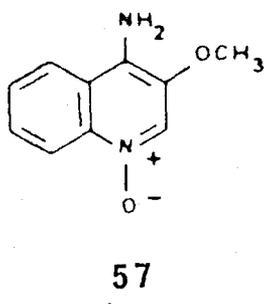
Ces observations constituent des arguments en faveur de la structure A qui présente une fonction amine primaire.

Ceci est d'ailleurs confirmé par l'étude du spectre UV. Celui-ci enregistré à pH=5,5 (dans l'eau) présente des maxima d'absorption à 375 et 264 nm ; à pH = 14 (NaOH N), le spectre reste inchangé ; à pH = 0,1 (HCl 1N) les maxima d'absorption se déplacent à 355 et 252 nm, ce qui suggère la formation d'un sel de type :



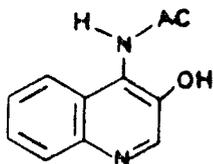
Par comparaison : le spectre UV de l'hydroxylamino-4 quinoléine 52 pris à pH = 5 (dans l'eau) présente deux maxima d'absorption à 336 et 320 nm. A pH = 0,1 (dans HCl 1N), le spectre ne change pas, mais surtout en milieu basique (pH=12), on observe des variations importantes qui correspondent à la formation de l'anion : λ_{max} à 360 nm.

La structure la plus conforme pour ce produit est celle d'un N-oxyde de l'amino-4 méthoxy-3 quinoléine 57.



b) Acetylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Ce produit minoritaire (< 5 %) est identique à celui isolé lors de la réaction du diacétate 3 avec l'éthanol où il se trouve être le produit majoritaire. Nous décrirons sa structure p.40.

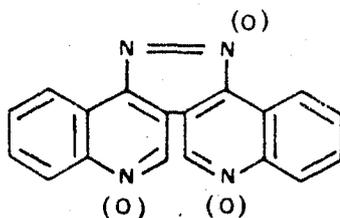


58

c) La structure du troisième produit isolé n'a pas encore été élucidée ; le spectre de masse suggère que la molécule de l'acétylamino-4 quinoléine mono-oxygénée contient un groupement acétate et un groupement méthoxylé.

d) Pyridazino[3,4-c ; 5,6-c'] diquinoléine 59 :

Le précipité isolé est formé de dimères de quinoléine. La quantité obtenue est fonction de la concentration initiale en diacétate 3. Ce précipité étant peu soluble nous n'avons pu l'étudier par spectrométrie de RMN ; nous avons déterminé la structure par spectrométrie de masse : on observe un pic moléculaire à $M^+ = 330$ qui correspond à un produit précédemment décrit dans la littérature (61). C'est une pyridazino[3,4-c ; 5,6-c'] diquinoléine 59.



59

Ce composé avait été obtenu par traitement basique du 4-HAQO 2. De ce fait on le retrouve fréquemment (avec des rendements très variables) dans les réactions des dérivés monoacétylés 4 et 5 et diacétylé 3.

Réaction du dérivé monoacétylé 4 avec le méthanol :

La structure du dérivé méthoxylé 57 permet d'envisager sa formation aussi bien à partir du dérivé diacétylé 3, qu'à partir du dérivé monoacétylé 4 qui possède toujours la fonction N-oxyde.

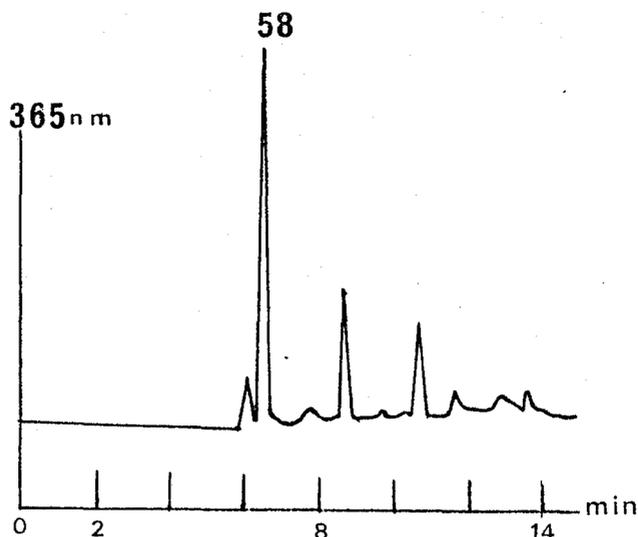
Dans le but de vérifier cette hypothèse nous avons mis en présence le monoacétate 4 (préparé in situ à partir du diacétate 3 par addition d'une quantité stoechiométrique de pipéridine à une solution dans le DMSO de 3) avec le méthanol ; la concentration est voisine de celle utilisée dans la réaction du diacétate 3 avec le méthanol.

Après séparation sur colonne, on isole avec un rendement supérieur à 30 % un composé dont les caractéristiques physico-chimiques (RMN - Masse - Rf et R) sont identiques à celle du composé 57.

En conclusion, l'observation la plus intéressante de la réactivité du diacétate 3 dans le méthanol est la formation du produit méthoxylé 57 qui correspond à la fixation d'un nucléophile sur la quino-
léine en position 3. Ce produit a conservé la fonction N-oxyde en position 1, ce qui nous permet d'envisager puis de confirmer le passage par le mono-
acétate 4 comme intermédiaire. Un mécanisme de formation de ce dérivé sera proposé plus loin (p.85).

2. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC L'ETHANOL : Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Le dérivé diacétylé 3 est dissous dans l'éthanol (concentration de $2 \times 10^{-3} M$).

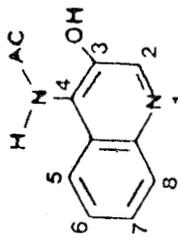


Spectre de CLHP à t = 5 jours.

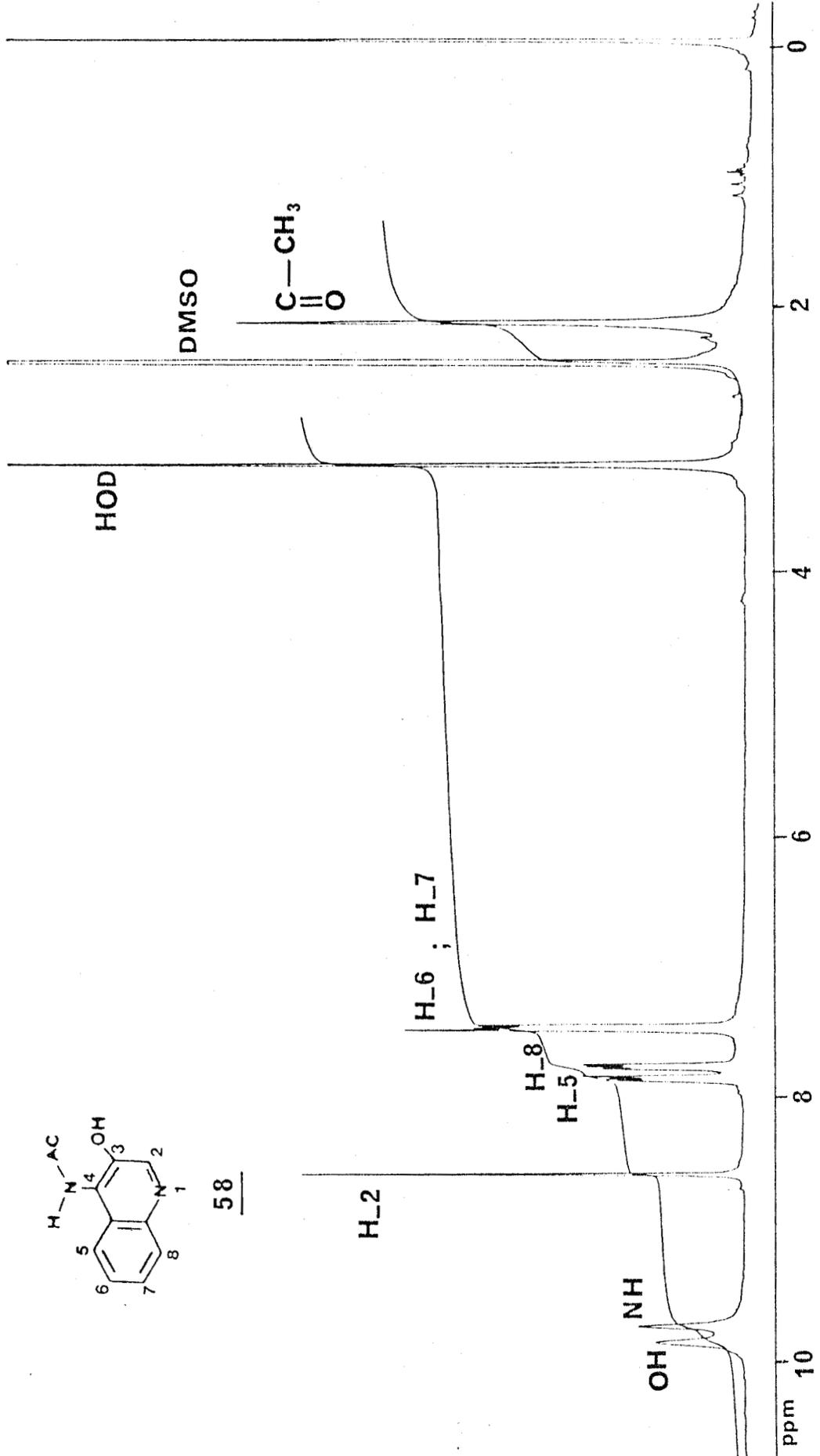
Au bout de cinq jours lorsque le diacétate 3 a disparu on sépare sur colonne et on isole un produit majoritaire (10-15 %) dont la structure a été déterminée par spectrométrie de masse haute résolution et RMN 270MHz. Il s'agit d'une acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58.

Sur le spectre de masse on trouve le pic moléculaire à $m/e = 202$, ce qui suggère la présence d'un acétate (confirmé par le pic à $m/e = 160$, perte de ce même acétate) mais aussi la présence d'une fonction oxygénée. L'absence de coupure à $m/e = 186$ qui pourrait provenir d'une rupture N-O permet de penser que la fonction N-oxyde n'existe pas. Par contre nous observons une fragmentation à $m/e = 131$ typique des quinoléines substituées en 3.

A la suite de ces données on peut écrire les deux structures les plus probables a et b.



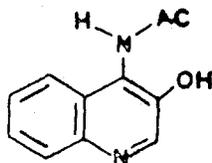
58



Spectre de RMN ¹H à 270 MHz du produit 58 dans le DMSO d₆

La valeur élevée du déplacement chimique du C₂-H ainsi que le blindage du C₈-H sont en faveur d'une structure sans fonction N-oxyde. Le déblindage important des signaux échangeables est en accord avec une liaison amide.

L'ensemble de ces résultats est en faveur de la structure b.



58

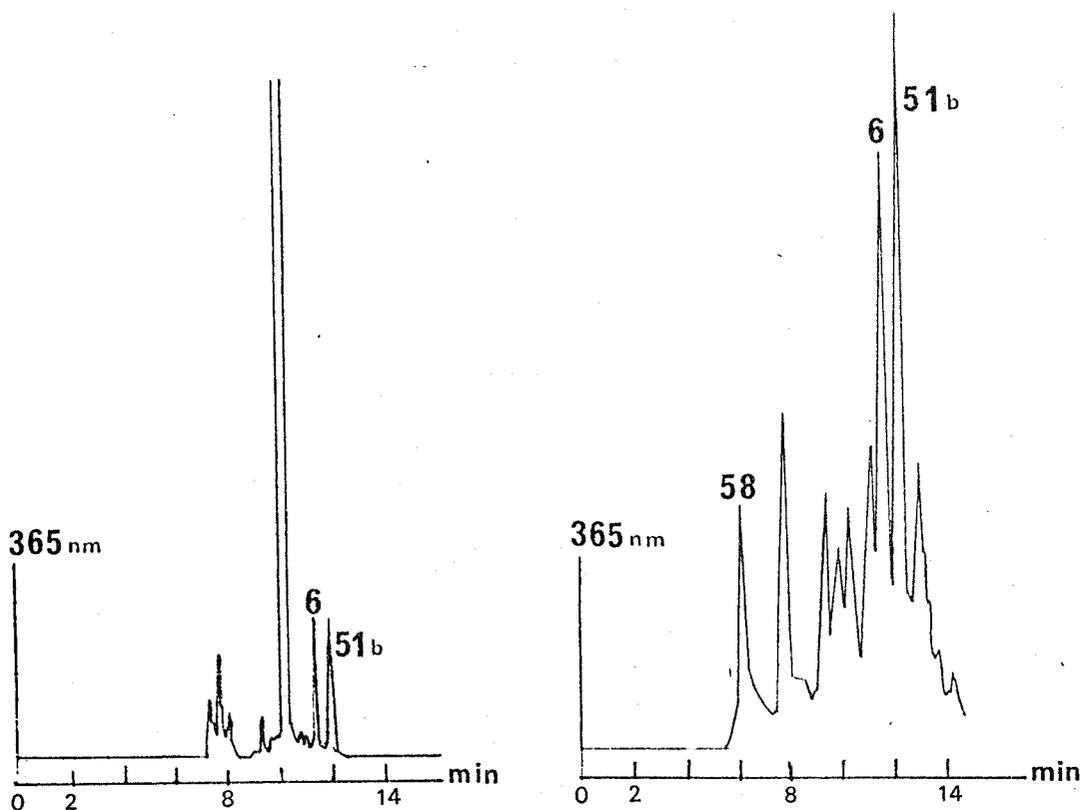
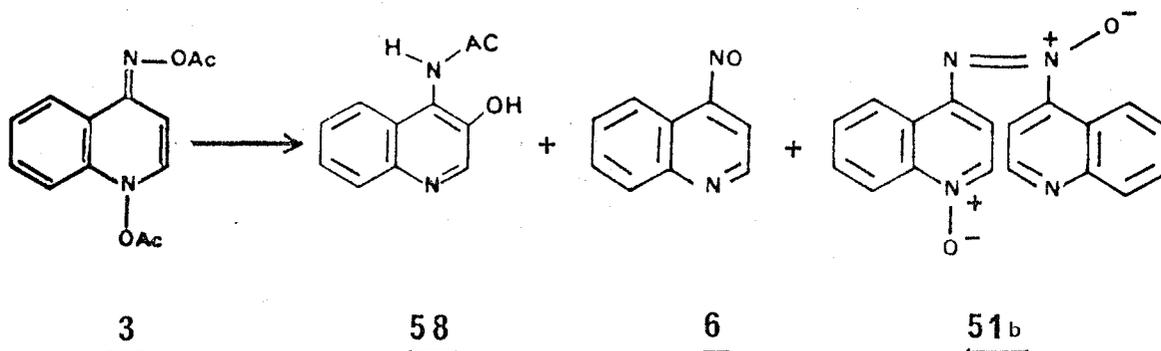
A côté de ce produit nous avons mis en évidence un produit très nettement minoritaire dont les caractéristiques spectrales et la polarité pourraient correspondre à un N-oxyde de l' amino-4 éthoxy-3 quino-
léine (même polarité en CCM; temps de rétention et rapport d'absorption à deux longueurs d'onde en CPLH voisins de ceux observés pour le dérivé méthoxylé 57).

De nombreux autres produits sont également formés dans la réaction mais ils n'ont pu être isolés ; on observe également la formation de dimères comme dans la réaction avec le méthanol.

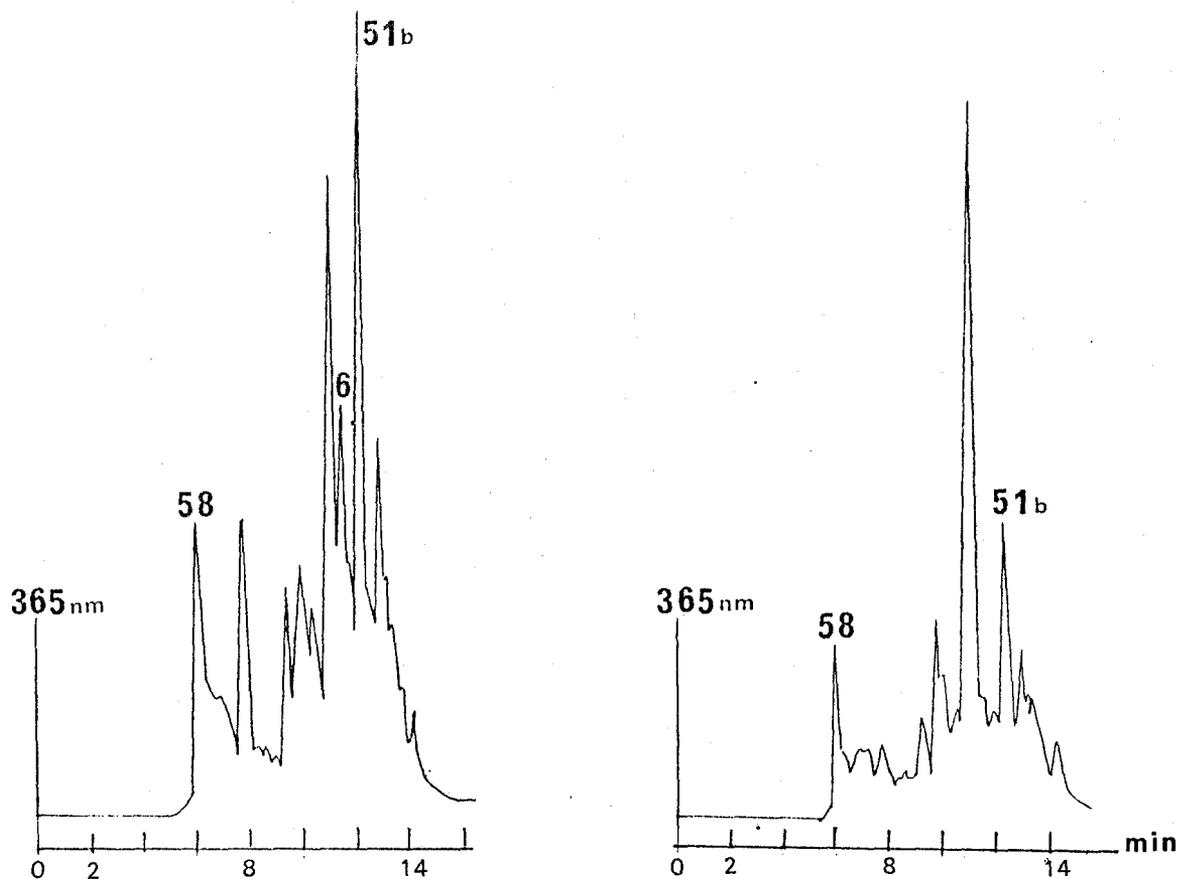
En conclusion, le produit 58 formé majoritairement lors de cette réaction se retrouve avec des pourcentages variables dans bon nombre de réactions du diacétate 3. Jusqu'à présent nous n'avons pas d'interprétation pour sa formation qui implique notamment la perte de la fonction N-oxyde. Cet aspect mécanistique sera discuté plus loin (p.87).

3. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LE TRIFLUOROETHANOL :
 Nitroso-4 quinoléine 6 ; acétylamino-4 hydroxy-3
 quinoléine 58 ; azo ou azoxyquinoléine 51b :

Le dérivé diacétylé 3 est dissous dans une solution de trifluoroéthanol ($12 \times 10^{-3} M$). La dilution ne semble pas influencer la réaction comme dans le cas du méthanol où la formation des dimères augmente avec la concentration. Le mélange réactionnel est complexe ; la solution est évaporée après la disparition totale du diacétate de départ 3 (24 heures). Si on n'arrête pas la réaction le mélange continue à évoluer au cours du temps.



Spectres de CLHP à $t = 5 \text{ mn}$ et $t = 21 \text{ h}$.



Spectres de CLHP à $t = 48 \text{ h}$ et $t = 8 \text{ jours}$.

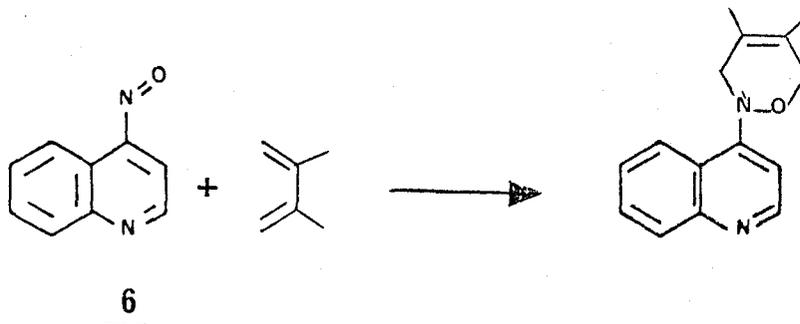
La séparation se fait sur colonne de silice. Trois composés ont pu être isolés et identifiés :

a) Nitroso-4 quinoléine 6 :

L'élution de la colonne par le chloroforme permet d'obtenir le produit instable qui disparaît au cours du temps. Sa structure a été établie par spectrométries de masse et de RMN. L'étude du spectre de masse montre un pic moléculaire à $M^+ = 158$ qui pourrait correspondre à la nitroso-4 quinoléine 6. On observe les mêmes coupures que celles obtenues à partir de la nitroso-4 quinoléine 6 de référence (synthèse décrite dans le chapitre précédent p.30).

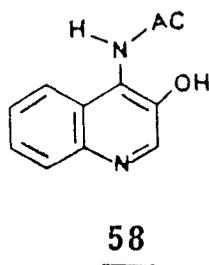
La comparaison du spectre de RMN dans le chloroforme deutérié avec celui de la nitroso-4 quinoléine 6 obtenue par synthèse (60) montre que les deux spectres sont superposables ; les deux doublets intégrant chacun pour un proton à 9,13 et 6,12 ppm sont attribués respectivement aux protons $C_2\text{-H}$ et $C_3\text{-H}$; les deux multiplets localisés à 9,70 et 8,30 ppm correspondraient respectivement au $C_5\text{-H}$ et $C_8\text{-H}$; on n'observe pas de signaux échangeables.

Une preuve supplémentaire vient à l'appui de cette structure ; nous savons que la nitroso-4 quinoléine 6 réagit avec le diméthyl-2,3 butadiène-1,4 (60), le produit dont la masse est de $M^+ = 158$ a été dissous dans le trifluoroéthanol en présence de butadiène et le mélange a été étudié par CLHP ; un nouveau signal apparaît sur le chromatogramme alors que le signal correspondant au produit de départ a disparu.



b) Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Le deuxième produit est isolé en très faible quantité. Ses caractéristiques en CCM, CLHP et son étude par spectrométrie de masse montrent qu'il est identique au produit 58 isolé dans la réaction du dérivé diacétylé 3 avec l'éthanol. Nous en concluons que ce produit possède la structure suivante :

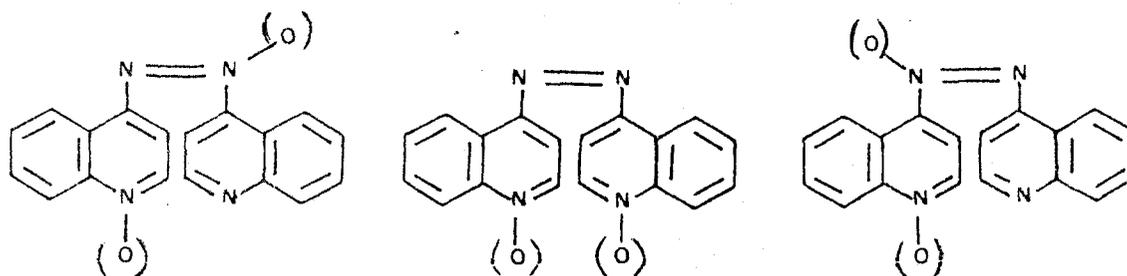


c) Azo ou azoxydiquinoléines 51b :

Un troisième produit a été isolé dans le trifluoroéthanol. Sa structure a été établie d'après l'étude par spectrométrie de masse.

Il s'agit d'un produit de masse moléculaire élevée résultant de la dimérisation de N-oxyde de quinoléine. Nous observons une série de pics $m/e = 316 (M^+)$; $300 (M^+ - 16)$; $284 (M^+ - 2 \times 16)$. Il y a perte de deux atomes d'oxygène. Les coupures à $m/e = 158 - 144 - 129$ sont caractéristiques des quinoléines.

Ces données correspondent à celles décrites dans la littérature pour des dimères de quinoléine (obtenus par traitement du 4-HAQO 2 en milieu basique (62)) auxquels les auteurs ont attribué les structures possibles suivantes :



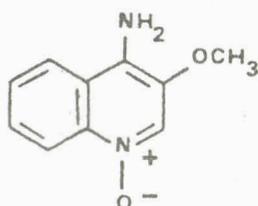
51b

Les autres produits formés dans le trifluoroéthanol n'ont pu être isolés en quantité suffisante pour en établir la structure.

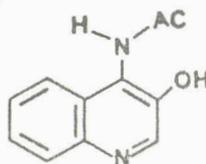
En conclusion : le trifluoroéthanol n'est pas un bon nucléophile ; nous n'avons pas identifié dans le milieu de produit de fixation du groupement trifluoroéthyle sur la quinoléine.

EN CONCLUSION la réaction du dérivé diacétylé 3 avec les alcools conduit à de nombreux produits. Parmi les composés isolés, on peut noter :

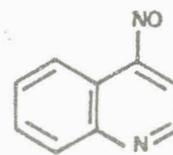
1. Des produits de fixation de l'alcool sur la quinoléine possédant encore une fonction N-oxyde 57.
2. Un produit de réarrangement ayant perdu la fonction N-oxyde : 58.
3. La nitroso-4 quinoléine 6.
4. Des dimères déjà connus dans lesquels les noyaux sont liés ou non au niveau des atomes de carbone C₃ : 51, 59.



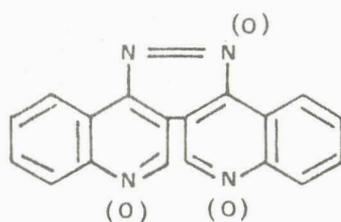
57



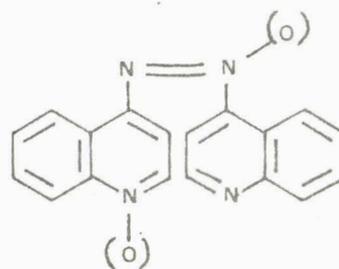
58



6



59



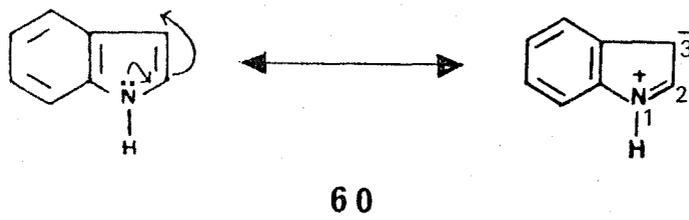
51b

Nous discuterons p.85 le mécanisme possible de ces réactions.

B. RÉACTIVITÉ AVEC LES INDOLES :

1. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LE METHYL-2 INDOLE 61
DANS LE METHANOL : N-oxyde de l' amino-4 (méthyl-2 indolyl)-3
quinoléine 62 :

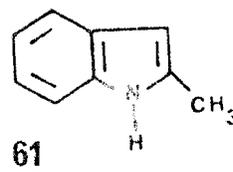
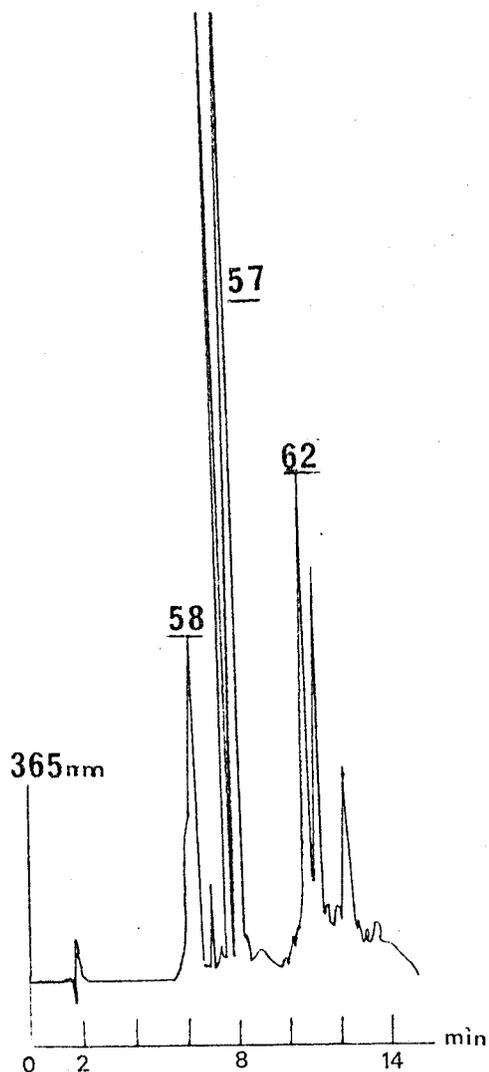
L'indole 60 est un bon nucléophile, ses propriétés chimiques fondamentales découlent essentiellement des structures mésomères suivantes:



La délocalisation de la paire d'électrons de l'azote hétérocyclique sur le système π accroît la densité électronique sur les atomes de carbone cycliques (particulièrement sur le carbone en position 3 qui va constituer le meilleur site pour la substitution électrophile). Ceci nous a amené à retenir ce système pour étudier sa réactivité avec le diacétate 3.

Cependant certaines réactions pouvant s'effectuer sur le carbone en position 2, nous avons choisi d'utiliser le méthyl-2 indole 61 plutôt que l'indole 60 lui-même.

La réactivité du dérivé diacétylé 3 vis-à-vis du méthyl-2 indole 61 a été étudiée dans trois solvants différents, le méthanol, l'éthanol et le trifluoroéthanol. Une réaction se produit dans les trois solvants, mais dans l'éthanol et le trifluoroéthanol le nombre de produits est beaucoup trop élevé pour que l'on puisse envisager une séparation. Par contre dans le méthanol la disparition du dérivé diacétylé 3 est rapide (trois jours à température ambiante et à l'obscurité) et les produits de réaction sont en quantité moindre. Toutes ces réactions ont été suivies par CLHP. On utilise des solutions diluées $1,9 \times 10^{-3} M$ afin de limiter les réactions secondaires.



Spectre de CLHP à t = 3 jours

(Le produit 61 n'absorbe pas à cette longueur d'onde).

La grande difficulté réside en la séparation des produits de réaction : seule une chromatographie sur colonne de silice utilisée sous basse-pression (Duramat) nous a permis de séparer les produits.

a) N-oxyde de l' amino-4 méthoxy-3 quinoléine 57 :

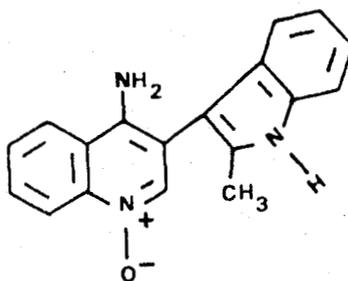
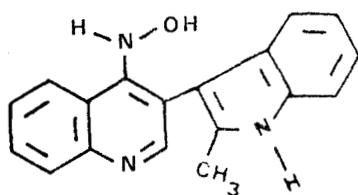
Comme prévu nous retrouvons ce produit de réaction du méthanol lui-même sur le diacétate 3. Il est formé avec un rendement voisin de 30% (voir p. 34).

b) N-oxyde de l' amino-4 (méthyl-2 indolyl)-3 quinoléine 62:

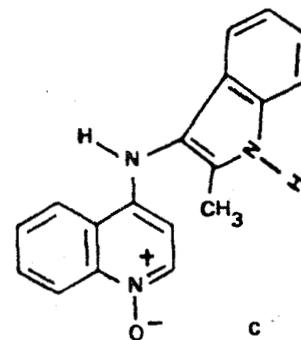
Ce produit isolé avec un rendement voisin de 20 % est une poudre jaune dont la structure a été élucidée grâce à la RMN 270 MHz et la spectrométrie de masse haute résolution.

Le spectre de masse révèle la présence d'un pic moléculaire à $M^+ = 289$ qui correspondrait à une amino-4 quinoléine mono-oxygénée condensée avec un méthyl-2 indole 61. La coupure à $m/e = 273$ ($M^+ - 16$) confirme la présence d'un oxygène ; la coupure $m/e = 130$ correspond au méthyl-2 indole 61 lui-même et les coupures 144-128 sont caractéristiques de l' amino-4 quinoléine 8.

Trois structures sont donc possibles :

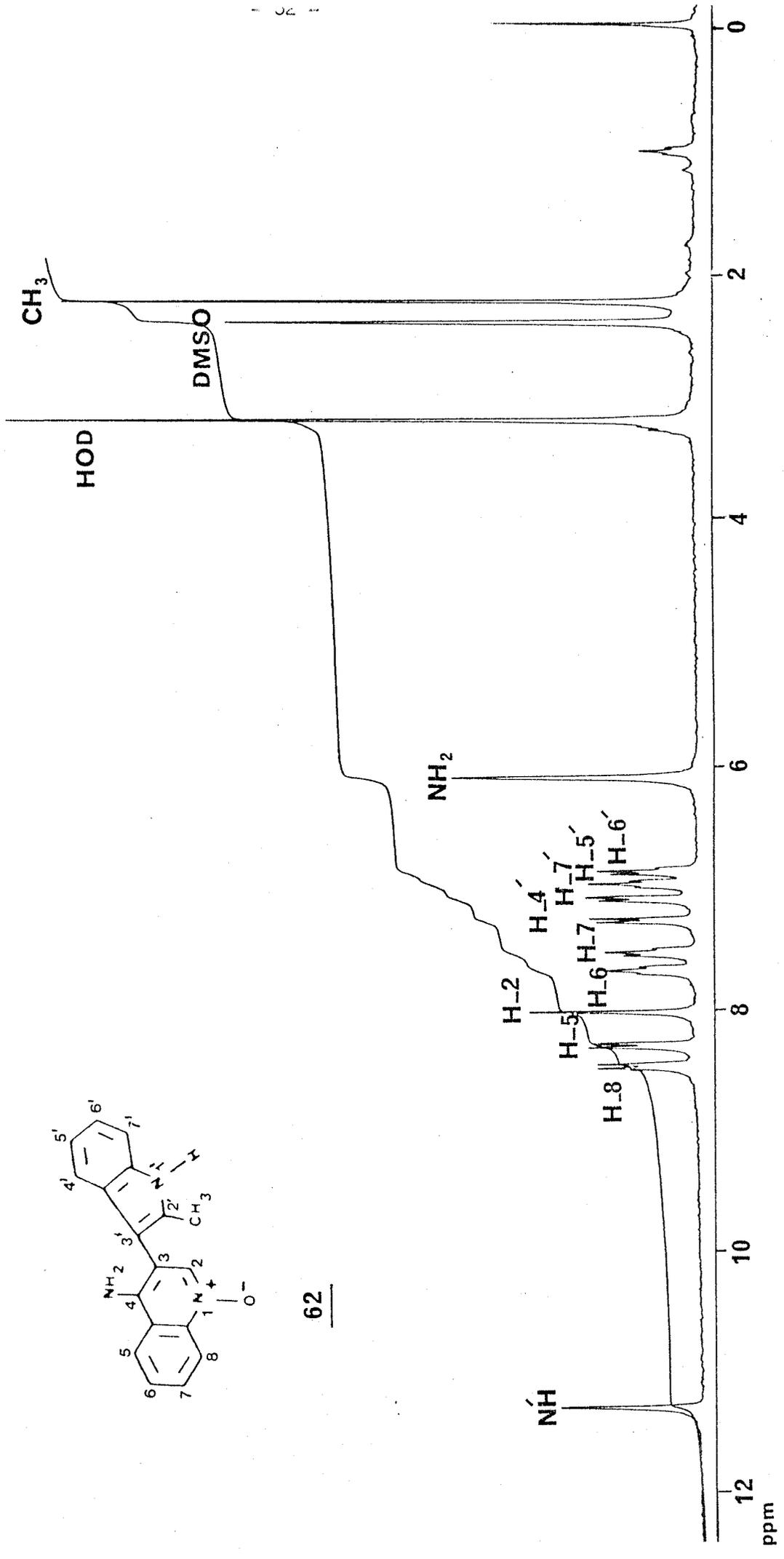


62





Spectre de RMN ^1H à 270 MHz du produit 62 dans le DMSO d_6

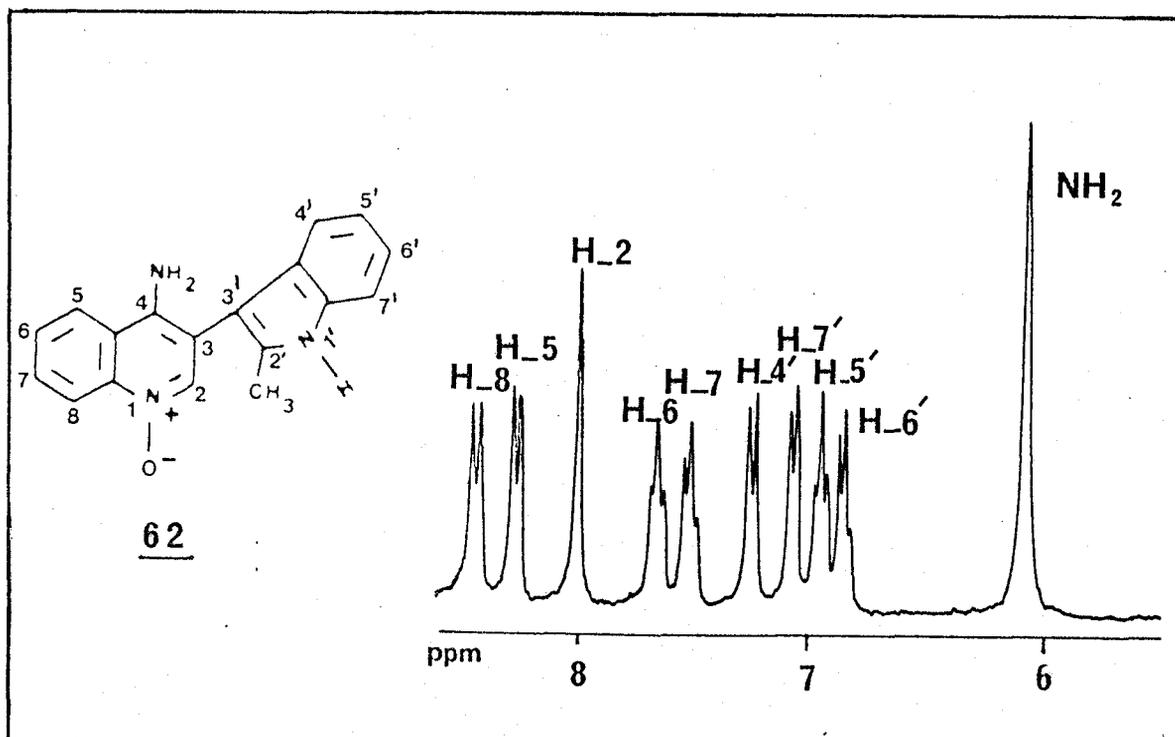


62

Le spectre de RMN à 270 MHz* mesuré dans le DMSO deutérié montre un singulet à 8,02 ppm intégrant pour un proton ; ce signal est caractéristique du proton en position 2 de la quinoléine. Nous avons noté la présence de deux signaux échangeables, à 6,11 et 11,3 ppm intégrant respectivement pour deux protons et un proton, que nous avons attribués aux fonctions NH_2 de la quinoléine et $\text{N}'\text{H}$ du méthyl-2 indole. Ces informations sont en faveur de la fixation du méthyl-2 indole, 61 sur le carbone 3 de la quinoléine.

La fonction méthyle du méthyl-2 indole résonne à 2,24 ppm sous forme d'un singulet intégrant pour trois protons. Les deux doublets à 8,46 et 8,28 ppm sont attribués au $\text{C}_8\text{-H}$ et $\text{C}_5\text{-H}$ et les deux triplets à 7,75 et 7,50 ppm au $\text{C}_7\text{-H}$ et $\text{C}_6\text{-H}$ de la quinoléine et ceci par comparaison avec le spectre du N-oxyde de l'amino-4 quinoléine 7 dans lequel nous trouvons les valeurs suivantes pour $\text{C}_8\text{-H}$ et $\text{C}_5\text{-H}$: 8,45 et 8,21 ppm et 7,70 - 7,50 ppm pour $\text{C}_7\text{-H}$ et $\text{C}_6\text{-H}$ (63).

Le reste du spectre comporte deux doublets à 7,28 et 7,11 ppm qui correspondraient au $\text{C}'_4\text{-H}$ et $\text{C}'_7\text{-H}$ de l'indole et deux triplets à 8,05 et 6,83 ppm que nous attribuons au $\text{C}'_5\text{-H}$ et $\text{C}'_6\text{-H}$. Ces valeurs sont très proches de celles des protons du méthyl-2 indole 61 lui-même dans le DMSO deutérié.



* Pour des raisons de simplicité nous avons conservé les numérotations généralement utilisées dans les séries de l'indole et de la quinoléine en affectant du signe "prime" les atomes du noyau indole.

On peut conclure que la structure la plus probable est la structure 62b correspondant à un N-oxyde de l' amino-4 (méthyl-2 indolyl)-3 quinoléine.

c) Un troisième produit a été isolé. C'est une poudre de couleur jaune vif qui a tendance à cristalliser.

Dans le spectre de masse de haute résolution on voit le pic moléculaire à $M^+ = 418$ avec une coupure $m/e = 402$ ($M^+ - 16$) qui pourrait correspondre à une amino-4 quinoléine ($M^+ = 144$) condensée avec deux molécules de méthyl-2 indole 61 (2×130). La coupure $m/e = 273$ correspondrait à la perte d'un méthyl-2 indole 61. La présence des coupures $m/e = 144$, 131, 128 sont caractéristiques de la quinoléine et la coupure $m/e = 130$ appartiendrait au méthyl-2 indole 61.

Ces données seraient en faveur d'une structure impliquant deux molécules de méthyl-2 indole fixées sur une amino-4 quinoléine mono-oxygénée. Nous ne pouvons pas préciser davantage la structure avec les résultats dont nous disposons actuellement.

Réaction du monoacétate 4 avec le méthyl-2 indole 61 :

Comme pour le N-oxyde de l' amino-4 méthoxy-3 quinoléine 57, nous avons envisagé la possibilité d'une réaction passant par l'intermédiaire du dérivé monoacétylé 4.

Nous avons donc ajouté au monoacétate 4 préparé in situ une solution méthanolique de méthyl-2 indole 61. Du milieu réactionnel très complexe nous avons pu extraire et caractériser le composé 62 à côté du dérivé méthoxylé 57. Le monoacétate 4 pourrait donc bien constituer un intermédiaire dans la formation de 62.

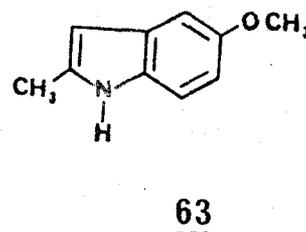
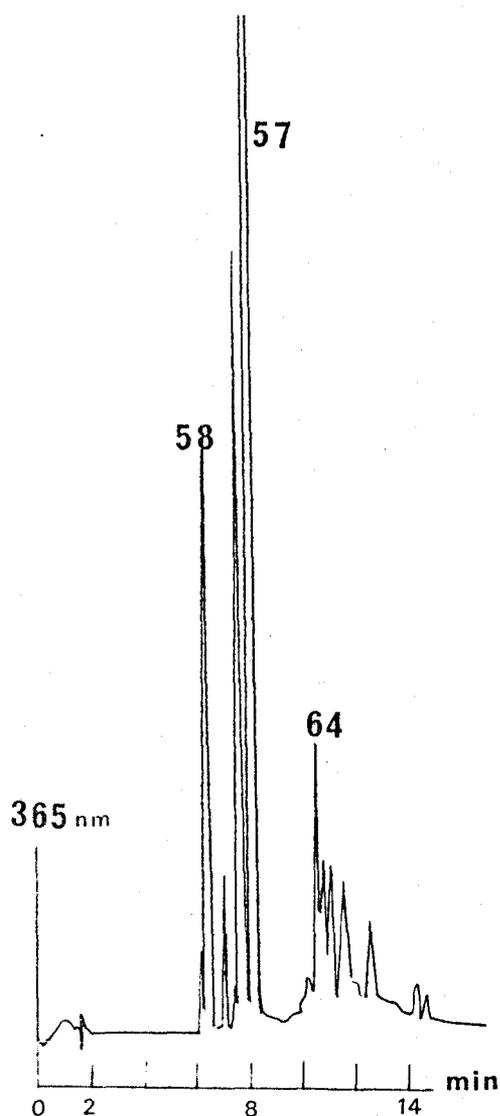
2. REACTION DU DERIVE DIACÉTYLE 3 AVEC LE METHOXY-5 METHYL-2 INDOLE 63 DANS LE METHANOL : N-oxyde de l' amino-4 (méthoxy-5 méthyl-2 indolyl)-3 quinoléine 64 :

Dans le but de généraliser la réaction nous avons choisi un indole substitué, le méthoxy-5 méthyl-2 indole 63.

Nous avons utilisé les mêmes conditions que celles employées pour la réaction du diacétate 3 avec le méthyl-2 indole 61 ($1,9 \times 10^{-3} M$).

Au bout de trois jours le milieu réactionnel est évaporé et séparé sur colonne.

La réaction est beaucoup plus complexe que dans le cas précédent.



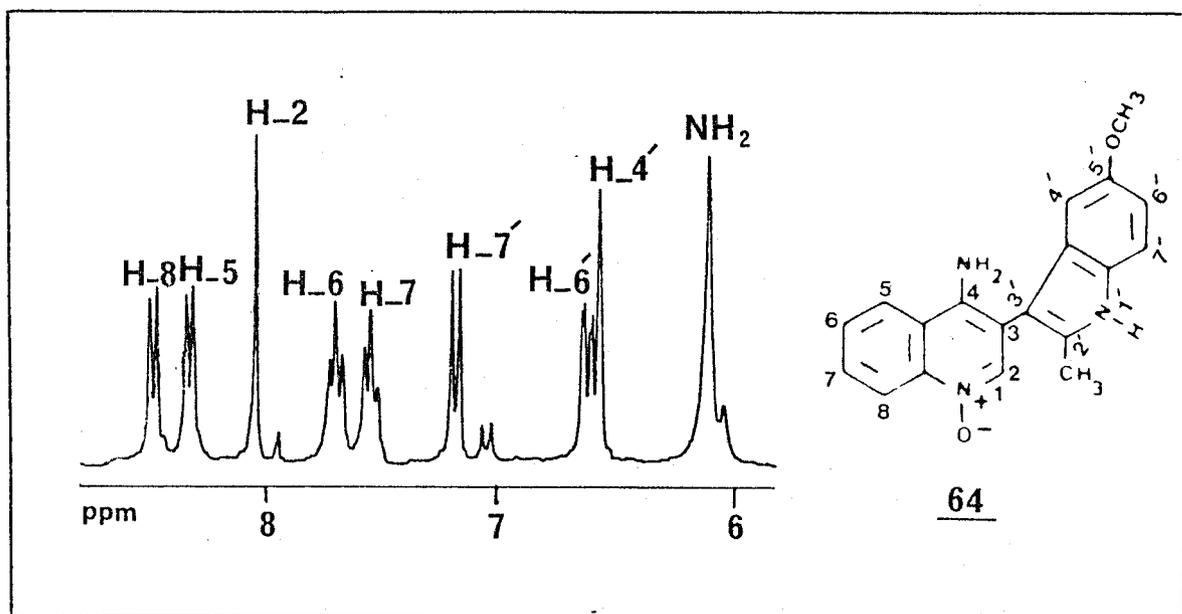
Spectre CLHP à $t = 3$ jours

(Le produit 63 n'absorbe pas à cette longueur d'onde).

Nous avons isolé et caractérisé un seul produit (5%) sous forme d'une poudre jaune. Son étude par spectrométrie de masse haute résolution montre un pic moléculaire à $M^+ = 319$ avec une coupure ($M^+ - 16$) ce qui suggère que le méthyl-2 méthoxy-5 indole 63 s'est fixé sur une amino-4 quinoléine mono-oxygénée comme dans le cas du méthyl-2 indole 61. Nous retrouvons par ailleurs la coupure $m/e = 273$ qui laisse penser que la molécule a perdu sa fonction oxygénée et méthoxylée.

Le spectre de RMN enregistré à 270 MHz rappelle celui du N-oxyde de l'amino-4(méthyl-2 indolyl)-3 quinoléine 62.

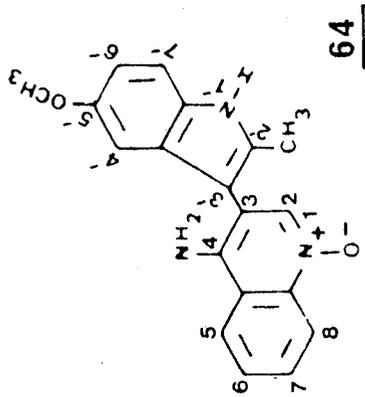
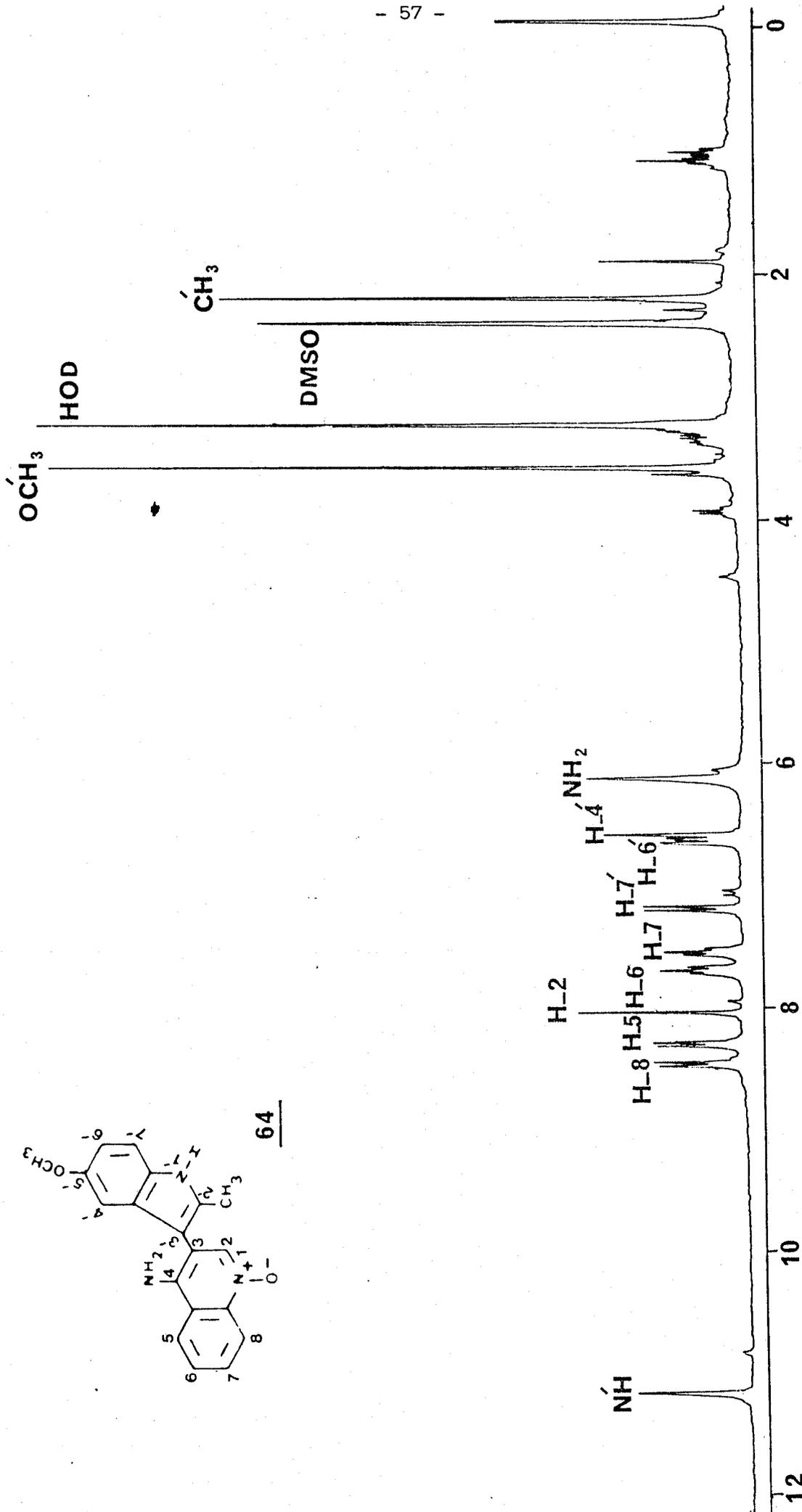
Seule la partie attribuée aux protons aromatiques du méthoxy-5 méthyl-2 indole 63 a subi des modifications. Nous avons maintenant un doublet, à 7,20 ppm intégrant pour un proton, qui correspond au C'_7-H , un singulet à 6,57 ppm intégrant pour un proton et que nous attribuons au C'_4-H ainsi qu'un multiplet à 6,63 ppm intégrant pour un proton et que nous attribuons au C'_6-H .



Les signaux qui correspondraient aux protons de la partie aromatique de la quinoléine sont présents entre 8,40 et 7,40 ppm.

Les deux signaux échangeables sont visibles à 11,15 et 6,13 ppm. Ces signaux sont superposables à ceux de 62, le produit de condensation du méthyl-2 indole 61 avec la quinoléine.

Les fonctions méthyle et méthoxy de l'indole résonnent sous la forme de deux singulets intégrant chacun pour trois protons à 2,18 et 3,59 ppm.

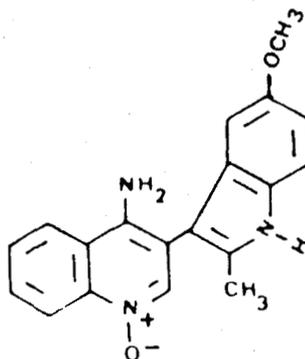


Spectre de RMN ¹H à 270 MHz du produit 64 dans le DMSO d₆



ppm

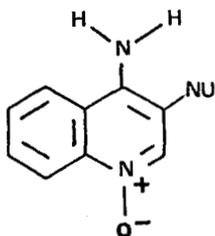
Nous proposons la structure suivante pour ce produit.



64

CONCLUSION :

De façon très comparable à ce qui est observé dans la réaction avec le méthanol, le diacétate 3, tout comme le monoacétate 4 réagissent avec les indoles pour conduire à un produit de substitution où le nucléophile - ici le noyau indole - est fixé sur l'atome de carbone C₃ de la quinoléine.



C. RÉACTIVITÉ AVEC LES BASES ET LES NUCLÉOSIDES :

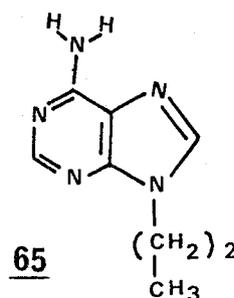
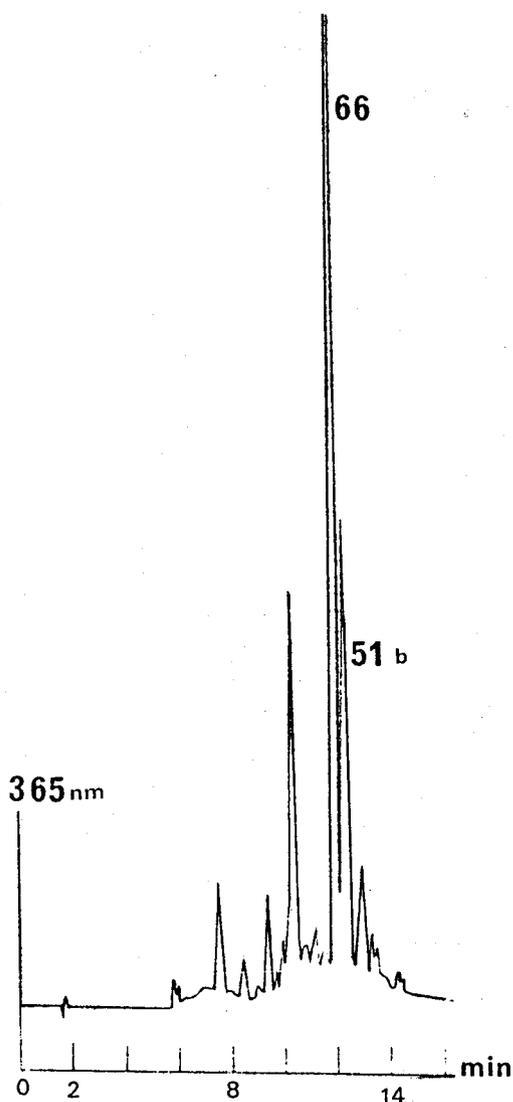
Un des buts essentiels de notre travail est l'étude de la fixation sur les bases nucléiques du dérivé diacétyle 3, en quantité suffisante pour faire les études physico-chimiques et étudier, si possible, le mécanisme de la réaction. Sachant que des adduits de la nitro-4 quinoléine 1 avec la guanine et l'adénine ont déjà été mis en évidence (56,57), nous nous sommes intéressés à ces 2 bases ; dans une première approche, nous avons utilisé la propyl-9 adénine 65 et la propyl-9 guanine. L'azote, en position 9, est bloqué par la fonction propyle par similitude avec les nucléosides. Notons que le dérivé propyle constitue une fonction plus simple que le ribose, et en plus elle rend ces dérivés plus solubles dans les solvants organiques que les nucléosides correspondants.

Nous avons étudié la réactivité de ces deux bases avec le diacétate 3 dans différents solvants tels que le méthanol, l'éthanol, le trifluoroéthanol, le mélange acétone-eau 8/2, le dioxane, l'acétonitrile et le diméthylformamide. Toutes ces réactions ont été suivies par CLHP.

La propyl-9 adénine 65 réagit avec le dérivé diacétylé 3 dans le trifluoroéthanol, nous étudierons cette réaction en détail plus loin. Par contre nous n'avons pas mis en évidence de produit de réaction entre la base et la quinoléine dans les autres solvants. La propyl-9 guanine ne semble réagir dans aucun de ces solvants ; la guanine étant une molécule cible affirmée du cancérigène, nous avons essayé de la faire réagir avec le dérivé monoacétylé 4 en espérant que la réaction soit plus favorable qu'avec le dérivé diacétylé 3. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de réaction propre. Nous nous sommes donc limités à ces expériences préliminaires dans cette série.

1. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LA PROPYL-9 ADENINE 65 : *
amino-12 quinolino[2',3':5,4], imidazo[1,2-i] propyl-3 purine 66:

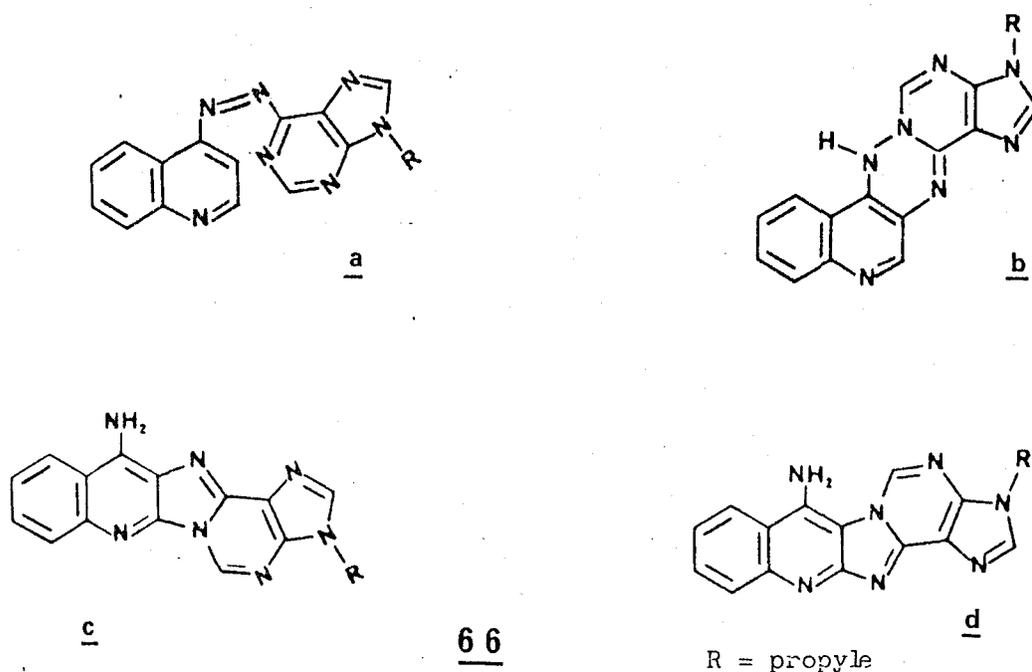
Le diacétate 3 est dissous dans le trifluoroéthanol ($19 \times 10^{-3} M$), on ajoute ensuite la propyl-9 adénine 65. La réaction est suivie par CLHP.



Spectre CLHP à t = 24 h

* La nomenclature systématique conduit à désigner le composé 66 comme indiqué, néanmoins dans l'analyse du spectre de RMN nous considérerons la molécule comme étant constituée du noyau de la quinoléine et de l'adénine. Nous utiliserons la numérotation usuelle de ces systèmes en affectant des signe "prime" les atomes de l'adénine.

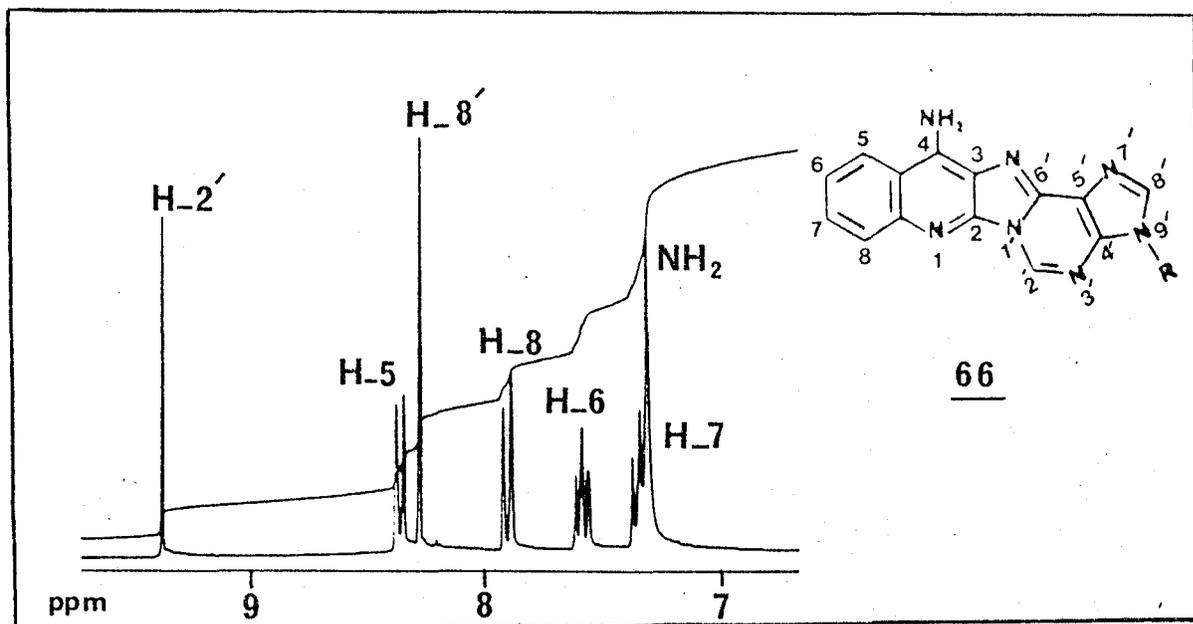
à ces exigences dont notamment les 4 suivantes :

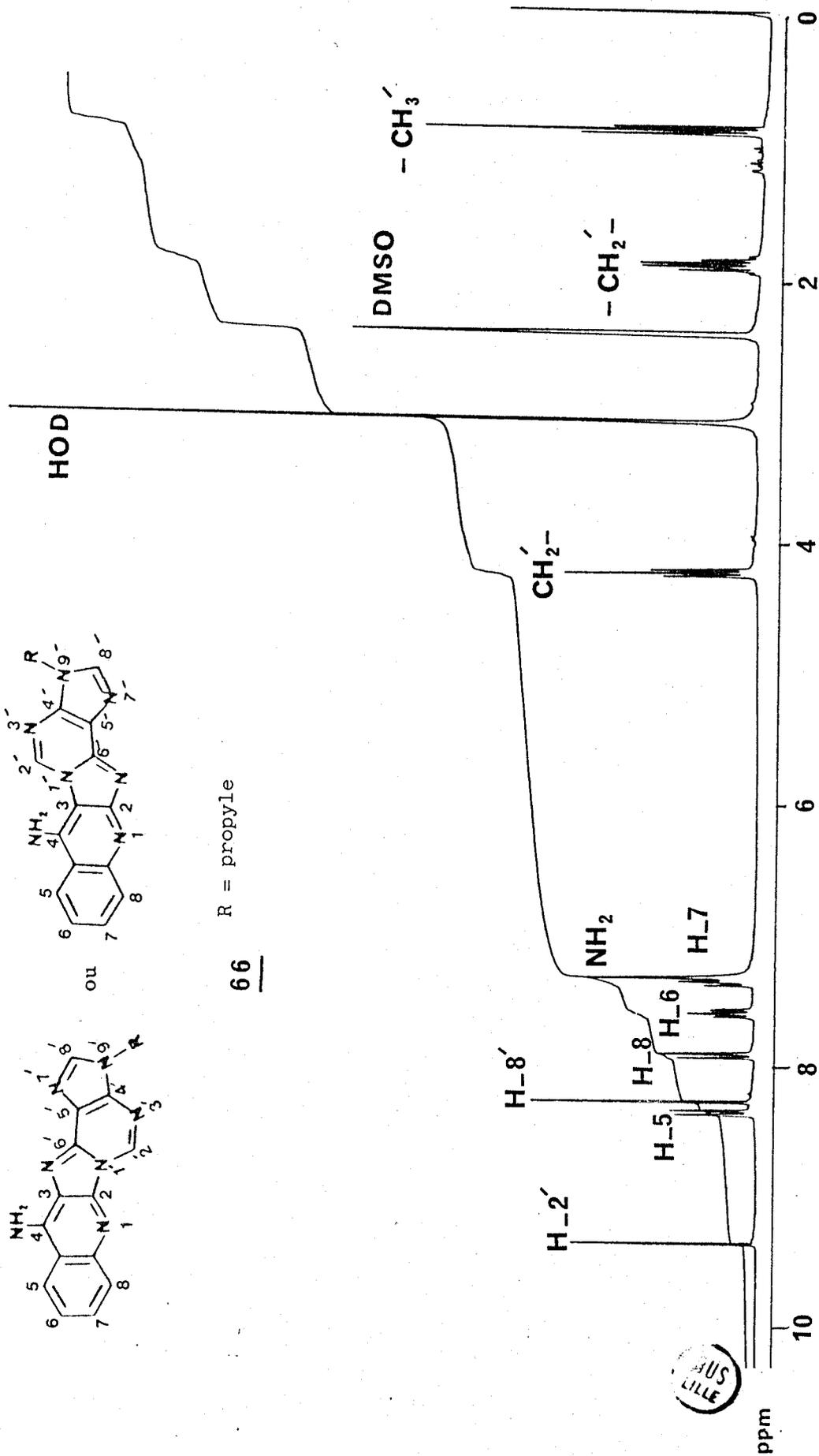


Le spectre de RMN mesuré à 270 MHz dans le DMSO à 60°C (afin d'augmenter la solubilité du produit et la résolution du spectre) limite les structures possibles aux deux suivantes 66c et 66d.

Les signaux correspondant aux protons de la chaîne propyle (4,24 ppm, 1,88 ppm, 0,86 ppm) confirment la présence de la propyl-9 adénine 65 dans la molécule.

Les deux hydrogènes de l'adénine en position 2' et 8' sont visibles sous la forme de deux singulets, intégrant chacun pour un proton à 9,37 et 8,27 ppm (le pic à 8,27 a pu être attribué de manière non ambiguë à l'hydrogène porté par le carbone C'8, par la réaction d'échange décrite (p. 65)).

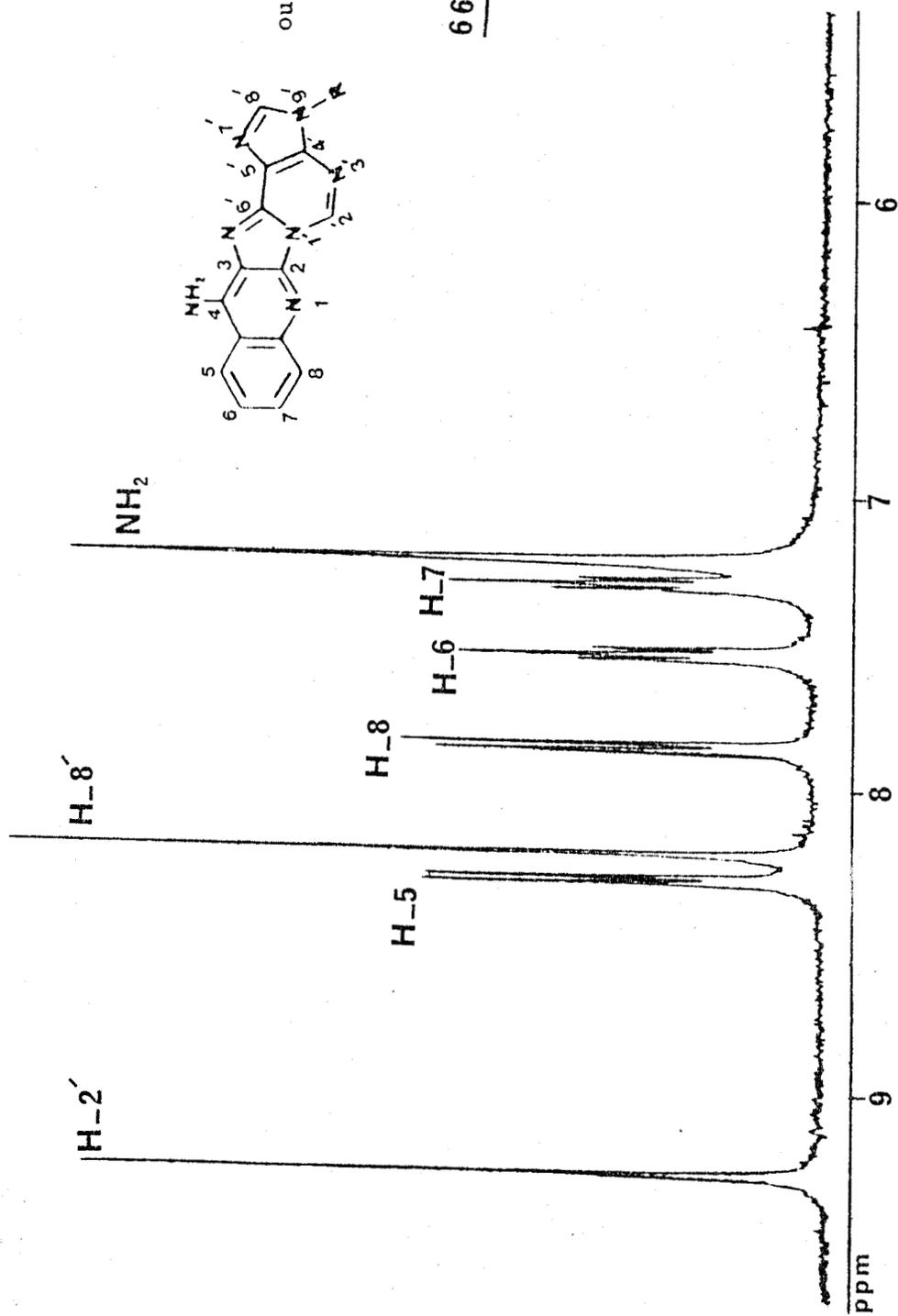




66 R = propyle

Spectre de RMN ^1H à 270 MHz du produit **66** dans le $\text{DMSO } d_6$ (à 60°C)





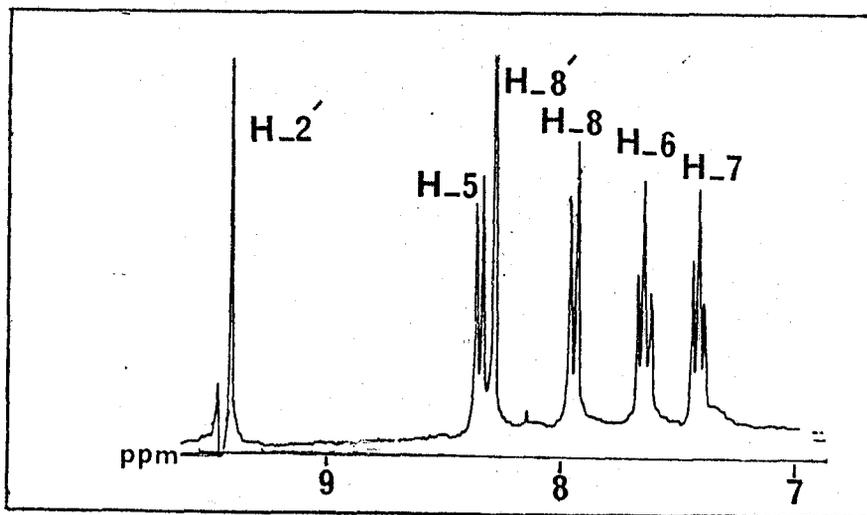
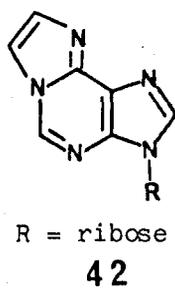
R = propyle

66

Spectre de RMN ¹H à 400 MHz (région des protons aromatiques)
du produit 66 dans le DMSO d₆ à 60°C.



Ces deux protons, qui conduisent à un signal dans le cas de la propyl-9 adénine 65 substituée, sont séparés ici par 1,1 ppm. Des cas comparables sont rapportés dans la littérature. LEONARD et Coll (64) on décrit des valeurs proches pour les hydrogènes en position 2 et 8* dans l'éthéno-adénosine 42 : 9,46 et 8,86 ppm (spectre mesuré dans l'eau lourde). Les atomes d'hydrogène 2 et 5 de l'éthéno-adénine méthylée en 9,40 (32) apparaissent à des valeurs de 9,53 et 8,60 ppm (spectre mesuré dans le DMSO-acé-
tone).



Les deux doublets à 8,36 et 7,91 ppm sont caractéristiques du C₅-H et C₈-H de la quinoléine. Le triplet à 7,58 ppm est attribué au C₆-H ou C₇-H de la même quinoléine. Le multiplet à 7,35 ppm intégrant pour 3 protons est simplifié après l'addition d'eau lourde, il ne subsiste qu'un triplet intégrant pour un proton probablement celui qui se trouve en position 7 ou 6.

La partie échangeable correspondrait alors à une fonction NH₂. La structure a ne peut pas convenir car elle ne présente pas de fonction échangeable, on ne retrouve pas non plus dans le spectre de signaux correspondant à C₂-H ou C₃-H de la quinoléine. Les deux structures probables restent donc 66c ou 66d.

* La numérotation utilisée correspond à celle du cycle de l'adénine bien que la nomenclature systématique conduirait à numéroter ces positions respectivement 2 et 5.

Deutériation de la propyl-9 adénine 65.

Réaction avec le diacétate 3 :

Sachant que l'atome d'hydrogène en position 8 de l'adénine est susceptible de s'échanger avec l'eau lourde, il était intéressant de préparer un adduit quinoléine/propyl-9 adénine 66 qui serait deutérié en cette position. La comparaison du spectre de RMN de ce produit deutérié avec son analogue non deutérié permet d'attribuer de manière non ambiguë les pics dûs à C'_8-H et C'_2-H .

Nous avons traité la propyl-9 adénine 65 dans l'eau lourde à pH = 7 à une température voisine de 80°C en suivant la cinétique de l'échange H-D par spectrométrie de RMN : au départ le spectre de la propyl-9 adénine 65 montre un singulet unique à 7,36 ppm intégrant pour deux protons attribuables aux deux hydrogènes H_2 et H_8 . Après 7 heures de chauffage l'échange de l'hydrogène H_8 est totale, le pic observé intégre pour un seul proton.

La propyl-9 adénine 65' ainsi formée a été dissoute dans le trifluoroéthanol en présence du diacétate 3 ; le mode opératoire suivi est identique à celui utilisé lors de la réaction de la propyl-3 adénine 65 avec le diacétate 3. La séparation sur colonne de silice fournit une poudre jaune dont le spectre de masse haute résolution montre un pic moléculaire à $M^+ = 318$ (à comparer à une masse de 317 observée pour le composé 66).

L'étude du spectre de RMN indique la présence d'un singulet à 9,4 ppm alors que le singulet à 8,27 ppm a disparu. Le reste du spectre est identique à celui du produit 66 non deutérié, nous pouvons conclure que le singulet à 8,27 ppm qui a disparu correspond au C'_8-H .

Acétylamino-12 propyl-3 quinolino[2',3' : 5,4]imidazo [1,2-i]
purine 67 :

Pour apporter une confirmation à la structure proposée, nous avons tenté de préparer un dérivé acétylé 67 de la fonction amine en position 4 en traitant 66 par l'anhydride acétique dans l'acide acétique.

L'étude par CLHP et par CCM montre un produit nouveau que nous avons identifié par spectrométrie de masse. Le pic moléculaire $M^+ = 359$ correspond à la fixation d'une fonction acétyle. Nous retrouvons la coupure à $m/e = 317$ et toutes les autres coupures du produit non acétylé.

Le produit de départ 66 n'a cependant pas complètement réagi et nous n'avons pas réussi à purifier le produit acétylé pour l'étudier par RMN (par manque de produit).



R = propyle

67

Dans le but de préciser le mécanisme de formation du produit de fixation de la propyl-9 adénine 65 sur le cancérogène il était utile de savoir si la base réagit directement avec le diacétate 3 ou si un produit de décomposition est mis en jeu à un stade quelconque de la réaction : soit le dérivé monoacétylé 4 qui se formerait à partir du diacétate 3, soit la nitroso-4 quinoléine 6 qui se forme dans le trifluoroéthanol.

α) Réaction du dérivé monoacétylé 4 avec la propyl-9 adénine 65.

On ajoute au dérivé monoacétylé 4 la propyl-9 adénine 65 en solution dans le trifluoroéthanol et on suit l'évolution de la réaction par CLHP : à aucun moment n'apparaît le signal correspondant à l'adduit quinoléine-adénine 66.

β) Réaction de la nitroso-4 quinoléine 6 avec la propyl-9 adénine 65.

L'étude par CLHP de la réaction du dérivé diacétylé 3 dans le trifluoroéthanol montre que la nitroso-4 quinoléine 4 apparaît au début de la réaction puis disparaît au cours du temps.

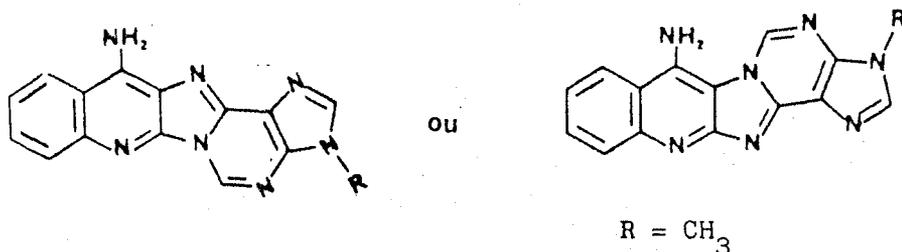
Nous avons fait réagir la nitroso-4 quinoléine 6 synthétisée au laboratoire (p.30) avec la propyl-9 adénine 65 dans le trifluoroéthanol et nous avons suivi la réaction par CLHP et par RMN. Le dérivé nitrosé 6 se décompose au cours du temps et les pics qui apparaissent dans le spectre ne correspondent pas à l'adduit quinoléine-adénine 66.

En conclusion : la réaction de la propyl-9 adénine 65 sur le diacétate 3 semble suivre un chemin différent de celui observé lors de la réaction du méthanol ou des indoles avec ce même dérivé 3.

On constate que la molécule 66 possédant la chaîne propyle ne cristallise pas . Nous avons été amenés à préparer le dérivé méthylé correspondant 68 pour étudier ses possibilités de cristallisation, dans l'espoir d'élucider définitivement la structure par radiocristallographie.

Nous avons répété la réaction dans les mêmes conditions que pour le dérivé 66 porteur de la chaîne propyle. La réaction est plus complexe, la séparation est plus difficile et le rendement nettement inférieur. Le produit obtenu possède bien la structure attendue comme l'indique notamment la spectrométrie de masse haute résolution. Le pic moléculaire

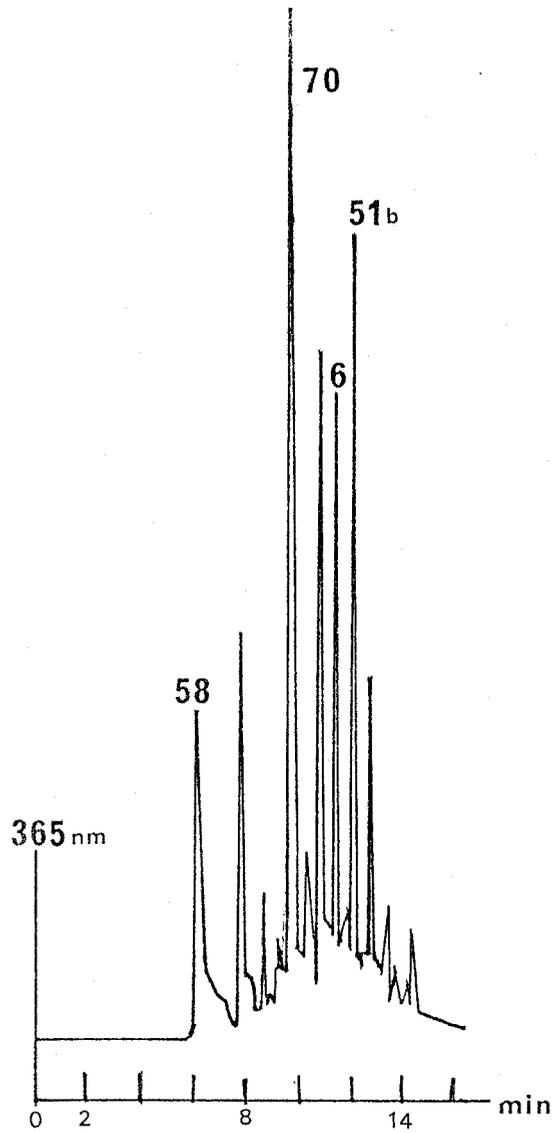
à $M^+ = 289$ correspond à la condensation de la méthyl-9 adénine 38 avec une amino-4 quinoléine 8 avec la formation de deux liaisons covalentes. Il s'avère que ce produit ne cristallise pas quelles que soient les conditions que nous avons utilisées. Nous n'avons pu exploiter plus avant ce produit.



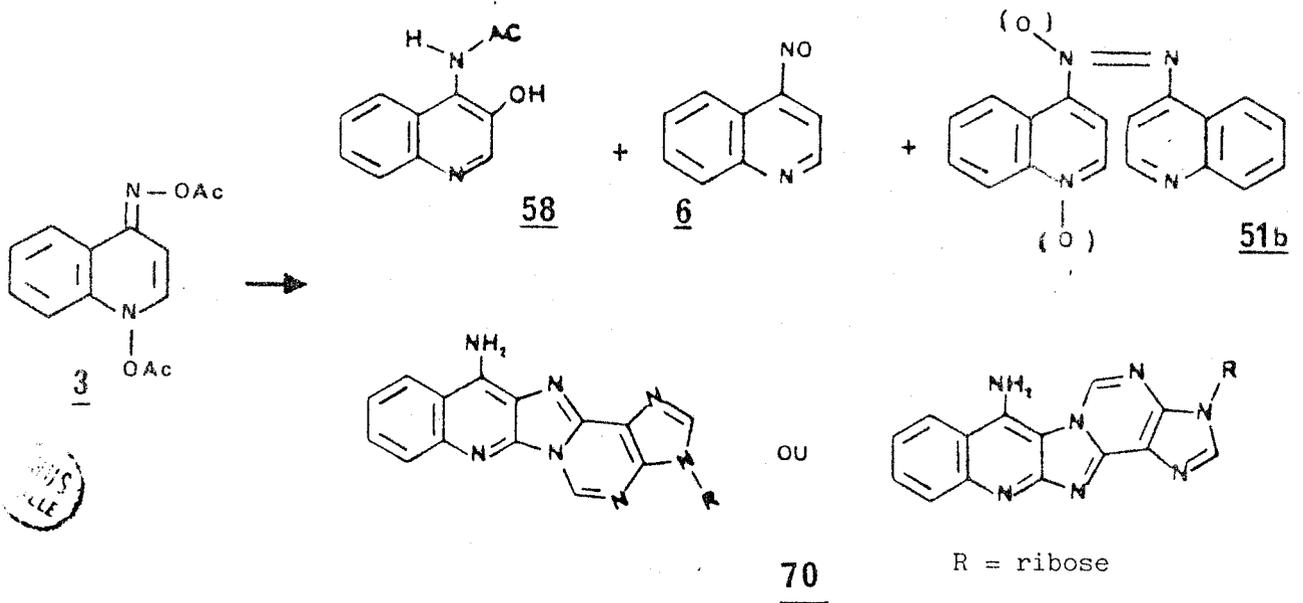
68

2. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC L'ADENOSINE 69 : amino-12 ribofuranosyl-3 quinolino [2',3' : 5,4] imidazo [1,2-i] purine 70 :

Nous nous sommes ensuite tournés vers l'étude de la réactivité du diacétate 3 avec l'adénosine 69. Se pose alors un problème de solubilité. La concentration maximale que l'on peut atteindre dans le trifluoroéthanol, en chauffant la solution à 30°C n'a pas dépassé 15×10^{-3} M. Le diacétate 3 est ajouté ensuite en quantité stoechiométrique. La réaction est suivie par CLHP, elle est complète au bout de 24 heures.



Spectre de CLHP à $t = 24$ h

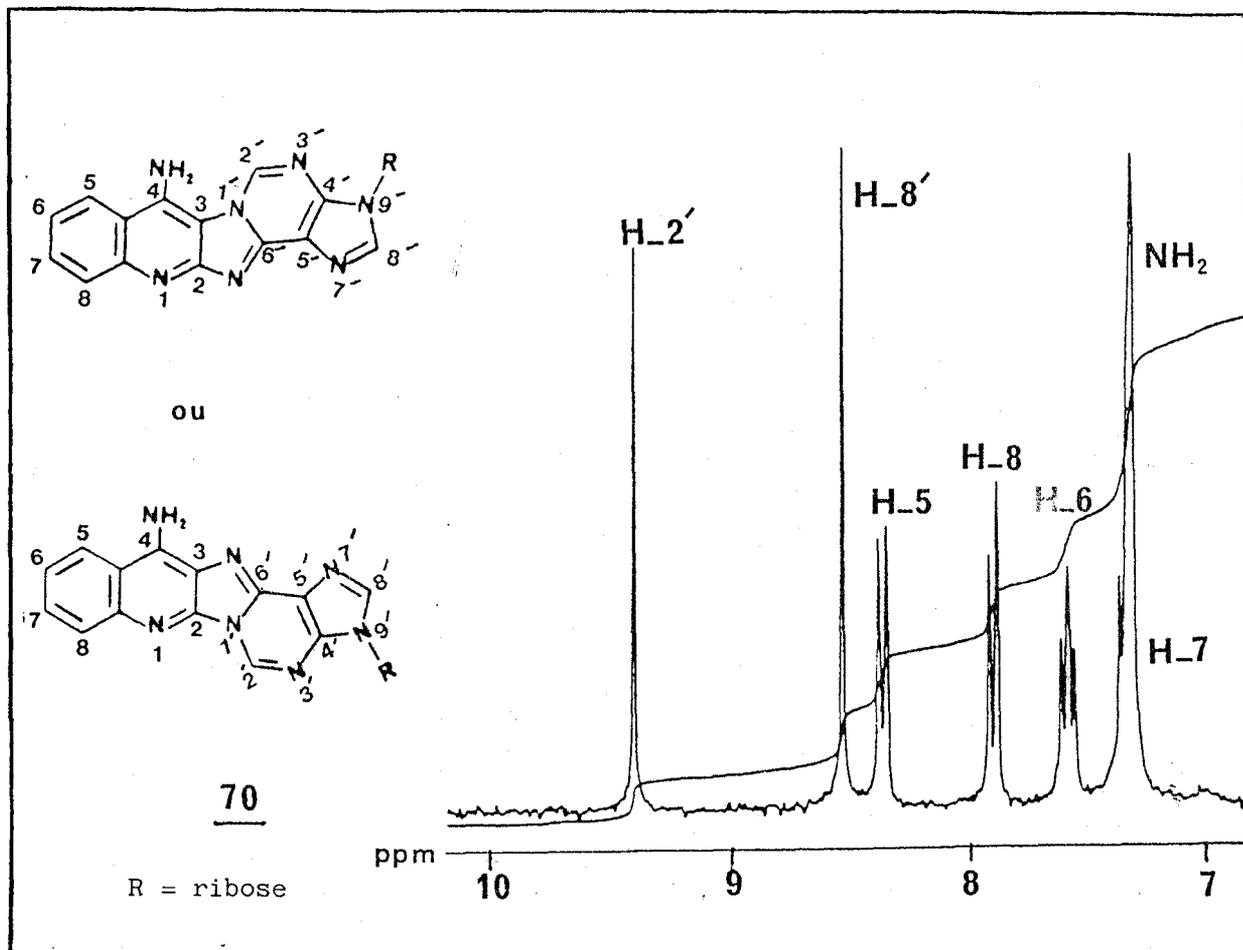


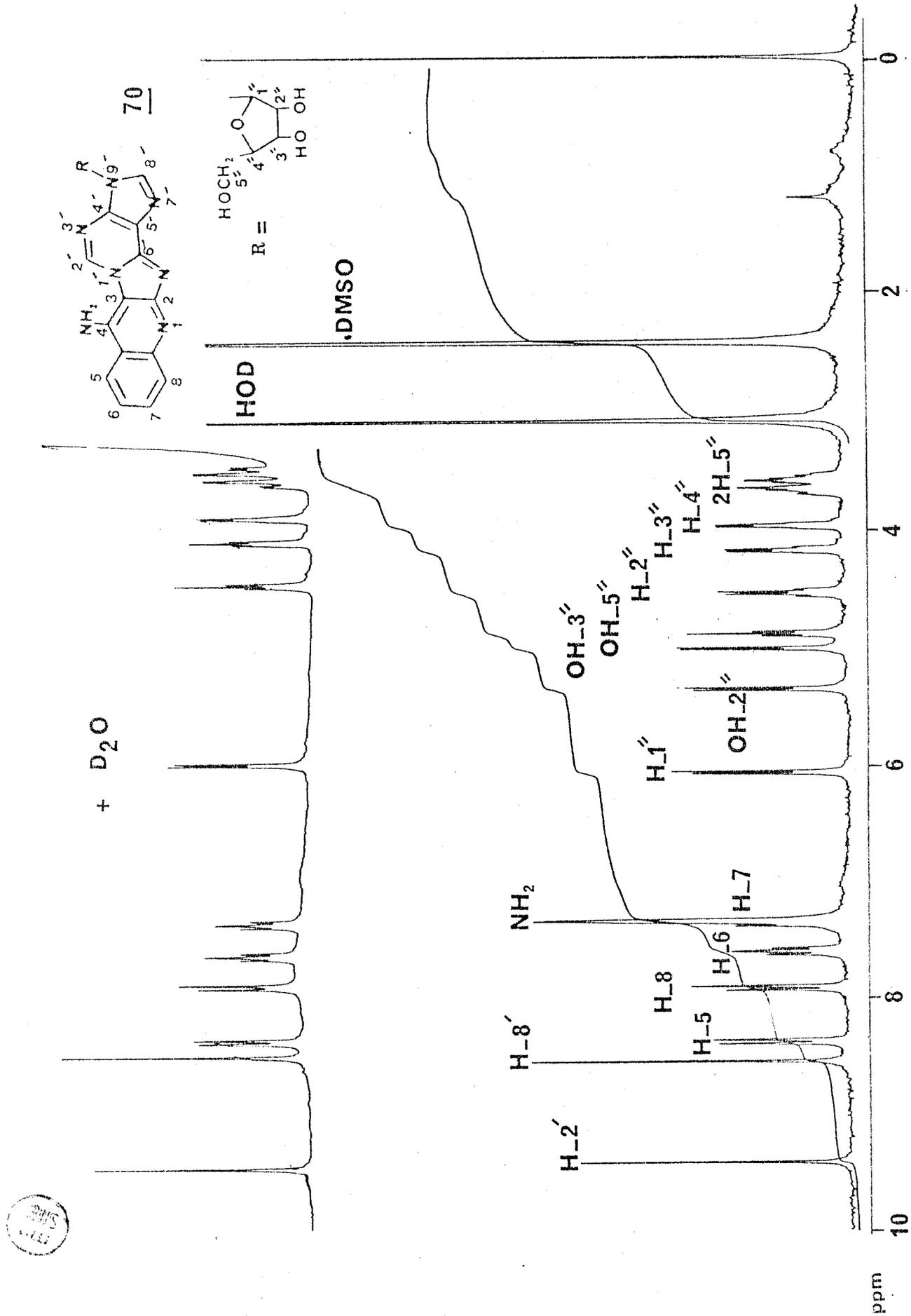
La séparation sur colonne de silice permet d'isoler 6, 58 et 51b. Outre ces trois produits connus (formés dans le trifluoroéthanol), nous avons séparé une fraction contenant un produit nouveau 70 et l'adénosine 69 n'ayant pas réagi.

Parmi les différentes techniques de séparation, que nous avons essayées seule la cristallisation fractionnée acétate d'éthyle-méthanol 6/4 nous a permis d'obtenir le produit pur. Notons que c'est un produit très peu soluble dans l'eau et les solvants organiques.

L'étude du spectre de masse haute résolution montre un pic moléculaire à $M^+ = 407$ qui correspondrait à la condensation d'une molécule d'adénosine 69 ($M^+ = 267$) avec une amino-4 quinoléine 8 ($M^+ = 144$) avec la formation de deux liaisons covalentes.

L'étude par spectrométrie de RMN à 270 MHz (en chauffant à 60°C pour dissoudre le produit) montre un spectre dont la partie correspondant à la quinoléine et à l'adénine est presque identique au spectre du produit de fixation de la propyl-9 adénine 66 ; seul le signal du proton en position C_8-H de l'adénine est déblindé du fait de la proximité du ribose.

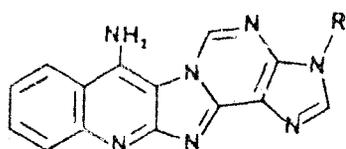




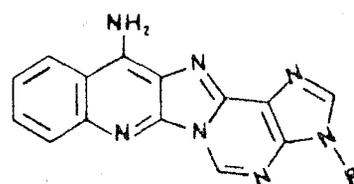
Spectre de RMN ¹H à 270 MHz du produit 70 dans le DMSO d₆ (à 60°C)

Les 3 fonctions hydroxyles et les 6 protons du ribose sont présents, leur valeur est en accord avec celle trouvée dans la littérature. Les 2 doublets échangeables à 5,34 et 5,00 ppm sont attribués respectivement à C''₂-OH et C''₃-OH, le triplet à 4,86 ppm également échangeable est attribué à C''₅-OH. Le doublet le plus déblindé à 6,05 ppm correspond au C''₁-H. Les protons en position C''₂-H ; C''₃-H et C''₄-H résonnent sous forme de 3 multiplets à 4,53 ; 4,16 ; et 3,95 ppm. Les deux multiplets à 3,64 et 3,57 ppm, correspondent aux deux protons de la fonction C''₅-H₂ du ribose.*

Nous pouvons conclure sans aucune ambiguïté que l'adénosine 69 réagit avec le cancérogène de la même manière que la propyl-9 adénine 65 pour donner un produit de structure comparable.



ou

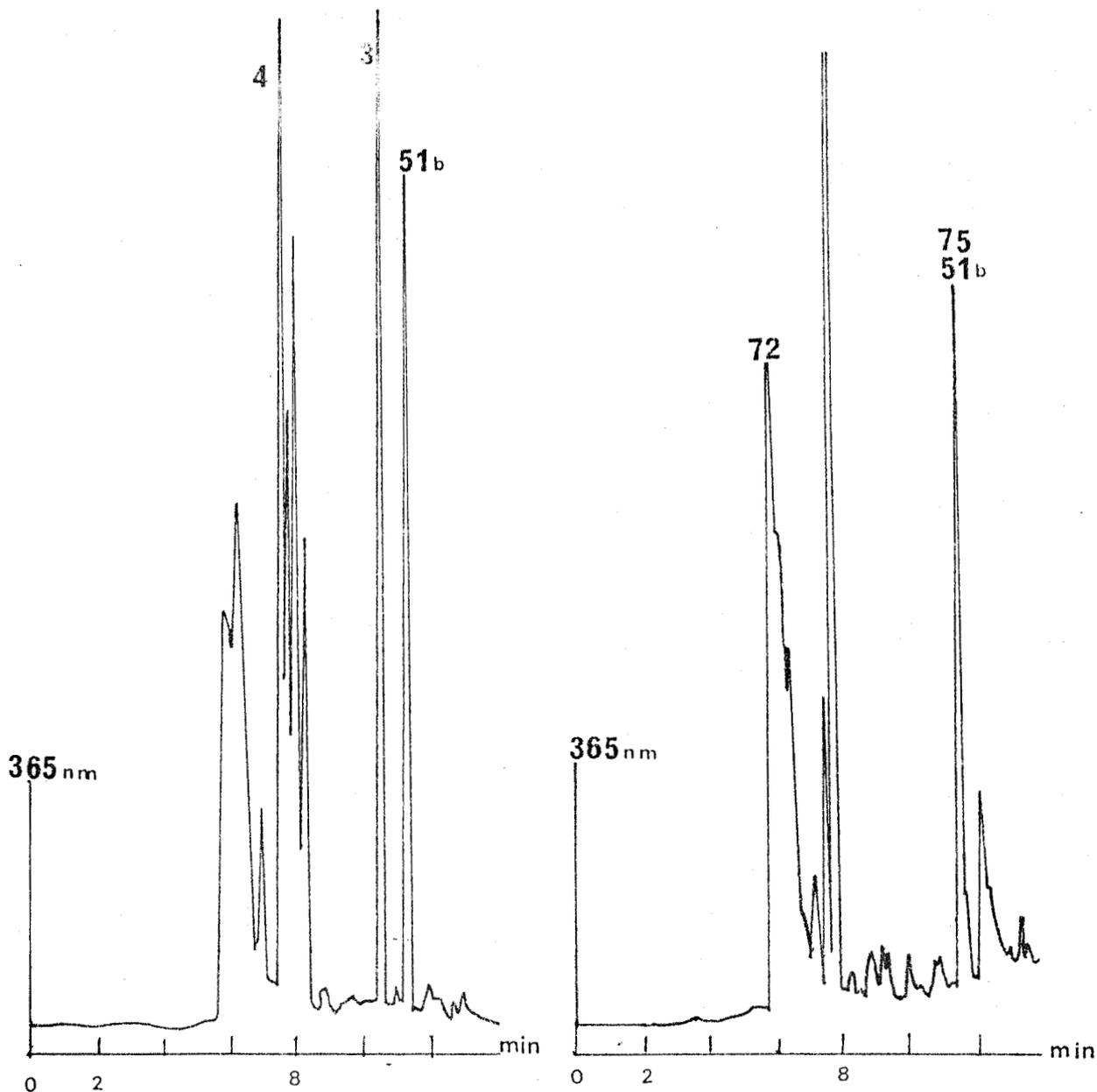


70

R = ribose

En résumé tous les dérivés de l'adénine étudiés réagissent de la même manière avec le diacétate 3. Les produits obtenus correspondent à une double attaque mettant en jeu les atomes d'azote nucléophiles 1 et 6. Toutes les données structurales des produits de réaction concordent mais elles ne permettent pas de choisir entre les deux types de structures

* Dans la numérotation utilisée pour décrire 70, les atomes de la partie adénine sont affectés du signe "prime" ceux du ribose du signe "second", ceux de la quinoléine ne portent pas d'indice.



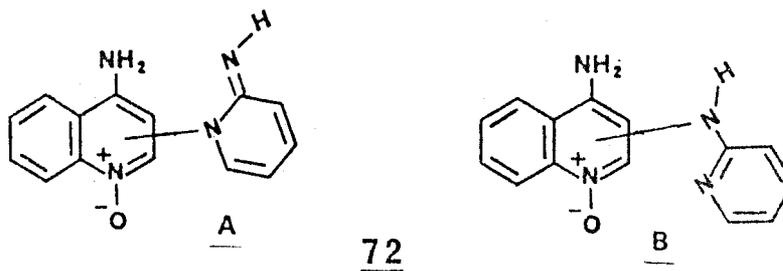
Spectre de CLHP à $t = 10\text{ mn}$ et $t = 5\text{ h}$.

Le produit majoritaire qui apparait, au début de la réaction, sur le spectre de CLHP est le dérivé monoacétylé 4. La réaction évolue rapidement et est terminée au bout de 5 heures. La séparation se fait sur gel de silice.

a) N-Oxyde de l'amino-4 (amino-2 pyridinyl)-3 quinoléine 72:

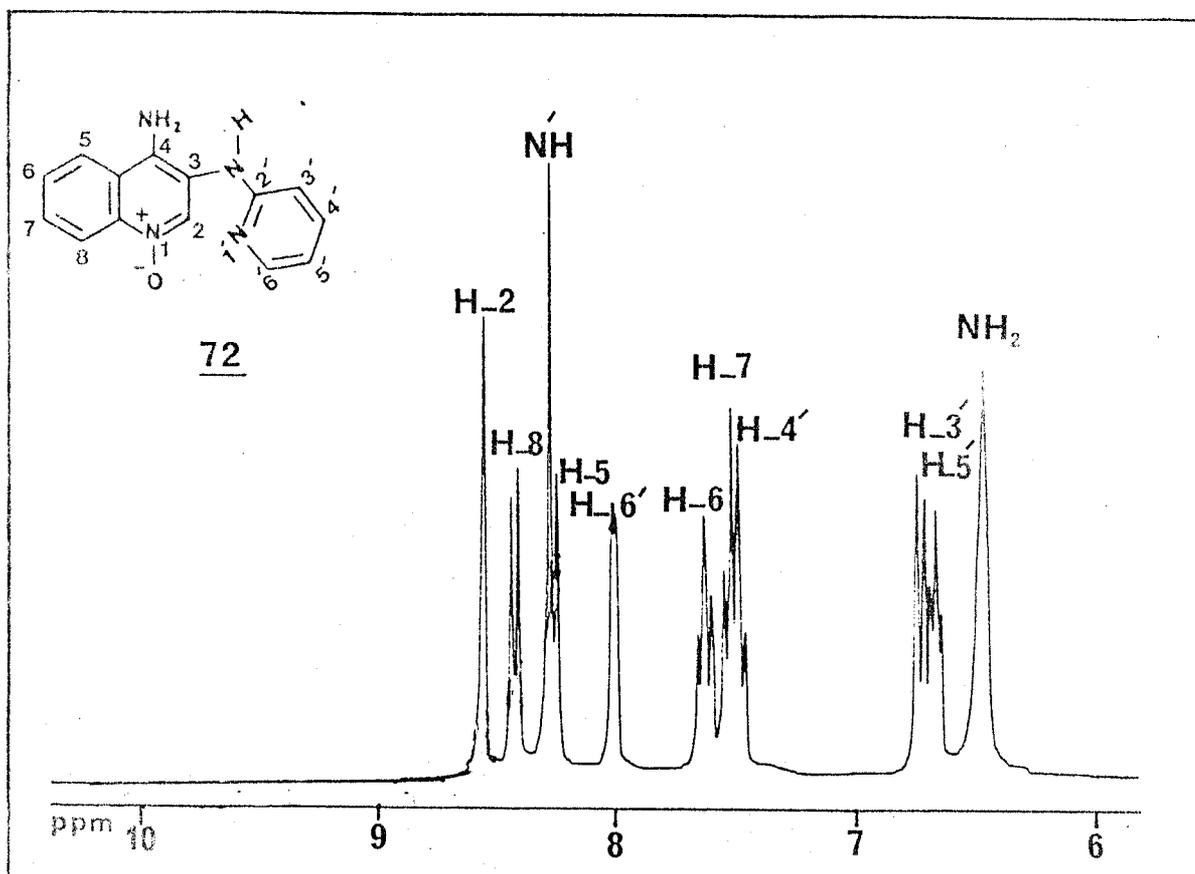
Une poudre jaune a été isolée. Son étude par spectrométrie de masse haute résolution montre un pic moléculaire à $M^+ = 252$ qui corres-

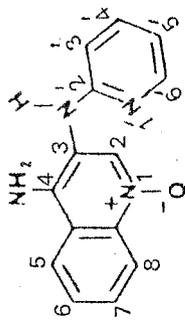
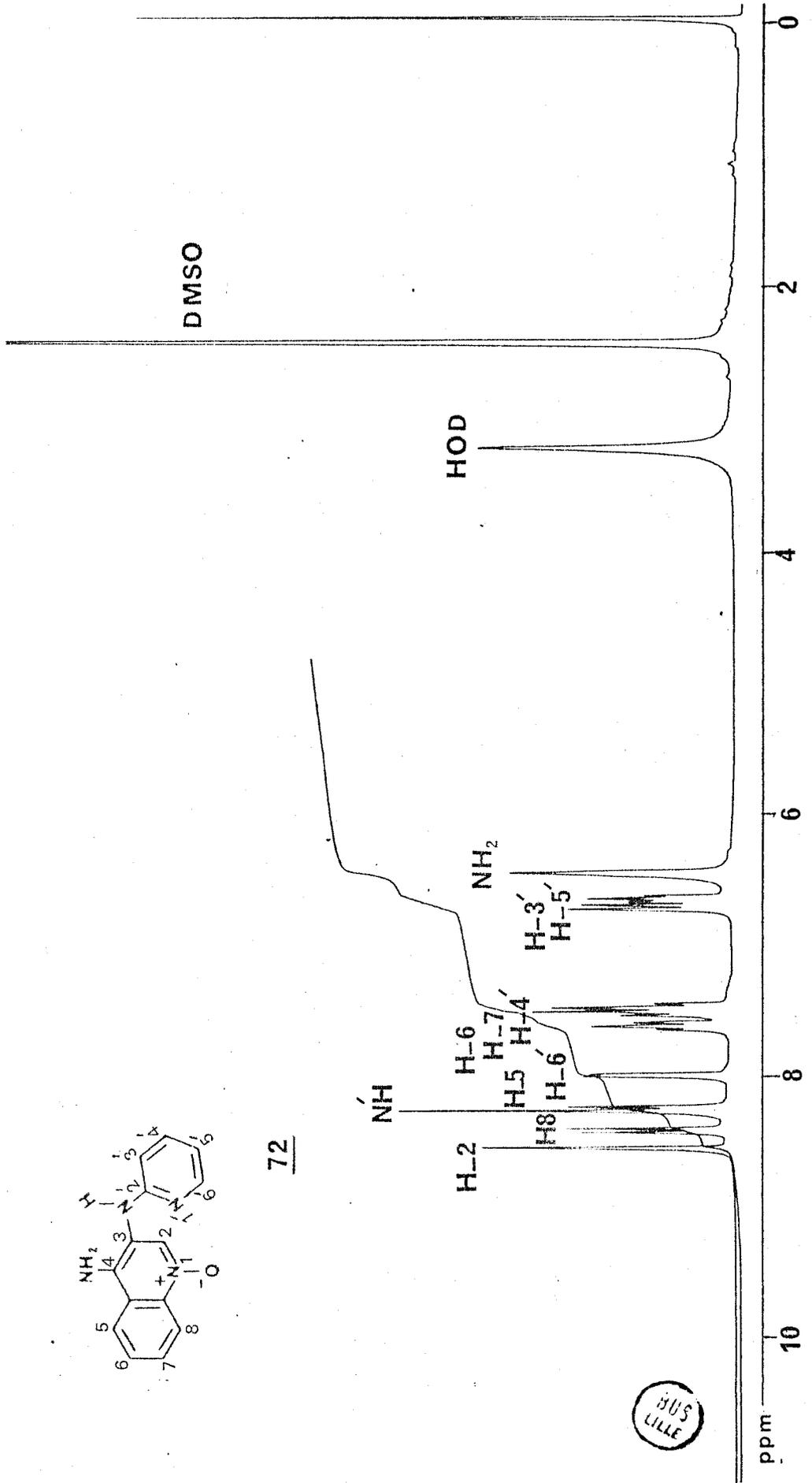
pond à la condensation d'une amino-2 pyridine 71 sur une amino-4 quinoléine mono-oxygénée. La coupure à $m/e = 236 (M^+ - 16)$ confirme la présence de l'oxygène sur la molécule. Ceci nous permet de proposer deux structures A et B.



Le spectre de RMN à 270 MHz nous a permis d'identifier ce produit et de lui attribuer la structure B. Le singulet à 8,55 ppm caractéristique du C_2-H est en faveur de la fixation de l' amino-2 pyridine sur le carbone en position 3 de la quinoléine.

Notons aussi la présence de deux signaux échangeables à 8,26 et 6,47 ppm, intégrant respectivement pour un et deux protons, que nous avons attribués au $N-H$ de la pyridine et à la fonction amine en 4 de la quinoléine.





72

Spectre de RMN ¹H à 270 MHz du produit 72 dans le DMSO d₆

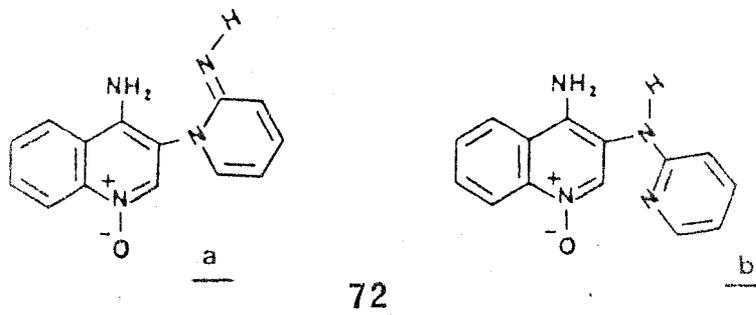
Les protons en position 8 et 5 de la quinoléine résonnent sous la forme de deux doublets à 8,42 et 8,22 ppm alors que le proton en position 6 résonne sous forme d'un triplet à 7,63 ppm. Le doublet à 6,73 ppm correspond au C'₃-H de la pyridine alors que le doublet déblindé à 8 ppm est attribué au C'₆-H en position par rapport à l'azote hétérocyclique.

La technique de l'irradiation nous a permis d'identifier les autres protons.

L'irradiation du triplet à 6,66 ppm entraîne la disparition du doublet correspondant au C'₆-H et la formation d'un singulet, ce triplet est donc attribué au C'₅-H.

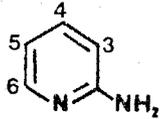
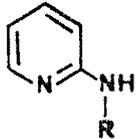
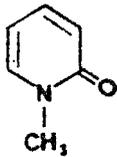
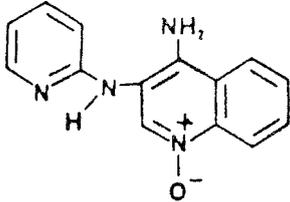
L'irradiation du C'₃-H et C'₅-H de la pyridine entraîne la modification du multiplet à 7,57-7,45 ppm intégrant pour deux protons, il est également modifié après l'irradiation du C₅-H et C₇-H de la quinoléine, ce multiplet est donc attribuable au C'₄-H de la pyridine et au C₇-H de la quinoléine.

D'après ces données spectroscopiques nous proposons deux structures a et b.



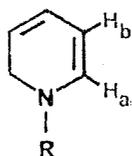
Les valeurs des déplacements chimiques des protons du produit 72 sont comparées avec ceux de l'amino-2 pyridine 71. Ils sont très peu différents. Seul N'-H du 72 est fortement déblindé : 8,26 ppm au lieu de 4,75 ppm.

Par ailleurs la valeur du déplacement du proton en position 6 est presque toujours la même dans le cas de l'amino-2 pyridine 71, de l'alkylamino-2 pyridine 73 et du produit 72 (8,09- 8,07 et 8,00 ppm) alors que ce proton est blindé dans le cas de la N-méthyl oxo-2 pyridine 74 (7,31 ppm).

	H ₃	H ₄	H ₅	H ₆
 <u>71</u> CDCl ₃ (65)	6,51	7,42	6,64	8,09
 <u>73</u> CDCl ₃ (66)	6,45	7,36	6,45	8,07
 <u>74</u> CDCl ₃ (67)	6,57	7,26	6,15	7,31
 <u>72</u> DMSO d ₆	6,73	7,45	6,66	8,00

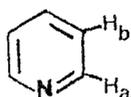
Comparaison des valeurs de déplacement chimique. (ppm)





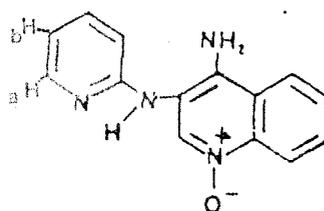
$$J_{ab} = 7 \text{ Hz} \quad (68)$$

$$J_{cd} = 8-10 \text{ Hz}$$



$$J_{ab} = 4-5,7 \text{ Hz}$$

$$J_{bc} = 7-9 \text{ Hz}$$



$$J_{ab} = 5 \text{ Hz}$$

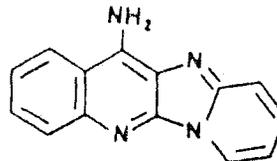
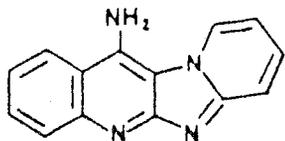
$$J_{cd} = 9 \text{ Hz}$$

Comparaison des valeurs de constantes de couplage.

Ces données sont en faveur d'une structure de type b plutôt que c. La comparaison des valeurs des constantes de couplage va dans le même sens : la faible valeur observée pour une des constantes égale à 5 Hz n'est compatible qu'avec une structure de type aminopyridine b.

b) Nous avons isolé un deuxième produit peu polaire et peu soluble (comme l'adduit avec l'adénine 66) dont l'étude en spectrométrie de masse montre un pic moléculaire à $M^+ = 234$ qui pourrait correspondre à la condensation de l' amino-2 pyridine 71 avec une amino-4 quino-léine 8 avec la formation de deux liaisons covalentes comme dans le cas de l'adduit avec l'adénine 66. Nous ne disposons pas actuellement de quantité suffisante de produit pour en faire l'étude par RMN.

La structure de ce produit est probablement identique à celle de l'adduit avec l'adénine 66.



75

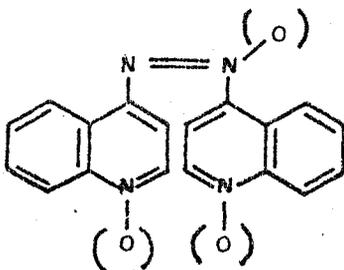
c) Azoxydiquinoléines 51c

Le troisième produit isolé se présente sous la forme d'une poudre rouge. La spectrométrie de masse montre un pic moléculaire $M^+ = 332$ correspondant à la condensation de deux quinoléines liées par leur fonction amine en 4 ; la molécule est trioxygénée. Les différentes coupures à $m/e = 316$, 300 et 284 correspondent à la perte successive des oxygènes.

Ce produit est assez soluble pour pouvoir se prêter à une étude par spectrométrie de RMN. Le spectre ne présente pas de signaux échangeables.

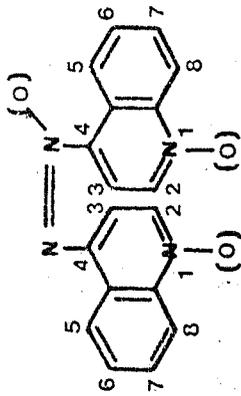
Le proton le plus déblindé à 9,03 ppm correspondrait au proton en position 5 proche de l'oxygène de la fonction azoxy les deux multiplets à 8,78-8,48 ppm et 7,97-7,75 ppm intégrant l'un 6 protons et l'autre pour 4 protons ainsi que le doublet à 8,25 intégrant pour 1 proton sont attribués aux autres protons des deux quinoléines.

L'absence de signaux échangeables et le nombre de protons sont en accord avec la structure d'une bisquinoléine liées par un pont diazo.

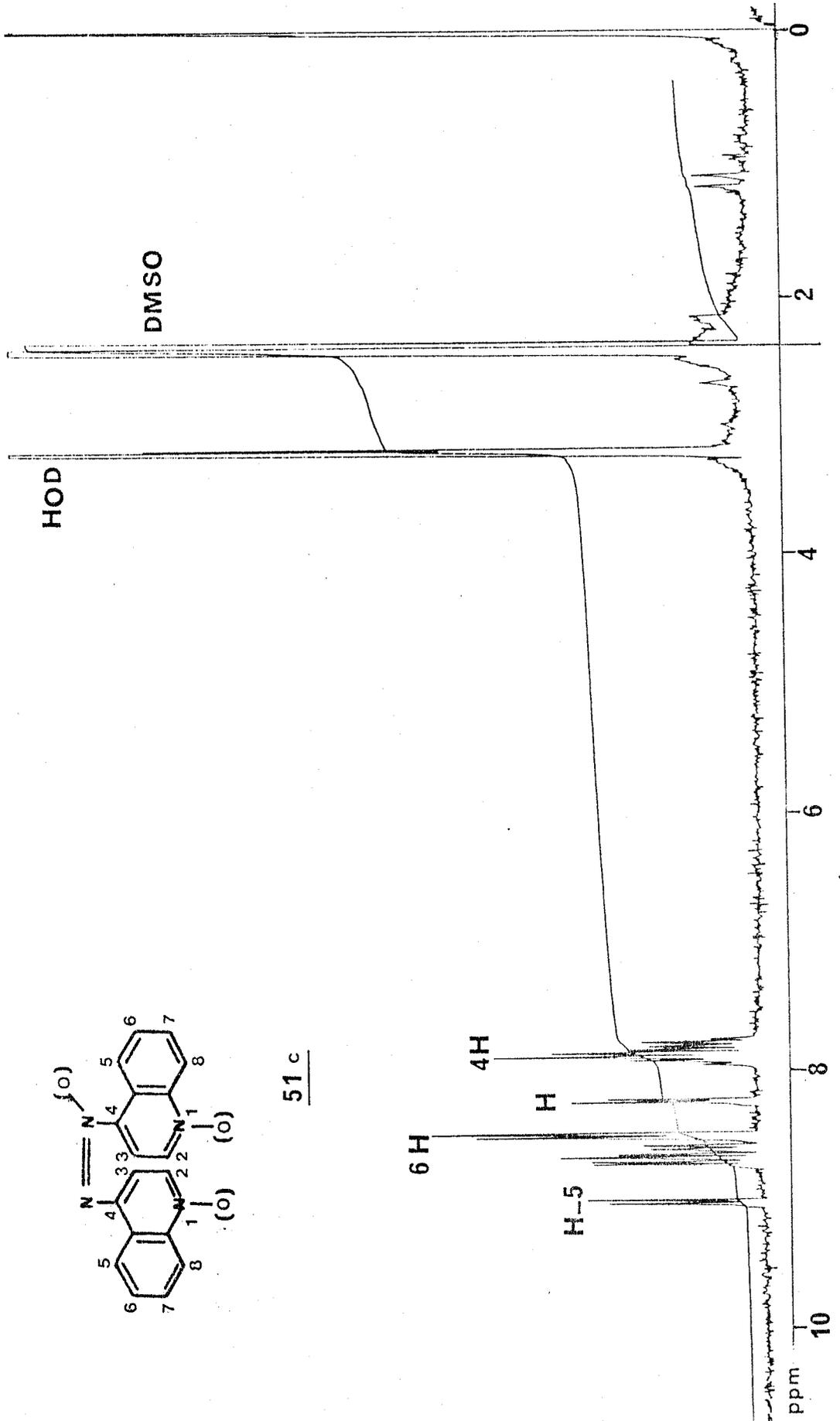


51c

51c



51c



Spectre de RMN ¹H à 270 MHz du produit 51c dans le DMSO d₆

Remarquons que cette structure a été proposée par divers auteurs pour l'un des nombreux dimères obtenus par traitement du 4-HAQO 2 en milieu basique ou par la liqueur de Fehling, mais aucune description précise en RMN notamment n'est rapportée (62).

C O N C L U S I O N

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

Nous avons examiné le comportement du diacétate 3 dans diverses conditions réactionnelles. Dans tous les cas un certain nombre de produits de réaction ont été isolés et caractérisés. Toutefois, en raison essentiellement de l'instabilité du produit de départ et de certains produits de réaction (par exemple le monoacétate 4 ou la nitrosoquinoléine 6) nous ne pouvons jamais établir un bilan global de réaction qui rende compte de la totalité du produit mis en jeu^{*}. Ceci constitue une limitation pour proposer des mécanismes réactionnels qui permettent d'interpréter les observations faites. Rappelons à ce propos que la littérature fournit très peu de données sur la réactivité du composé 3, hormis le mention de sa grande instabilité : thermique, à la lumière et à l'air, conduisant à la libération spontanée d'acide acétique, ce qui avait été interprété par des ruptures homolytiques au niveau des liaisons N-O des deux fonctions acétate (46).

Au cours de ce travail, nous avons montré que selon les conditions réactionnelles utilisées, le diacétate 3 peut-être le siège de réaction très variées (tableau 1). Très schématiquement, on peut les classer en deux catégories :

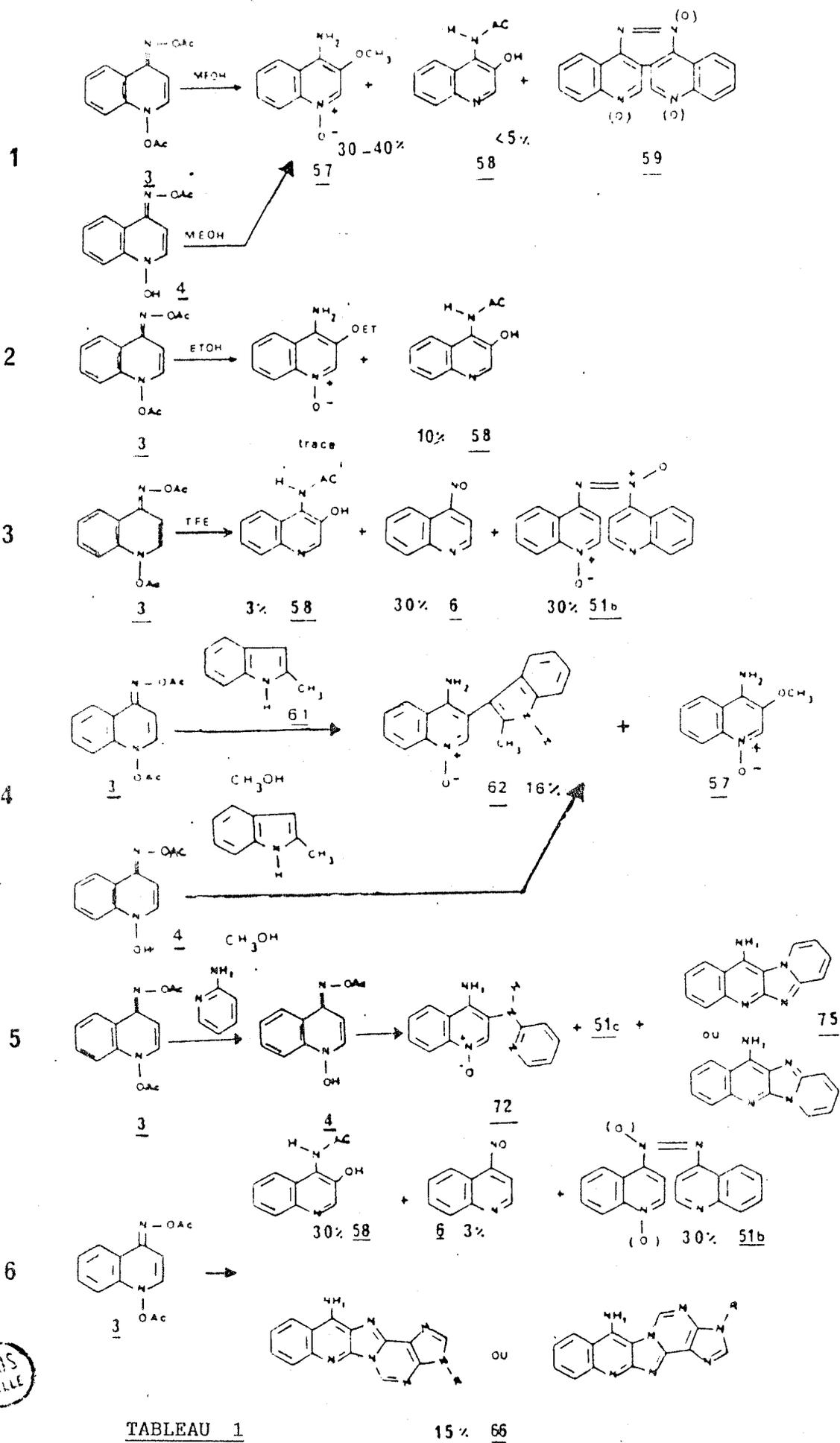
- Celles qui se font par l'intermédiaire du monoacétate 4.
- Celles qui ont lieu directement sur 3.

S'ajoutent à ces réactions celles qui sont moins sélectives et relèvent de l'instabilité générale du produit (par exemple, la formation des divers types de dimères de quinoléine).

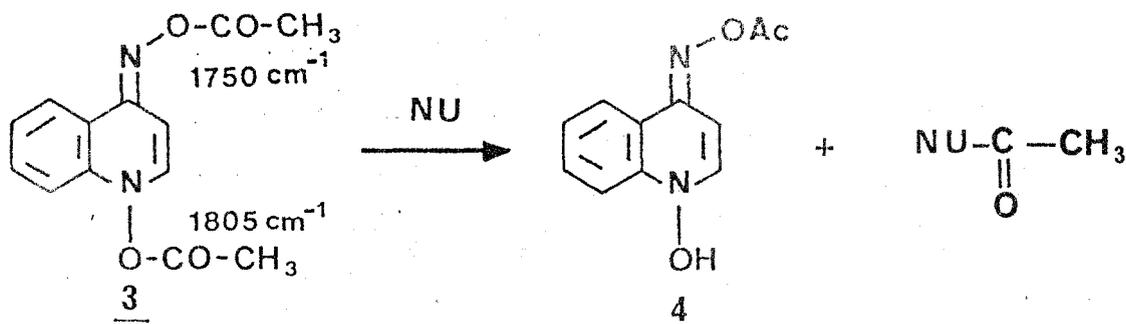
REACTIONS QUI METTENT EN JEU LE MONOACETATE 4 :

Des études mécanistiques antérieures, réalisées essentiellement par M. DEMEUNYNCK et M.F. LHOMME (63) dans le laboratoire avaient montré que la fonction acétate d'hydroxylamine en position N-1 est plus réactive vis-à-vis des nucléophiles et des bases que l'acétate d'oxime en position 4. Les amines, les thiols, les bases hydroxylées conduisent au

* A cette limitation s'ajoute le fait que nous avons toujours dû travailler sur de faibles quantités pour d'évidentes raisons de sécurité.



monoacétate 4 qui, selon les conditions, évolue, plus ou moins rapidement vers des mélanges complexes.

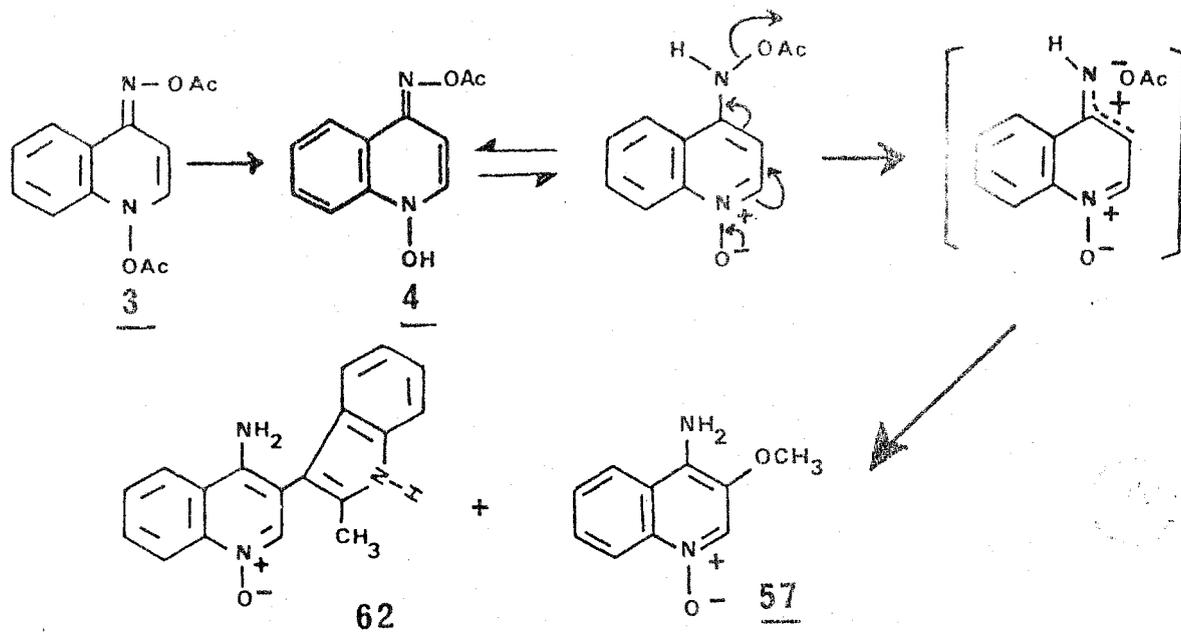


Nous montrons ici que cette réaction se produit très vraisemblablement avec un nucléophile plus faible comme le méthanol. En effet les mélanges réactionnels obtenus dans le méthanol (réaction (1)) sont très comparables, que l'on parte du monoacétate 4 ou du diacétate 3, ce qui laisse supposer que 4 est bien un intermédiaire dans la réaction de 3 (bien qu'à aucun moment, on ne puisse le déceler dans le mélange réactionnel).

Dans les deux cas le produit majeur observé est le produit de substitution dans lequel le nucléophile-OCH₃ est fixé sur l'atome de carbone C-3 de la quinoléine.

Quand la réaction est menée dans le méthanol, mais en présence d'un nucléophile ajouté, le méthylindole (réaction (4)), on obtient également des mélanges réactionnels comparables à partir des deux acétates 3 et 4. On observe en outre la formation du composé 62 dans lequel le noyau indole est fixé sur la quinoléine.

Ces résultats sont interprétables sur la base du mécanisme suivant :

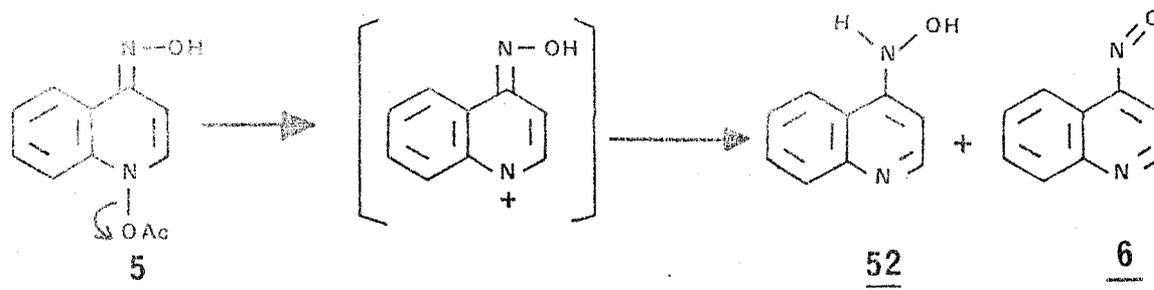


En effet des résultats de type solvolytique sur le comportement du monoacétate 4 obtenus au laboratoire par M. DEMEUNYNCK vont dans le même sens ; les mesures cinétiques et les effets de solvant montrent que 4 réagit de manière ionique et que l'ensemble est interprétable par le passage par un intermédiaire de type nitrénium (la vitesse de disparition de 4 dans une série de solvants : éthanol, méthanol, trifluoroéthanol, mélanges eau-acétone, obéit à la loi de Winstein $\log K = m Y$). En outre la réactivité de 4 est très élevée ($t_{1/2} = 30$ mn dans le méthanol), dans la mesure où l'ionisation est assistée par la présence de la fonction N-oxyde (on conçoit donc qu'il ne soit pas possible de déceler le monoacétate 4 quand 3 est mis en réaction dans le méthanol).

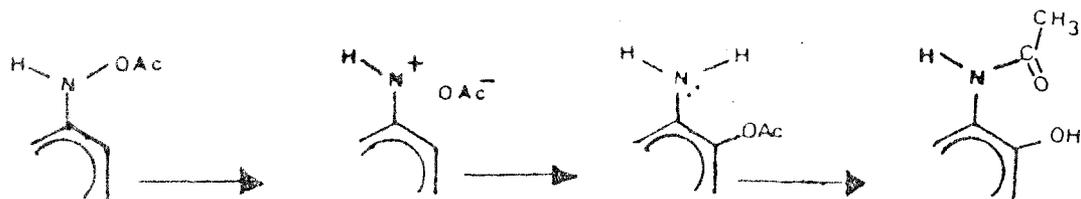
L'attaque du méthylindole en position β , site de réaction usuel avec les électrophiles est bien en accord avec ce mécanisme. Ce résultat (obtention de 62) appuie l'hypothèse mécanistique énoncée.

Notons que ce même mécanisme permet d'interpréter la formation du produit de réaction 72 avec l'aminopyridine, bien que le solvant ne soit plus le méthanol. L'aminopyridine en excès joue à la fois le rôle d'agent de désacétylation pour obtenir 4 et le rôle d'agent de substitution.

Si le méthanol est remplacé par le trifluoroéthanol, solvant peu nucléophile mais à fort pouvoir ionisant, la réaction devient plus complexe : le trifluoroéthanol n'est probablement pas assez nucléophile pour transformer 4 en 3, mais il induirait une série de réactions conduisant notamment à la nitrosoquinoléine 6 et au produit réarrangé 58. Bien que nous ne soyons pas en mesure de proposer un mécanisme précis pour ces réactions, il est vraisemblable que la fonction acétate en N-1 présente une réactivité comparable à celle du monoacétate 5. Ce composé très réactif conduit selon les conditions à la nitrosoquinoléine 6 et à l'hydroxylamine 52 (p. 18).



Un schéma voisin transformerait le diacétate 3 en nitroso-quinoléine 6 ; par contre la formation du produit de réarrangement est plus complexe : elle impliquerait à la fois une réduction en N-1 et une ionisation suivie de retour interne et réarrangement en N-4.

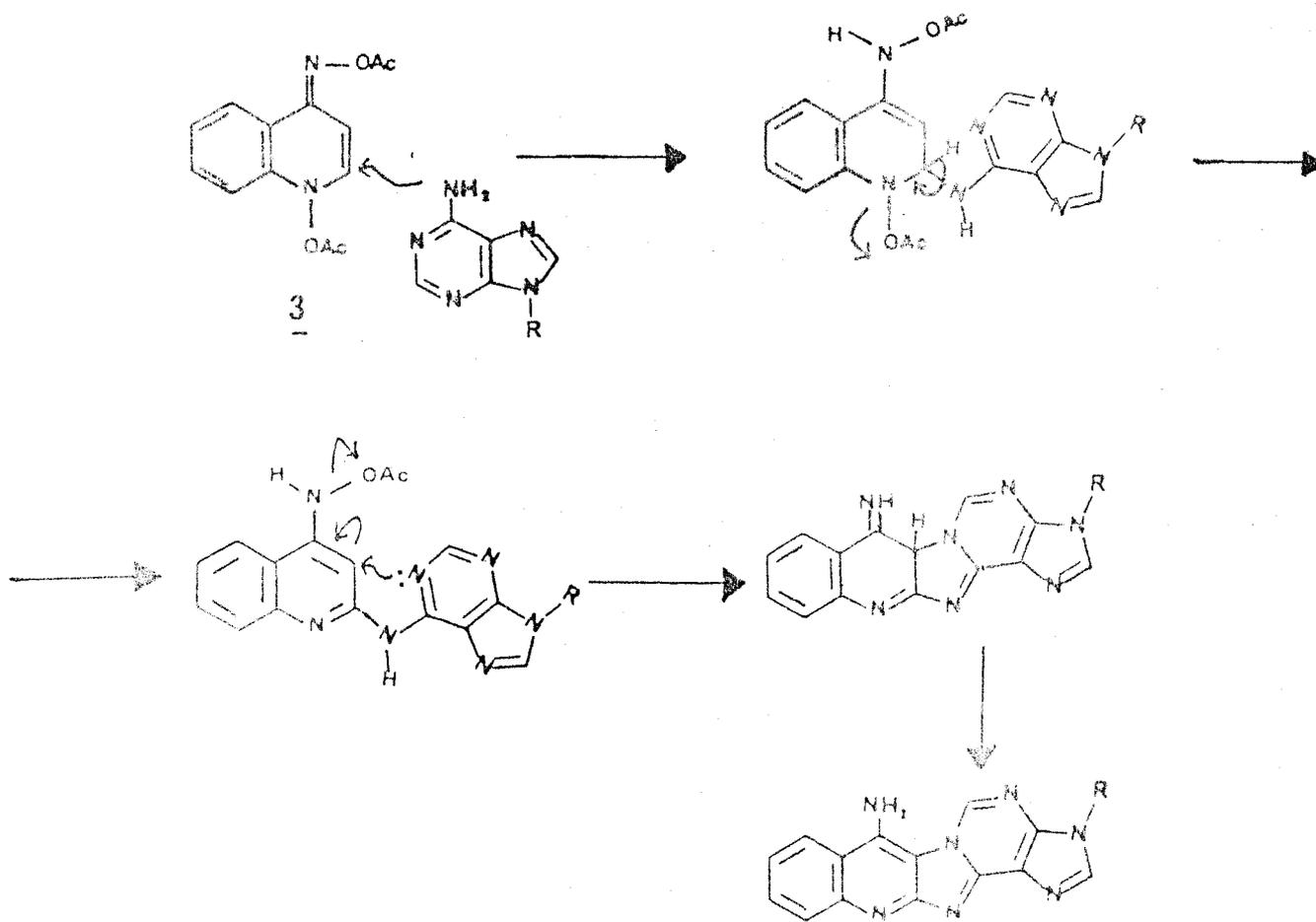


En l'état actuel, il nous est impossible de préciser le mécanisme.

REACTIONS METTANT EN JEU LE CARACTERE BIFONCTIONNEL DU
DIACETATE 3 :

La réaction la plus nouvelle observée concerne la formation du système pentacyclique 66 avec les dérivés de l'adénine. Cette réaction a lieu en solvant non nucléophile (réaction 5).

On peut proposer un mécanisme de formation en supposant que la première étape est une addition nucléophile de "type Michael" de l'amine N-6 de l'adénine sur le carbone C-2 de la quinoléine. On sait que la réactivité de l'acétate d'hydroxylamine en N-1 est très élevée pour le "composé modèle 5" (p. 18). Son élimination suivie de l'ionisation de l'ester d'hydroxylamine en 4, concertée avec l'attaque intramoléculaire de l'atome d'azote N-1 de l'adénine rendrait compte de la formation du système pentacyclique.



Si la première attaque de l'adénine implique l'atome d'azote cyclique N-1 et non N-6, on obtient l'autre isomère de 66.

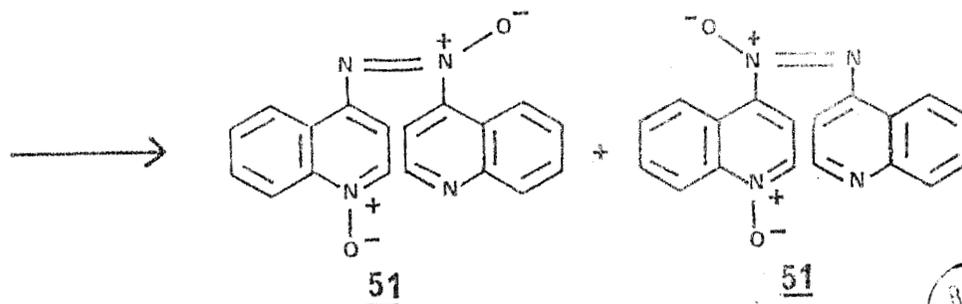
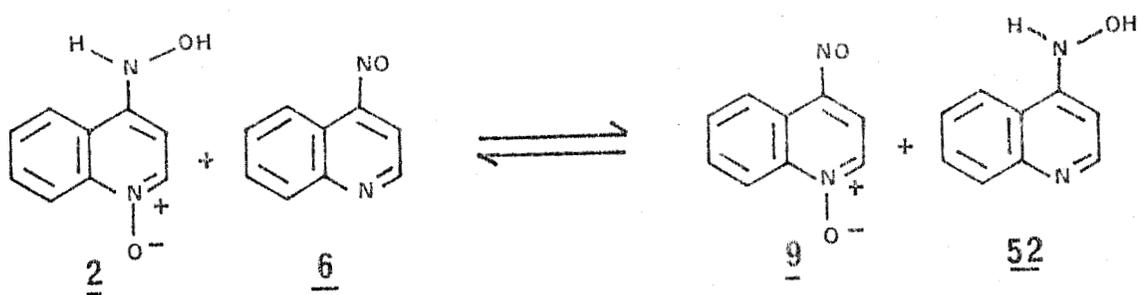
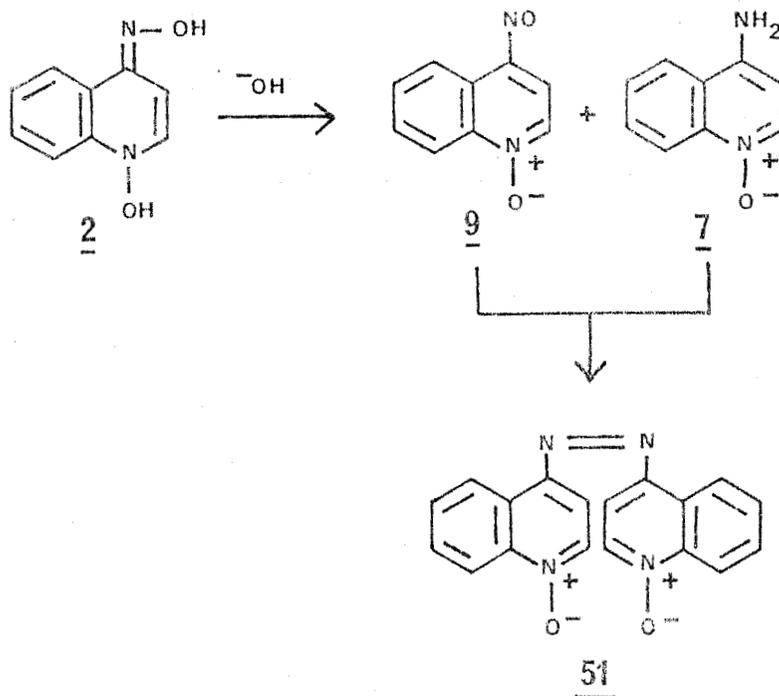
Remarquons que ce mécanisme est très comparable à ce qui a été proposé pour la formation d'"éthéno-adénosine" (p. 12).

FORMATION DE DIMERES DE QUINOLEINE :

A diverses reprises (réactions (1), (2), (3), (5), (6)), nous avons isolé des composés peu solubles qui ont été étudiés par spectrométrie de masse. Il s'agit de mélanges d'azoquinoléines mono- ; di- ou trioxygénées 51 ou de pyridazino (3,4-c ; 5,6-c') quinoléines oxygénées 59

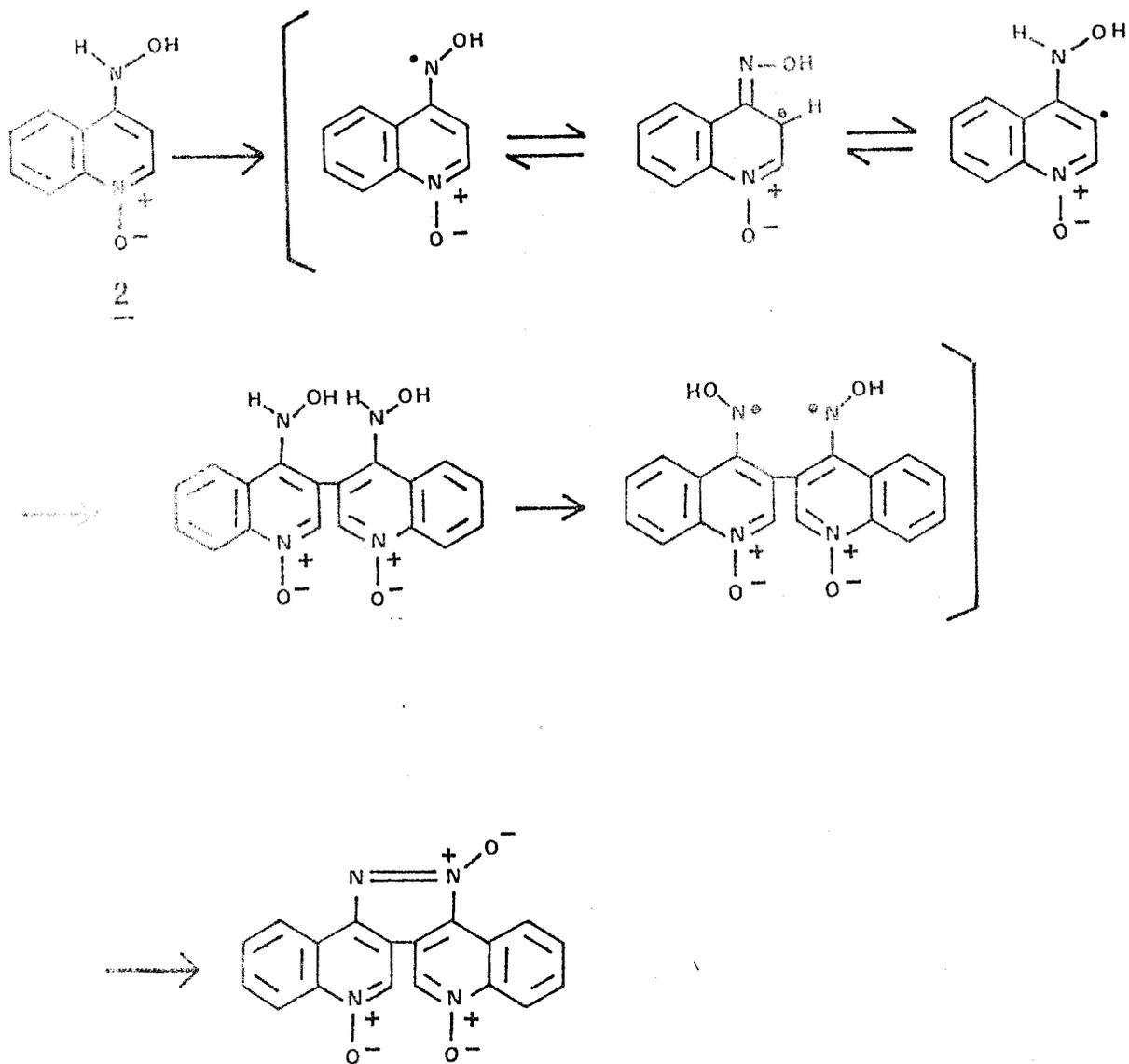
L'obtention de ces deux types de dimères à partir du dérivé dihydroxylé 2 a fait l'objet de plusieurs publications souvent confuses (61, 62) où les rendements se situent entre 2 et 10 %. Les mécanismes proposés par ces auteurs, indiqués ci-dessous, sont soit ioniques, soit radicalaires :

Azo et azoxydiquinoléines 51



BUS
LILLE

Pyridazinodiquinoléines 59



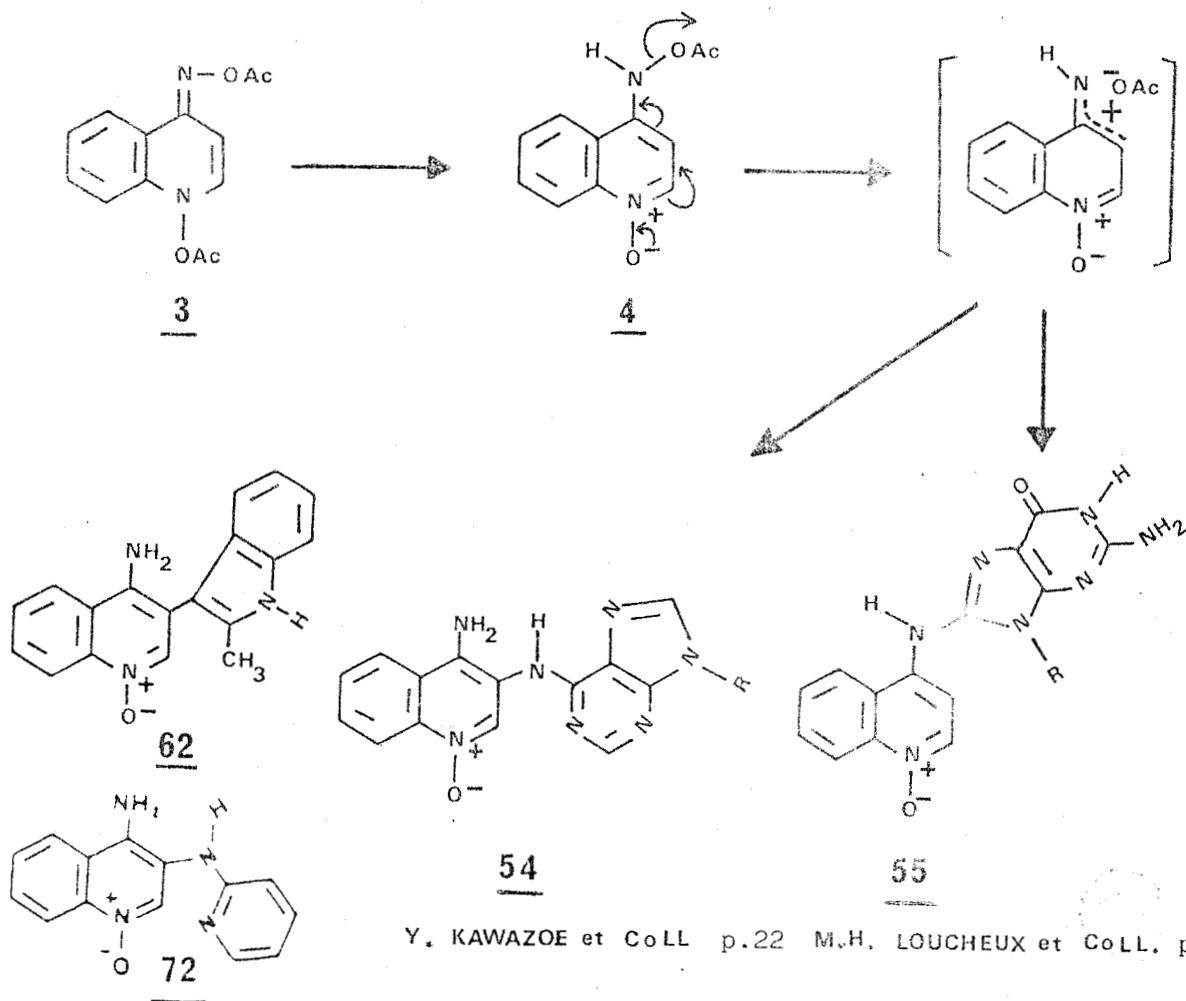
59



Dans nos conditions réactionnelles, le dérivé dihydroxylé 2 peut se former. L'obtention des dimères est normale et nous n'avons pas cherché à les étudier davantage.

En conclusion : En liaison avec le problème de la cancérogénèse chimique par le N-oxyde de nitro-4 quinoléine, deux résultats majeurs peuvent être signalés dans l'ensemble de notre travail :

1. La réaction du diacétate, qui met en jeu le monoacétate comme intermédiaire rend compte des résultats obtenus à ce jour dans l'identification des adduits du cancérogène avec les bases nucléiques : 54 et 55.



2. Le diacétate réagit de manière bifonctionnelle avec le noyau de l'adénine pour conduire à un système pentacyclique. Il sera nécessaire de voir si cette réaction se produit également avec les acides nucléiques. Le produit analogue préparé à partir de la désoxyadénosine pourra être utilisé comme témoin pour mener cette étude.

--O-O-O-O-O-O-O-O-O--

PARTIE EXPERIMENTALE

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

METHODES D'ANALYSE

La séparation des produits a été effectuée par chromatographie sur gel de silice KIESELGEL 60 ; 0,063-0,200 mm MERCK et à l'aide d'un appareil de type Duramat CfG (basse pression) MERCK utilisant des colonnes LOBAR prêtes à l'emploi (gel de silice 60 ; 0,040-0,063 mm).

Leur pureté a été vérifiée par chromatographie sur couche mince (CCM ; gel de silice F₂₅₄ MERCK) et par chromatographie liquide à hautes performances (CLHP ; colonne de phase inverse C₁₈ WATERS ; appareil WATERS équipé de deux pompes M 6000 et d'un programmateur de gradient M 660).

Nous avons utilisé les conditions suivantes :

Solvant A : H₂O-H₃PO₄ pH = 2,5 ; solvant B : MeOH-H₂O 5 % avec le programme linéaire de 10 à 100 % de solvant B dans le solvant A, en 10 mn avec un débit de 2 cm³/mn. Le déroulement du papier est de 0,5 cm/mn. Les composés sont caractérisés par leurs temps de rétention et par le rapport R de la DO à 254 nm (sensibilité 1) sur la DO à 365 nm (sensibilité 0,2).

Les points de fusion (F) ont été pris à l'aide d'un appareil TOTTOLI et sont donnés sans correction.

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur les spectromètres BRUKER WP 60, WP 80 et WH 270 à transformée de FOURIER. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport à l'hexaméthylsiloxane pris comme référence interne. Les spectres sont décrits avec les abréviations : s = singulet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet.

Les spectres de masse (SM) ont été réalisés sur des spectromètre RIBER MAG 10-10 et spectromètre VARIAN MAT 311 avec couplage CGL.

Les spectres d'absorption infra-rouge (IR) ont été enregistrés sur un spectrophotomètre PERKIN-ELMER 237.

Les spectres d'absorption (UV) on été enregistrés sur un spectromètre BECKMANN DBG7.

I. SYNTHÈSE

A. HYDROXY-1 HYDROXYIMINO-4 DIHYDRO-1,4 QUINOLÉINE 2 :

Nous avons employé la méthode d'ENOMOTO et Coll. (47) le N-oxyde de la nitro-4 quinoléine 1 commerciale (1g, 5,26 mmoles) est solubilisé dans l'éthanol absolu (100 cm³) par léger chauffage (50°C). On ajoute ensuite l'acide ascorbique (5g, 28,4 mmoles) puis 15 cm³ d'un mélange ammoniacque-eau (1:1, v/v). On agite vigoureusement pendant environ 15mn. 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 - 86%).

CLHP = 3,5 cm

R = 0,32

F : 202°C (Litt. 212°C (47) ; 210°C (69)).

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

Masse : m/e = 176 (M⁺) ; 175 ; 174 ; 160 (M⁺-O) ; 159 ; 144 ; 129 ; 116 ; 114 ; 104 ; 101.

RMN (DMSO d₆, DCI 6N, 60 MHz) : 8,60 (1H, d, J = 8 Hz, C₂-H) ; 8,40 (1H, m, C₅-H) ; 7,50-8,05 (3H, m, C₆-H, C₇-H, C₈-H) ; 6,80 (1H, d, J = 8 Hz, C₃-H).

UV (HCl N) : λ_{max} nm (ε) : 232 (18000) ; 340 (17000).

B. ACÉTOXY-1 ACÉTOXYIMINO-4 DIHYDRO-1,4 QUINOLÉINE 3 (46):

On ajoute le dérivé hydroxylé 2 (400 mg, 2,27 mmoles) 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 (65-70 %). Le dérivé diacétylé 3 est cristallisé dans l'éther anhydre.

CLHP = 5,2 cm

R = 0,2

F = 110-111°C (Litt. : 110°C (46))

IR (KBr) : 1805 et 1750 (C=O) ; 1515 (Ar) ; 1545 ; 1460 ; 1415 ; 1360 ; 1215 ; 1175 ; 1150 ; 1005 ; 945 ; 845 ; 765 ; 760 cm^{-1} .

Masse : m/e = 260 (M^+) ; 218 ($\text{M}^+ - \text{C} - \text{CH}_3$) ; 202 ($\text{M}^+ - 2 \times \text{C} - \text{CH}_3$) ; 176 ; 174 ; 160 ; 144 ; 143 ; 129 ; 128 ; 116 ; 115 ; 102.

RMN (CDCl_3 , 60 MHz) : 8,30 (1H, m, $\text{C}_5\text{-H}$) ; 7,10-7,40 (3H, m, $\text{C}_6\text{-H}$, $\text{C}_7\text{-H}$ et $\text{C}_8\text{-H}$) ; 6,95 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, $\text{C}_2\text{-H}$) ; 6,25 (1H, d, $J = 8,5$ Hz, $\text{C}_3\text{-H}$) ; 2,20 et 2,35 (2H, 2s, CO-CH_3).

UV (EtOH) : λ_{max} nm : 260 ; 350.

C. ACÉTOXYIMINO-4 HYDROXY-1 DIHYDRO-1,4 QUINOLÉINE 4 :

1. AVEC LE THIOPHENOL :

13 mg (0,05 mmole) de diacétate 3 sont dissous dans 0,5 cm^3 de DMSO puis on ajoute 6 μl (0,05 mmole) de thiophénol. La réaction est suivie par CLHP.

2. AVEC LA PIPERIDINE :

10 mg (0,038 mmole) de diacétate 3 sont dissous dans 0,1 cm^3 de DMSO puis on ajoute 4 μl (0,038 mmole) de piperidine. La réaction est suivie par CLHP.

Dans les deux cas il y a apparition sur le chromatogramme de CLHP un triple pic reproductible et caractéristique de ce produit.

CLHP : (3,7-3,8-3,9 cm) R = (0,65-0,76-0,77)

Etude en RMN :

20 mg (0,077 mmole) de diacétate 3 sont dissous dans 0,06 cm³ de DMSO d₆ on ajoute 0,01 cm³ (0,097 mmole) de thiophénol à la solution. La réaction s'effectue dans la sonde stabilisée à +30°C. Le spectre enregistré après 5 mn de réaction est le suivant :

RMN (DMSO d₆, 60 MHz) : 8,04 (1H, m, C₅-H) ; 7,70-7,10 (4H, m, Ar-H et C₂-H) ; 6,05 (1H, d, J = 8 Hz, C₃-H) ; 2,16 (3H, s, C-CH₃).
C₂-H apparait sous forme d'un doublet centré à 7,60 ppm.

D. CHLORHYDRATE DE L'ACÉTOXY-1 HYDROXYIMINO-4 DIHYDRO-1,4

QUINOLÉINIUM 5 :

On fait barboter de l'acide chlorhydrique gazeux pendant quelques minutes, dans une solution diluée de dérivé diacétylé 3 (100 mg, 0,38 mmole) dans le chloroforme (10 à 20 cm³). La solution est ensuite laissée à -20°C pendant 24 à 48 heures. Le précipité blanc formé est filtré et lavé au chloroforme (60 mg, 61 %).

CLHP = 5,8 cm R = 0,32

F = 118-118,5°C

IR (KBr) : 3100 et 3000 (NH et OH) ; 2800 ; 1825 (C=O) ; 1605 (Ar) ; 1560 ; 1355 ; 1140 ; 1110 ; 1030 ; 805 cm⁻¹.

Masse : m/e = 219 (M⁺) ; 178 ; 174 ; 160 ; 158 ; 144 ; 129 ; 128 ; 117 ; 116 ; 101.

RMN (CD₃OD, DCl 6N, 60 MHz) : 8,70 (1H, d, J = 8,2 Hz, C₂-H) ; 8,40 (1H, m) ; 7,50-8,00 (3H, m) ; 7,00 (1H, d, J = 8,2 Hz, C₃-H) ; 2,50 (3H, s, CO-CH₃).

UV (MeOH) : λ_{max} nm (ε) : 242 (21000) ; 354 (11300).

E. N-OXYDE DU NITROSO-4 QUINOLÉINE 9 (52) :

On met du carbonate d'argent sur célite (800 mg) en suspension dans le chlorure de méthylène (200 cm³) et on y ajoute 2 (80 mg, 0,4 mmole). On maintient l'agitation pendant 3 heures, à température ambiante et à l'obscurité. Après filtration sur célite et évaporation à froid, on obtient 9 sous forme d'une poudre blanche.

F : 134°C (Litt. : 110°C (52)).

IR (KBr) : 1450 ; 1425 ; 1390 ; 1365 ; 1300 ; 1245 ; 1190 ; 1140 ; 985 ; 820 ; 760 cm⁻¹.

Masse : m/e = 174 (M⁺) ; 158 (M⁺-O) ; 157 ; 144 ; 129 ; 128 ; 116 ; 101.

RMN (CDCl₃, 60 MHz) : 9,85 (1H, m) ; 8,75 (1H, m) ; 8,40 (1H, d, J = 6,7 Hz, C₂-H) ; 7,80-8,20 (2H, m) ; 6,45 (1H, d, J = 6,7 Hz, C₃-H).

F. NITROSO-4 QUINOLEINE 6 :

52 (500 mg, 2,5 mmoles) est mis en suspension dans le chloroforme (250 cm³). Sous forte agitation, on additionne du carbonate d'argent sur célite (5 g) fraîchement préparé. L'agitation est maintenue pendant 3 heures, à l'obscurité et à température ambiante (18-20°C). La solution jaune obtenue après filtration sur célite, est évaporée sous vide, à froid. 6 se présente sous forme d'un poudre jaune (60 %).

CLHP : 5,8 cm R = 0,32

F : 82°C

Masse : m/e = 158 (M⁺) ; 156 ; 139 ; 128 ; 113 ; 111 ; 101.

RMN (CDCl₃, 80 MHz) : 9,80-9,57 (1H, m, C₅-H) ; 9,13 (1H, d, C₂-H) ; 8,40-8,21 (1H, m, C₈-H) ; 8,06-7,87 (2H, m, C₆-H et C₇-H) ; 6,12 (1H, d, C₃-H).

UV (CHCl₃) λ_{max} nm (ε) : 242 (20140) ; 364 (8400).

PREPARATION DU CARBONATE D'ARGENT SUR CELITE (70) :

La célite purifiée (30 g) (lavage par le mélange méthanol-HCl 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, 10 H₂O (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.



Masse : 232 (M^+) ; 202 (M^+-OCH_3) ; 190 (M^+-COCH_3) ; 174 (190-0) ; 172 ; 160 ; 147 ; 145 ; 144 ; 131 ; 130 ; 129 ; 118 ; 116.

d) N-oxyde de l'amine-4 méthoxy-3 quinoléine 57 :

La fraction majoritaire est éluee avec un mélange d'acétate d'éthyle-éthanol 6:4 ; c'est une solution jaune qui donne après concentration des cristaux jaunes (30-40 %).

CLHP = 4 cm R = 0,75

F : 205°C (Litt. : 226-228°C (71)).

IR ($CHCl_3$) : 3410 (NH_2) ; 2830 ; 1625 et 1590 (Ar) ; 1340 cm^{-1}

Masse haute résolution : m/e = 190 (M^+) ; 174 (M^+-O) ; 159 (M^+-OCH_3)
147 ; 131 ; 116 ; 104.

$C_{10}H_{10}N_2O_2$

Masse moléculaire Calculée : 190,074221

Trouvée : 190,0749

RMN (DMSO d_6 , 270 MHz) : 8,33 (1H, s, C_2-H) ; 8,31 (1H, d, J = 9 Hz, C_8-H ou C_5-H) ; 8,15 (1H, d, J = 9 Hz, C_5-H ou C_8-H) ; 7,22-7,56 (2H, m, C_6-H et C_7-H) ; 6,33 (2H, s, NH_2) ; 3,81 (3H, s, OCH_3).

UV ($CHCl_3$) : λ_{max} nm (ϵ) : 385 (3400) ; 360 (5000) ; 330 (6730) ; 285 (8840).

EAU pH = 5,5 : λ_{max} 375-264 nm

NaOH (2N) pH = 12 : λ_{max} 375-260 nm

HCl (1N) pH = 1 : λ_{max} 355-252 nm.

REACTION DU DERIVE MONOACETYLE 4 AVEC LE METHANOL :

On dissout 50 mg (0,19 mmole) de dérivé diacétylé 3 dans 2 cm^3 de DMSO puis on ajoute 19 μl (0,19 mmole) de pipéridine ; 20 mn plus tard on ajoute 100 cm^3 de méthanol.

La solution est gardée à température ambiante et à l'obscurité pendant 24 heures puis on vérifie par CLHP et CCM que tout le dérivé monoacétylé 4 a été consommé et on évapore la solution sous vide et à 40°C. Le résidu est chromatographié sur colonne de silice (15 g). Le produit majoritaire est élué par un mélange acétate d'éthyle-éthanol 6:4. La solution évaporée donne 11,5 mg d'une poudre jaune (31,5 %).

Les caractéristiques de CLHP (temps de rétention et R) et les données spectroscopiques (RMN et Spéctrométrie de masse) sont comparables a celles du N-oxyde de l'amino-4 méthoxy-3 quinoléine 57 décrit précédemment (p.102).

2. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC L'ETHANOL :

On dissout 75 mg (0,28 mmole) de dérivé diacétylé 3 dans 150 cm³ d'éthanol. La solution est gardée à température ambiante et à l'obscurité. Au bout de 5 jours la solution est évaporée sous vide à 50°C; le résidu est chromatographié sur colonne de silice (15 g).

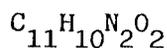
Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

A partir de la fraction éluee avec de l'acétate d'éthyle on recueille 6,3 mg de poudre blanchâtre (10,8 %).

CLHP = 3,2 cm R = 0,19

F : 249-250°C (décomposition)

Masse haute résolution : m/e = 202 (M⁺) ; 184 (M⁺-H₂O) ; 160 (M⁺-CH₃-CO) ; 144 ; 131 ; 115 ; 105 ; 104.



Masse moléculaire calculée : 202,074222

trouvée : 202,0749

RMN (DMSO d₆, 270 MHz) : 9,86 (1H, s, OH ou NH) ; 9,73 (1H, s, NH ou OH) ; 8,56 (1H, s, C₂-H) ; 7,86 (1H, d, C₅-H) ; 7,77 (1H, d, C₈-H) ; 7,46 (2H, m, C₆-H et C₇-H) ; 2,11 (3H, s, C(=O)-CH₃).

3. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LE TRIFLUOROETHANOL :

50 mg (0,19 mmole) de dérivé diacétylé 3 sont dissous dans 15 cm³ de trifluoroéthanol ; la solution est gardée à la température ambiante et à l'obscurité. La réaction est suivie par CCM et CLHP. Au bout de 24 heures la solution est évaporée sous vide à 40°C et le résidu est chromatographié sur colonne de silice (15 g). Les produits isolés par ordre d'élution sont :

a) Nitroso-4 quinoléine 6 :

Avec le chloroforme comme éluant un premier produit est récupéré, on obtient 11 mg d'une poudre de couleur crème (30 %). Ce produit est identifié par comparaison avec un échantillon authentique de nitroso-4 quinoléine 6 par CLHP et CCM.

REACTION AVEC LE DIMETHYL-2,3 BUTADIENE-1,4 :

0,5 mg (3×10^{-3} mmole) du produit 6 sont dissous avec 1mg (12×10^{-3} mmole) de diméthyl-2,3 butadiène-1,4 dans 0,5 cm³ de trifluoroéthanol. L'évolution est suivie par CLHP. Un nouveau produit se forme.

CLHP = 5,2 cm R = 0,32

b) Azo ou azoxydiquinoléine 51b :

Avec un mélange chloroforme-acétate d'éthyle un deuxième produit est élué, la solution séchée donne 8 mg d'une poudre jaune (26%).

CLHP = 6,1 cm R = 0,33

Masse : m/e = 316 (M⁺) ; 300 (M⁺-O) ; 284 (M⁺-2xO) ; 271 ; 255 ; 158 ; 145 ; 144 ; 142 ; 129 ; 117 ; 116 ; 115 ; 102 ; 101.

c) Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Avec l'acétate d'éthyle on élue 1 mg d'une poudre de couleur

crème (2,5 %) identifié par comparaison (CLHP, CCM, masse) avec le produit 58 obtenu dans l'éthanol (p. 103).

B. RÉACTION AVEC LES INDOLES :

1. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LE METHYL-2 INDOLE 61

On dissout 100 mg de dérivé diacétylé 3 (0,38 mmole) et 150 mg de méthyl-2 indole 61 (1,14 mmole) dans 200 cm³ de méthanol. La solution prend une coloration jaune. Elle est gardée à température ambiante et à l'obscurité. La réaction suivie par CCM et par CLHP est complète au bout de 3 jours ; la solution devenue orangée, est évaporée sous vide à 40°C, le résidu est chromatographié sur colonne de silice (35 g).

Les produits isolés par ordre d'élution sont :

a) Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Ce produit a été identifié par comparaison (CHLP, CCM) au produit isolé dans l'éthanol (p.103).

b) Acétyl-méthoxy-quinoléine mono-oxygéné :

C'est une poudre de couleur orange dont le spectre de masse est identique au produit déjà isolé dans le méthanol (p.102) mais dont la structure n'a pas été établie.

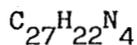
c) Produit correspondant à la fixation de 2 molécules de méthyl-2 indole 61 sur un noyau quinoléine :

Une solution orangée est éluee avec un mélange d'acétate d'éthyle-éthanol 9:1. Après évaporation on obtient 21 mg d'une poudre jaune orangée (13 %).

CLHP = 6,1 cm R = 0,46

F : 212-215°C.

Masse haute résolution : m/e = 418 (M⁺) ; 402 (M⁺-0) ; 387 ; 273 ; 269 ; 260 ; 259 ; 243 ; 218 ; 144 ; 131 ; 130 ; 128 ; 103.



Masse moléculaire calculée : 418,179350

trouvée : 418,1790

UV (EtOH) : λ_{\max} nm (ϵ) : 430 (9195) ; 250 (7106) ; 290 (7524) ; 268 (13376) ; 245 (24244).

d) Avec un mélange d'acétate d'éthyle-éthanol 7:3 un autre produit est élué. C'est une poudre jaune (10-12 % de la masse initiale) qui n'a pas pu être identifiée.

CLHP = 5,4 cm R = 0,35

e) N-oxyde de l'amino-4(méthyl-2 indolyl)-3 quinoléine
62 :

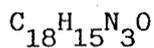
Avec un mélange acétate d'éthyle-éthanol 8:2 un nouveau produit est élué ; après évaporation on obtient 22,5 mg d'une poudre jaune clair (16 %).

CLHP = 5,2 cm R = 0,85

F : 258-260°C

IR (CHCl₃) : 3470 (NH) ; 2870 ; 1600 (Ar) cm⁻¹

Masse haute résolution : m/e = 289 (M⁺) ; 273 (M⁺-0) ; 257 ; 231 ; 181 ; 130 ; 128 ; 104.



Masse moléculaire calculée : 289,121504

trouvée : 289,1226

RMN (DMSO d₆, 270 MHz) : 11,3 (1H, s, N'H) ; 8,46 (1H, d, J = 9 Hz, C₅-H ou C₈-H) ; 8,28 (1H, d, J = 9 Hz, C₈-H ou C₅-H) ; 8,02 (1H, s, C₂-H) ; 7,75-7,50 (2H, 2m, C₆-H et C₇-H) ; 7,28 (1H, d, J = 7,5 Hz, C'₄-H ou C'₇-H) ; 7,11 (1H, d, J = 7,5 Hz, C'₇-H ou C'₄-H) ; 7,05-6,83 (2H, 2m, C'₅-H et C'₆-H) ; 6,11 (2H, s, NH₂) ; 2,24 (3H, s, C'H₃).

UV (EtOH) : λ_{max} nm (ϵ) : 380 (7225) ; 320 (8265) ; 284 (11600) ;
282 (13500) ; 262 (19000).

f) N-oxyde de l' amino-4 méthoxy-3 quinoléine 57 :

Avec un mélange d'acétate d'éthyle-éthanol 6:4 on élue un produit qui correspond à N-oxyde de l' amino-4 méthoxy-3 quinoléine 57 déjà isolé avec le méthanol (p.102). Le rendement est de 32 %.

REACTION DU DERIVE MONO-ACETYLE 4 AVEC LE METHYL-2 INDOLE 61:

Le dérivé monoacétylé 4 est préparé en dissolvant 11 mg (0,042 mmole) de dérivé diacétylé 3 dans 1 cm³ de DMSO auquel on ajoute 4 μ l (0,042 mmole) de pipéridine. 15 mn plus tard on ajoute 55 mg (0,42 mmole) de méthyl-2 indole 61 (quantité 10 fois stoechiométrique) dissous dans 20 cm³ de méthanol. Au bout de 24 heures la solution est concentrée sous vide et le résidu est déposé sur plaque de silice préparative éluee par un mélange d'acétate d'éthyle-méthanol 3:2.

a) N-oxyde de l' amino-4 (méthyl-2 indolyl)-3 quinoléine 62 :

Les caractéristiques de CLHP , de CCM et les données de la spectrométrie de masse de ce produit sont comparables au produit 62 (p.106).

b) N-oxyde de l' amino-4 méthoxy quinoléine 57 :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP, CCM) au produit 57 isolé dans le méthanol (p.102).

2. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LE METHOXY-5 METHYL-2
INDOLE 63 :

100 mg (0,38 mmole) de dérivé diacétylé 3 et 140 mg (0,86 mmole) de méthoxy-5 méthyl-2 indole 63 sont dissous dans 200 cm³ de méthanol. La solution de couleur jaune est gardée à température ambiante et à l'obscurité. Au bout de 3 jours la réaction est terminée, la solution devenue rouge est évaporée sous vide à 40°C ; le résidu est chromatographié sur colonne de silice (42 g).

Les produits isolés par ordre d'élution sont :

a) Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP et CCM) au produit isolé dans l'éthanol p. 103.

b) N-oxyde de l'amino-4 (méthoxy-5 méthyl-2 indolyl)-3
quinoléine 64 :

Avec un mélange acétate d'éthyle-éthanol 8:2 une fraction contenant un produit unique est éluée ; après évaporation sous vide à 40°C on obtient une poudre de couleur jaune pâle (3,2 %).

CLHP = 5 cm R = 0,88

F : 254-256°C

Masse haute résolution : m/e = 319 (M⁺) ; 303 (M⁺-O) ; 288 (M⁺-OCH₃) ; 273 (M⁺-O et OCH₃) ; 270 ; 258 ; 243 ; 218 ; 161 ; 160 ; 151 ; 144 ; 135 ; 130 ; 129 ; 128 ; 116 ; 115 ; 103 ; 102.

C₁₉H₁₇N₃O₂

Masse moléculaire calculée : 319,132068

trouvée : 319,1320

Spectre MIKE : m/e = 319 → 303 ; 292 ; 277 ; 188

303 → 288 ; 273.

Spectre CID-MIKE :

m/e = 319 → 303 ; 291 ; 277 ; 188

303 → 288 ; 270 ; 255 ; 241 ; 228 ; 215.

RMN (DMSO d₆, 270 MHz) : 11,15 (1H, s, N'H) ; 8,47 (1H, d, J = 8,5 Hz, C₅-H ou C₈-H) ; 8,29 (1H, d, J = 8,5 Hz, C₈-H ou C₅-H) ; 8,04 (1H, s, C₂-H) ; 7,7 et 7,55 (2H, 2m, C₆-H et C₇-H) ; 7,2 (1H, d, C₇-H) ; 6,68-6,22 (2H, m, C₆-H et C₄-H) ; 6,13 (2H, s, NH₂) ; 3,59 (3H, s, OCH₃) ; 2,18 (3H, s, CH₃).

UV (éthanol) : λ_{max} nm (ϵ) : 263 (610) ; 225 (1554).

c) N-oxyde de l' amino-4 méthoxy-3 quinoléine 57 :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP et CCM) au produit 57 déjà isolé dans le méthanol (p. 102).

C. RÉACTION AVEC LES BASES ET LES NUCLÉOSIDES :

1. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LA PROPYL-9 ADENINE 65 DANS LE TRIFLUOROETHANOL :

150 mg (0,57 mmole) de dérivé diacétylé 3 et 210 mg (1,18 mmoles) de propyl-9 adénine 65 sont mis en suspension dans 30 cm³ de trifluoroéthanol. Après dissolution par ultra-sons on maintient la réaction à l'abri de la lumière et à température ambiante jusqu'à disparition totale du diacétate 3 (24 heures). La solution rouge foncée est évaporée sous vide à 40°C. Le résidu est filtré sur gel de silice (60 g).

Les produits isolés par ordre d'éluion sont :

a) Nitroso-4 quinoléine 6 :

Ce produit a été identifié par comparaison avec un échantillon authentique de synthèse par CLHP, RMN et masse.

b) Azo ou azoxydiquinoléine 51b :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP, CCM et masse) au produit isolé dans le trifluoroéthanol p. 104).

c) Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP, CCM et spectrométrie de masse) au produit isolé dans l'éthanol (p.103).

d) Amino 12 méthyl-3 quinoléine [2',3': 5,4] imidazo [1,2-i] purine 66 :

Une solution jaune pâle est éluée avec un mélange acétate d'éthyle-éthanol absolu 95:5. Après évaporation sous vide on obtient une poudre jaune dont l'étude par CCM et CLHP révèle la présence de la propyl-9 adénine 65 et d'un autre produit moins polaire ; par lavages successifs du précipité par l'acétate d'éthyle, la propyl-9 adénine 65 est solubilisée et on recueille 22 mg de poudre jaune citron correspondant à un produit unique (12-15 %).

CLHP = 6,1 cm R = 0,91

F : > 300°C

Masse haute résolution : m/e = 317 (M⁺) ; 289 ; 288 ; 275 (M⁺-propyl) ; 243 ; 242 ; 169 ; 168 ; 157 ; 156 ; 146 ; 141 ; 129 ; 119 ; 103 ; 102.

Spectre MIKE : m/e = 317 → 289 ; 275

275 → 248 ; 222 ; 210 ; 157

157 → 130

156 → 129

Spectre CID-MIKE : m/e = 317 → 289 ; 275 ; 245 ; 156 ; 128 ; 118 ; 102.

C₁₇H₁₅N₇

Masse moléculaire calculée : 317,138887

trouvée : 317,1392

RMN (DMSO d₆, 270 MHz, 60°C) : 9,38 (1H, s, C'₂-H) ; 8,36 (1H, d, J = 8,5 Hz, C₅-H) ; 8,27 (1H, s, C'₈-H) ; 7,91 (1H, d, J = 8,5 Hz, C₈-H) ; 7,58 (1H, t, C₆-H ou C₇-H) ; 7,38-7,28 (3H, m, C₇-H ou C₆-H et NH₂) ; 4,24 (2H, t, -CH₂-CH₂-CH₃) ; 1,88 (2H, m, -CH₂-CH₂-CH₃) ; 0,86 (3H, t, -CH₂-CH₂-CH₃).

UV (EtOH) : λ_{max} nm (ε) : 380 (3088) ; 350 (4117) ; 314 (7500) ; 292 (8602) ; 280 (9411) ; 260 (15441).

(EtOH + H₃PO₄) : 400 (2941) ; 380 (3970) ; 308 (5441) ; 298 (7500) ; 280 (8970) ; 254 (14485).

Le spectre du produit 66 dans l'éthanol avec un tampon pH = 9,9 est identique au spectre fait dans l'éthanol.

REACTION DE DEUTERIATION DE LA PROPYL-9 ADENINE 65 :

On dissout 100 mg (0,56 mmole) de propyl-9 adénine 65 dans 10 cm³ de D₂O. La solution est chauffée à 80°C pendant 7 heures.

La réaction est suivie par RMN :

à t = 4 h.

RMN (D₂O, 60 MHz) : 8,12 (1,2H, s, C₂H et C₈-H) ; 4,13 (2H, t, CH₂-CH₂-CH₃) ; 1,85 (2H, m, CH₂-CH₂-CH₃) ; 0,88 (3H, t, -CH₂-CH₂-CH₃).

à t = 6 h.

RMN (D₂O, 60 MHz) : 8,12 (0,8H, s, C₂-H) ; 4,13 (2H, t, CH₂-CH₂-CH₃) ; 1,85 (2H, m, CH₂-CH₂-CH₃) ; 0,88 (3H, t, CH₂-CH₂-CH₃).

Le singulet n'intègre plus que pour 1 proton, l'hydrogène en position 8 est complètement échangé.

REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LA PROPYL-9 ADENINE D₈ 65' :

On dissout 50 mg (0,19 mmole) de dérivé diacétylé 3 et 37 mg (0,20 mmole) de propyl-9 adénine C₈D 65' dans 17 cm³ de trifluoro-éthanol. La solution est gardée à la température ambiante et à l'obscurité. Au bout de 24 heures la solution est évaporée et chromatographié sur colonne de silice (16 g).

Les produits isolés par ordre d'élution sont :

a) Nitroso-4 quinoléine 6 :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP) à un produit authentique de synthèse p. 99.

b) Azo ou azoxydiquinoléine 51b :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP) au produit isolé dans le trifluoroéthanol (p.104).

c) Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Ce produit a le même temps de rétention et même absorption en CLHP ainsi que le produit isolé p.103.

d) Deutério-2 propyl-3 amino 12 quinolino [2',3' : 5,4] imidazo [1,2-i] purine 66' :

Avec un mélange d'acétate d'éthyle-éthanol 95:5 on élue une solution jaune qui donne après évaporation une poudre jaune.

CLHP = 6,1 cm R = 0,91

Masse haute résolution : m/e = 318 (M⁺) ; 289 ; 276 (M⁺-propyle) ; 157 ; 129 ; 119 ; 103.

C₁₇H₁₄N₇D

Masse moléculaire calculée : 318,145163

trouvée : 318,1452

RMN (DMSO d₆, 60 MHz, 47°C) : 9,40 (1H, s, C'₈-H) ; 8,39 (1H, m, C₅-H ou C₈-H) ; 8,00-7,37 (5H, m, C₈-H ou C₅-H, C₇-H et C₆-H, NH₂) ; 4,27 (2H, t, CH₂-CH₂-CH₃).

ACETYLATION DU PRODUIT DE CONDENSATION PROPYL-9

ADENINE QUINOLEINE 66 :

On dissout 3 mg (0,009 mmole) de 66 dans 2 cm³ d'acide acétique puis on ajoute 2 cm³ d'anhydride acétique ; la solution est chauffée à 44°C pendant 6 heures. Elle est suivie par CLHP : un nouveau produit 67 apparait : c'est la propyl-3 acétylamino.12 quinolino [2',3' : 5,4] imidazo [1,2-i] purine 67 :

CLHP = 5,9 cm R = 0,8

Masse : m/e = 359 (M⁺) ; 317 (M⁺-COCH₃) ; 288 ; 275 ; 248 ; 220 ; 168 ; 157 ; 119 ; 102.

REACTION DU DERIVE MONOACETYLE 4 AVEC LA PROPYL-9 ADENINE 65:

On prépare le dérivé monoacétylé 4 en dissolvant 10 mg (0,038 mmole) de dérivé diacétylé 3 dans 0,1 cm³ de DMSO auxquels on ajoute 4 µl de pipéridine. Quand le dérivé 4 est formé on ajoute au mélange 19 mg (0,107 mmole) de propyl-9 adénine 65 dissoute dans 1 cm³ de trifluoroéthanol. La réaction est suivie par CLHP.

Par comparaison avec une solution témoin de monoacétylé 4 dans le trifluoroéthanol on n'observe pas la formation de produit qui correspondrait à l'adduit adénine-quinoléine 66.

REACTION DE LA NITROSO-4 QUINOLEINE 6 ET LA PROPYLE-9 ADENINE 65 DANS LE TRIFLUOROETHANOL :

On dissout 3,7 mg (0,023 mmole) de nitroso-4 quinoléine 6 avec 6 mg (0,023 mmole) de propyle-9 adénine 65 dans 0,7 cm³ de trifluoroéthanol. La solution est gardée à température ambiante et à l'obscurité; elle est suivie par CLHP.

Les chromatogrammes de l'évolution de la réaction sont identiques à ceux de la réaction témoin nitroso-4 quinoléine 6/trifluoroéthanol les produits de décomposition sont également présent dans le mélange réactionnel diacétate 3 / trifluoroéthanol. On ne distingue pas de produit de fixation de l'adénine sur la quinoléine 66.

2. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC LA METHYL-9 ADENINE 38 :

50 mg (0,19 mmole) de dérivé diacétylé 3 et 56 mg (0,37 mmole) de méthyl-9 adénine 38 sont dissous dans 8 cm³ de trifluoroéthanol. La solution est gardée à température ambiante et à l'obscurité. Au bout de 24 heures, la solution qui a pris une coloration rouge foncé est concentré sous vide à 40°C et chromatographiée sur colonne de silice (20 g).

Les produits isolés par ordre d'élution sont :

a) Nitroso-4 quinoléine 6 :

Elle a été identifiée par comparaison (CLHP) avec un échantillon de synthèse.

b) Azo ou azoxydiquinoléine 51b :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP) avec le produit 51b isolé dans le trifluoroéthanol (p. 104).

c) Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP) avec le produit déjà isolé dans l'éthanol (p. 103).

d) Amino-12 méthyl-3 quinolino [2',3' : 5,4] imidazo [1,2-i] puriné 68 :

CLHP = 5,5 cm R = 0,92

Masse haute résolution : m/e = 289 (M⁺) ; 247 ; 157 ; 133 ; 129 ; 103.

C₁₅H₁₁N₇

Masse moléculaire calculée : 289,107587

trouvée : 289,1084

3. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC L'ADENOSINE 69 DANS LE TRIFLUOROETHANOL :

On dissout 75 mg (0,28 mmole) d'adénosine 69 dans 18 cm³ de trifluoroéthanol. La solution est chauffée à 30°C pour dissoudre l'adénosine avant d'ajouter 75 mg (0,28 mmole) de dérivé diacétylé 3. La solution est gardée à la température ambiante et à l'obscurité. Elle prend une coloration rouge foncé. La réaction est suivie par CLHP. Au bout de 24 heures la solution est évaporée sous vide à 40°C puis séparée sur colonne de silice (30 g).

Les produits isolés par ordre d'élution sont :

a) Nitroso-4 quinoléine 6 :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP) avec un échantillon de synthèse.

b) Azo ou azoxy diquinoléines 51b :

Ce produit a été identifié par comparaison (CLHP) au produit isolé dans le trifluoroéthanol (p. 104).

c) Acétylamino-4 hydroxy-3 quinoléine 58 :

Ce produit a été identifié (CLHP, masse, RMN) au produit 58 déjà isolé dans l'éthanol (p. 103).

d) Amino-12 ribofuranosyl-3 quinolino [2',3' : 5,4] imidazo [1,2-i] purine 70 :

la fraction éluee avec un mélange d'acétate d'éthyle-éthanol 9:1 contient l'adénosine et un nouveau produit 70.

Une cristallisation fractionnée dans le mélange acétate d'éthyle-méthanol 6:4 ou méthanol-eau 6:4 nous a permis d'obtenir un produit pur.

CLHP = 5,1 cm R = 0,93

F : > 300°C

Masse haute résolution : m/e = 407 (M⁺) ; 275 ; 247 ; 157 ; 144 ; 129 ; 103.

RMN (DMSO d₆, 270 MHz, 60°C) : 9,41 (1H, s, C'₂-H) ; 8,54 (1H, s, C'₈-H) ; 8,37 (1H, d, J = 8,5 Hz, C₅-H) ; 7,91 (1H, d, J = 8,5 Hz, C₈-H) ; 7,60 (1H, t, C₆-H ou C₇-H) ; 7,44-7,28 (3H, m, C₇-H ou C₆-H et NH₂) ; 6,05 (1H, d, C''₁-H) ; 5,34 (1H, d, C''₂-OH) ; 5,00 (1H, d, C''₃-OH) ; 4,86 (1H, t, C''₅-OH) ; 4,53 (1H, m, C''₂-H) ; 4,16 (1H, m, C''₃-H) ; 3,95 (1H, m, C''₄-H) ; 3,7-3,51 (2H, m, -C''₅-H₂).

4. REACTION DU DERIVE DIACETYLE 3 AVEC L'AMINO-2 PYRIDINE 71 DANS LE TRIFLUOROETHANOL :

On dissout 400 mg (4,25 mmoles) d'amino-2 pyridine 71 dans 20 cm³ de trifluoroéthanol puis on ajoute 100 mg (0,384 mmole) de dérivé diacétylé 3. La réaction est gardée à la température ambiante et à l'obscurité, elle est suivie par CCM et CLHP. Au bout de 24 heures tout le dérivé diacétylé 3 a disparu, la solution est évaporée sous vide à 40°C; le résidu est chromatographié sur colonne de silice (60 g). La colonne est éluée au chloroforme, puis à l'acétate d'éthyle avec un gradient croissant d'éthanol absolu.

Les produits isolés par ordre d'élution sont :

a) Amino 12 quinolino 2',3' : 5,4 imidazo 1,2-a pyridine 75 :

Avec un mélange d'acétate d'éthyle-éthanol absolu 9:1 une solution de couleur orange est éluée ; après évaporation sous vide on obtient un poudre rouge.

CLHP : 5,8 cm R = 0,2

Masse : m/e = 234 (M⁺) ; 233 ; 220 ; 184 ; 170 ; 145 ; 144 ; 128 ; 117 ; 101.

b) Azo ou azoxydiquinoléines 51c :

La colonne est éluée avec un mélange d'acétate d'éthyle 9:1 ; après évaporation de la solution orange, on obtient une poudre de couleur orange.

CLHP = 5,8 cm R = 0,20

Masse haute résolution : m/e = 332 (M⁺) ; 316 (M⁺-O) ; 300 (M⁺-2xO) ; 284 (M⁺-3xO) ; 271 ; 255 ; 158 ; 144 ; 132 ; 128 ; 116 ; 101.

C₁₈H₁₂N₄O₃

Masse moléculaire calculée : 332,090932

trouvée : 332,0916

RMN (DMSO d₆, 270 MHz) : 9,03 (1H, d) ; 8,78-8,48 (6H, m) ; 8,25 (1H, d) ; 7,97-7,75 (4H, m).

C. N-oxyde de l' amino-4 amino-2 pyrimidyl -3 quinoléine 72 :

La colonne est ensuite éluée avec un mélange d'acétate d'éthyle-éthanol 6:4. La solution jaune obtenue est évaporée sous vide à 40°C. Une poudre jaune est recueillie.

Son étude par CLHP montre que cette fraction est un mélange. Une cristallisation fractionnée avec un mélange éthanol-acétate d'éthyle permet d'isoler un produit unique, c'est une poudre jaune verdâtre.

CLHP = 2,9 cm R = 0,6

F : 260°C (décomposition)

Masse haute résolution : m/e = 252 (M⁺) ; 236 (M⁺-0) ; 235 ; 234 ; 220 (M⁺-O-NH₂) ; 131, 118 ; 89 ; 78.

Spectre MIKE : m/e 252 → 235
 236 → 220 ; 209
 220 → 193 ; 78

C₁₄H₁₂N₄O

Masse moléculaire calculée : 252, 101105

trouvée : 252,1016

RMN (DMSO d₆, 270 MHz) : 8,55 (1H, s, C₂-H) ; 8,42 (1H, s, C₅-H) ; 8,26 (1H, s, C'₂-NH) ; 8,22 (1H, d, C₈-H) ; 8,00 (1H, d, J = 5 Hz, C'₆-H ou C'₃-H) ; 7,63 (1H, t, C₆-H) ; 7,57-7,45 (2H, m, C₇-H et C'₅-H ou C'₄-H) ; 6,73 (1H, d, J = 9 Hz, C'₃-H ou C'₆-H) ; 6,66 (1H, t, C'₄-H ou C'₅-H) ; 6,47 (2H, s, C₄-NH₂).

B I B L I O G R A P H I E

1. J.A. MILLER, Cancer Research, (1970), 30, 559.
2. P.N. MAGEE, R. SCHOENTAL, Brit. Med. Bull., (1964), 20, 102.
3. P.L. GROVER, A. HEWER, P. SIMS, FEBS Letters, (1971), 18, 76.
4. P. SIMS, P.L. GROVER, A. SWAISLAND, K. PAL, A. HEWER, Nature, (1974), 252, 326.
5. A.M. JEFFREY, K.W. JENNETTE, S.H. BLOBSTEIN, I.B. WEINSTEIN, F.A. BELAND, R.G. HARVEY, H. KASAI, I. MIURA, K. NAKANISHI, J. Amer. Chem. Soc., (1976), 98, 5714.
6. H.S.W. KING, M.R. OSBORNE, P. BROOKES, Chem. Biol. Interact., (1979), 24, 345.
7. A.M. JEFFREY, K. GRZESKOWIAK, I.B. WEINSTEIN, K. NAKANISHI, P. ROLLER, R.G. HARVEY, Science, (1979), 206, 1309.
8. J.R. DE BAUN, E.C. MILLER, J.A. MILLER, Cancer Research, (1970), 30, 577.
9. E.C. MILLER, Cancer Research, (1978), 38, 1479.
10. E. KRIEK, J.A. MILLER, M. JUHL, E.C. MILLER, Biochemistry, (1967), 6, 177.
11. H. BARTSCH, M. TRAUT, E. HECKER, Biochim. Biophys. Acta, (1971), 237, 556.
12. E.C. MILLER, P.D. LOTLIKAR, J.A. MILLER, B.W. BUTLER, C.C. IRVING, J.T. HILL, Mol. pharmacol., (1968), 4, 147.
13. F.A. BELAND, W.T. ALLABEN, F.E. EVANS, Cancer Research, (1980), 40, 834.
14. E. KRIEK "Environmental Carcinogenesis" (P. EMMELOT, E. KRIEK Eds), Elsevier/North Holland Biomedical press, (1979), p. 143.
15. P. RIO, S. BAZGAR, M. LENG, Carcinogenesis, (1982), 3, 225.
16. W. G. TARPLEY, J.A. MILLER, E.C. MILLER, Carcinogenesis, (1982); 3, 81.
17. P.D. LAWLEY, P. BROOKES, Biochem. J. , (1963), 89, 127.
18. P. BROOKES, P.D. LAWLEY, Biochem. J., (1961), 80, 496.
19. J.K. LIN, J.A. MILLER, E.C. MILLER, Cancer Research, (1977), 37, 4430.
20. J.M. ESSIGNAN, R.G. GROV, A.M. NADZAN, W.F. Jr. BUSBY, V.N. REINHOLD, G. BÜCHI, G.N. WOGAN, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, (1977), 74, 1870.

21. R.P.P. FUCHS, M.P. DAUNE, FEBS Letters, (1971), 14, 206.
22. R.P.P. FUCHS, M.P. DAUNE, Biochemistry, (1972), 11, 2659.
23. R.P.P. FUCHS, M.P. DAUNE, FEBS letters, (1973), 34, 295.
24. R.P.P. FUCHS, Nature, (1975), 257, 151.
25. R.P.P. FUCHS, J.F. LEFEVRE, J. POUYET, M.P. DAUNE, Biochemistry, (1976), 15, 3347.
26. A.F. LEVINE, L.M. FINK, I.B. WEINSTEIN, D. GRUNBERGER, Cancer Research, (1974), 34, 319.
27. I.B. WEINSTEIN, D. GRUNBERGER, "Model Studies in Chemical Carcinogenesis" (P. Ts'0 et J. DE PAOLO, Eds), Part. A, Marcel DEKKER, New York, (1974), p. 217.
28. D. GRUNBERGER, I.B. WEINSTEIN, "Biology of Radiation Carcinogenesis" (J.M. YUHAS, R.W. TENNANT, J.D. REAGAN Eds), Raven Press, New York, (1976), p. 175.
29. F.F. KADLUBAR, J.F. ANSON, K.L. DOOLEY, F.A. BELAD, Carcinogenesis, (1981), 2, 467.
30. A. BARBIN, H. BRESIL, A. CROISY, P. JACQUIGNON, C. MALAVEILLE, R. MONTESANO, H. BARTSH, Biochem. Biophys. Research Comm., (1975), 67, 596.
31. H. BARTSH, C. MALAVEILLE, A. BARBIN, G. PLANCHE, Arch. Toxicol., (1979), 41, 249.
32. N.K. KOCHETCHOV, V.N. SHIBAEV, A.A. KOST, N.D. ZELINSKY, Tetrahedron Letters, (1971), 22, 1993.
33. J.R. BARRIO, J.A. III SECRIST, N.J. LEONARD, Biochem. Biophys. Research Comm., (1972), 46, 597.
34. A.H.J. WANG, J.R. BARRIO, I.C. PAUL, J. Amer. Chem., Soc., (1976), 98, 7401.
35. R.J. LAIB, H.M. BOLT, Arch. Toxicol., (1978), 39, 235.
36. T. GREEN, D.E. HATHAWAY, Chem. Biol. Interact., (1978), 22, 211.
37. A.H.J. WANG, L.G. DAMMANN, J.R. BARRIO, I.C. PAUL, J. Amer. Chem. Soc. (1974), 96, 1205.
38. P.D. STATTANGI, N.J. LEONARD, C.R. FRIHART, J. Org. Chem., (1977), 42, 3292.
39. K. KIMURA, M. NAKANISHI, T. YAMAMOTO, M. TSUBOI, J. Biochem., (Japan), (1977), 81, 1699.
40. W.P. TONG, M.C. KIRK, D.B. LUDLUM, Biochem. Biophys. Research. Comm., (1981), 100, 351.

41. W.P. TONG, D.B. LUDLUM, Proc. Amer. Assoc. Cancer Research, (1981), 22, 29.
42. B.M. GOLDSCHMIDT, T.P. BALZEJ, B.L. VAN DUUREN, Tetrahedron Letters, (1968), 13, 1583.
43. W. NAKAHARA, F. FUKUOKA, T. SUGIMURA, Gann, (1957), 48, 129.
44. S. SUGIMURA, K. OKABE, N. NAGAO, Cancer Research, (1966), 26, 1717.
45. M. TADA, M. TADA, Nature, (1975), 255, 510.
46. Y. KAWAZOE, M. ARAKI, Gann, (1967), 58, 485.
47. M. ENOMOTO, K. SATO, E.C. MILLER, J.A. MILLER, Life Science, (1968), 7, 1025.
47. Y. KAWAZOE, O. OGAWA, Tetrahedron, (1980), 36, 2933.
48. M. DEMEUNYNCK, M.F. LHOMME, J. LHOMME, Tetrahedron Letters, (1981), 22, 3189.
49. M. DEMEUNYNCK, M.F. LHOMME, J. LHOMME, J. Org. Chem., (1983), 48, 1171.
50. B. BAILLEUL, S. GALIEGUE, M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, M. DEMEUNYNCK, M.F. LHOMME, J. LHOMME, Chem. Biol. Interact., (1983), 43, 87.
51. K. TAKAHASHI, Y. KAWAZOE, M. TADA, M. TADA, N. ITO, M. OKADA, Gann, (1978), 69, 499.
52. R.A. ABRAMOVITCH, E.M. SMITH, J. Heterocyclic Chem., (1975), 12, 969.
53. S. GALIEGUE, G. LECOCQ, M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, Biochim. Biophys. Acta, (1980), 609, 383.
54. S. GALIEGUE-ZOUITINA, B. BAILLEUL, M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, Carcinogenesis, (1983), 4, 249.
55. M. TADA, M. TADA, Chem. Biol. Interact., (1971), 3, 225.
56. Y. KAWAZOE, M. ARAKI, G.F. HUANG, T. OKAMOTO, M. TADA, M. TADA, Chem. and Pharm. Bull., (Japan), 23, 3041.
57. B. BAILLEUL, S. GALIEGUE, M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE, Cancer Research, (1981), 41, 4559.
58. B. BAILLEUL, S. GALIEGUE-ZOUITINA, M.H. LOUCHEUX-LEFEBVRE (à publier).
59. E. OCHIAI, H. MITARASHI, Ann. Report ITSUU Lab., (1963), 13, 19.
60. M. DEMEUNYNCK, N. TOHME, M.F. LHOMME, J. LHOMME, J. Heterocyclic Chem. (sous presse).
61. T. KOSUGE, M. YOKOTA, Yakugaku Zasshi, (1965), 85, 69.
62. T. KOSUGE, H. ZENDA, H. SAWANISHI, Y. SUZUKI, Chem. and Pharm. Bull., (Japan), (1969), 17, 2181.
63. M. DEMEUNYNCK, Thèse de 3ème Cycle, Lille, (1981), p. 115.

64. P.D. SATTSANGI, J.R. BARRIO, N.J. LEONARD, J. Amer. Chem. Soc., (1980) 102, 770.
65. "High resolution NMR Spectra catalog", (Varian Ed.), California, (1963), Vol. 2, Spectre n° 431.
66. "The Sadtler Handbook of proton NMR Spectra" Sadtler Research Laboratories Inc., (U.S.A.), (1978), p. 292, Spectre n° 708.
67. F.A. BOVEY, "NMR data tables for organic compounds", J. WILEY and Sons, Inc., (U.S.A.), 1967), Vol. 1., p. 124.
68. L.M. JACKMAN, S. STERNHELL, "Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry", second edition, Pergamon Press, (1969), Vol. 5, p. 304 et 307.
69. E. OCHIAI, A. OHTA, H. NOMURA, Chem. and Pharm. Bull., (Japan), (1957), 5, 310.
70. M. FETIZON, J.C. GRAMAIN, M. GOLFIER, Compt. Rend. Acad. Sci., (1968), 267, 900.
71. Y. KAWAZOE, M. ARAKI, Chem. and Pharm. Bull., (Japan), (1968), 16, 839.

