

N° d'ordre : 1134

50376  
1983  
277

50376  
1983  
277

# THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR DE TROISIEME CYCLE**

par

Georges HUART

**FUROCOUMARINES PHOTOACTIVES : SYNTHÈSE ET  
ETUDE DE MODELES ASSOCIANT LE METHOXY-5  
PSORALENE A LA THYMINE**



Soutenue le 19 décembre 1983 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury :

MM. C. LOUCHEUX, Président  
J. LHOMME, Rapporteur  
J. CADET, Examineur  
C. COURSEILLE, Examineur  
P. VIGNY, 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. BEAUFILS Jean Pierre	Chimie physique
M. BIAYS Pierre	Géographie
M. BILLARD Jean	Physique du solide
M. BOILLY Bénoni	Biologie

M. BOUGHNON 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. BKUCHE Rudolphe	Algèbre
M. BODARD Marcel	Biologie végétale
M. BOIVIN Jean-Claude	Chimie minérale
M. BONNELLE Jean-Pierre	Catalyse
M. BOSCOQ 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. POVY Lucien	Automatique
M. RACZY Ladislas	Electronique
M. RAOULT Jean-François	Géologie structurale
M. RICHARD Alain	Biologie animale
M. RIETSCH François	Physique des polymères
M. ROGALSKI Marc	Analyse
M. 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

à ma femme,

à mes parents.

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 lui suis particulièrement reconnaissant de l'enseignement et des conseils qu'il m'a prodigués ainsi que de la disponibilité dont il a su faire preuve tout au long de mon travail.

Je remercie Monsieur J.L. DECOUT qui a guidé mes premiers pas dans la recherche et m'a fait largement profiter de ses connaissances et de son expérience.

J'adresse mes vifs remerciements à Messieurs C. LOUCHEUX, J. CADET, C. COURSEILLE et P. VIGNY qui ont accepté de constituer le jury de cette thèse.

Je remercie très chaleureusement mes camarades de laboratoire pour la sympathie qu'ils m'ont toujours témoignée et pour leur aide.

Je remercie également Messieurs B. MOUCHEL et P. WATKIN du service de RMN pour leurs conseils et leur aide technique ainsi qu'à Monsieur G. RICART du service de spectrométrie de masse.

Je tiens particulièrement à remercier Madame J. RICART qui a réalisé la dactylographie de ce mémoire avec beaucoup de mérite et de gentillesse.

Mes remerciements s'adressent également à Madame L. SAINLEGER qui a assuré l'impression de la thèse, ainsi qu'à Madame R. DRUON et Monsieur F. DUPLATEAU qui ont participé activement et avec beaucoup de gentillesse à la réalisation de ce manuscrit.

Je ne saurais oublier dans mes remerciements Madame M.T. GARET et N. CRESPEL qui ont réalisé avec beaucoup d'efficacité et de disponibilité les clichés utilisés lors de la soutenance.

# S O M M A I R E

-----

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE .....	19
I. Synthèse des composés modèles Thy-C <sub>n</sub> -5Pso <u>8</u> .....	22
A. Choix de la voie de synthèse.....	22
B. Schéma de synthèse retenu .....	25
C. Obtention des modèles Thy-C <sub>n</sub> -5Pso n=3 : <u>8c</u> ; n=4 : <u>8d</u> ; n=5 : <u>8e</u> ; n=6 : <u>8f</u> ; n=12 : <u>8l</u> .....	26
D. Obtention du modèle Thy-C <sub>12</sub> -5Pso <u>8b</u> .....	35
II. Synthèse du modèle dihydro Thy-C <sub>12</sub> -4',5'-dh5Pso <u>15d</u> .....	37
III. Synthèse des composés de référence.....	38
CHAPITRE II : ETUDE PHYSICOCHIMIQUE.....	41
I. Etude dans l'eau des modèles.....	43
A. Etude U.V. ....	43
1) PRINCIPE DE LA METHODE.....	43
2) RESULTATS.....	46
B. Etude par RMN.....	53
1) PRINCIPE .....	53
2) ENREGISTREMENTS DES SPECTRES.....	53
3) RESULTATS.....	54

II. Nature des interactions - Influence du solvant.....	56
A. Etude U.V.....	57
B. Etude par R.M.N.....	58
CHAPITRE III : ETUDE PHOTOCHIMIQUE.....	59
INTRODUCTION.....	60
I. Photoréactivité des modèles Thy-C <sub>n</sub> -5Pso <u>8</u> .....	63
A. Etude en solution diluée.....	63
1) OBTENTION DU PHOTOADDUIT <u>20d</u> DETERMINATION DE SA STRUCTURE.....	63
2) SELECTIVITE DE LA PHOTOREACTION.....	65
3) PREMIERES INDICATIONS SUR LE MECANISME.....	70
4) IRRADIATION A 254 nm DU PHOTOADDUIT : OUVERTURE DU CYCLOBUTANE .....	71
B. Etude en solution concentrée .....	73
1) INFLUENCE DE LA LONGUEUR DE LA CHAINE.....	74
2) INFLUENCE DU SOLVANT.....	76
3) ETUDE DE LA STRUCTURE DU PHOTOPRODUIT <u>21</u> .....	78
4) PREMIERES INDICATIONS SUR LE MECANISME.....	83
II. Photoréactivité du modèle Thy-C <sub>4</sub> -4',5'dh5Pso <u>15d</u> .....	84
A. Etude en solution diluée .....	85
1) INFLUENCE DU SOLVANT.....	85
2) OBTENTION ET CARACTERISATION DU PHOTOADDUIT <u>22d</u> .....	86
3) PREMIERES INDICATIONS SUR LE MECANISME.....	89

B. Etude en solution concentrée.....	89
1) INFLUENCE DU SOLVANT.....	89
2) ISOLEMENT - CARACTERISATION DU PHOTOPRODUIT <u>23d</u> .....	90
3) PREMIERES INDICATIONS SUR LE MECANISME.....	93
CONCLUSION.....	95
PARTIE EXPERIMENTALE.....	103
BIBLIOGRAPHIE.....	142

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

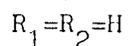
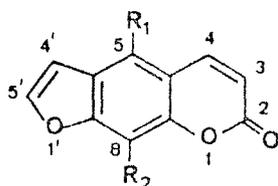
-----

Les furocoumarines sont essentiellement des composés d'origine naturelle. Ces substances sont extraites de plantes appartenant principalement à deux familles (1) :

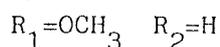
- Les Umbellifères (céleri, persil, angélique,...).
- Les Rutacées (oranger, citronnier,...).

Le méthoxy-5 psoralène (5MOP) ou bergaptène 1 se trouve par exemple dans les essences de citron, de pamplemousse et de bergamote. En outre un certain nombre de furocoumarines a été obtenu par synthèse. Ce sont des composés hétérocycliques oxygénés. On distingue deux classes:

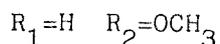
- Les furocoumarines linéaires ou psoralènes\* :



Psoralène

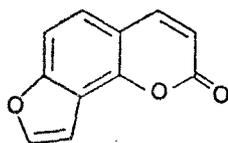


Méthoxy-5 psoralène (5MOP) 1



Méthoxy-8 psoralène (8MOP) 2

- Les furocoumarines angulaires ou angélicines :



Angélicine

\*

Furo(3,2-g)-1 benzopyrane one-7 ou furo(3,2-g)-coumarine.

## PROPRIETES PHOTOBIOLOGIQUES :

La photosensibilisation de la peau est la principale propriété bien connue de ces composés. De nombreux cas de photodermatites\* apparaissant après une exposition au soleil de la peau ayant été au contact de certaines plantes, sont connus depuis longtemps. Des érythèmes d'intensité variable, suivis de pigmentation se développent après une certaine période de latence. Cette propriété était déjà mise à profit chez les égyptiens qui utilisaient les fruits de Amni majus pour soigner des leucodermies\*\*. De même chez les indiens les graines de Psoraléa caryfolia étaient employées dans le traitement du vitiligo\*\*\*.

Ces substances actives furent isolées dans les années 1930 par H. KUSKE (2). Les structures de ces furocoumarines furent élucidées, d'autres dérivés furent isolés, ce qui amena un développement rapide des recherches sur l'activité photobiologique, notamment en Egypte par E. MOFTY (3) et en Italie par L. MUSAJO (4).

Progressivement ces substances furent utilisées en association avec les rayons UV pour soigner les maladies de la peau telles que le vitiligo et le psoriasis\*\*\*\*.

---

\* Photodermatite : Affection cutanée due à l'action conjointe de la lumière (solaire) et de certaines substances.

\*\* Leucodermie : Décoloration de la peau par absence ou disparition du pigment (vitiligo, lèpre, radiadermite).

\*\*\* Vitiligo : Anomalie de coloration de la peau, caractérisée par l'apparition de plaques décolorées, limitées par une zone où la pigmentation est, au contraire, plus accusée.

\*\*\*\* Psoriasis : Affection cutanée, caractérisée par l'apparition de squames blanchâtres, recouvrant des plaques rougeâtres dues à une prolifération anormale de l'épiderme. Cette maladie atteint environ 2 % de la population.

C'est en 1974 que J.A. FARRISH et Coll. (5) développent ce qu'ils ont appelé la PUVA thérapie, c'est à dire le traitement utilisant conjointement les dérivés du psoralène (essentiellement 8MOP 2, 5MOP 1 et triméthyl-4,5',8 psoralène) en prise orale et l'exposition de la peau aux rayons UV A (320-400 nm). La PUVA thérapie constitue actuellement le principal traitement de ces maladies (6).

De part leurs propriétés mélanogènes, les psoralènes sont également très utilisés dans certains parfums, eaux de cologne et crèmes solaires ; le bergaptène 1 (5MOP), contenu dans les essences de bergamote est le plus employé .

De récents travaux ont cependant montré que certains dérivés (en présence de lumière) étaient tumorigènes sur différentes souches de cellules (7) et provoquaient dans certaines conditions des cancers de la peau chez la souris (8MOP 2, 5MOP 1, angélicine) (8, 9).

Chez l'homme, les résultats concernant ces effets mutagènes et cancérogènes sont contradictoires (6). Ils semblerait qu'il soit trop tôt pour évaluer de manière précise les risques de cancer de la peau chez les malades traités par la "PUVA thérapie" et chez les utilisateurs de crèmes ou autres parfums additionnés de furocoumarines.

Bien qu'étudié depuis de très nombreuses années, le mode d'action photobiologique des furocoumarines n'est actuellement pas encore bien élucidé : il y aurait une photomodification de l'ADN et/ou de l'ARN (7) et peut-être des protéines (10, 11, 12).

### Photoréactivité des furocoumarines vis-à-vis des bases nucléiques.

#### Mode d'action présumé des furocoumarines.

Jusqu'en 1962, on ne connaissait rien du mode d'action des furocoumarines ; seules des études concernant leurs effets photobiologiques avaient été réalisées essentiellement par les équipes italiennes (L. MUSAJO et Coll. (13) et américaines (J.A. PATHAK et Coll. (14). Les premières recherches de relations structure-activité débutèrent à cette époque (4,15). Des travaux portant sur la photodimérisation des furocoumarines (16, 17) se développèrent également. Quelques années plus tard L. MUSAJO et

G. RODIGHIERO décrivent les interactions entre furocoumarines et ADN (18, 19, 20). Les furocoumarines actives ou inactives (dans ce sens qu'elles provoquent ou non des effets photobiologiques) sont capables de s'intercaler en absence de lumière dans l'ADN et certains ARN (20). De nombreuses recherches débutèrent alors sur les interactions entre les furocoumarines et les acides nucléiques. L. MUSAJO et Coll. constatent, qu'après irradiation à 365 nm d'une solution aqueuse d'ADN et de furocoumarines actives, une modification du spectre de fluorescence de l'ADN (non observée dans le cas d'irradiation effectuée en présence de furocoumarines non actives) (19). D'autres auteurs mirent également en évidence une photoréaction entre l'ADN et des furocoumarines actives, par la mesure du  $T_m$  (température de fusion) de l'ADN, qui augmente lorsque l'ADN a été préalablement irradié en présence de furocoumarines actives (18). De même, il fut montré (sans preuve absolue) que les furocoumarines semblaient plutôt photoréagir avec les bases pyrimidiques qu'avec les bases puriques (travaux de C.H. KRAUCH sur des polynucléotides (21)). Les effets photobiologiques des furocoumarines semblent dès lors pouvoir être expliqués par leur photoréactivité vis-à-vis des bases pyrimidiques des acides nucléiques.

L. MUSAJO mit en évidence la formation de photoproduits correspondant à l'addition de la double liaison 4',5' du psoralène sur la double liaison 5,6 de la thymine (22). Il put isoler quelques photoadduits (à l'échelle du mg) après avoir irradié des solutions aqueuses gelées de thymine et de psoralène.

Les adduits en 4',5' obtenus en très faibles quantités ne furent pas complètement caractérisés.

Exemples :

Cyt 5,6  $\diamond$  4',5' Pso (analyse élémentaire, UV)

Thy 5,6  $\diamond$  4',5' 5MOP (UV)

Des photoadduits correspondant à l'addition de la thymine sur la double liaison 3,4 du psoralène furent également mis en évidence par chromatographie, spectrométrie UV (comparaison avec les spectres UV de psoralènes hydrogénés en position 3,4 et de dimères de psoralène en 3,4) et par la réirradiation à 254 nm qui redonne les produits de départ (23): mais ces produits ne furent pas isolés.

A partir de ces résultats, un mécanisme moléculaire de l'action photochimique des furocoumarines dans l'ADN, fut proposé par L. MUSAJO et Coll (22, 23).

Le mécanisme comporte deux étapes :

- 1) Complexation du psoralène dans l'ADN.
- 2) Photoréaction avec les bases pyrimidiques.

#### 1) COMPLEXATION DU PSORALENE DANS L'ADN : INTERCALATION DU PSORALENE:

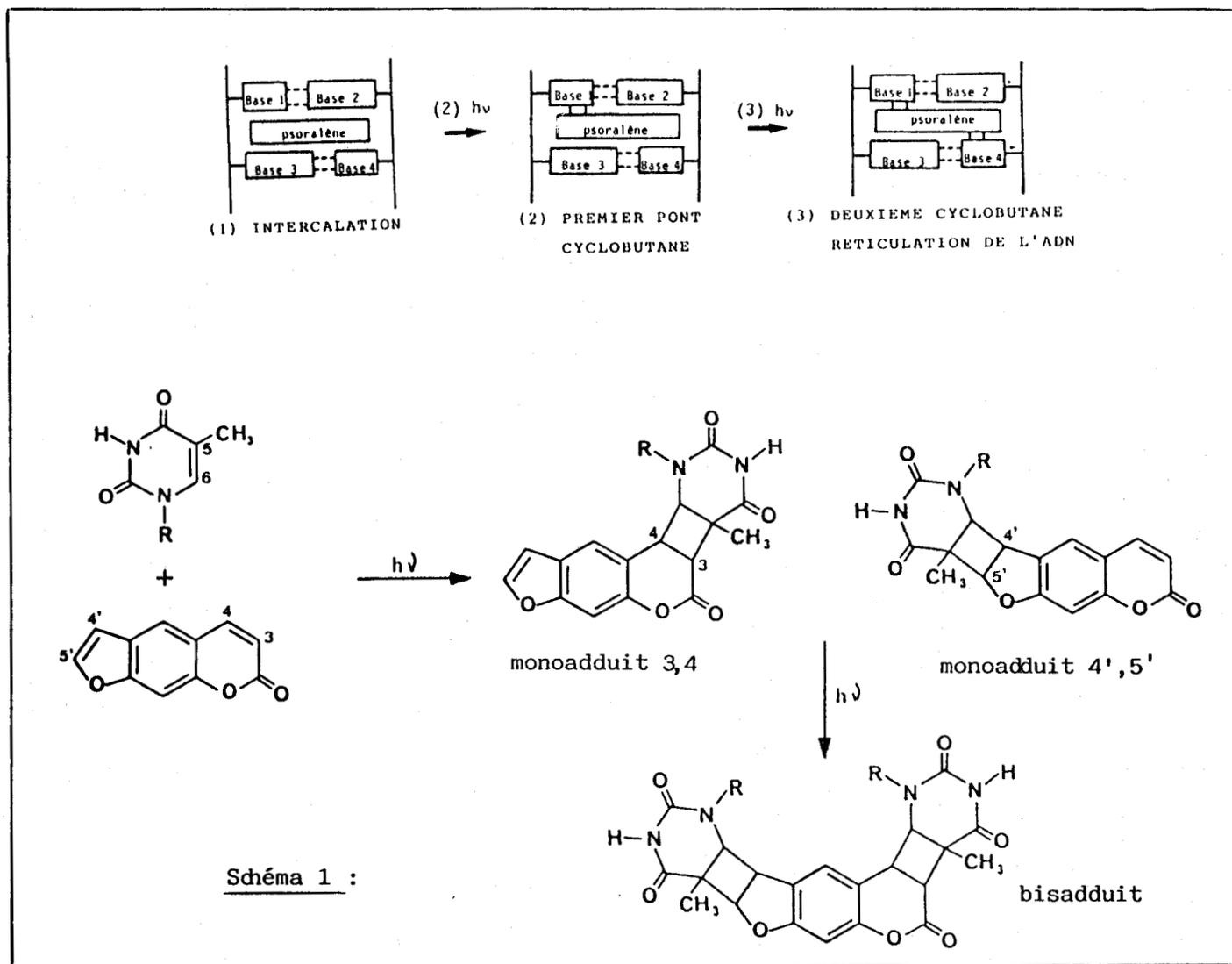
Le complexe moléculaire ADN-psoralène est formé par l'intercalation du chromophore psoralène (qui est plan) entre deux paires de bases consécutives de l'ADN\*. On observe un complexe d'interactions verticales entre les différents noyaux aromatiques (schéma 1). Cette étape d'intercalation est fondamentale, car suivant la géométrie du complexe formé, il peut y avoir ou non formation du pont cyclobutane entre le psoralène et une base pyrimidique dans une étape ultérieure.

#### 2) PHOTOCYCLOADDITION DU PSORALENE AVEC LES BASES PYRIMIDIQUES :

Le psoralène intercalé, sous irradiation dans l'UV proche, s'additionne soit par sa double liaison 3,4, soit par sa double liaison 4',5' sur la double liaison 5,6 de la base pyrimidique en formant un cyclobutane (Base 5,6  $\diamond$  3,4 ou 4',5' psoralène : monoadduit 3,4 ou 4',5'). Dans un premier temps il y a donc formation de liaison covalente avec un brin de l'ADN. La réaction peut aller plus loin, le psoralène peut photoréagir par son autre double liaison, les deux brins de l'ADN sont alors liés de façon covalente (réticulation) (schéma 1).

---

\* Le nombre de sites d'intercalation dans l'ADN pour le psoralène s'échelonne de 2 à 6 psoralènes par 100 nucléotides. Ce nombre est très variable et dépend de l'ADN, des psoralènes étudiés et du milieu (7).



Bien que depuis 1967, de nombreuses études portant sur la photoréactivité des furocoumarines vis-à-vis des bases pyrimidiques (libres ou dans l'ADN) aient confirmé la possibilité de ce mécanisme (7, 10), ce n'est qu'en 1981 que des photocycloadduits base pyrimidique - psoralène ont été isolés et complètement caractérisés (24, 25)(voir détails p. 10 à 12).

Ce n'est d'ailleurs qu'en 1982 que l'équipe de H. RAPOPORT (26) a isolé et caractérisé pour la première fois un bisadduit.

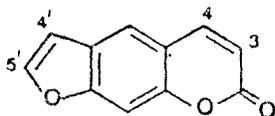
En fait les très nombreux travaux réalisés représentent un ensemble indirect de preuves du mode d'action supposé des furocoumarines. De nombreux points restent à éclaircir quant à la nature et au mécanisme exact des réactions photochimiques des psoralènes avec les bases nucléiques.

#### APPROCHE DU PROBLEME :

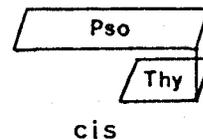
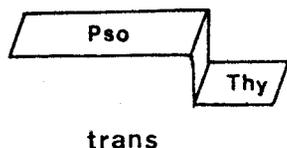
Tous les photoproduits thymine-psoralène, isolés jusqu'à ce jour, sont des composés d'addition de type 2+2 entre la double liaison 5,6 de la thymine et la double liaison 3,4 ou 4',5' du noyau psoralène, formant ainsi un cyclobutane.

Huit photoadduits thymine  $\diamond$  psoralène isomères sont envisageables :

1) Tout d'abord la double liaison 5,6 de la thymine peut s'additionner soit sur la double liaison 3,4 (mono-adduit-3,4) soit sur la double liaison 4',5' (mono-adduit-4',5') du psoralène.



2) Chaque monoadduit (-3,4 ou -4',5') peut présenter une stéréochimie cis ou trans, définie par la position des noyaux thymine et psoralène par rapport au plan du cyclobutane ( $\diamond$ ).



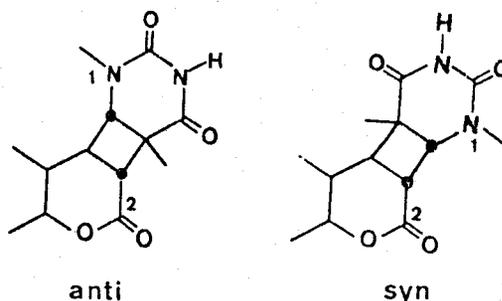
3) Enfin pour chaque monoadduit cis ou trans, une configuration syn ou anti définie par l'orientation tête-queue des deux noyaux l'un par rapport à l'autre, est possible.

H. RAPOPORT et Coll. (25, 26, 27) ont défini ainsi les termes syn et anti.

. Dans la configuration syn, l'azote N-1 de la thymine et le carbone C-2 du psoralène sont liés à deux atomes de carbone (•) adjacents du cyclobutane.

. Dans la configuration anti, ces mêmes atomes sont liés à deux atomes de carbone (•) diagonalement opposés du cyclobutane.

Exemple : isomère trans :



Remarque :

Dans la nomenclature officielle, le composé trans syn par exemple serait appelé "cis anti cis tête à tête".

Différentes approches conduisant aux cycloadduits base pyrimidique  $\diamond$  psoralène ont été utilisées :

### 1) PROTOREACTION INTERMOLECULAIRE ENTRE UNE BASE ET UN PSORALENE :

Les études des réactions photochimiques entre une base et un psoralène en solution ont montré qu'on observait en fait, principalement des réactions de photodimérisation du psoralène, même en présence d'un très grand excès de base : en effet les psoralènes ont la propriété de photodimériser très rapidement (28 à 31). Afin de minimiser les réactions de photodimérisation, l'irradiation de mélanges base psoralène en phase solide (solution gelée, poudre) est donc utilisée.

Les premiers adduits thymine  $\diamond$  psoralène furent isolés par L. MUSAJO et Coll. en 1967 (22) dans des conditions expérimentales difficiles : seuls des monoadduits 4',5' furent obtenus par irradiation de solution aqueuse gelée (10 litres) de psoralène ( $10^{-3}$ M) et de thymine en grand excès (cent fois par rapport au psoralène). Ces différents monoadduits - isolés à l'échelle du mg (Rdt 0,5 %) - n'ont pas été complètement caractérisés :

Exemple : Thy 5,6  $\diamond$  4',5' 5MOP caractérisé seulement par son spectre UV.

Il fallut attendre 1981 pour que des premiers résultats complets soient obtenus.

- En 1981 S.Y. WANG et Coll. (24) ont irradié des solutions gelées de diméthyl-1,3 thymine et de 8MOP  $\underline{2}$  dans l'acétonitrile. Ils ont isolé et caractérisé deux photoadduits diméthyl-1,3 thymine-5,6  $\diamond$  3.4 8MOP cis anti et cis syn ; pour chaque adduit le rendement est faible, inférieur à 10 %.

- En 1982, pour la première fois, un adduit\* Thymine 5,6  $\diamond$  4',5' 8MOP (cis syn) fut obtenu et complètement caractérisé (RX) par l'équipe de E.J. LAND (32). Le rendement est de l'ordre de 3 %.

- Récemment J. CADET et Coll. (33) ont isolé et caractérisé des adduits en 3,4 entre le 8MOP 2 et la thymidine (Thd) : six diastéréoisomères (cis anti, cis syn et trans syn) Thd 5,6  $\diamond$  3,4 8MOP ont été obtenus.

Cette équipe a également isolé et caractérisé deux adduits en 4',5' (34) entre le carbéthoxy-3 psoralène et la thymidine (structure cis syn).

Tous ces photoadduits ont été obtenus par irradiation en phase solide.

- Des monoadduits 3,4 et 4',5' Thd 8MOP ont également été isolés par S.C. SHIM et Coll. (35) : deux monoadduits 4',5' (cis syn et trans syn) et un monoadduit 3,4 (cis anti) ont été caractérisés.

- Nous pouvons citer également les résultats de F. DALL'ACQUA et Coll (36) qui ont isolé des monoadduits 3,4 et 4',5' entre la thymine et la diméthyl-4,5' angélicine ; ces composés ont été obtenus avec des rendements très faibles (<0,05 %).

En résumé divers types d'adduits ont pu être obtenus mais toujours en très faibles quantités et en opérant en phase solide.

## 2) PHOTOREACTION DES PSORALENES AU NIVEAU DE L'ADN :

L'étude de la photoaddition des psoralènes dans l'ADN est par ailleurs très difficile. En raison du faible taux de photoréaction, de la diversité des photoproduits formés et du travail délicat de dégradation de l'ADN pour isoler les photoadduits, les premiers résultats très

---

\* Irradiation de film de 1mm de solution gelée contenant le 8MOP ( $2 \times 10^{-4}$  M), la thymine ( $2 \times 10^{-2}$  M) et de la benzophénone ( $6 \times 10^{-3}$  M).

complets ne furent obtenus qu'en 1981 par l'équipe de J.E. HEARST et H. RAPOPORT (25, 27).

Après irradiation d'ADN et de dérivés tritiés du psoralène (8MOP 2, triméthyl 4,5',8 psoralène) ils purent isoler et caractériser différents monoadduits 3,4 et 4',5'. Les quantités de produit obtenu sont de l'ordre du microgramme. Dans le cas du 8MOP 2 par exemple les adduits cis syn suivants furent isolés :

Cytidine 5,6  $\diamond$  4',5'8MOP

Thymine 5,6  $\diamond$  4',5'8MOP

Thymidine 5,6  $\diamond$  3,4 8MOP

D'autres adduits furent également caractérisés par cette équipe (27, 37), en particulier un monoadduit 4',5' (Thd  $\diamond$  8MOP) dont la structure faite par RX a été déterminée : ce composé possède la structure cis syn.

Par cette approche les rendements en photoadduits sont encore plus faibles. D'autre part, il est possible qu'un certain nombre de photoadduits formés se décomposent dans les conditions de l'hydrolyse enzymatique et acide de l'ADN.

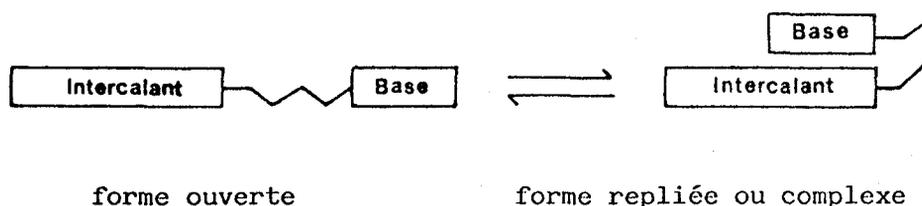
En conséquence tous les résultats obtenus à ce jour sur la photoréactivité entre la thymine et les psoralènes résultent d'expériences dans lesquelles la nature des photoproduits est imposée beaucoup plus par des contraintes géométriques que par la photoréactivité en elle même: en effet que ce soit en phase solide (poudre ou gel) ou dans l'ADN, les chromophores sont "bloqués".

### APPROCHE INTRAMOLECULAIRE :

Neus avons choisi une approche intramoléculaire pour étudier à la fois les interactions et les photoréactions entre une base nucléique et un psoralène\*.

Cette approche consiste à préparer des molécules modèles dans lesquelles une base est reliée à un psoralène par une chaîne polyméthylénique souple Base-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Psoralène. Cette méthodologie consistant en la synthèse et l'étude physicochimique de telles molécules modèles, est classiquement utilisée dans notre laboratoire pour étudier les interactions d'empilement base nucléique - composé d'intercalation dans l'ADN (intercalant).

Ces systèmes sont capables de se replier, s'il existe des interactions attractives entre les noyaux aromatiques.



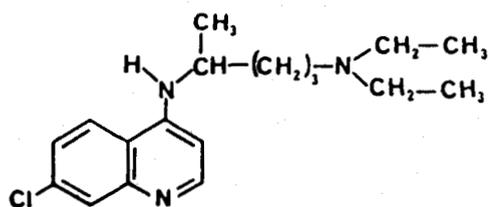
La position de l'équilibre formes ouvertes  $\rightleftharpoons$  formes repliées constitue une mesure directe de l'interaction.

Les nombreux résultats d'études physicochimiques déjà obtenus dans les séries de la chloroquine (38), de la quinacrine (39), et de la proflavine (40) ont montré que le complexe (forme repliée) formé en solution aqueuse est de même nature que le complexe d'intercalation dans l'ADN.

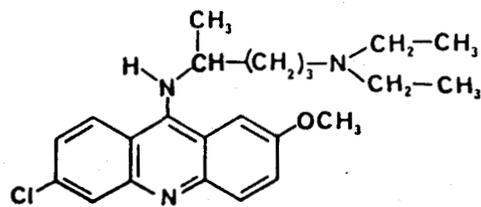
---

\*

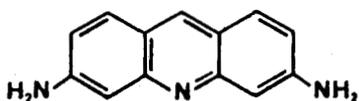
A l'époque où nous avons commencé ce travail, aucun photoadduit base  $\diamond$  psoralène n'avait pas encore été décrit. La première publication de H. RAPOPORT et Coll. date de 1981.



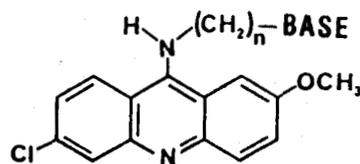
Chloroquine



Quinacrine



Proflavine



Modèle de l'intercalation de la Quinacrine

Les modèles Base-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Psoralène envisagés devraient donc nous permettre :

- 1) D'étudier l'interaction intramoléculaire d'empilement entre la base et le psoralène, telle qu'elle peut se faire dans l'ADN.
- 2) D'étudier les réactions photochimiques base psoralène en solution. Il sera possible également d'étudier la photoréactivité en fonction de la complexation et du solvant.

Choix du psoralène et de la base :

---

- 1) La base nucléique tout d'abord retenue est la thymine car d'après les résultats de la littérature, celle-ci semble être la plus photoréactive vis-à-vis des psoralènes.

2) Nous avons choisi les méthoxy-5 1 et -8 psoralène 2 pour plusieurs raisons :

- Ils constituent les molécules de base et les composés majeurs dans la série, si l'on en juge par leurs utilisations en thérapeutique et en cosmétologie.
- Les sites de fixation de la chaîne sur le noyau psoralène, à savoir les atomes d'oxygène 5 et 8, se trouvent placés de manière quasi symétrique par rapport à chacune des deux doubles liaisons photoréactives du psoralène (schéma 2 ) : dans les modèles la double liaison photoréactive 5,6 de la thymine peut donc recouvrir avec une égale probabilité la double liaison 4',5' du cycle furane ou la double liaison 3,4 du cycle pyrone. Ces systèmes permettent donc d'étudier de manière compétitive la photoaddition de la double liaison 5,6 de la thymine sur les doubles liaisons 3,4 et 4',5'.
- Il est intéressant de noter également que les modèles du 5MOP 1 et du 8MOP 2 sont complémentaires : comme on peut le voir sur le schéma ci-dessous et à partir de modèles moléculaires, les deux systèmes permettront la formation des adduits en 3,4 ou 4',5', en cis ou en trans, par contre les modèles de la série 5 ne conduiront qu'à des adduits anti et ceux de la série 8 à des adduits syn.

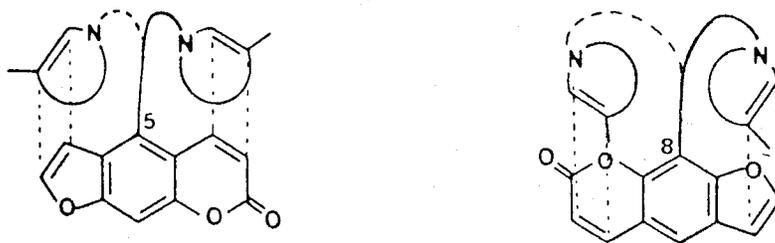


Schéma 2

Pour chaque série de modèles, quatre adduits isomères peuvent donc se former.

Choix de la nature de la chaîne :

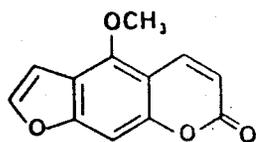
Etant données les études envisagées, nous avons choisi de relier les deux chromophores par un pont hydrocarboné (chaîne polyméthylénique  $-(CH_2)_n-$ ) de préférence à une chaîne portant des hétéroatomes, oxygène\* ou azote : en effet la chaîne polyméthylénique ne présente que peu d'interactions avec le solvant et elle est inerte photochimiquement. Par ailleurs il est possible de faire varier facilement et progressivement sa longueur. Nous avons ainsi préparé des molécules dont la longueur de la chaîne varie de  $n=2$  à  $n=12$ . Comme nous le verrons par la suite ceci nous permet d'exclure tout effet de contrainte géométrique de la chaîne sur les propriétés observées.

La synthèse des modèles Thy- $(CH_2)_n-$  5 ou 8 psoralène a donc été entreprise. Par analogie avec les nucléosides de l'ADN, la chaîne carbonée  $-(CH_2)_n-$  sera fixée sur l'azote N-1 de la thymine.

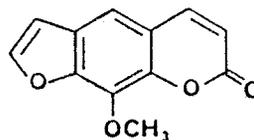
---

\*

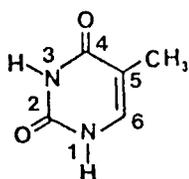
Un modèle dans lequel la thymine est reliée à un noyau de type méthoxy-8 psoralène 2 par une chaîne polyoxyéthylénique a été préparé et étudié par A. CASTELLAN et J.P. DESVERGNE (41).



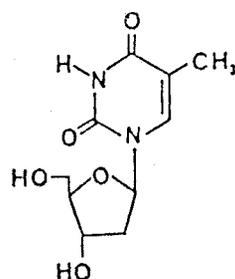
5 MOP 1



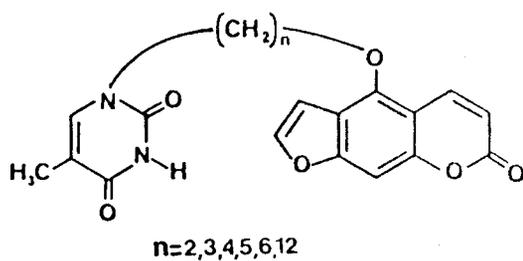
8 MOP 2



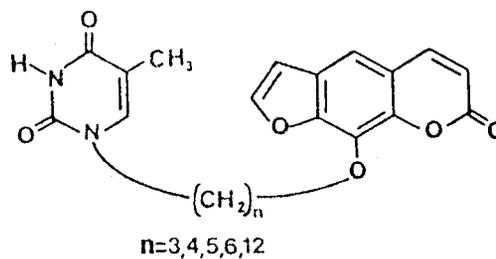
Thymine 3



Thymidine



Thy - C<sub>n</sub>-5Pso 8



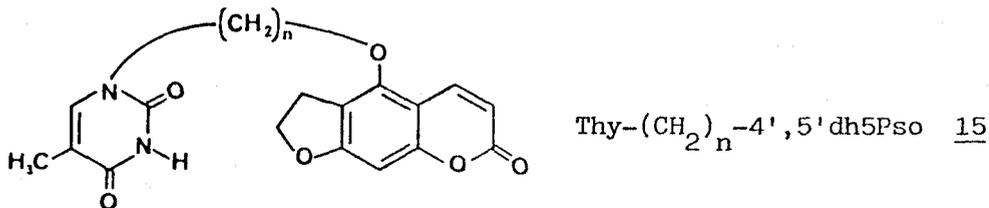
Thy-C<sub>n</sub>-8Pso 8'

Ce type de molécule devrait nous permettre d'étudier la réaction photochimique base-psoralène en solution. En effet dans son principe, l'utilisation de systèmes intramoléculaires doit limiter sinon éliminer totalement les réactions intermoléculaires de photodimérisation de psoralènes qui masquent la réaction base-psoralène dans l'approche intermoléculaire usuelle.

Les travaux concernant la série du 8MOP\* 2 ont été réalisés par J.L. DECOUT et ont fait l'objet de sa thèse d'Etat (42).

Nous avons personnellement réalisé l'étude dans la série 5MOP 1.

Nous avons également préparé des modèles comportant un psoralène hydrogéné en 4',5' afin de limiter le nombre de photoréactions. En outre les dihydro 4',5' psoralènes sont considérés comme de bons modèles des monoadduits 4',5' base-psoralène (43). En effet ces derniers, en raison de leur absorption entre 400 et 300 nm, peuvent photoréagir une deuxième fois dans l'ADN et conduire à la formation de bisadduits. Les composés Thy-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-4',5'dh 5 ou 8 psoralène 15 et 15' seront donc des modèles pour l'étude de cette deuxième photoréaction.



---

\*

Des modèles comportant l'adénine ont été également synthétisés en série du 8MOP, l'adénine étant liée par son atome d'azote N-9.

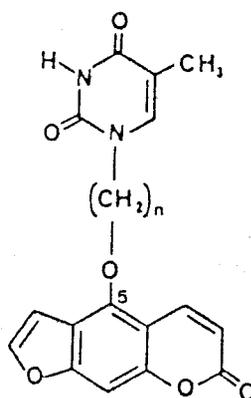


Dans ce chapitre, nous décrivons la synthèse des composés modèles et de référence.

Le composés modèles :

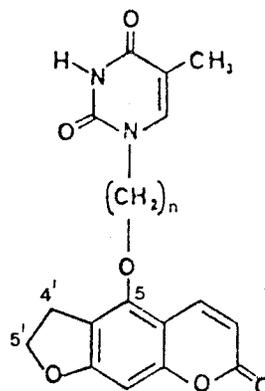
\* Thyimine-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-5Psoralène

Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8    b : n = 2  
                                  c : n = 3  
                                  d : n = 4  
                                  e : n = 5  
                                  f : n = 6  
                                  l : n = 12



\* Thyimine-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-5, dihydro-4',5'Psoralène

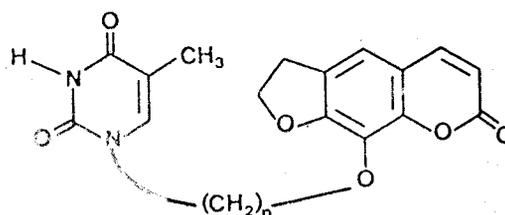
Thy-C<sub>n</sub>-4',5'dh5Pso 15



Seul le composé où n est égal à quatre, a été préparé : en effet les études réalisées par J.L. DECOUT (42) dans la série des modèles hydrogénés du méthoxy-8 psoralène\* ont montré que la longueur de la chaîne avait peu d'importance sur la photoréaction. Nous avons opté pour une chaîne constituée de quatre méthylènes (et non 3, 5, 6 et 12) pour des raisons de meilleure solubilité dans l'eau.

\*

modèle hydrogéné du méthoxy-8 psoralène 15'



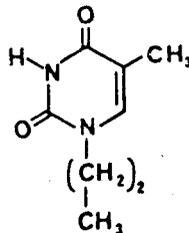
Les composés de référence :

Comme nous le verrons dans l'étude physicochimique, nous avons besoin de composés de référence représentant les deux "moitiés" des molécules modèles.

Les composés suivants ont donc été préparés.

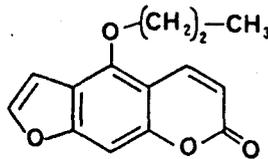
- \* Propyl-1 thymine

Thy-C<sub>3</sub> 16



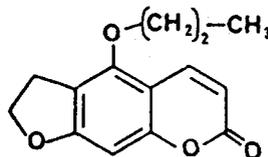
- \* Propoxy-5 psoralène

5Pso-C<sub>3</sub> 17



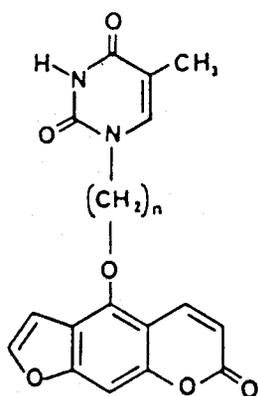
- \* Propoxy-5 dihydro-4',5' Psoralène

4',5' dh5Pso-C<sub>3</sub> 18



I. SYNTHÈSE DES COMPOSÉS MODÈLES THY-C<sub>N</sub>-5Pso 8 :

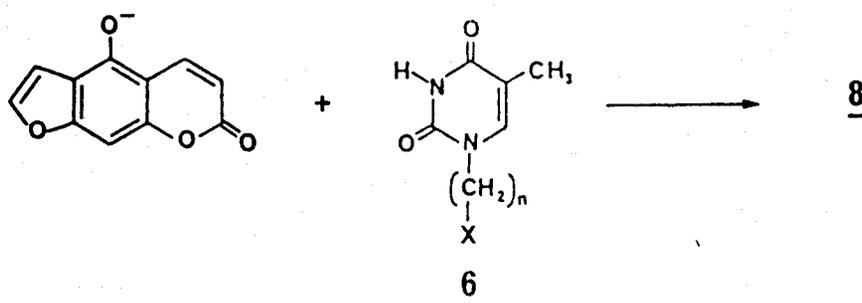
A. CHOIX DE LA VOIE DE SYNTHÈSE :



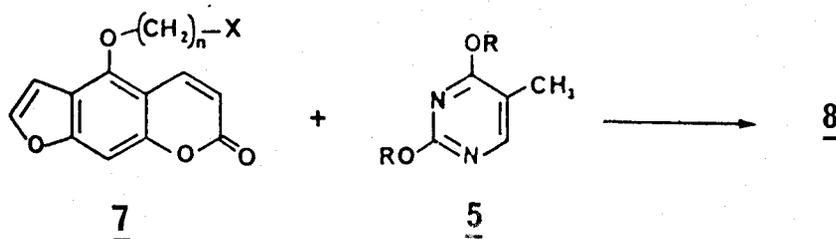
Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8

La condensation finale conduisant au modèle désiré peut-être envisagée de deux façons :

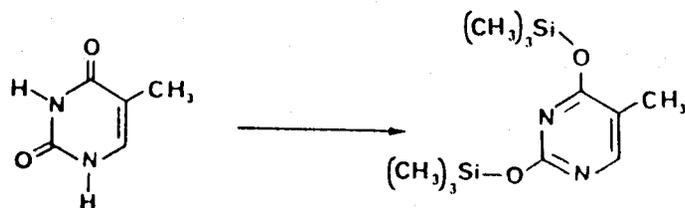
- Soit par condensation du phénate de l'hydroxy-5 psoralène 4 sur une ( $\omega$ -halogénoalkyl)-1 thymine 6 Thy-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-X



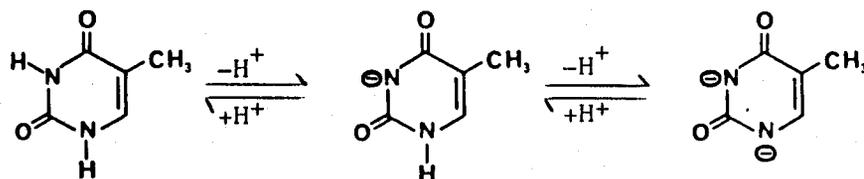
- Soit par condensation de la thymine protégée 5 sur l'( $\omega$ -halogénoalcoxy)-5 psoralène 7 5Pso-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-X



Dans tous les cas il faudra protéger les groupements carbonyles de la thymine pour éviter les réactions de O-alkylation. Les groupes triméthylsilyles (39) sont souvent utilisés.

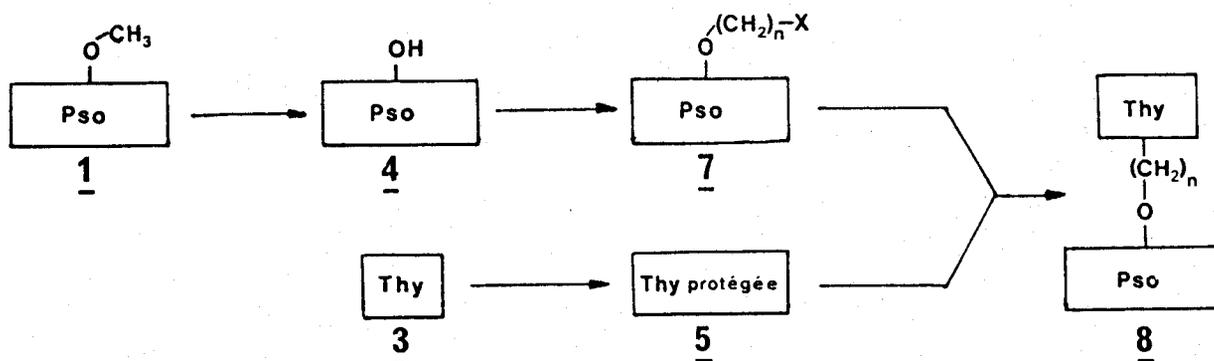


L'encombrement stérique apporté par ces groupes protecteurs aura par ailleurs, pour effet d'orienter la N-alkylation de la thymine sur l'azote N-1 : en effet si l'on utilise la thymine directement, c'est d'abord l'atome d'hydrogène porté par l'azote N-3 qui est arraché en milieu basique.



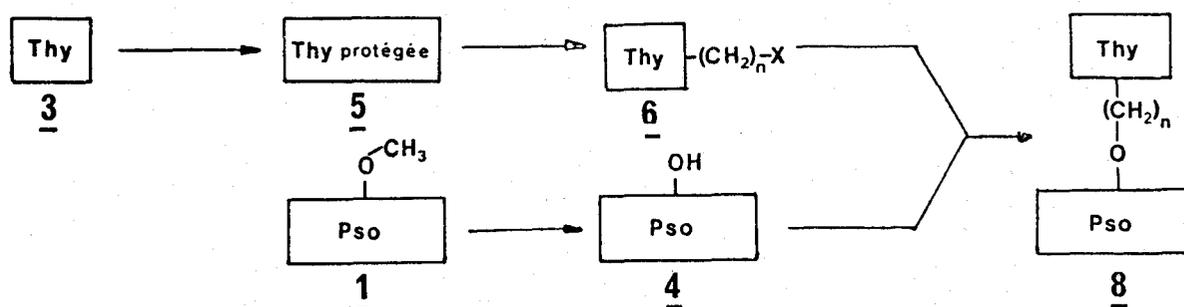
Deux voies de synthèse Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 sont ainsi envisageables :

1ère voie : Passage par 5Pso-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-X 7 :



Le bergaptène\* (5MOP) 1 est déméthylé en bergaptol (hydroxy-5 psoralène) 4. L'action d'un  $\alpha, \omega$ -dihalogénoalcane sur le phénate du bergaptol 4 conduit à l'( $\omega$ -halogénoalcoxy)-5 psoralène 7. Le modèle attendu 8 est obtenu par une réaction de substitution nucléophile entre la thymine protégée 5 et le composé 7.

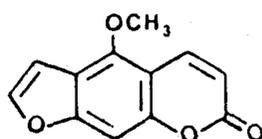
2ème voie : Passage par Thy-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-X 6 :



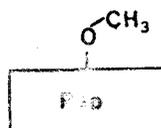
La thymine 3 tout d'abord protégée par silylation est traitée avec un  $\alpha, \omega$ -dihalogénoalcane pour former une ( $\omega$ -halogénoalkyl)-1 thymine 6. Le bergaptol obtenu par déméthylation du bergaptène réagit sous la forme phénate sur le composé 6 pour conduire au modèle désiré 8.

Quelle que soit la voie de synthèse retenue, il nous faut déméthyliser le bergaptène. Cette réaction est assez bien décrite dans la littérature mais les rendements cités sont faibles. Nous avons donc choisi la deuxième voie de synthèse car le bergaptène est un produit coûteux et dans cette voie, le produit de déméthylation n'intervient qu'à la dernière étape.

\*

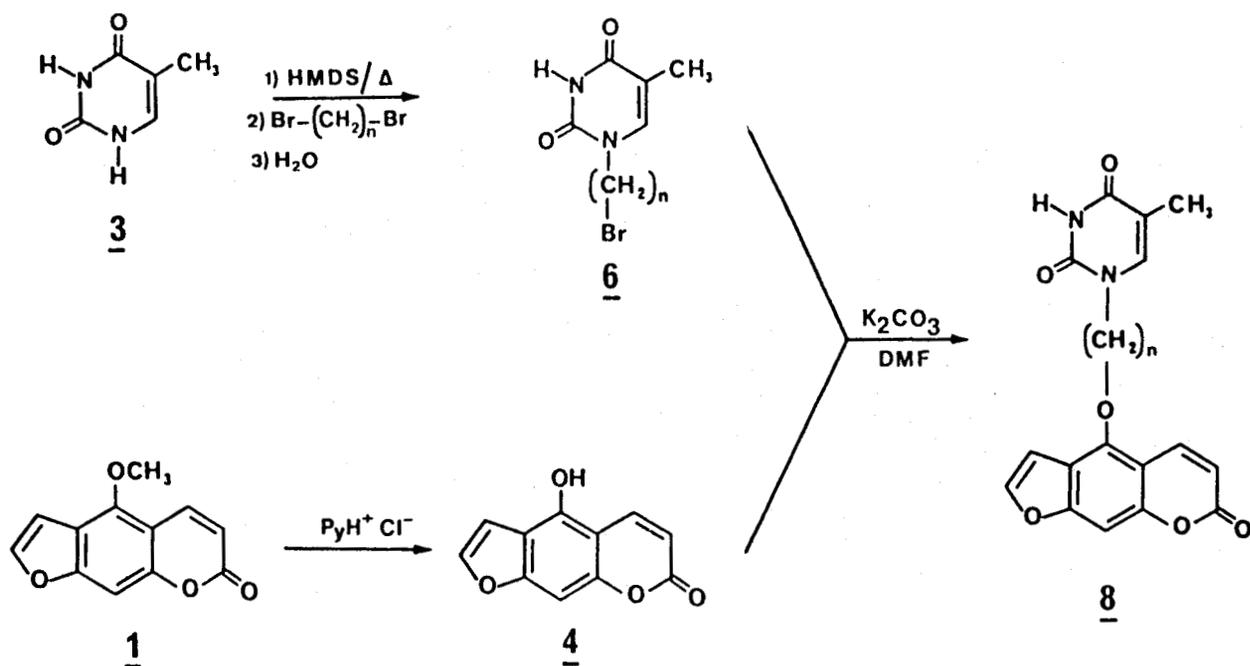


est représenté par

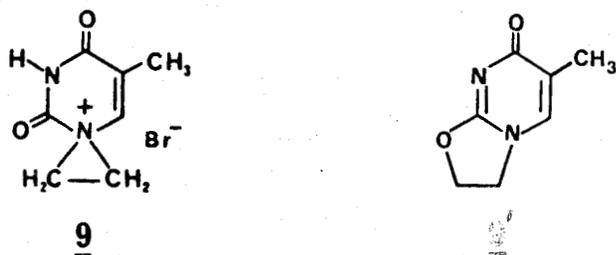


Par ailleurs, la synthèse des composés du type Thy-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-X 6 est bien décrite dans la littérature dans le cas où X est égal à Br et pour n égal à 3, 4 et 6 (44, 45). De plus, les rendements sont bons et la thymine commercialement accessible est peu coûteuse.

B. SCHÉMA DE SYNTHÈSE RETENU :



Cette séquence réactionnelle a été suivie pour les modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8, c, d, e, f et l. Nous n'avons pas pu accéder au modèle Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b de cette manière : en effet dans la dernière étape, nous n'observons pas la condensation entre l'hydroxy-5 psoralène 4 et l'(ω-bromoéthyl)-1 thymine 6b ; le composé 6b semble réagir de manière intramoléculaire : en effet le produit de cyclisation se forme également en absence de psoralène par chauffage du composé 6b dans la diméthylformamide en présence de carbonate de potassium. Deux types de produits peuvent être envisagés : les composés 9 et 9' :



Quelques résultats préliminaires laissent à penser que ce produit pourrait être le sel d'aziridinium 9 :

- Le test au nitrate d'argent, caractérisant la présence d'halogénure, est positif.

- La spectrométrie de masse montre un pic à 153 qui pourrait correspondre à cet ion 9.

- Le point de fusion, très élevé (supérieur à 300°C) est également en faveur d'un sel.

Des études plus complètes (RMN) seront nécessaires pour confirmer cette structure.

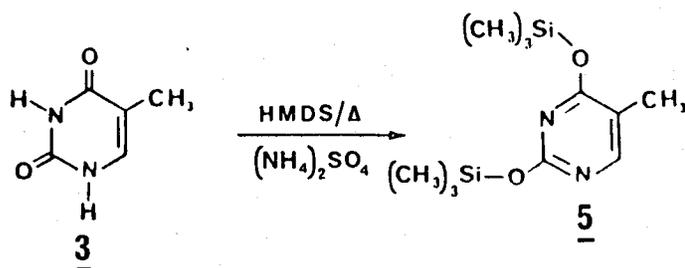
La synthèse du modèle Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b a donc été réalisée par l'autre voie (voie 1).

### C. OBTENTION DES MODÈLES THY-C<sub>N</sub>-5Pso 8c, d, e, f ET l :

#### 1) PREPARATION DES ( $\omega$ -BROMOALKYL)-1 THYMINES Thy-C<sub>n</sub>-Br 6 :

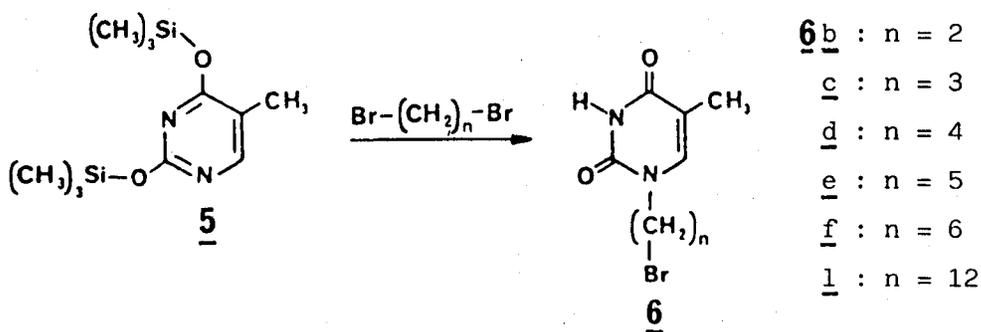
##### a) Protection de la thymine 3 : Préparation de la bis(triméthylsilyl) thymine 5 :

Il est nécessaire de protéger les fonctions carbonyles de la thymine afin d'éviter des réactions de O-alkylation. L'agent protecteur choisi est l'hexaméthyl-1,1,1,3,3,3, disilazane (HMDS). Ce groupe protecteur est facilement hydrolysable. Ce procédé a été mis au point par T. NISHIMURA et I. IWAI (46) pour la synthèse de nucléosides. La réaction, conduite à l'abri de l'humidité, est réalisée en présence de sulfate d'ammonium, catalyseur de la réaction, et à reflux de l'HMDS. Après évaporation de l'HMDS, le résidu blanc obtenu (peu stable à l'humidité) est utilisé sans autre purification pour préparer les dérivés N-alkylés de la thymine.



b) Obtention des dérivés Thy-C<sub>n</sub>-Br 6 :

La thymine silylée 5 est mise en réaction avec un grand excès d' $\alpha, \omega$ -dibromoalcane.



Dans ces conditions et à température ambiante, la réaction est propre mais lente, plusieurs jours de réaction sont nécessaires. En effectuant la réaction dans la diméthylformamide et à des températures plus élevées (50°C à 80°C), la réaction est plus rapide (1 à 2 jours) mais la proportion des réactions secondaires est plus grande. La purification du produit final brut après hydrolyse est alors plus difficile. Nous avons donc choisi des conditions plus douces : température de 50°C, en absence de DMF et en présence d'un excès de dibromoalcane. Cet excès de dibromoalcane est nécessaire pour limiter les réactions secondaires qui conduisent à la formation de polyméthylène-1,1' bis thymine (Thy-C<sub>n</sub>-Thy) (47, 48).

Dans ces conditions, peu de réactions secondaires ont été observées. La purification des composés désirés s'est effectuée par chromatographie sur colonne de silice, puis cristallisation.

Les composés 6<sub>d</sub>, e, f et l ont été ainsi obtenus avec des rendements d'environ 80 % et leur structure a été confirmée par les diverses méthodes habituelles (masse, RMN, analyse élémentaire).

Remarque :

a) Dérivé Thy-C<sub>2</sub>-Br 6b :

Au cours de la préparation du composé Thy-C<sub>2</sub>-Br 6b effectuée dans des conditions légèrement différentes, c'est à dire à 100°C pendant 24 heures, à côté du produit attendu 6b (obtenu avec un rendement de 50 %), on observe la formation d'un produit secondaire en quantité non négligeable (rendement ≈ 10 %). Il s'agit d'un composé bisalkylé de la thymine sur l'azote N-1 et l'azote N-3 : Thy-(C<sub>2</sub>Br)<sub>2</sub> 10 (schéma 1).

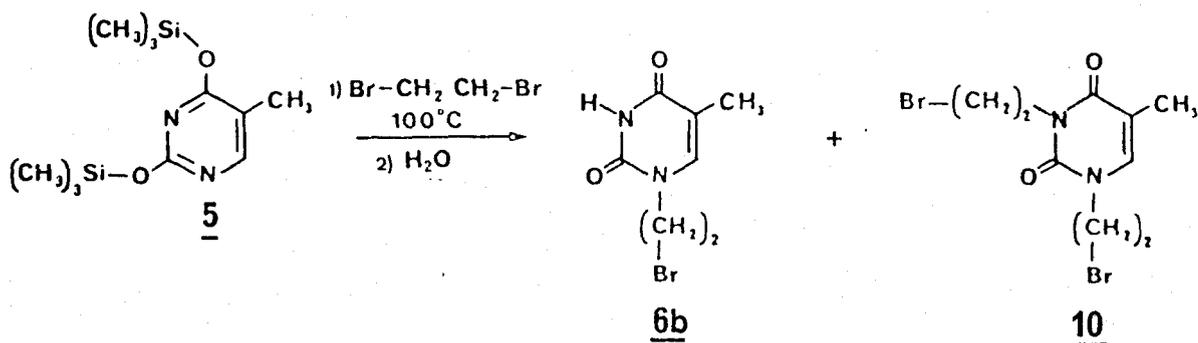
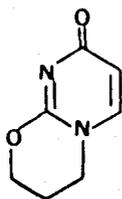


Schéma 1 : Bisalkylation de la thymine.

La structure de ce composé bisalkylé 10 a été établie à partir de son spectre de masse ( $M^+ = 340$ ), de son spectre de RMN (où l'on constate la disparition du proton porté par l'azote N-3 et l'apparition des protons de la chaîne  $\omega$ -bromoéthyle) et de son analyse élémentaire.

b) Dérivé Thy-C<sub>3</sub>-Br 6c :

Dans le cas de la préparation du dérivé Thy-C<sub>3</sub>-Br 6c, en effectuant la réaction à une température de 50°C, nous avons constaté un pourcentage assez élevé de réactions secondaires : certains auteurs (49) postulent une cyclisation intramoléculaire conduisant à la formation de composés du type :



Nous n'avons pas cherché à les identifier. En effectuant la réaction à température ambiante pendant un temps plus long, le nombre de produits secondaires diminue fortement. Néanmoins après purification le rendement en produit pur 6c ne dépasse pas 55 %.

## 2) DEMETHYLATION DU BERGAPTENE 1 :

Différents réactifs de déalkylation d'arylalkyl éthers sont décrits dans la littérature (50) mais peu d'exemples de déméthylation du bergaptène sont rapportés.

Les réactifs acides HBr, HI, sont dans notre cas peu utilisables, ils toucheraient aux fonctions oxygénées présentes dans la molécule par protonation de la lactone, ouverture de celle-ci et possibilité de re-fermeture sur l'oxygène en 5 (schéma 2).

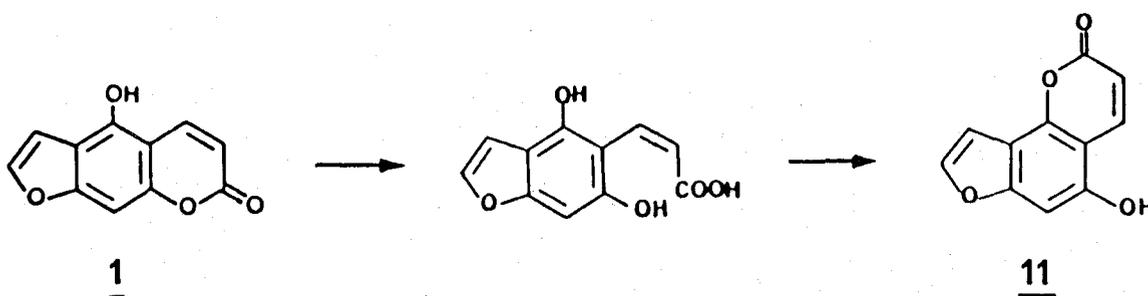


Schéma 2 : Isomérisation du bergaptol 1.

Avec les iodures alcalins utilisés en solvant protique, les rendements donnés sont pour la plupart assez faibles.

L'utilisation de nucléophiles tels que les hydroxydes, méthoxydes, éthoxydes, sulfites nécessite des conditions opératoires très dures (température élevée, durée longue de réaction) qui risquent de décomposer notre produit. Ces nucléophiles peuvent également attaquer au niveau de la lactone.

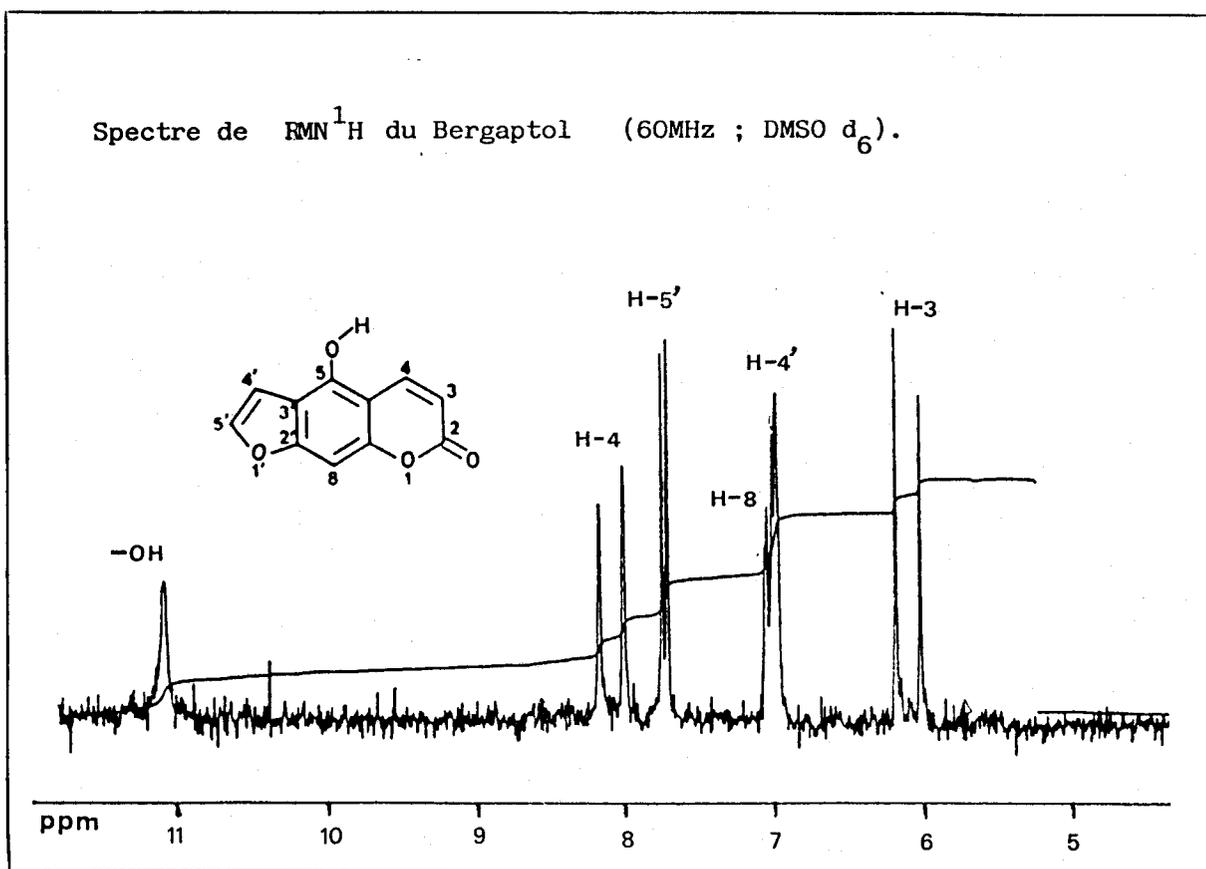


L'iodure de magnésium ( $MgI_2$ ) dans l'éther (50) ou le chlorhydrate de pyridine (52) sont en général utilisés pour la déméthylation du bergaptène.

Avec  $MgI_2$  les rendements donnés sont de l'ordre de 40 %.

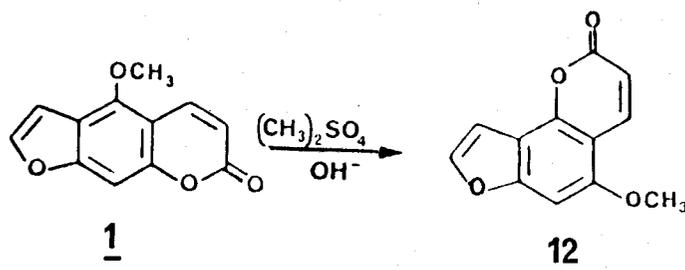
La méthode utilisant le chlorhydrate de pyridine très employé par R. ROYER et Coll. (52b, c, d), fournit des rendements nettement plus élevés (80 %). La déméthylation du bergaptène par le chlorhydrate de pyridine a été brevetée par une équipe allemande en 1977 (47a) et sera la méthode que nous utiliserons. La déméthylation du 5MOP 1 s'effectue dans le chlorhydrate de pyridine à reflux. A côté du produit attendu 4 (largement majoritaire) on observe par analyse chromatographique (CCM) quelques sous produits minoritaires. La purification finale s'est avérée difficile. Le solvant de cristallisation cité dans le brevet (éthanol) ne nous a pas donné des résultats satisfaisants. En effet après plusieurs cristallisations, la CCM nous montre qu'il reste toujours un sous produit fluorescent. Tous les essais ultérieurs (cristallisations dans une série de solvants, chromatographies diverses...) ne nous ont pas permis de purifier davantage le produit. Nous l'avons donc utilisé tel quel, sachant que l'impureté fluorescente est présente en très faible quantité (< 5 %) comme on peut l'évaluer par RMN : aucun pic "parasite" n'est observé.

Spectre de RMN<sup>1</sup>H du Bergaptol (60MHz ; DMSO d<sub>6</sub>).



Remarque : Nature de l'impureté fluorescente.

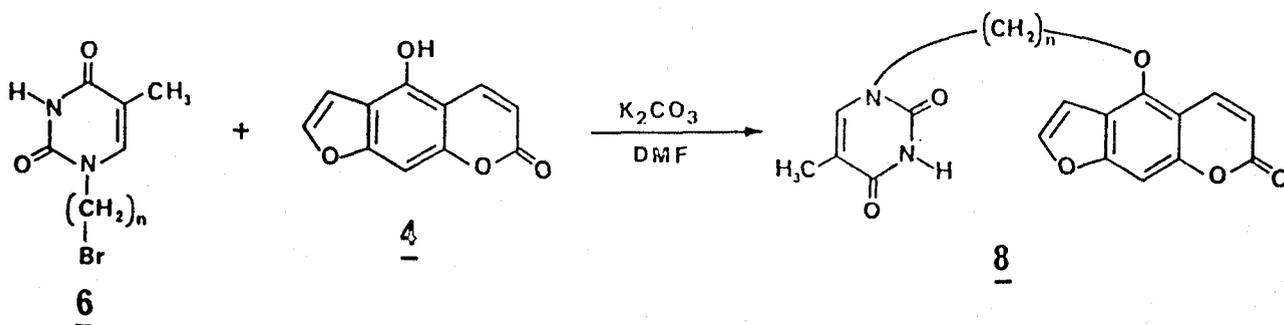
Selon la littérature (53), le bergaptène 1 est capable de se réarranger dans certaines conditions. E. SPATH et G. KUBICZEK (53) furent les premiers à convertir le bergaptène 1 en isobergaptène 12 en utilisant le sulfate de méthyle en milieu alcalin.



Nous verrons plus loin (p.33) les quelques données qui nous amènent à penser que l'impureté présente est un isomère du bergaptol 4 : l'isobergaptol 11.

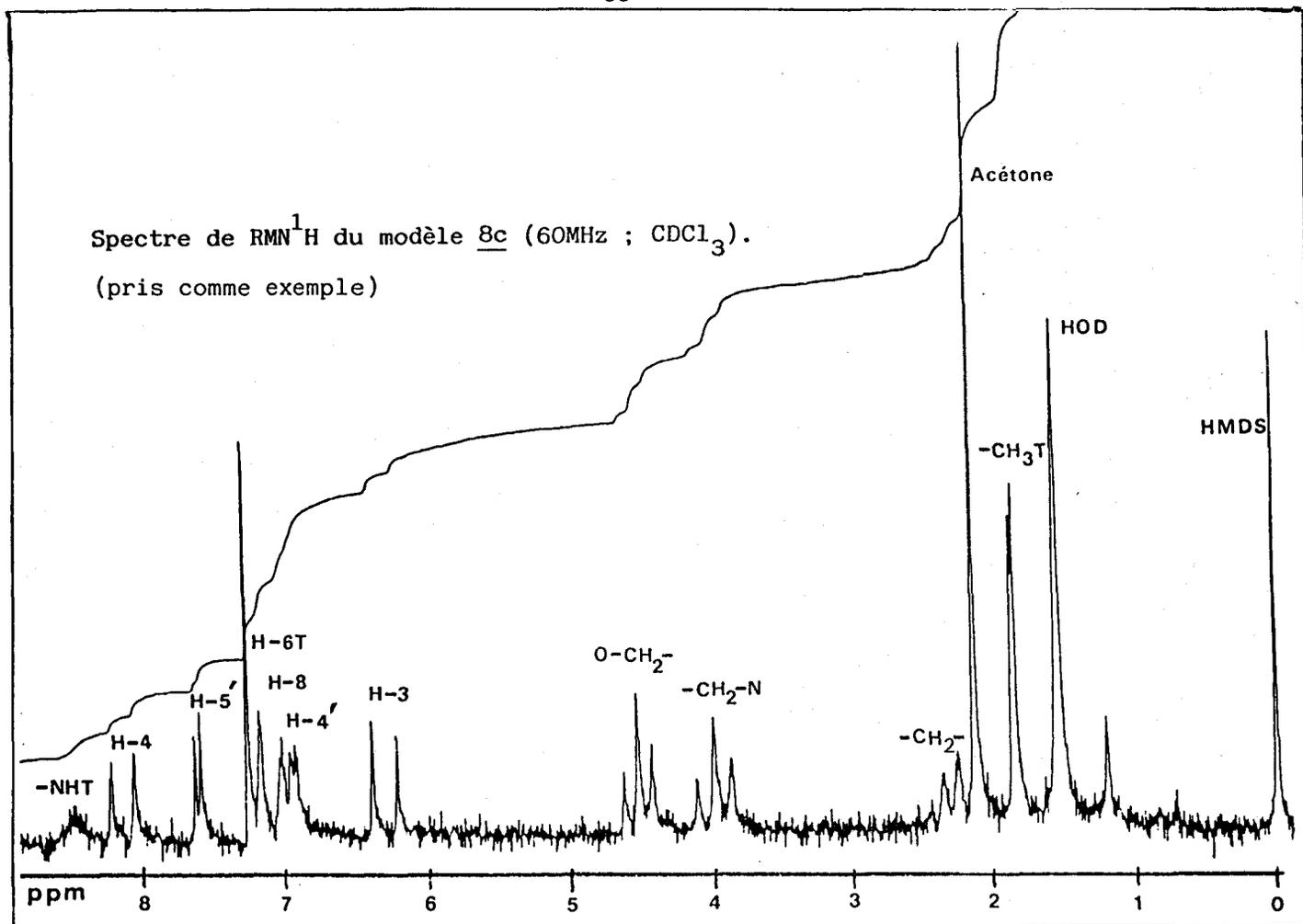
### 3) PREPARATION DES MODELES Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8c, d, e, f et l :

Les composés Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 ont été obtenus par réaction entre le bergaptol 4 et les ( $\omega$ -bromoalkyl)-1 thymines respectives 6. La substitution a été menée dans la diméthylformamide en présence de carbonate de potassium.



Dans tous les cas, le mélange réactionnel brut contient, outre une faible quantité du produit de départ, quelques produits secondaires. Parmi ceux-ci il en est d'ailleurs un qui fluoresce fortement et qui sur couche mince (CCM) se trouve très proche des modèles. La purification des composés préparés a posé quelques problèmes en raison de leur très faible solubilité dans la plupart des solvants organiques. Nous avons utilisé principalement la chromatographie sur colonne de silice. Le dépôt et l'élution des produits ont été réalisés avec de l'acétate d'éthyle bouillant sur une colonne à double enveloppe thermostatée à 50°C par un courant d'eau chaude. Cette technique permet d'éviter la précipitation des produits qui a lieu à froid durant l'élution, l'acétate d'éthyle étant le seul solvant qui sépare de façon satisfaisante sur la silice, les impuretés des composés modèles recherchés. La purification des modèles s'est achevée par une cristallisation.

Les spectres de masse et de RMN confirment bien la structure des modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 attendus. Les spectres de masse indiquent en effet l'addition entre les fragments alkyl-1 thymine et bergaptol. Les spectres de RMN montrent également, outre la disparition du proton de l'hydroxyle en 5 du bergaptol, la présence des protons du fragment alkyl-1 thymine.



#### Isolement et caractérisation de l'impureté fluorescente :

L'impureté fluorescente a été isolée dans le cas du modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d. Seule une très faible quantité a été recueillie. Ce produit a été caractérisé par ses spectres de masse et de RMN du proton.

Le spectre de masse indique le même pic moléculaire que celui du modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d ( $M^+ = 382$ ). On retrouve aussi les mêmes coupures caractéristiques ( $m/e = 202, 174$ ) et l'ion butyl-1 thymine ( $m/e = 181, 139, 96, 55$ ). Nous avons donc un produit isomère du modèle 8d.

Le spectre de RMN confirme cette hypothèse et permet d'attribuer une structure probable. Le spectre comporte trois parties comme dans le composé Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d :

- Les protons du noyau thymine : inchangés par rapport à ceux du modèle 8d.
- Les protons de la chaîne polyméthylénique : parmi ces protons, seul est à remarquer le blindage (0,4 ppm) du méthylène lié à



## D. OBTENTION DU MODÈLE THY-C<sub>2</sub>-5Pso 8B :

Comme nous l'avons signalé précédemment, nous n'avons pas observé la condensation entre le bergaptol 4 et l'( $\omega$ -bromoéthyl)-1 thymine 6b en présence de carbonate de potassium dans la diméthylformamide. Nous avons donc utilisé l'autre voie de synthèse consistant à passer par l'intermédiaire de 5Pso-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-X 7.

### 1) PREPARATION DE L'( $\omega$ -BROMOETHOXY)-5 PSORALENE 5Pso-C<sub>2</sub>-Br 7b :

La synthèse de composés comparables ( $n = 3, 4, 5$ ) a déjà été décrite (55). Le bergaptol 4 est condensé avec un  $\alpha, \omega$ -dibromoalcane en excès dans l'acétone à reflux en présence de carbonate de potassium. Dans ces conditions, la réaction est lente et les rendements sont inférieurs à 50 %.

Nous avons donc utilisé des conditions de réactions analogues à celles utilisées lors de la préparation des modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8: le composé 7b est obtenu par condensation dans la diméthylformamide du bergaptol 4 et du dibromoéthane en présence de carbonate de potassium (schéma 3).

La purification est réalisée par chromatographie sur colonne de silice puis cristallisation.

Le produit pur obtenu avec un rendement de 60 %, caractérisé par ses spectres de masse et de RMN correspond bien au composé désiré 7b.

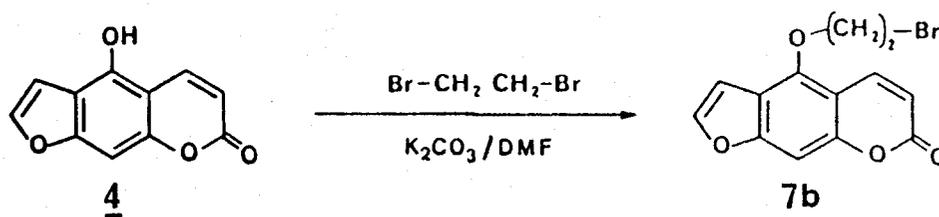


Schéma 3 : Préparation de 5Pso-C<sub>2</sub>-Br 7b.

## 2) OBTENTION DU MODELE Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b :

La condensation entre le 5Pso-C<sub>2</sub>-Br 7b et la thymine préalablement silylée 5, conduisant au composé 8b, a été conduite dans le sulfolane (schéma 4). Dans ces conditions peu de réactions secondaires ont lieu. Après une étape rapide de purification (précipitation, lavage du précipité, cristallisation), le modèle Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b est obtenu avec un rendement de 70 %. Le spectre de masse indique bien le pic moléculaire attendu ( $M^+ = 354$ ) et les coupures caractéristiques déjà rencontrées pour les autres modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8. Le spectre de RMN de ce composé montre bien également la présence des protons aromatiques du noyau psoralène, des protons du noyau thymine et des protons méthyléniques de la chaîne ; on peut constater de même l'absence du proton de l'hydroxyle en 5 du bergaptol 4.

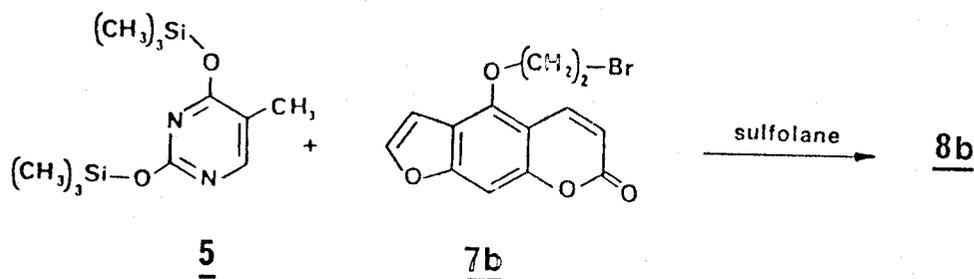


Schéma 4 : Obtention du composé Thy- C<sub>2</sub>-5Pso 8b.

Les modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8b, c, d, e, f et l doivent avoir une excellente pureté pour permettre les études physicochimiques par spectrométrie UV et les études photophysiques et photochimiques. Cette pureté a donc été vérifiée par plusieurs techniques :

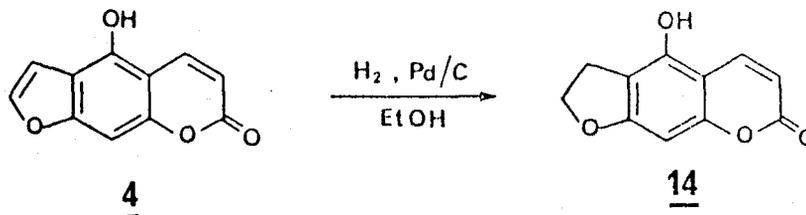
- Chromatographie couche mince (CCM).
- Chromatographie liquide analytique à hautes performances (CLHP).
- Analyse élémentaire sur un échantillon représentatif de la totalité du produit préparé.

## II. SYNTHÈSE DU MODÈLE DIHYDRO THY-C<sub>4</sub>-4',5'DH5Pso 15D :

La synthèse de ce composé a été réalisée par la voie 1\*. Une étape supplémentaire d'hydrogénation en 4',5' du noyau psoralène est tout d'abord nécessaire.

### 1) PRÉPARATION DE L'HYDROXY-5 DIHYDRO-4',5' PSORALÈNE-4',5'dh5HP 14:

Selon des conditions mises au point dans notre laboratoire dans la série du méthoxy-8 psoralène 2 (50), nous avons réalisé l'hydrogénation du bergaptol 4 dans l'éthanol avec du palladium sur charbon sous pression atmosphérique et à température ambiante.



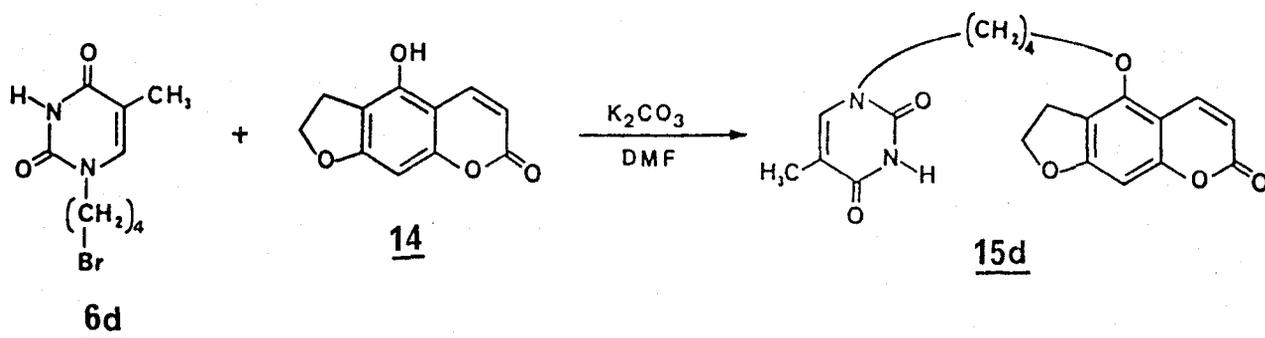
Dans ces conditions la sélectivité est excellente et le rendement en produit pur après purification est bon (65 %). La RMN confirme bien la structure du produit 14 : en effet les protons 4' et 5' en position vinylique dans le composé 4 sortant sous la forme de deux doublets (J=2,2Hz) à 7,90 ppm (C<sub>5</sub>,-H) et 7,25 (C<sub>4</sub>,-H) sont dans le composé 14 fortement blindés (étant donnée la saturation de la double liaison 4',5') et apparaissent à 4,65 ppm (C<sub>5</sub>,-H) et 3,15 ppm (C<sub>4</sub>,-H) sous la forme de deux triplets (J=9Hz).

---

\* Il a été montré dans notre laboratoire par J.L. DECOUT (42) en série méthoxy-8 psoralène 2 que les modèles Thy-C<sub>8</sub>-8Pso 8' pouvaient être hydrogénés sélectivement en 4',5' (>80 %) sur le noyau psoralène ; cependant les très faibles solubilités des modèles et les difficultés de purification nous ont amenés à abandonner cette possibilité.

## 2) OBTENTION DU MODELE Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d :

Selon les conditions utilisées pour la synthèse des modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 (sauf 8b, n=2) la condensation des composés 14 et 6d conduit bien en présence de carbonate de potassium dans la diméthylformamide au modèle recherché 15d.



Après purification par chromatographie sur colonne de silice, le composé est cristallisé dans l'éthanol.

Les spectres de masse ( $M^+ = 384$  : pic moléculaire) et de RMN du proton (disparition du proton de l'hydroxyle porté par le C-5 du noyau psoralène ; présence des protons du noyau psoralène et des protons du fragment butyl-1 thymine) indiquent que ce composé possède bien la structure désirée du produit 15d. La pureté de ce modèle a également été vérifiée par CCM, CLHP et analyse élémentaire.

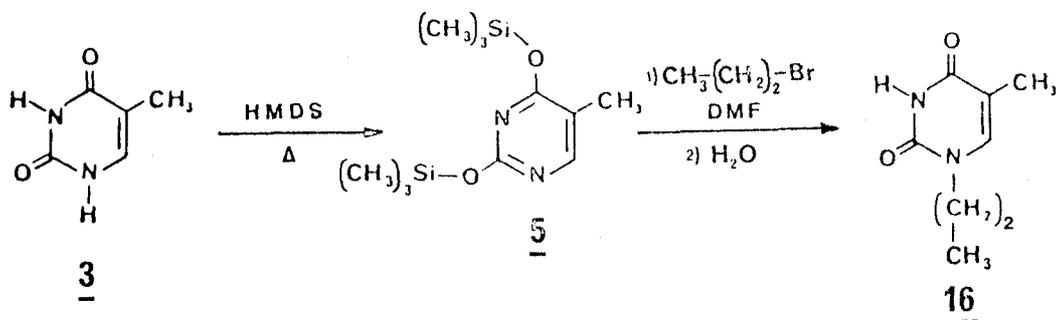
### III. SYNTHÈSE DES COMPOSÉS DE RÉFÉRENCE :

Les composés de référence suivants ont été préparés :

- La propyl-1 thymine : Thy-C<sub>3</sub> 16.
- Le propoxy-5 psoralène : 5Pso-C<sub>3</sub> 17.
- Le propoxy-5 dihydro-4',5' psoralène : 4',5'dh5Pso-C<sub>3</sub> 18.

1) Thy-C<sub>3</sub> 16 :

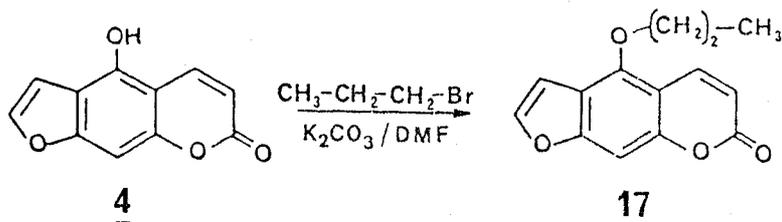
Ce composé a été préparé suivant une méthode analogue à celle décrite par N.J. LEONARD et Coll. (44) en traitant la thymine silylée 5 par un excès de bromo-1 propane. Dans notre cas, nous avons utilisé la diméthylformamide comme solvant (au lieu de l'acétone) ce qui augmente le rendement de la réaction (80 % au lieu de 50 %).



2) 5Pso-C<sub>3</sub> 17 :

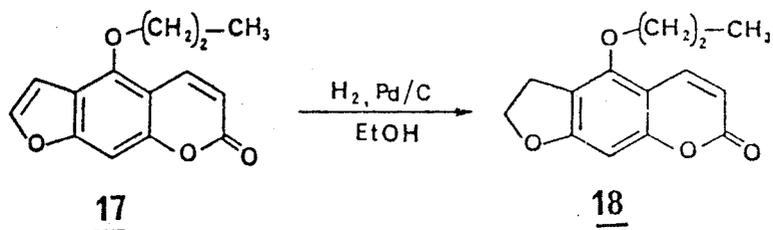
La synthèse de ce composé a été décrite par une équipe italienne (56). Le bergaptol 4 est O-alkylé, soit par l'iodure de n-propyle dans l'acétone anhydre en présence de carbonate de potassium, soit par le diazopropane dans l'éther. Dans ces conditions, la réaction est lente, elle conduit à des rendements faibles.

Nous avons donc utilisé les conditions opératoires mises au point pour la synthèse des modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8. Dans ces conditions, la condensation entre le bergaptol 4 et le bromo-1 propane conduit après purification au composé attendu 17 avec un rendement de 50 %.



3) 4',5'dh5Pso-C<sub>3</sub> 18 :

Ce composé de référence a été obtenu par hydrogénation catalytique du produit 17 décrit précédemment, dans les conditions opératoires utilisées pour l'hydrogénation du bergaptol 4.



Le produit est purifié par chromatographie sur colonne de silice puis cristallisé dans l'hexane (rendement  $\approx$  50 %).

Ces composés de référence ont été caractérisés par leur spectres de masse et de RMN. Servant de références dans les études physico-chimiques envisagées, ces composés comme les modèles décrits précédemment, doivent être très purs. Le contrôle de leur pureté a ainsi été effectué par CCM, CLHP et par analyse élémentaire d'échantillons représentatifs de la quantité totale de produit préparé.

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

CHAPITRE II

ETUDE PHYSICOCHIMIQUE

-----

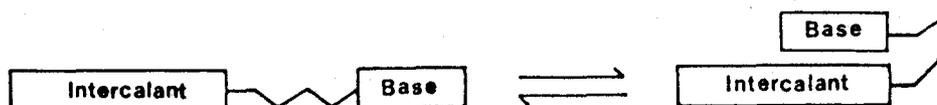
Nous avons préparé une série de modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 dans lesquels la thymine est reliée au psoralène par une chaîne polyméthylénique de longueur variable (n = 2,3,4,5,6 et 12). Un modèle comportant le psoralène hydrogéné en 4',5', a également été synthétisé (n=4) 15d.

Nous allons dans ce chapitre étudier les interactions thymine-psoralène au niveau de ces modèles.

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

Notre objectif est, en étudiant les interactions moléculaires d'empilement thymine-psoralène, d'apporter une contribution à la connaissance du processus d'intercalation du psoralène dans l'ADN.

Il a été montré dans notre laboratoire que des composés analogues reliant une base nucléique à un intercalant (quinoléine (38), acridine (39)) pouvaient adopter dans l'eau des conformations dans lesquelles les deux noyaux aromatiques sont empilés.



L'étude physicochimique des composés préparés permet ainsi d'étudier en solution aqueuse, l'interaction entre la thymine et le psoralène. Elle devrait par ailleurs apporter des renseignements quant à la nature et à l'intensité des forces attractives.

Dès lors, il sera possible en fonction du degré de complexation d'étudier leur photoréactivité.

Deux techniques à la fois très sensibles et complémentaires, seront employées pour étudier l'équilibre forme ouverte  $\rightleftharpoons$  forme repliée, et les interactions qui le régissent : la spectrophotométrie UV et la spectroscopie de RMN.

## I. ETUDE DANS L'EAU DES MODELES 8 ET 15D :

### A. ETUDE UV :

#### 1) PRINCIPE DE LA METHODE :

La formation d'un complexe d'interaction verticale entre deux noyaux aromatiques conduit à une diminution de l'intensité d'absorption de ces deux chromophores : c'est l'effet hypochrome.

Cette propriété est classiquement utilisée pour étudier le comportement de macromolécules biologiques en solution, surtout l'ADN. L'intensité d'absorption UV à 260 nm de l'ADN natif considéré dans un arrangement en double hélice (empilement des bases nucléiques) est plus faible que celle de l'ADN dénaturé (séparation des deux brins) ou des nucléotides seuls (monomères de l'ADN) : une augmentation de 40 % de l'absorption à 260 nm est observée lors de la dénaturation de l'ADN.

Pour tenter d'expliquer ce phénomène, une théorie a été établie par I. TINOCO et W. RHODES (57) : le moment de transition électronique d'un chromophore serait perturbé par le champ électrique créé par les électrons du chromophore voisin, sans qu'il y ait de transfert électronique.

Ce phénomène peut-être quantifié et la valeur du pourcentage de l'effet hypochrome (%H) se calcule à partir des forces d'oscillateur  $f$ .

$$\%H = \left( 1 - \frac{f \text{ polymère}}{\sum f \text{ monomères}} \right) \times 100$$

La force d'oscillateur  $f$  correspond à l'intensité de la bande d'absorption considérée.

$$f = 4,32 \times 10^{-9} \int_{\lambda_2}^{\lambda_1} \frac{\epsilon(\lambda)}{\lambda^2} d\lambda$$

$\epsilon(\lambda)$  est le coefficient d'extinction molaire à la longueur d'onde  $\lambda$  considérée.

Outre l'ADN, d'autres polymères tels que certains ARN (58) et polynucléotides (59) ainsi que des systèmes plus simples reliant deux chromophores ont été étudiés.

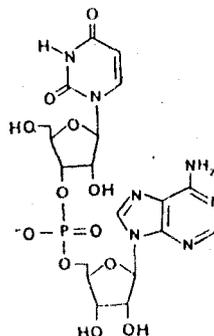
Application de l'effet hypochrome à l'étude de bichromophores :

Des effets hypochromes ont été mis en évidence lors d'études de dinucléosides monophosphates\* dans l'eau (tableau 1) : ces résultats permirent aux auteurs (60) de conclure à l'existence de forme repliée résultant d'interaction base-base.

Des effets hypochromes comparables furent également observés lors de l'étude de systèmes analogues reliant deux bases nucléiques par une chaîne triméthylénique (44) (tableau 1). L'observation de ces effets a permis l'étude de l'équilibre forme ouverte  $\rightleftharpoons$  forme repliée et fut utilisée pour classer l'aptitude des bases à se complexer entre elles : les interactions purine-purine sont nettement plus fortes que les interactions pyrimidine-pyrimidine.

---

\* Exemple de dinucléoside monophosphate : UpA



Dinucléotides	%H	Analogues	%H
ApA	6,8	Ade-C <sub>3</sub> -Ade	16,5
GpG	9,1	Gua-C <sub>3</sub> -Gua	15,8
CpC	4,9	Cyt-C <sub>3</sub> -Cyt	4,3
UpU	-3,6	Ura-C <sub>3</sub> -Ura	1,3
ApC	7,3	Ade-C <sub>3</sub> -Cyt	9,9
ApU	1,6	Ade-C <sub>3</sub> -Ura	8,0
GpC	7,2	Gua-C <sub>3</sub> -Cyt	13,9
GpU	-1,2	Gua-C <sub>3</sub> -Thy	11,1
GpA	6,0	Gua-C <sub>3</sub> -Ade	14,9

**Tableau 1 :** Valeurs de %H mesurés dans l'eau à 20°C pour les dinucléotides (60) et leurs analogues (44).

De même dans notre laboratoire, le repliement de différentes molécules Base-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Intercalant (38b,39,40) fut mis en évidence par la mesure d'effets hypochromes (tableau 2) (résultats confirmés par ailleurs par des études RMN).

Modèle	%H	Modèle	%H
Thy-C <sub>3</sub> -Acr	14 (39)	Ade-C <sub>3</sub> -Acr	20 (39)
Thy-C <sub>3</sub> -PF	6,8 (40)	Ade-C <sub>3</sub> -PF	11,5 (40)
Thy-C <sub>3</sub> -Q	10 (38b)	Ade-C <sub>3</sub> -Q	25,5 (38b)

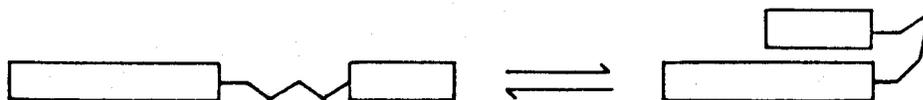
**Tableau 2 :** Valeurs de %H mesurés pour différents modèles synthétisés dans notre laboratoire (eau- 20°C).

Acr : Acridine

PF : Proflavine

Q : Quinoléine

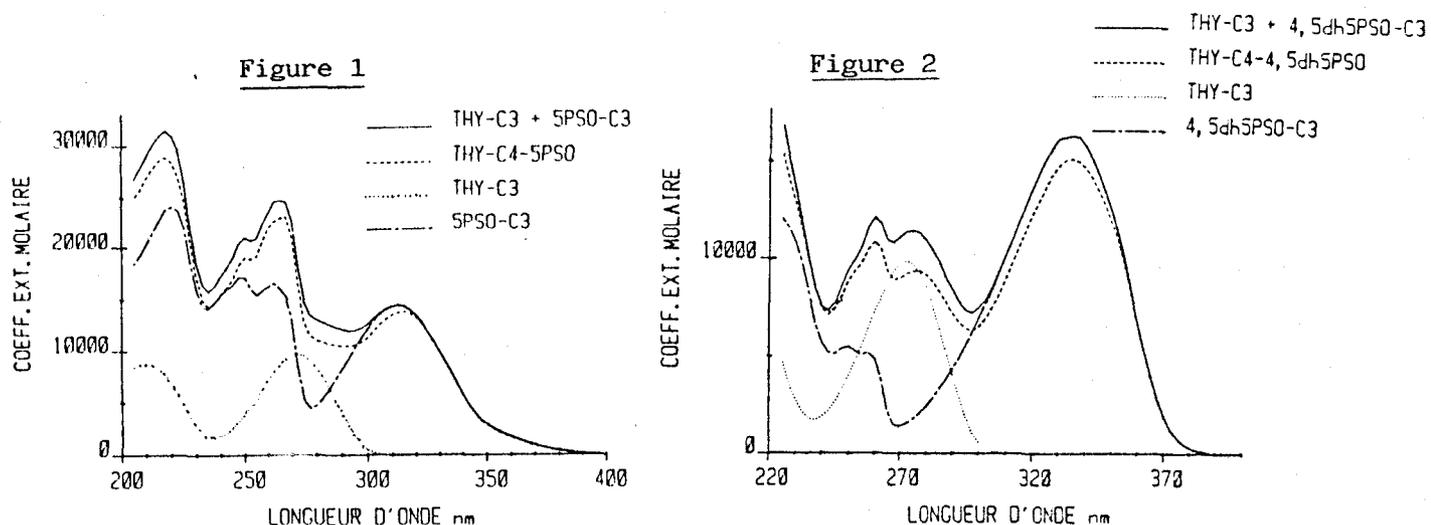
En conclusion, bien qu'il n'y ait pas de formulation théorique rigoureuse de l'effet hypochrome, les nombreux résultats obtenus pour des systèmes simples liant deux noyaux aromatiques plans ont montré que cet effet traduisait bien les interactions moléculaires entre les deux chromophores considérés. La mesure de %H est donc représentative de l'état d'équilibre conformationnel forme ouverte  $\rightleftharpoons$  forme repliée.



## 2) RESULTATS :

En raison de la très faible solubilité des composés dans l'eau pure, nous avons utilisé un mélange eau-éthanol (95:5). Les spectres d'absorption des différents composés en solution diluée ont été enregistrés entre 400 et 205 nm, à 20°C.

Lorsqu'on compare (figures 1, 2) le spectre d'absorption d'un modèle (Ex : Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d) avec la somme des spectres d'absorption des composés de référence (Thy-C<sub>3</sub> 16 + 5Pso-C<sub>3</sub> 17) aux mêmes concentrations, on constate une diminution de l'intensité d'absorption des modèles et un léger décalage (3nm) des maxima d'absorption vers les plus grandes longueurs d'onde (effet bathochrome) : cette diminution correspond à l'effet hypochrome ce qui est l'indice de l'existence d'interactions moléculaires d'empilement.



**Figures 1, 2 :** comparaison des spectres d'absorption des modèles Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d avec la somme des spectres des composés de référence correspondants Thy-C<sub>3</sub> 16, 5Pso-C<sub>3</sub> 17 et 4',5'dh5Pso-C<sub>3</sub> 18. Eau-éthanol (95:5), 20°C.

Résultats semblables pour les modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8c, e et f. Les composés 8b et 8l, en raison de leur insolubilité dans l'eau-éthanol à cette concentration, n'ont pu être étudiés.

Ce phénomène est tout à fait comparable à celui que l'on observe dans l'ADN lors de l'intercalation des psoralènes (7).

Afin de savoir si cet effet résulte d'interactions d'empilement intramoléculaires thymine-psoralène comme dans l'ADN (des interactions thymine-thymine, psoralène-psoralène et thymine-psoralène intermoléculaires sont envisageables) nous avons contrôlé :

a) qu'à la concentration à laquelle nous avons travaillé, les composés suivent bien la loi de Beer-Lambert (étude entre  $5 \times 10^{-6} \text{ M}$  et  $8 \times 10^{-5} \text{ M}$  dans l'eau-éthanol (95:5) à 20°C).

b) qu'à cette concentration, un mélange équimoléculaire des composés de référence (5Pso-C<sub>3</sub> 17 + Thy-C<sub>3</sub> 16 ; 4',5'dh5Pso-C<sub>3</sub> 18 + Thy-C<sub>3</sub> 16) présente une absorption UV égale à la somme des absorptions des deux composés de référence pris séparément en solution (eau-éthanol (95:5) à 20°C).

Par conséquent les effets hypochromes observés pour tous les modèles 8c, d, e, f et 15d, attribués à des interactions intramoléculaires thymine-psoralène, traduisent donc l'existence de conformation repliée de nos composés dans l'eau.

A partir des spectres d'absorption, nous avons calculé les valeurs de %H.

\* Calcul de %H :

Dans notre cas %H est défini de la manière suivante :

$$\%H = \left( 1 - \frac{f \text{ modèle}}{f \text{ Base-C}_3 + f \text{ Pso-C}_3} \right) \times 100$$

D'un point de vue pratique la force d'oscillateur  $f$  d'un chromophore entre deux longueurs d'onde  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$  se détermine à partir des spectres d'absorption UV de ce chromophore, par le calcul de l'aire sous la courbe  $\epsilon/\lambda^2 = f(\lambda)$  entre  $\lambda_1$  et  $\lambda_2$ .

Dans le tableau 3, nous avons reporté les %H calculés dans différents domaines d'absorption.

Toutes ces valeurs de %H sont significatives et notables et sont à peu près du même ordre de grandeur que celles obtenues dans l'eau pour différents dinucléosides monophosphates et modèles analogues Base-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-Base (voir tableau 1).

modèle Domaine en nm	<u>8c</u>	<u>8d</u>	<u>8e</u>	<u>8f</u>	<u>15d</u>
400-300 <sup>a</sup>	4,0	4,0	5,5	5,0	7,9
400-235 <sup>b</sup>	8,5	8,5	7,0	7,0	8,5
400-230	8,0	8,5	7,0	6,5	8,0
400-205 <sup>c</sup>	-	8	-	-	-
320-240 <sup>d</sup>	9,5	9,5	7,5	7,0	10,5

Tableau 3 : Effets hypochromes %H mesurés pour les composés Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8c, d, e, f et Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d dans différents domaines d'absorption. Eau-éthanol (95:5) , 20°C.

- a : dans ce domaine, l'absorption de la thymine est négligeable.  
 b : minimum d'absorption commun aux modèles et composés de référence.  
 c : longueur d'onde limite dans nos conditions expérimentales.  
 d : domaine d'absorption de la thymine.

Nous pouvons remarquer une légère influence de la longueur de la chaîne : %H diminue sensiblement lorsque la chaîne s'allonge. Une diminution du pourcentage de formes repliées due à l'augmentation des degrés de liberté par allongement de la chaîne ou/et une géométrie différente des complexes induite par une augmentation du nombre de méthylènes peuvent expliquer probablement cette baisse de %H.

Les valeurs de %H des modèles Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d sont tout à fait comparables : l'hydrogénation de la double liaison 4',5' du noyau psoralène ne semble donc pas avoir d'influence au niveau des interactions moléculaires thymine-psoralène.

Ces résultats sont tout à fait comparables à ceux obtenus en série du méthoxy-8 psoralène 2 (61) (tableau 4).

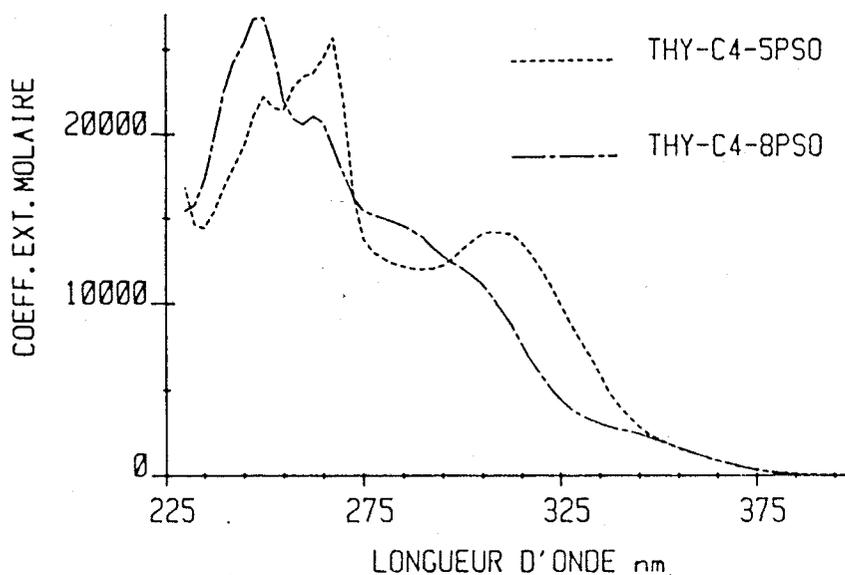
Modèle Domaine en nm	<u>8'c</u>	<u>8'd</u>	<u>8'e</u>	<u>8'f</u>	<u>15'd</u>
400-300 <sup>a</sup>	7,0	7,0	4,5	4,0	7,0
400-260	10,0	8,5	8,5	8,5	-
400-230 <sup>b</sup>	9,5	9,0	9,0	9,0	8,0*
400-205 <sup>c</sup>	-	9,0	-	-	7,0

**Tableau 4 :** Effets hypochromes %H mesurés pour les composés Thy-C<sub>n</sub>-8Pso 8'c, d, e, f et Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh8Pso 15'd dans différents domaines d'absorption.

a, b, c : voir tableau 3.

\* Valeur calculée entre 400-240 nm.

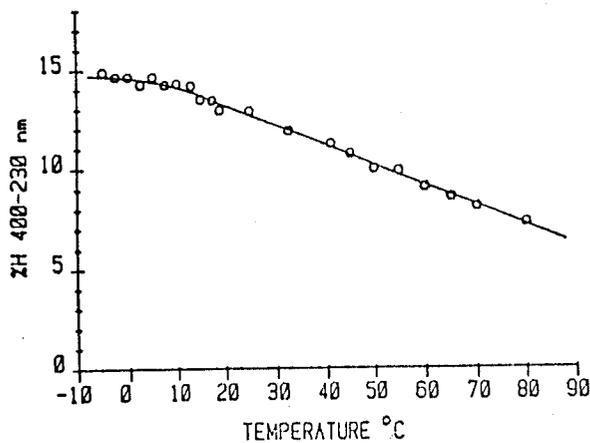
Les différences sur les valeurs de %H observées pour les modèles Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>4</sub>-8Pso 15d, au sein des mêmes domaines d'absorption (Ex : 400-300 nm) peuvent s'expliquer par les différences d'absorption des noyaux méthoxy-5 psoralène 1 et méthoxy-8 psoralène 2 (transitions électroniques différentes (figure 3)).



**Figure 3 :** Comparaison des spectres UV Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>8</sub>-8Pso 8'd.  
Ethanol, 20°C.

Les valeurs, ainsi calculées, de l'effet hypochrome sont précieuses pour comparer différents bichromophores entre eux. Par contre elles ne permettent pas d'accéder aux valeurs du degré de repliement ou de la constante d'équilibre forme ouverte  $\rightleftharpoons$  forme repliée pour un composé donné. Pour ce faire il est nécessaire de connaître la valeur de %H correspondant à 100 % de formes repliées. En agissant sur un paramètre tel que la température, nous pouvons espérer jouer sur cet équilibre et atteindre 100 % de complexation, résultat observé pour des composés analogues en série 8MOP 2 (42, 62) (Adénine-C<sub>n</sub>-8Psoralène 19 ; n=3)\* (figure 4). La valeur de %H (17 %) est constante de -5°C à 10°C et correspond donc à un repliement total.

Figure 4 : Ade-C<sub>3</sub>-8Pso : 19



Variation de l'effet hypochrome %H (mesuré entre 400 et 230 nm) avec la température ;  
eau-éthanol (95:5).

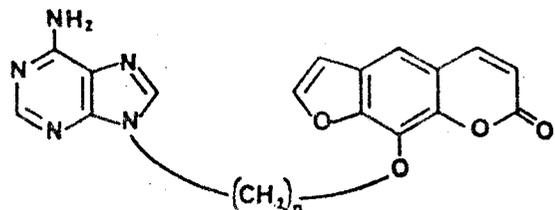
Variation de %H en fonction de la température

Degré de repliement :

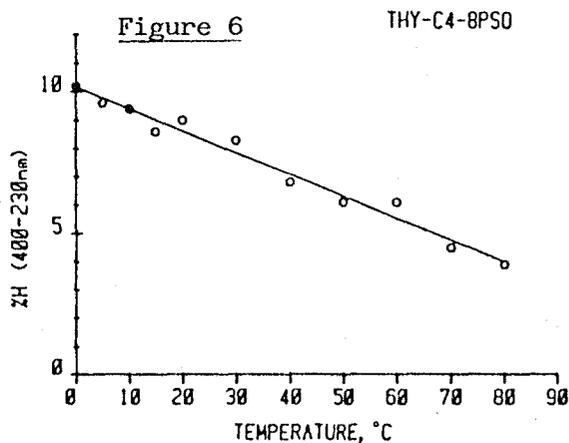
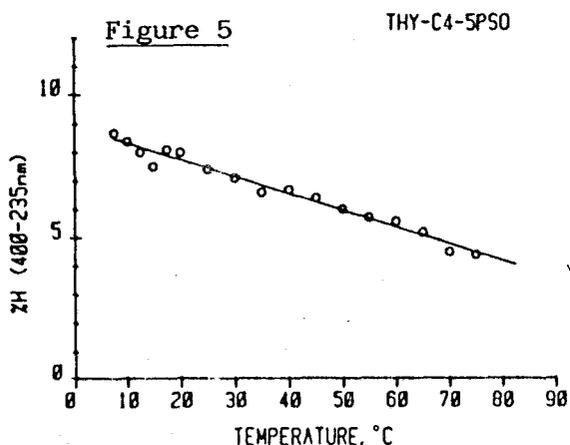
Nous avons étudié l'influence de la température (de 7,5°C à 75°C) sur %H pour le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d (pris comme exemple) en raison de sa meilleure solubilité dans l'eau-éthanol (95:5).

Sur la figure 5, nous avons représenté la variation de la valeur de l'effet hypochrome en fonction de la température: nous constatons une décroissance rapide de la valeur de l'effet hypochrome (de 9 à 4%)

\* Modèle Ade-C<sub>n</sub>-8Pso 19



lorsque la température augmente de 7,5°C à 75°C. Nous n'observons pas la formation d'un palier au voisinage de 0°C. Ce résultat est semblable à celui obtenu pour le modèle Thy-C<sub>4</sub>-8Pso 8'd (figure 6).



Figures 5, 6 : Variation de l'effet hypochrome %H avec la température ; eau-éthanol (95:5) , 20°C.

Figure 5 : Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d (%H mesuré entre 400-235 nm).

Figure 6 : Thy-C<sub>4</sub>-8Pso 8'd (%H mesuré entre 400-230 nm).

\* La faible solubilité de nos produits ne nous a pas permis d'obtenir des valeurs de %H entre 0°C et 7,5°C, températures auxquelles les composés précipitent.

L'interprétation en terme de degré de repliement (%R), qui nécessite la connaissance de la valeur de %H<sub>max</sub> correspondant à 100% de complexation, n'est donc pas possible. Néanmoins on peut raisonnablement en situer l'ordre de grandeur :

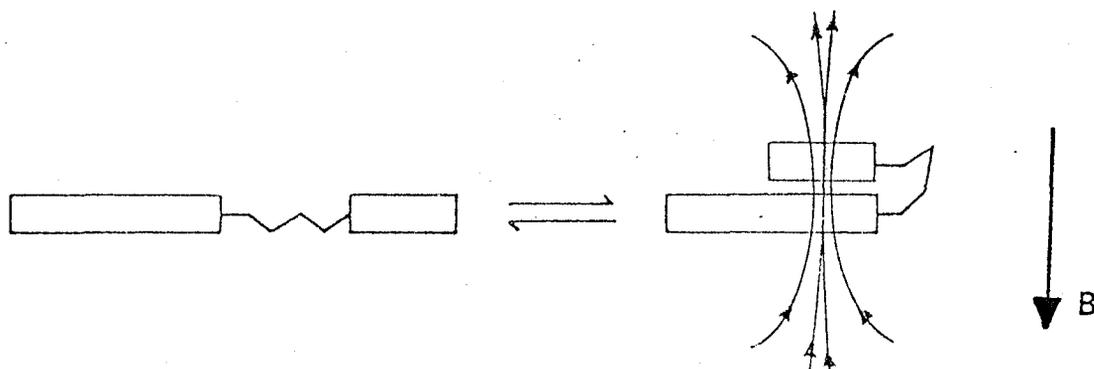
$$\%R = \frac{\%H}{\%H_{\max}} \times 100$$

En effet en supposant que la valeur de %H<sub>max</sub>, correspondant à une complexation totale pour le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d, serait comprise entre 9 , la valeur la plus grande observée à 0°C pour ce composé et 15, la valeur maximale observée pour les composés Ade-C<sub>4</sub>-8Pso 19d (figure 4), nous trouvons un degré de repliement de l'ordre de : 90 % > %R > 50 % à 20 °C. Une valeur proche de 50 % semble plus probable.

## B. ETUDE PAR RMN :

### 1) PRINCIPE :

La RMN du proton permet d'étudier le repliement intramoléculaire de nos modèles : en effet dans la forme repliée, l'anisotropie diamagnétique d'un cycle aromatique provoque un blindage des protons du cycle opposé par rapport aux signaux observés pour chaque composé isolé (composé de référence).



Cette méthodologie, déjà utilisée dans notre laboratoire pour l'étude de systèmes comparables base-intercalant (base-quinoléine (38d), base-acridine (39)) avait été décrite auparavant pour l'étude de composés tels que les dinucléotides (63, 64) ou les bis-intercalants (65).

### 2) ENREGISTREMENT DES SPECTRES :

Nous nous sommes attachés essentiellement à étudier le comportement des modèles Thy-C<sub>4</sub>-Pso 8d et Thy-C<sub>4</sub>'-4',5'dh5Pso 15d.

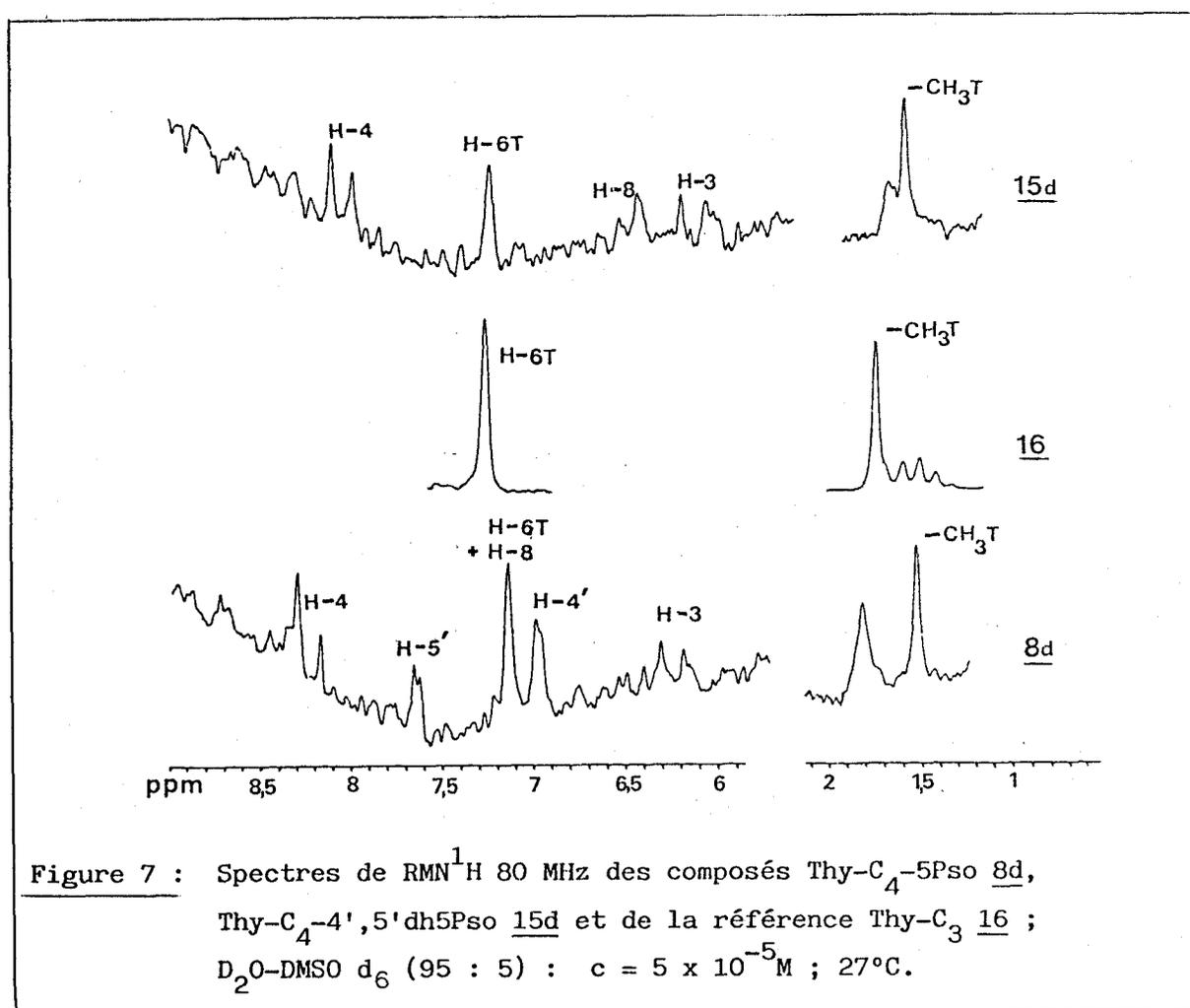
Les spectres de ces composés ont été enregistrés dans le mélange D<sub>2</sub>O-DMSO d<sub>6</sub> (95:5) étant donné leur insolubilité dans l'eau lourde pure. Malgré cela nous n'avons pas pu travailler à des concentrations supérieures à  $5 \times 10^{-5}$  M.

Le spectre du composé Thy-C<sub>3</sub> 16 a été pris dans les mêmes conditions.

Par contre, la référence 5Pso-C<sub>3</sub> 17 (de même 4',5'dh5Pso-C<sub>3</sub> 18) est totalement insoluble à cette concentration dans le mélange D<sub>2</sub>O-DMSO d<sub>6</sub> (95:5). L'utilisation du 5MOP 1 (à la place du 5Pso-C<sub>3</sub> 17) ne nous a pas non plus fourni de spectre interprétable\*.

### 3) RESULTATS :

Nous avons représenté sur la figure 7, les spectres des modèles 8d et 15d, ainsi que de la molécule Thy-C<sub>3</sub> 16.



\* 5MOP 1 : c = 5 x 10<sup>-5</sup> M D<sub>2</sub>O-DMSO d<sub>6</sub> (95:5)  
après 60 000 scans : obtention d'un spectre mal défini.

Nous constatons des différences de déplacement chimique des protons  $H_6$  et  $CH_3$  de la thymine entre les modèles 8d et 15d et la référence Thy- $C_3$  16.

Dans le modèle Thy- $C_4$ -5Pso 8d, les protons  $H_6$  et  $CH_3$  de la thymine sont blindés respectivement de 0,19 et 0,27 ppm, des blindages plus faibles (0,11 et 0,15 ppm) sont également observés pour le composé Thy- $C_4$ -4',5'dh5Pso 15d (tableau 4).

	H6	CH <sub>3</sub>	Tableau 4 : Valeurs des blindages $\Delta\delta$ (ppm) des protons $H_6$ et $CH_3$ de la thymine observés lors du repliement intramoléculaire des modèles <u>8d</u> et <u>15d</u> .
modèle <u>8d</u>	0,19	0,27	
modèle <u>15d</u>	0,11	0,15	
$\Delta\delta$ (ppm) = $\delta$ (référence) - $\delta$ (modèle)			

Ces valeurs de  $\Delta\delta$  sont significatives et ne peuvent être liées à une interaction intermoléculaire ; en effet :

- Le composé de référence Thy- $C_3$  16, ne montre aucune variation de déplacement chimique lorsqu'on fait varier sa concentration ( $10^{-4}M$  à  $5 \times 10^{-5}M$ ) (tableau 1 p.126).
- Dans cette gamme de concentration les résultats UV ont montré qu'il n'y avait pas d'autoassociation des modèles (voir p. 47 ).

Ces valeurs notables de blindage ( $\Delta\delta$ ) sont en fait dues à un important effet de courant de cycle\* du psoralène empilé sur la

---

\* Le manque de solubilité des références 5Pso- $C_3$  17 et 4',5'dh5Pso- $C_3$  18 a rendu impossible de ce fait la détermination de la variation des déplacements chimiques ( $\Delta\delta$ ) pour les protons aromatiques du noyau psoralène. Cependant il faut souligner que même en cas de complexation totale, l'effet attendu sur le noyau psoralène doit être quasiment nul dans la mesure où le courant de cycle de la thymine est négligeable (66).

thymine : ceci témoigne donc de l'existence de formes repliées de ces molécules dans le mélange D<sub>2</sub>O-DMSO d<sub>6</sub> (95:5).

Ces résultats peuvent être comparés à ceux obtenus dans la série du 8MOP 2 (tableau 5).

Composé	H-4	H-5'	H-5	H-4'	H-3	H-6T	CH <sub>3</sub> T
<u>8'd</u>	0,03	0,01	0,07	0,02	-0,02	0,22	0,23
<u>15'd</u>	0,01		0,05		0,01	0,12	0,13

Tableau 5 : Valeurs des blindages  $\Delta\delta$  (ppm) observés lors du repliement intramoléculaire des modèles 8'd et 15'd. D<sub>2</sub>O-DMSO d<sub>6</sub> (95:5) c = 10<sup>-4</sup>M ; 27°C.

Les valeurs de  $\Delta\delta$  sont semblables dans les modèles de la série thymine. Par contre elles sont plus faibles que celles du modèle comportant l'adénine : ceci semble raisonnable quand on sait que le modèle Ade-C<sub>4</sub>-8Pso est complexé à 80 % à 20°C.

Toutes ces données confirment les résultats obtenus lors de l'étude UV.

## II. NATURE DES INTERACTIONS - INFLUENCE DU SOLVANT :

Nous avons constaté une complexation noyau-noyau importante dans l'eau : de l'ordre de 50 % des molécules existent sous la forme repliée. De manière à préciser la nature des interactions responsables du repliement, nous avons étudié par UV et par RMN le comportement des modèles en solvant organique.

### A. ETUDE UV :

\* Nous avons suivi la variation de l'effet hypochrome pour le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d en solution dans le mélange eau-éthanol, lorsqu'on augmente progressivement le pourcentage d'éthanol.

Sur la figure 8, nous avons représenté cette variation. Nous observons une décroissance rapide de l'effet hypochrome lorsque le pourcentage d'éthanol augmente. Dans l'éthanol pur, cet effet est voisin de 0 (aux erreurs expérimentales près), le modèle est sous forme ouverte, les interactions d'empilement ont donc pratiquement disparu.

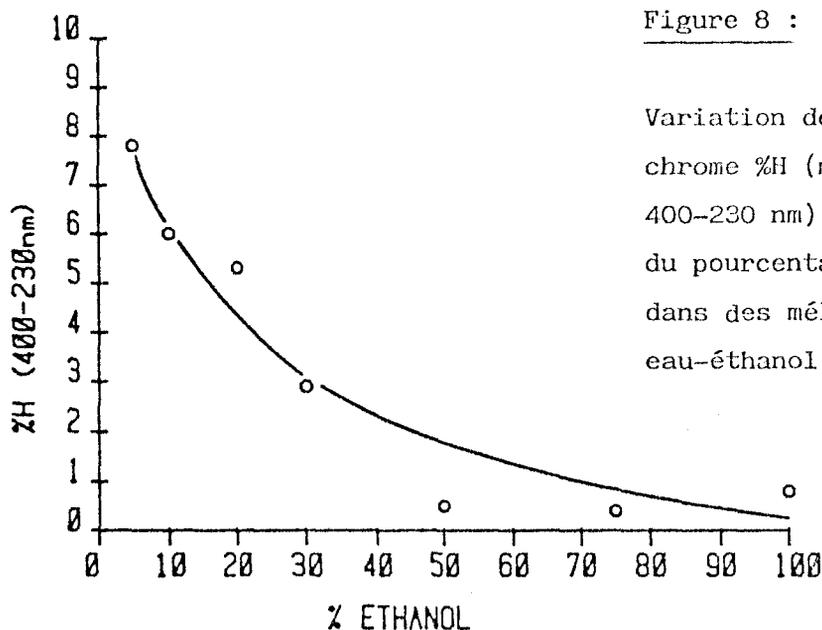


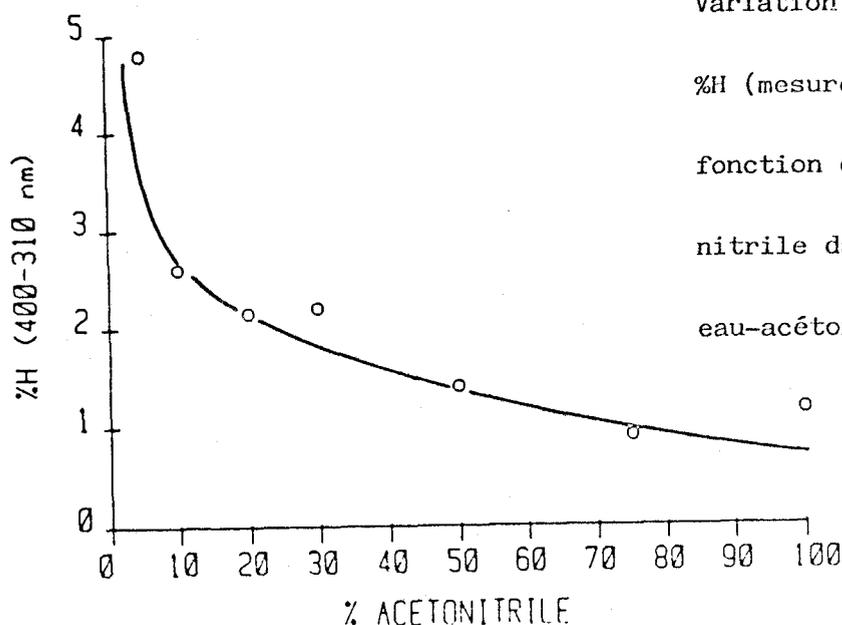
Figure 8 : Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d :

Variation de l'effet hypochrome %H (mesuré entre 400-230 nm) en fonction du pourcentage d'éthanol dans des mélanges eau-éthanol à 20°C.

Des valeurs de %H proches de zéro ont également été obtenues pour les modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8c, 8e, 8f et Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d en solution dans l'éthanol pur.

\* Une étude semblable a été menée dans l'acétonitrile pour le composé Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d. Les résultats obtenus (figure 9) révèlent également une disparition du repliement dans l'acétonitrile pur (%H = 1).

Figure 9 : Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d :



Variation de l'effet hypochrome  
%H (mesuré entre 400-310 nm) en  
fonction du pourcentage d'acéto-  
nitrile dans des mélanges  
eau-acétonitrile à 20°C.

### B. ÉTUDE PAR RMN :

La disparition des interactions d'empilement thymine-psoralène en solvant organique pur est confirmée par la mesure\* des spectres de RMN (DMSO d<sub>6</sub> et CDCl<sub>3</sub>) des modèles 8d et 15d et ceux des références 16, 17 et 18, où l'on constate dans tous les cas que le spectre du modèle est la somme des spectres des composés de référence correspondants ( $\Delta\delta = 0$ ).

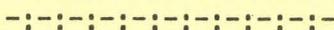
Tous ces résultats indiquent que le repliement disparaît en solvant organique pur (éthanol, acétonitrile DMSO d<sub>6</sub>, CDCl<sub>3</sub>). Nous pouvons conclure que les interactions mises en jeu lors de l'empilement base-psoralène dans les composés modèles et vraisemblablement lors de l'intercalation du psoralène dans l'ADN sont essentiellement de nature hydrophobe.

---

\* Les valeurs des déplacements chimiques mesurés sont indiquées dans le tableau 2 p. 127.

CHAPITRE III

ETUDE PHOTOCHEMIE



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

Dans le but de mettre au point les conditions d'irradiation des divers modèles, nous avons été amenés à réaliser un certain nombre d'essais préliminaires en faisant varier différents paramètres tels que le solvant d'irradiation, la durée, la concentration.

### \* Méthodologie :

En raison du très grand nombre d'essais à mener à haute dilution en particulier, nous avons mis au point une méthodologie d'identification rapide des photoproduits formés :

L'analyse des solutions irradiées se fait par chromatographie liquide hautes performances (CLHP). La détection des photoproduits est réalisée par spectrophotométrie UV simultanément à deux longueurs d'onde 254 nm et 365 nm (ou 280 nm).

Les solutions irradiées seront "réirradiées" à 254 nm : dans ces conditions, les photoproduits de type cyclobutane doivent conduire aux composés de départ (22,23) et seront ainsi rapidement identifiés.

Enfin parmi ces composés, nous pourrions facilement distinguer les adduits en 3,4 des adduits en 4',5' : en effet d'après les résultats de la littérature (23, 24), les adduits en 3,4 n'absorbent pas à 365 nm tandis que les adduits en 4',5' absorbent beaucoup plus à 365 nm que les modèles de départ. Dans le cas de la formation d'adduits en 3,4 nous utiliserons le filtre 280 nm (ils absorbent la lumière à cette longueur d'onde) pour les caractériser.

Remarque : Nous ne pourrions pas par cette méthode, distinguer les dimères du psoralène des adduits intramoléculaires thymine-psoralène.

\* Essais préliminaires :

Nous avons choisi le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d pour nos premiers essais, en raison de sa meilleure solubilité dans les solvants organiques et mélanges eau-solvant organique.

. Recherche de solvant :

Les essais d'irradiation menés dans différents solvants ont révélé une photoréactivité importante du composé 8d : en général un ou deux photoproduits majoritaires (sauf dans le chloroforme où l'on observe un très grand nombre de produits). Les temps d'irradiation sont apparemment variables.

. Choix de la concentration pour les études ultérieures :

Nous avons irradié à 365 nm le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d dans le mélange eau-diméthylformamide (50:50), à différentes concentrations. Nous avons choisi la diméthylformamide car, étant un bon solvant de nos produits il nous permet de travailler dans une gamme étendue de concentration (jusqu'à  $5 \times 10^{-4}$  M). Plus de 80 % du composé de départ a disparu après trois heures d'irradiation (figure 1). Nous pouvons remarquer également que quelle que soit la concentration, la disparition du modèle évolue de la même façon (figure 1).

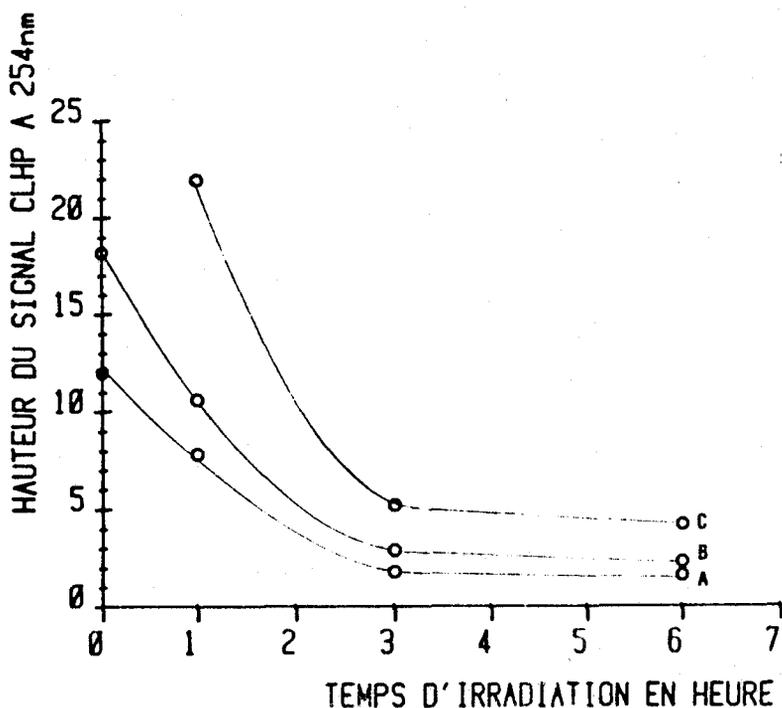


Figure 1 :

Irradiation de Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d (eau-DMF (50:50) :  
disparition du composé 8b  
en fonction du temps  
d'irradiation.

A :  $c = 1,3 \times 10^{-4}$  M

B :  $c = 2,6 \times 10^{-4}$  M

C :  $c = 3,9 \times 10^{-4}$  M

En ce qui concerne les photoproduits, on constate (figure 2) qu'à faible concentration un produit unique est obtenu ; aux fortes concentrations on obtient un autre photoproduit (temps de rétention (tR) et rapport d'absorption  $A(254)_{280}$  différents). Pour les concentrations intermédiaires, nous pouvons observer un mélange des deux composés.

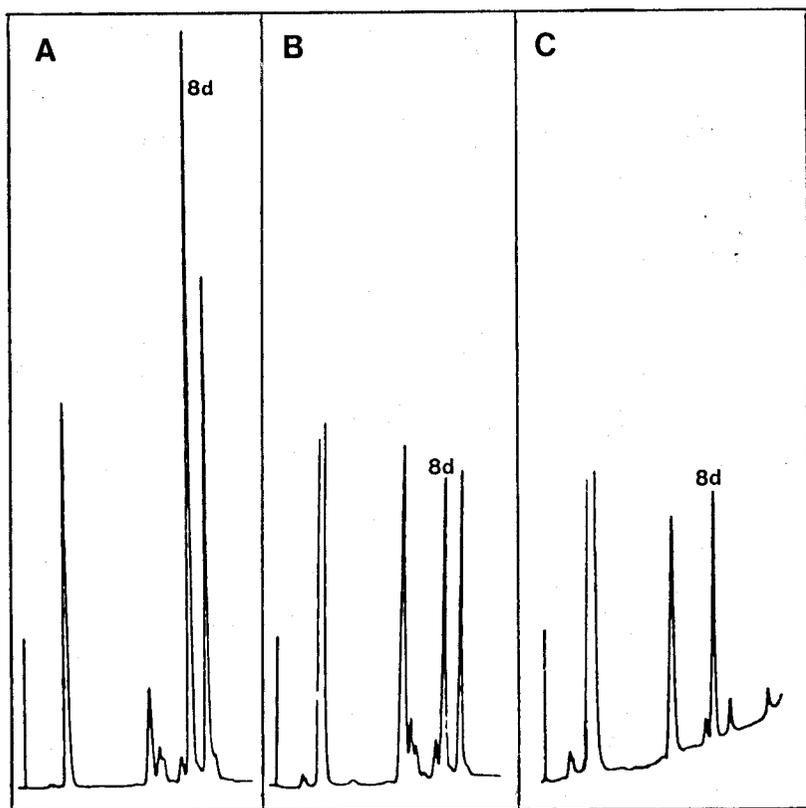


Figure 2 : Chromatogrammes CLHP : Irradiation du modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d à différentes concentrations dans l'eau-DMF (50:50).

A :  $c = 5,2 \times 10^{-4}$  M ; irradié 1h  
B :  $c = 1,3 \times 10^{-4}$  M ; irradié 1h  
C :  $c = 1,1 \times 10^{-5}$  M ; irradié 1h.

Nous avons donc étudié la photoréactivité des composés Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 en solution diluée puis en solution concentrée.

# I. PHOTOREACTIVITE DES MODELES THY-C<sub>N</sub>-5Pso 8 :

## A. ETUDE EN SOLUTION DILUÉE :

### 1) OBTENTION DU PHOTOPRODUIT DANS LE CAS DU MODELE Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d. DETERMINATION DE SA STRUCTURE :

Nous avons irradié à 365 nm le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d en solution diluée dans l'eau-éthanol (95:5) (140 mg dans 20 l<sup>\*</sup> ; c = 2 x 10<sup>-5</sup> M). Après 22 heures d'irradiation (état photostationnaire), on obtient le photoproduit 20d nettement majoritaire (> 90 %) qui est identique à celui mis en évidence dans un mélange eau-diméthylformamide (50:50) (tR et A semblables). Ce composé a été isolé et sa structure a été déterminée :

- L'irradiation à 254 nm du composé 20d fournit le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d: ceci est indicatif de la présence d'un cyclobutane.

- L'absence d'absorption à 365 nm (CLHP) laisse à penser qu'il s'agit d'un composé dont le noyau psoralène possède une double liaison 3,4 saturée (7).

- Le spectre de masse indique qu'il s'agit d'un produit d'addition intramoléculaire : le pic moléculaire (M<sup>+</sup> = 382) est identique à celui du modèle 8d. Nous retrouvons également la coupure classique des modèles conduisant aux fragments (Thy-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-)<sup>+</sup> (Thy-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>)<sup>+</sup> : 181) et (PsoOH)<sup>+</sup> (202) et les coupures caractéristiques des noyaux thymine (139, 126, 96, 55) et psoralène (173).

- Les résultats de RMN montrent que la double liaison 3,4 du psoralène ainsi que la double liaison 5,6 de la thymine sont saturées : en effet on observe des blindages

---

\* Avant de procéder à l'étape de purification (chromatographie et cristallisation), l'élimination des 20 l a été réalisée par "filtration" sur colonne de CLHP préparative.

importants (supérieurs à 1,5 ppm) pour les protons H-3 et H-4 du noyau psoralène ainsi que pour le proton H-6 (supérieur à 2 ppm) et le méthyl-5 (0,3 ppm) du noyau thymine. par rapport aux valeurs du composé Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d.

Ces différentes analyses indiquent que le photoadduit 20d est un composé d'addition intramoléculaire (2+2) - de type cyclobutane- de la double liaison 3,4 du psoralène sur la double liaison 5,6 de la thymine. Deux isomères sont possibles cis anti et trans anti. L'étude radio-cristallographique\* par RX a permis de préciser la stéréochimie : il s'agit d'un adduit de géométrie cis anti (figure 3).

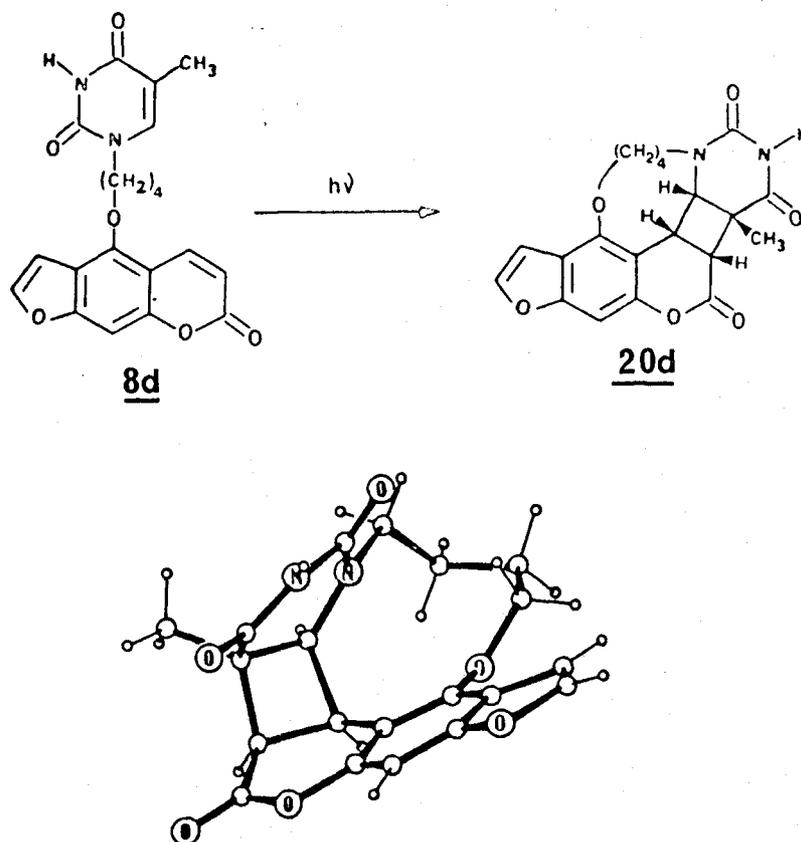


Figure 3 : Vue en perspective du photoproduit 20d .

---

\* Le travail a été réalisé par J.P. BIDEAU, G. BRAVIC, C. COURSEILLE et R. EL COUHEN dans le laboratoire de Cristallographie de Mr. HOSPITAL (Université de Bordeaux). Les structures RX d'autres photoproduits décrits plus loin sont actuellement en cours de détermination dans ce laboratoire.

## 2) SELECTIVITE DE LA PHOTOREACTION :

Afin d'étudier la photoréaction, nous avons examiné l'influence du solvant et de la longueur de la chaîne reliant la thymine au psoralène.

### a) Influence du solvant :

Nous avons irradié le composé Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d en solution dans différents solvants organiques (éthanol, diméthylformamide, acétonitrile, méthanol, diméthylsulfoxyde) et mélanges eau-solvant organique (eau-diméthylformamide, eau-éthanol, eau-acétonitrile).

On constate que dans tous les cas le photoadduit 20d est formé (caractérisation par A et tR) (tableau 2 p. 131) avec un degré de pureté comparable.

Par contre ces essais ne permettent pas de conclure de façon précise quant à l'influence du solvant sur la vitesse de la photoréaction. Une étude plus systématique et plus complète serait nécessaire. Cependant on peut en donner un ordre de grandeur :

Vitesse dans DMSO > eau-DMF (50:50) > DMF > acétonitrile > eau-éthanol (95:5) > éthanol > méthanol

Remarque : L'irradiation à 365 nm de diverses solutions de modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d ( $c = 2,5 \times 10^{-5} M$ ) dans l'eau-diméthylformamide, avec des pourcentages variables d'eau, a permis de mettre en évidence l'influence de l'eau sur la vitesse de la photoréaction (tableau 1) : celle-ci augmente, lorsque le pourcentage d'eau passe de 95 à 50 %.

Mélange eau-DMF	95:5	80:20	50:50
Temps d'irradiation			
1h	0,03	0,07	0,4
4h	0,1	0,3	1,5

**Tableau 1** : Influence de l'eau sur la formation du photoadduit

évolution du rapport R .  $R = \frac{\text{hauteur signal photoadduit } 20d}{\text{hauteur signal composé } 8d}$   
à 254 nm

b) Influence de la longueur de la chaîne :

Les composés Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 ( n = 2, 3, 4, 5, 6 et 12) en solution dans l'eau-diméthylformamide\* (50:50) et dans l'eau-éthanol\* (95:5) ont été irradiés à 365 nm.

Dans chaque cas, il se forme un produit largement majoritaire (figure 4).

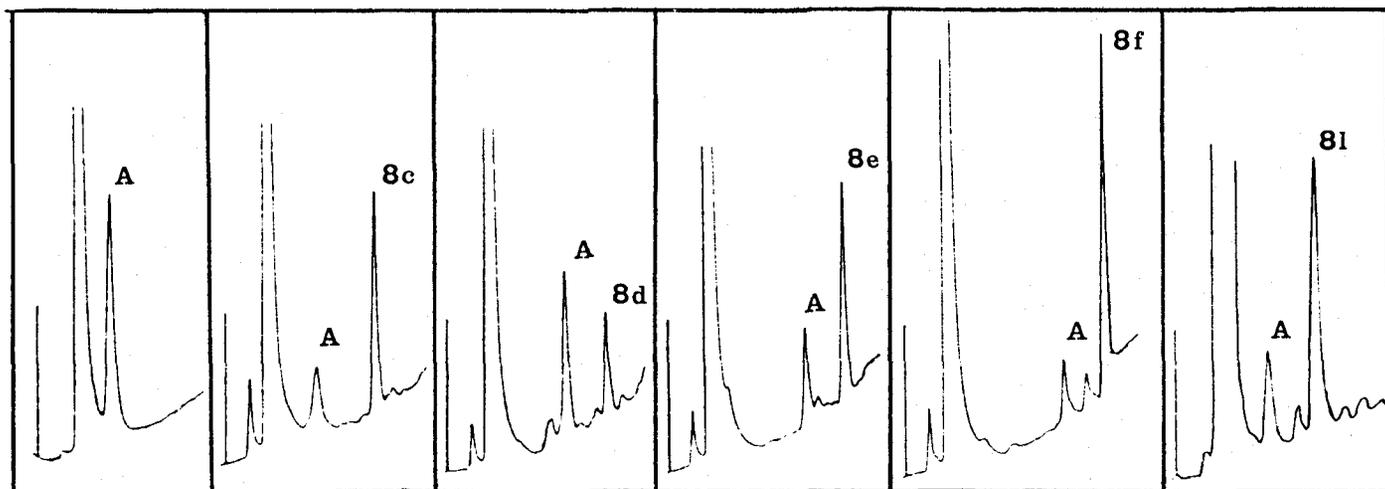


Figure 4 : Chromatogrammes CLHP [ programme d'élution : gradient linéaire de deux solvants eau et mélange méthanol-eau (95:5), temps d'élution égal à 10 mn. Début de programme : 50 % méthanol-eau (95:5). 50 % eau pure ; fin de programme : 100 % méthanol-eau (95:5) ]\*\* de solutions de modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 irradiés à 365 nm ( 2 x 10<sup>-5</sup>M ) ; eau-diméthylformamide (50:50) ; 4h30 d'irradiation). A = photoproduit majoritaire.

En raison des conditions difficiles d'isolement des produits aux dilutions utilisées, nous nous sommes limités à les comparer entre eux et notamment avec l'adduit isolé et caractérisé 20d pour n égal à 4. Pour cela nous avons mesuré les temps de rétention (tR) et calculé les rapports d'absorption (A 254) (tableau 1 p.130).  
280

\* Eau-diméthylformamide (50:50) c = 2 x 10<sup>-5</sup>M.  
Eau-Ethanol (95:5) c = 10<sup>-5</sup>M

\*\* Nous avons utilisé ce programme d'élution pour tous nos produits (sauf indication contraire).

A partir de ces caractéristiques chromatographiques nous avons tenté d'établir une relation montrant qu'il s'agissait dans chaque cas du même type de composé.

- Nous remarquons qu'en représentant pour les différentes longueurs de chaîne, le  $t_R$  du photoproduit majoritaire 20 en ordonnée en fonction du  $t_R$  du modèle de départ correspondant en abscisse, les points sont alignés (figure 5). Le résultat indique que ces composés sont vraisemblablement de même nature.

- De même si l'on compare les rapports d'absorption A, nous constatons qu'ils sont peu différents (2,6 à 3,2) (tableau 1 p.130).

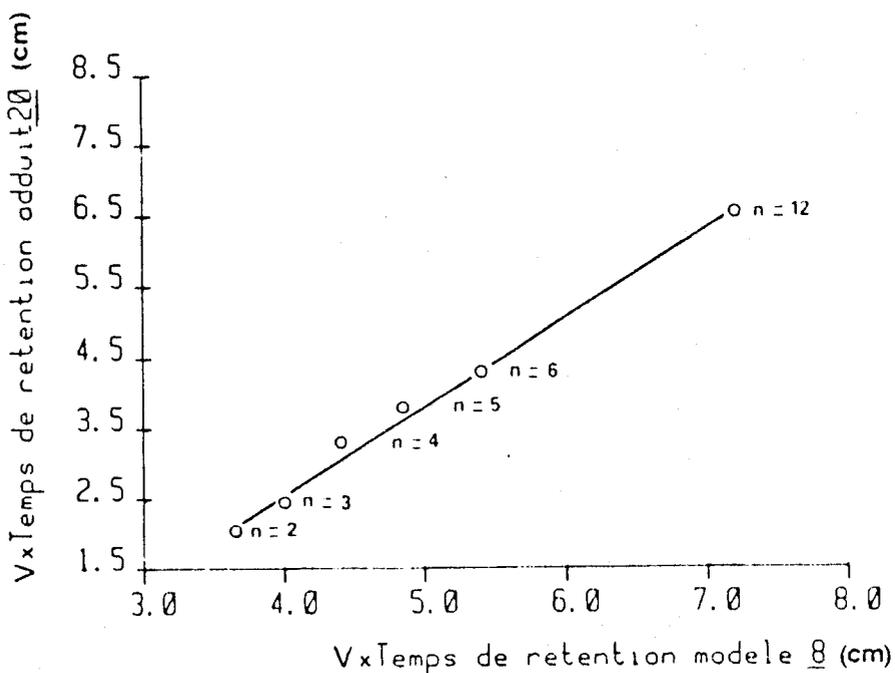


Figure 5 : Influence de la longueur de la chaîne sur la nature du photoproduit :  $t_R$  du photoproduit 20 en fonction du  $t_R$  du modèle de départ 8 correspondant.

Les valeurs reportées correspondent à la mesure directe en cm du déplacement des pics sur le chromatogramme ;  $V = 0,5$  cm/mn rend compte de la vitesse d'enregistrement.\*

---

\* Il en sera de même pour tous les temps de rétention mentionnés dans ce chapitre.

Outre leurs caractéristiques chromatographiques comparables, par irradiation à 254 nm ces photoproduits fournissent les modèles correspondants 8 : ils sont donc tous de type cyclobutane. Par ailleurs comme l'adduit 20d, ils n'absorbent pas à 365 nm. Par conséquent il est fort probable que tous ces composés sont des adduits intramoléculaires thymine 5,6  $\diamond$ 3,4 psoralène.

En ce qui concerne leur configuration, il est vraisemblable qu'elle soit cis de par les caractéristiques CLHP analogues au photo-adduit 20d.

Remarque : Dans le cas du modèle Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b, ce photoproduit est formé très rapidement et de manière quantitative. Ceci nous a donc incités à l'isoler\*.

Nous avons déterminé sa structure :

La spectrométrie de masse indique la nature intramoléculaire de cet adduit ( $M^+ = 354$ ) : fragments Thy-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub><sup>+</sup> (153) et (PsoOH)<sup>+</sup> (202) caractéristiques des modèles ainsi que les coupures attendues pour la thymine et le psoralène.

La spectrométrie de RMN montre, comme dans le cas du photo-adduit 20d (correspondant à n=4) des blindages analogues des protons H-3 et H-4 du psoralène ( $\Delta\delta > 1,5$  ppm) et des protons H-6 et méthyl-5 de la thymine (figure 6).

---

\* Une étude plus précise sur la cinétique de la photoréaction a été réalisée en solution concentrée (p.76) où seul (CLHP), cet adduit est formé quelle que soit la concentration en modèle Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b.

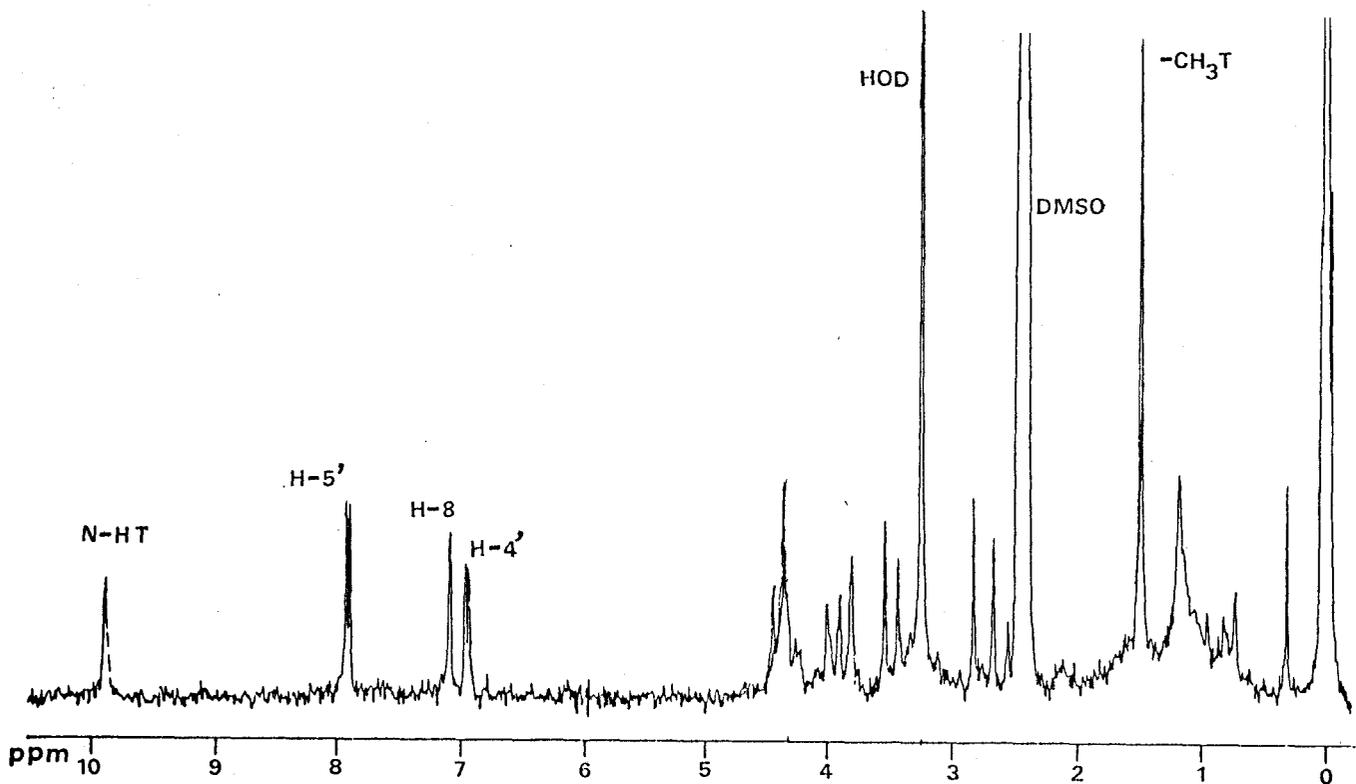


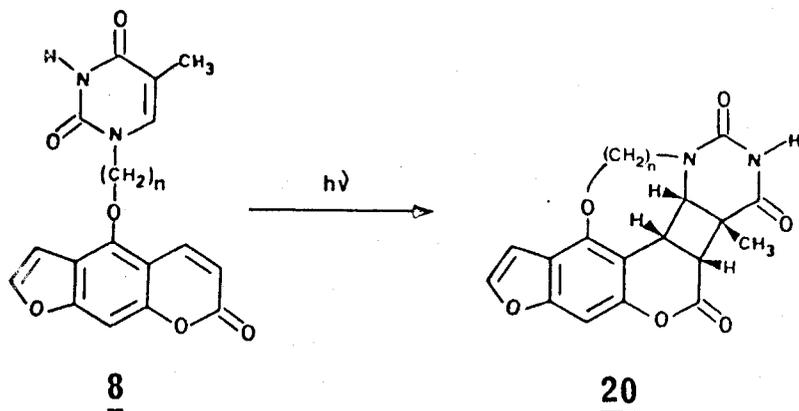
Figure 6 : Spectre de RMN<sup>1</sup>H 80MHz du photoadduit 20b ; DMSO d<sub>6</sub>.

La configuration de ce composé sera définitivement établie par la structure RX qui est en cours de détermination.

Ce résultat justifie et confirme l'approche indirecte, basée notamment sur les caractéristiques chromatographiques, utilisée précédemment pour établir la structure de photoproduits. Cette approche nous avait en effet amenés à écrire la structure avant de procéder à son isolement.

Conclusion :

Quelle que soit la longueur de la chaîne, un photoadduit intramoléculaire se forme très sélectivement. Ce composé a été isolé et caractérisé pour n=2 et 4.



### 3) PREMIERES INDICATIONS SUR LE MECANISME :

#### - Rendement quantique \* :

Nous avons déterminé les rendements quantiques de disparition ( $\phi_D$ ) pour les modèles 8b, 8d et 8l. Ils ont été calculés à partir de données spectroscopiques UV mesurées dans l'eau-diméthylformamide (50:50) et dans l'eau-éthanol (95:5) ; il sont très faibles \*\* : inférieurs à 0,05.

#### - Influence de l'oxygène :

Afin d'approcher le mécanisme de la photoréaction, nous avons étudié l'influence de l'oxygène en irradiant des solutions diluées de Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d aérées ou non (barbotage O<sub>2</sub> ou Ar). Nous avons suivi l'avancement de la réaction par CLHP et par spectrométrie UV.

En présence d'oxygène, on note une inhibition pratiquement totale de la photoréaction (tableau 5 p. 134).

Ces résultats indiquent l'intervention très probable de l'état triplet du psoralène dans la photoréaction conduisant à l'adduit intramoléculaire 20d.

---

\* Nous avons réalisé ce travail dans le laboratoire de R. BENSASSON (PARIS).

\*\* Ces résultats sont très approximatifs en effet : dans le calcul de  $\phi_D$ , intervient la valeur de la densité optique à 365 nm qui est très faible et qui est la cause d'une erreur importante possible (détails p.136).

#### 4) IRRADIATION A 254 nm DU PHOTOADDUIT 20d:

##### OUVERTURE DU CYCLOBUTANE :

La transformation du composé 20d en modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso a été suivie par CLHP, UV et RMN.

##### - CLHP :

L'irradiation à 254 nm dans l'eau-diméthylformamide (50:50) conduit essentiellement au composé 8d ; quelques produits minoritaires sont également visibles. Nous pouvons considérer qu'après trente minutes d'irradiation, environ 75 % du photoadduit 20d a été transformé (figure 7).

##### - UV :

Nous avons suivi l'évolution du spectre UV du photoproduit irradié à 254 nm dans l'eau-éthanol (95:5). Nous pouvons remarquer la présence d'un point isobestique (figure 8) caractéristique de deux composés en solution. En fin d'irradiation le spectre correspond à celui du modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso. 8d.

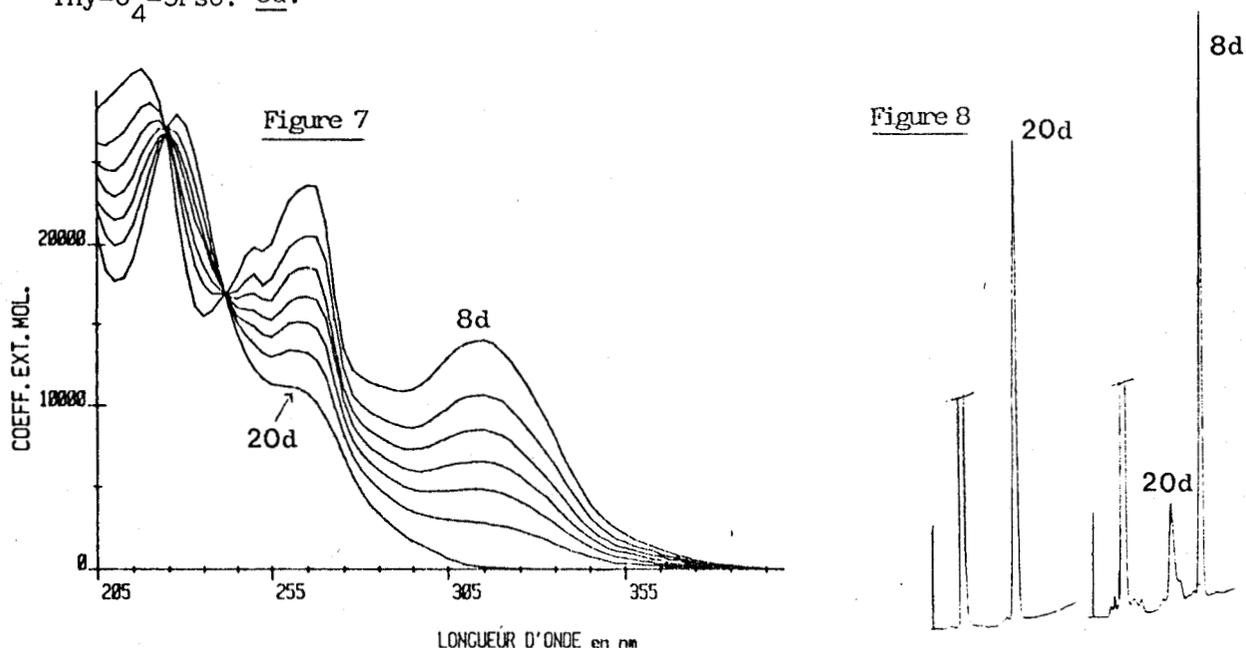


Figure 7, 8 : Irradiation à 254 nm du photoadduit 20d suivie par UV (figure 7 eau-éthanol (95:5),  $c \simeq 5 \times 10^{-5} M$ ) et par CLHP (figure 8 : eau-diméthylformamide (50:50),  $c \simeq 2 \times 10^{-5} M$ ).

- RMN :

Nous avons irradié à 254 nm, le photoadduit 20d, in situ, dans le tube (DMSO  $d_6$ ) et nous avons enregistré les spectres de RMN à différents temps : après réaction, le spectre de RMN est tout à fait semblable (figure 8) à celui du composé 8d.

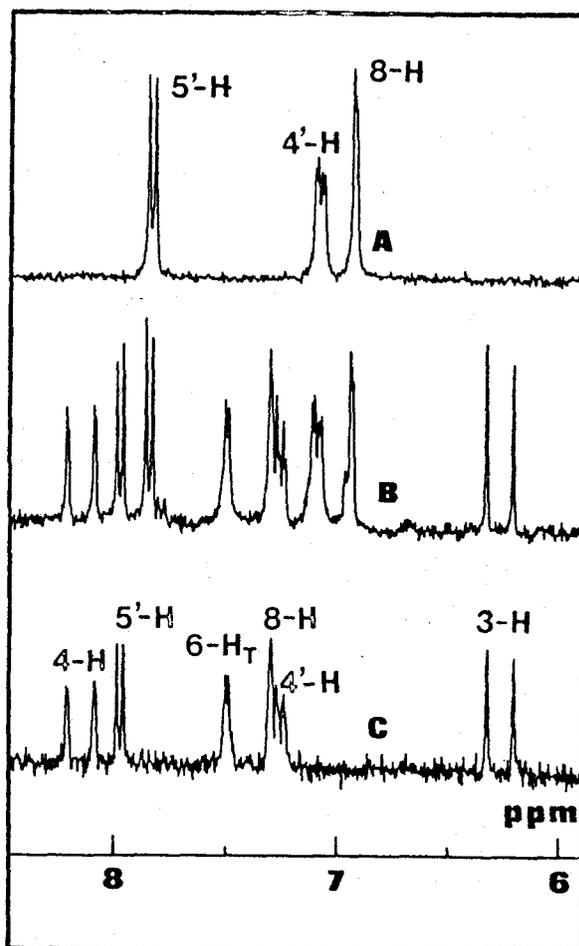


Figure 9 : Irradiation à 254 nm du photoadduit 20d suivie par RMN. Spectres  $^1\text{H}$  80 MHz dans le DMSO  $d_6$  : A : photoadduit 20d; B : même solution irradié à 254 nm ; C : Thy- $\text{C}_4$ -5Pso 8d.

Conclusion :

L'ouverture du cyclobutane par irradiation à 254 nm est quantitative et semble indépendante du solvant (eau-diméthylformamide, eau-éthanol, diméthylsulfoxyde).

Pour les photoproduits 20 non isolés, les irradiations à 254 nm ont été suivies uniquement par CLHP.

## B. ÉTUDE EN SOLUTION CONCENTRÉE :

Les essais avaient montré une forte influence de la concentration sur la nature du photoproduit formé. Nous avons donc irradié à 365nm le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d en solution concentrée ( $c > 5 \times 10^{-4} M$ ). La réaction conduit à la formation d'un composé majoritaire (figure 10) différent par ses caractéristiques chromatographiques de l'adduit intramoléculaire 20d isolé en solution diluée.

Le composé est instable thermiquement : lorsque la solution irradiée est portée à 95°C pendant quelques minutes, le produit se décompose en plusieurs produits (figure 10).

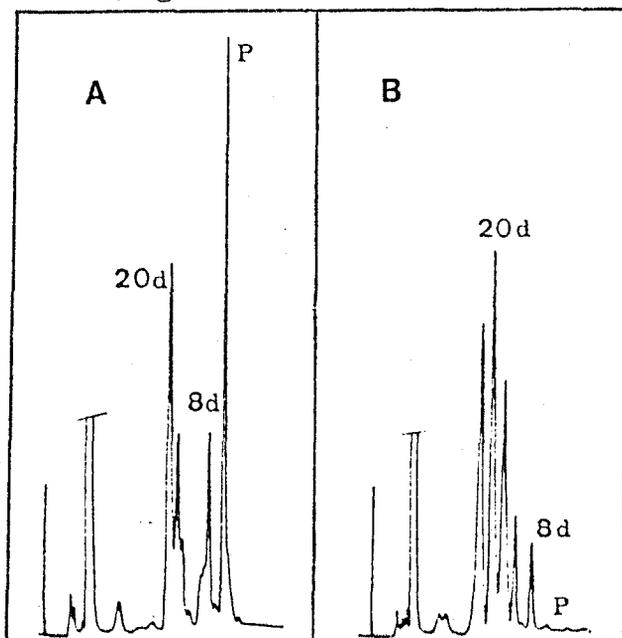


Figure 10 : Chromatogrammes CLHP de solutions de Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d ( $c=4 \times 10^{-4} M$  ; eau-diméthylformamide (40:60)).

A : Solution irradiée à 365 nm, 3 heures.

B : même solution chauffée 30 minutes à 90°C.

Après quelques essais infructueux d'isolement en raison de cette instabilité, nous avons préféré étudier l'influence du solvant et de la longueur de la chaîne, sur la photoréaction avant de poursuivre les tentatives d'isolement.

### 1) INFLUENCE DE LA LONGUEUR DE LA CHAÎNE :

Afin de savoir si la longueur de la chaîne reliant la thymine au psoralène, pouvait jouer un rôle au niveau de la formation et de l'instabilité du photoproduit, nous avons irradié à 365 nm les modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 en solution concentrée dans les mêmes conditions.

Ces essais ont été menés dans la diméthylformamide pure et dans le mélange eau-diméthylformamide (50:50) (tableau 1 p. 130).

Dans la diméthylformamide, on observe la formation d'un photoproduit majoritaire ayant un temps de rétention supérieur à celui du modèle correspondant pour toutes les longueurs de chaîne (sauf n=2 dont l'étude sera détaillée après) (figure 11).

Dans l'eau-diméthylformamide (50:50), les résultats sont semblables.

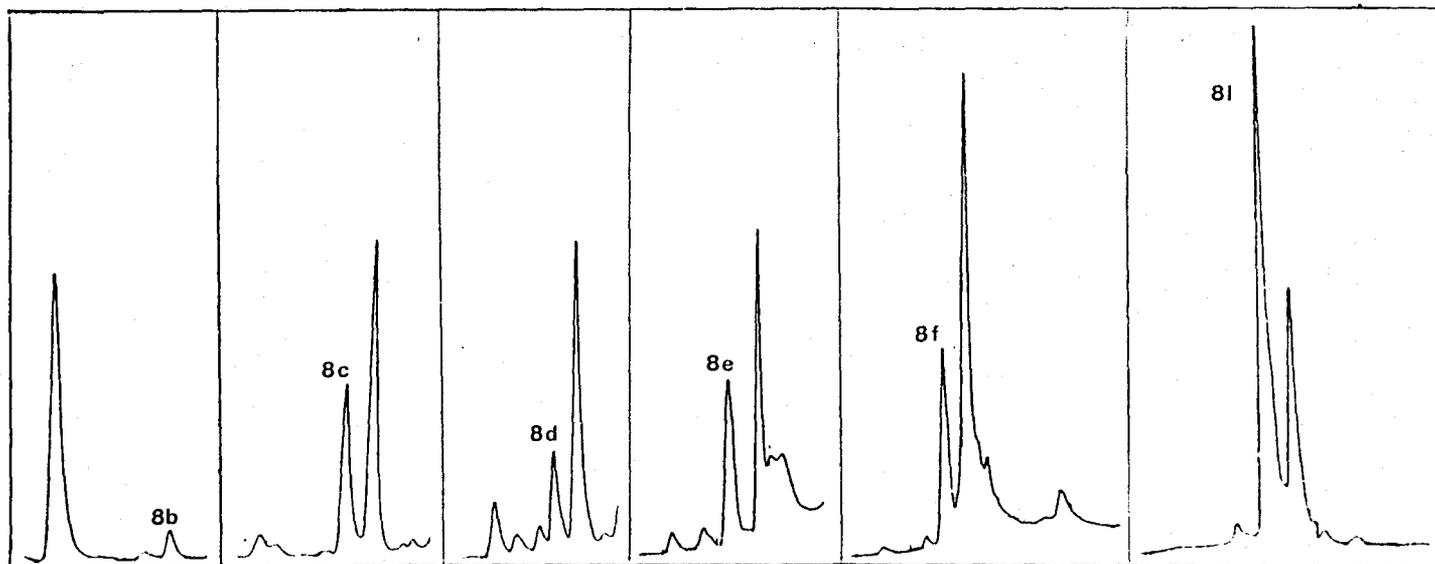


Figure 11 : Chromatogrammes CLHP de solutions de Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 irradiées à 365 nm dans la diméthylformamide,  $c = 10^{-3}$  M sauf 8l :  $c = 6 \times 10^{-4}$  M.

Par conséquent, dans tous les cas (sauf n=2) un photoproduit majoritaire est formé : il reste à savoir s'il s'agit ou non du même type de composé. Pour cela, nous avons utilisé la même méthode que celle employée précédemment pour les adduits intramoléculaires 20, en portant sur un graphique les valeurs de tR des modèles et des photoproduits pour les diffé-

rentes longueurs de chaîne : nous constatons que ces points sont situés sur une droite (figure 12) sauf pour  $n=2$ .

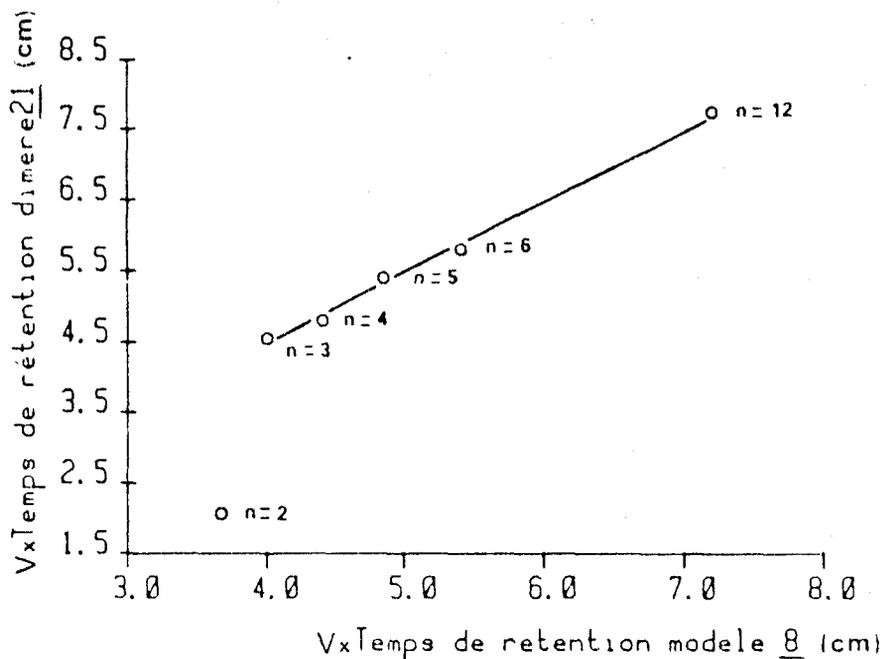


Figure 12 : Influence de la longueur de la chaîne sur la nature du photoproduit :  $t_R$  du photoproduit 21 en fonction du  $t_R$  du modèle de départ 8 ( $V = 0,5$  cm/mn, vu précédemment dans figure 5 ).

De plus si l'on compare les rapports d'absorption  $A(\frac{254}{280})$  ils sont semblables et égaux à 2 ( $\pm 0,05$ ) (sauf pour  $n=2$  :  $\Lambda=3,15$ ).

Ces résultats constituent une indication forte en faveur d'un même type de structure. Ces indications sont confirmées par d'autres caractéristiques :

- Ils sont tous instables thermiquement.
- Ces produits n'absorbent pas la lumière à 365nm.
- Par irradiation à 254nm, ils donnent dans tous les cas, un produit majoritaire qui possède les caractéristiques chromatographiques du modèle de départ correspondant 8.

Cet adduit 21 , semblable quelle que soit la longueur de la chaîne est de type cyclobutane.

Cas du modèle Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b :

Comme nous l'avons déjà noté, le comportement photochimique de ce système est différent : l'irradiation en milieu concentré fournit le même photoproduit qu'en milieu dilué, à savoir l'adduit intramoléculaire 20b déjà isolé et caractérisé.

Dans ce cas, le photoadduit 20b est formé rapidement (5 heures) et quantitativement : disparition totale du composé Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b et mise en évidence de ce seul adduit par CLHP (figure 13).

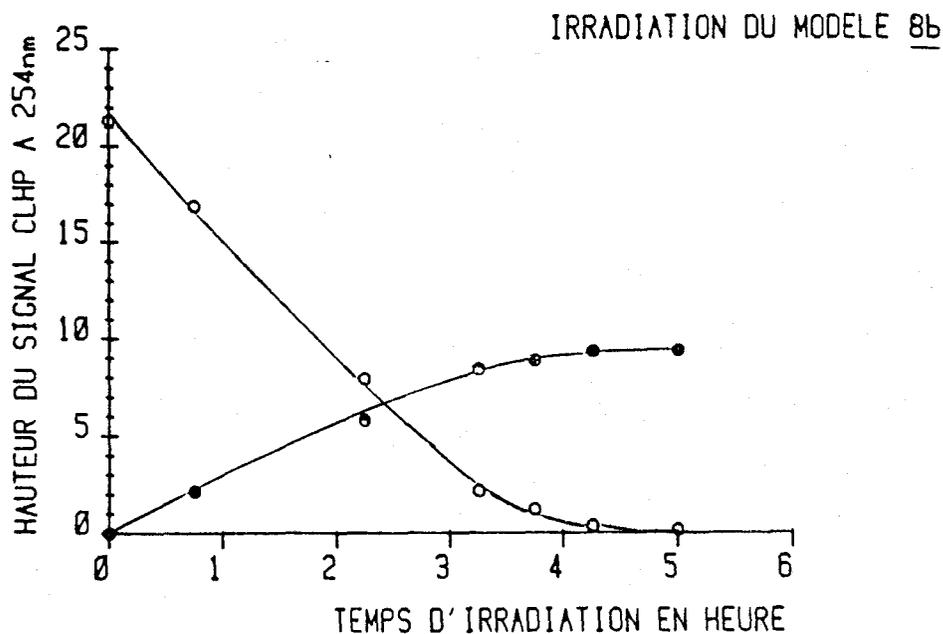


Figure 13 : Irradiation à 365 nm du composé Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b (eau-diméthylformamide (50:50),  $c = 5 \times 10^{-3}$  M). Représentation graphique de la disparition du composé 8b et de la formation du photoadduit 20b en fonction du temps d'irradiation.

Sa structure RX est en cours de détermination.

2) INFLUENCE DU SOLVANT :

Nous avons recherché un solvant susceptible de nous permettre d'isoler le photoadduit 21 ou de l'étudier "in situ" (RMN).

Dans la mesure où il ne semble pas y avoir d'effet de la longueur de la chaîne, l'étude de l'influence du solvant a seulement été menée sur

les modèles Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>12</sub>-5Pso 8l, deux longueurs très différentes.

Les divers solvants\* utilisés ont été l'éthanol, le méthanol, le diméthylsulfoxyde, l'acétonitrile, la diméthylformamide, l'eau-diméthylformamide (50:50) et l'acétone. Dans tous les cas, il se forme le photoproduit 21 (tR et A identiques : tableau 3 p.131) (figure 14).

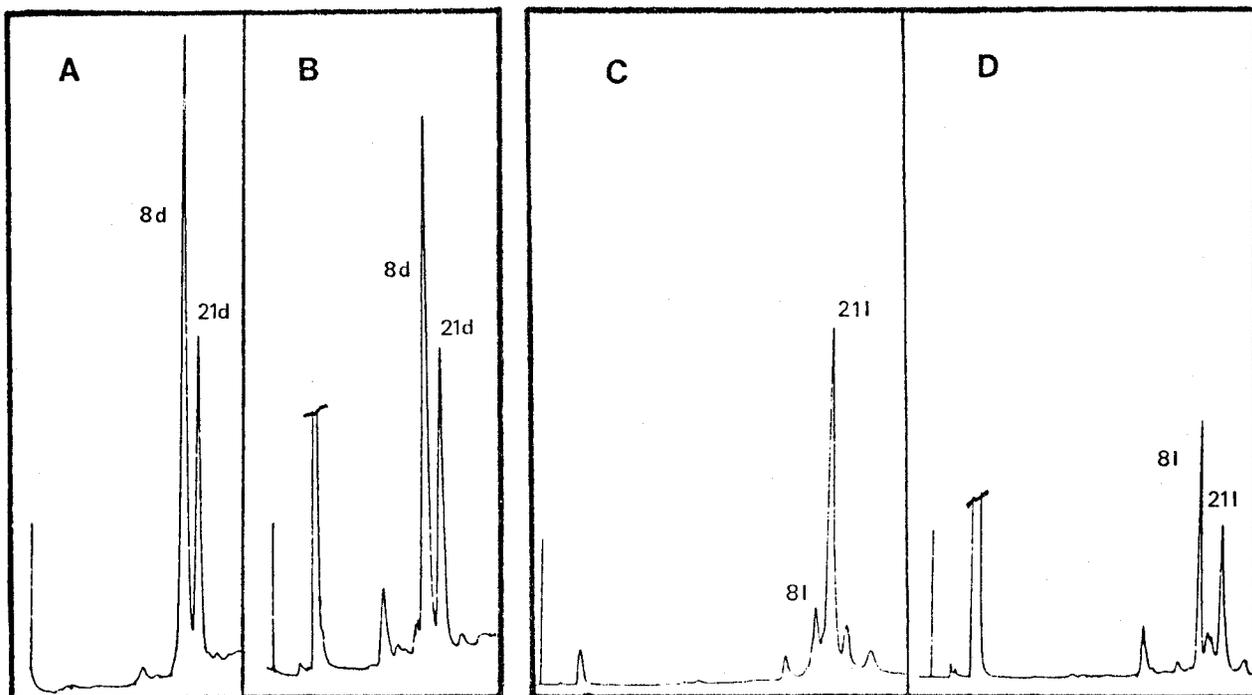


Figure 14 : Chromatogramme CLHP de solutions de Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>12</sub>-5Pso 8l irradiées à 365 nm dans différents solvants :

- A : 8d, éthanol,  $5 \times 10^{-4}$  M, 1h30 d'irradiation ;
- B : 8d, diméthylformamide,  $5 \times 10^{-4}$  M, 1h30 d'irradiation ;
- C : 8l, acétone,  $2 \times 10^{-3}$  M, 5h d'irradiation ;
- D : 8l, diméthylformamide,  $6 \times 10^{-4}$  M, 1h30 d'irradiation.

Si le solvant n'intervient pas sur la nature du composé 211 , par contre il semble jouer un rôle important sur sa vitesse de formation (tableau 4 p.132 : plus R est grand, plus la vitesse est élevée pour des conditions analogues d'irradiation). Ces calculs très approximatifs nous permettent cependant de donner un ordre de grandeur :

---

\* De par la très faible solubilité des modèles, le mélange eau-éthanol (95:5) n'a pu être utilisé à ces concentrations élevées.

- Cas Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d :

Vitesse dans DMSO > éthanol ; DMF > eau-DMF (50:50) > méthanol  
chlorure de méthylène > acétonitrile

- Cas Thy-C<sub>12</sub>-5Pso 8l :

Vitesse dans DMSO > eau-DMF (50:50) > DMF > acétone

Dans les deux cas, le diméthylsulfoxyde (DMSO) est le solvant dans lequel la photoréaction est la plus rapide.

Remarque : Bien que le photoproduit 21 soit majoritaire dans tous les solvants cités, nous pouvons noter cependant la formation d'autres composés minoritaires. Par contre dans le cas du modèle Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b seul le photoadduit intramoléculaire 20b est formé.

### 3) ETUDE DE LA STRUCTURE DU PHOTOPRODUIT 21 :

En raison de son instabilité thermique, il n'a pu être encore isolé. Afin de déterminer sa structure, des études de RMN "in situ" ont été réalisées.

Nous nous sommes limités à étudier les photoproduits 21d et 21l.

D'après les résultats précédents (concernant l'influence du solvant) nous avons choisi le diméthylsulfoxyde d<sub>6</sub> comme solvant de RMN.

Nous avons irradié directement, dans des tubes en quartz, les solutions concentrées de Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>12</sub>-5Pso 8l dans le diméthylsulfoxyde d<sub>6</sub>.

Nous avons représenté sur les figures 15 et 16, les spectres correspondant à la région aromatique des photoproduits 21d, 21l, et des modèles correspondants 8d, 8l, ainsi que les chromatogrammes des solutions irradiées.

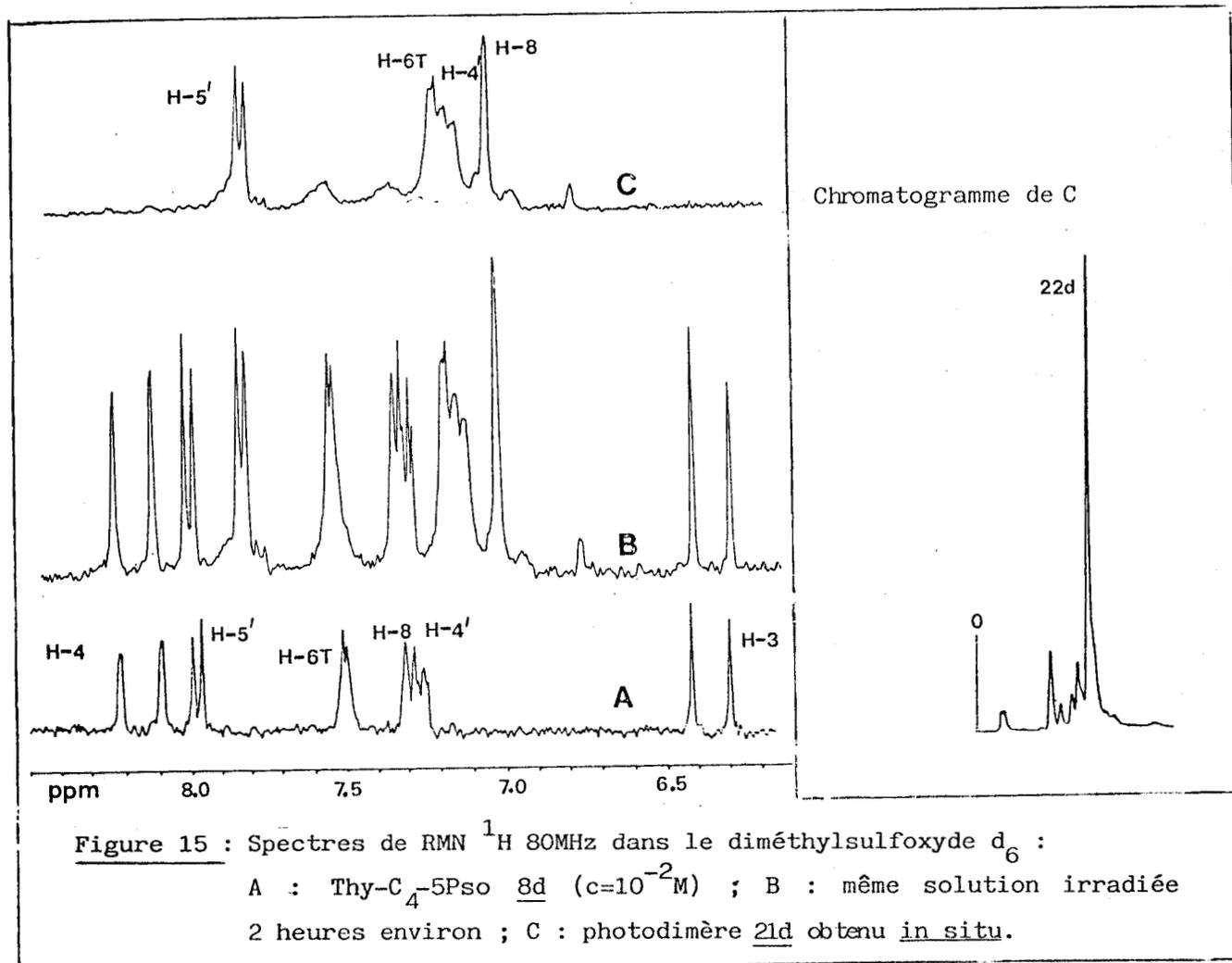


Figure 15 : Spectres de RMN  $^1\text{H}$  80MHz dans le diméthylsulfoxyde  $\text{d}_6$  :  
 A : Thy- $\text{C}_4$ -5Pso 8d ( $c=10^{-2}\text{M}$ ) ; B : même solution irradiée  
 2 heures environ ; C : photodimère 21d obtenu in situ.

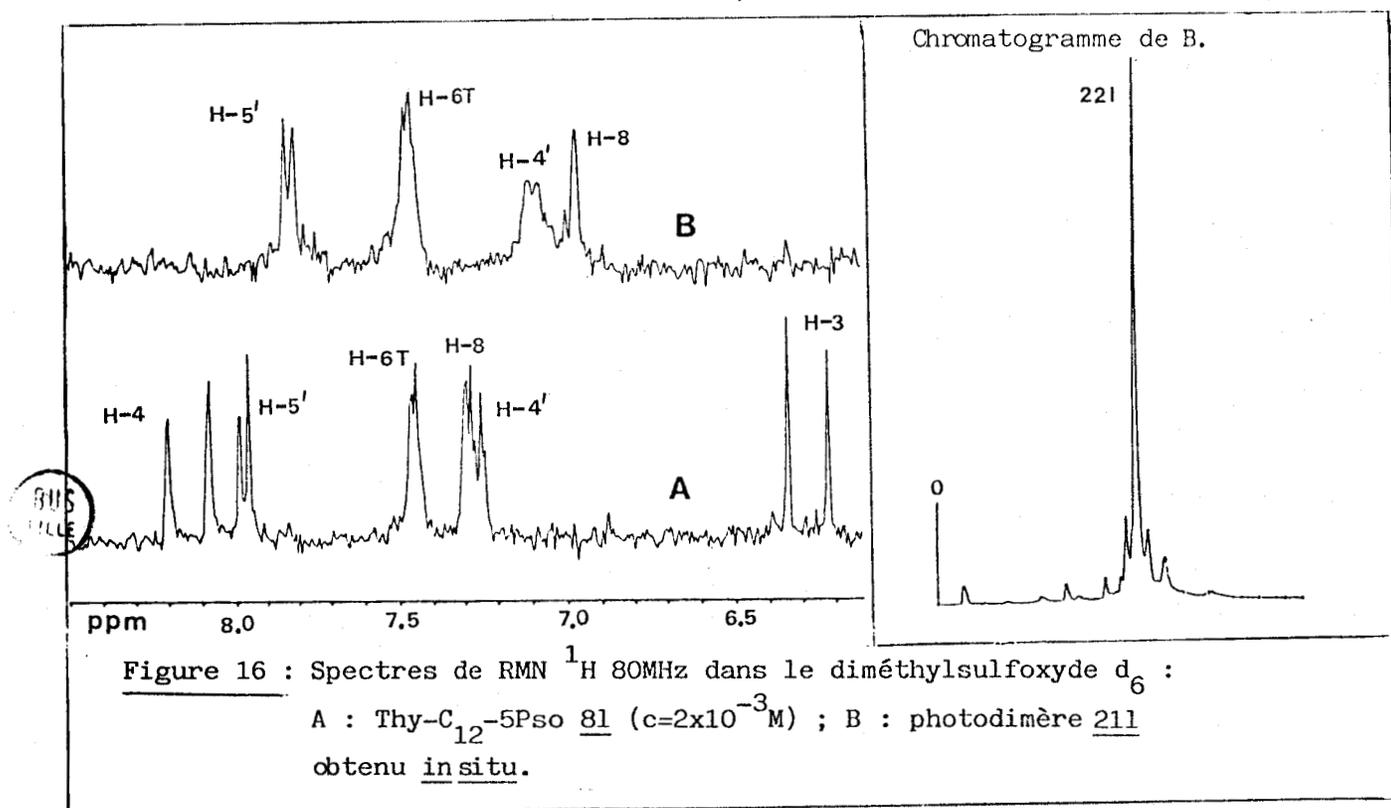


Figure 16 : Spectres de RMN  $^1\text{H}$  80MHz dans le diméthylsulfoxyde  $\text{d}_6$  :  
 A : Thy- $\text{C}_{12}$ -5Pso 81 ( $c=2 \times 10^{-3}\text{M}$ ) ; B : photodimère 211  
 obtenu in situ.

Nous constatons que les protons H-4', H-5' et H-8 du noyau psoralène sont pratiquement inchangés ; par contre les protons H-3 et H-4 sont très affectés par rapport à ceux du modèle de départ correspondant : ils sont fortement blindés (plusieurs ppm), ce résultat indique donc que la double liaison 3,4 du psoralène a été saturée.

Remarque : Les déplacements chimiques des protons H-4', H-8 du psoralène et H-6 de la thymine ont pu être attribués par irradiation des protons H-5', H-8 et CH<sub>3</sub>-5 de la thymine (figure 17).

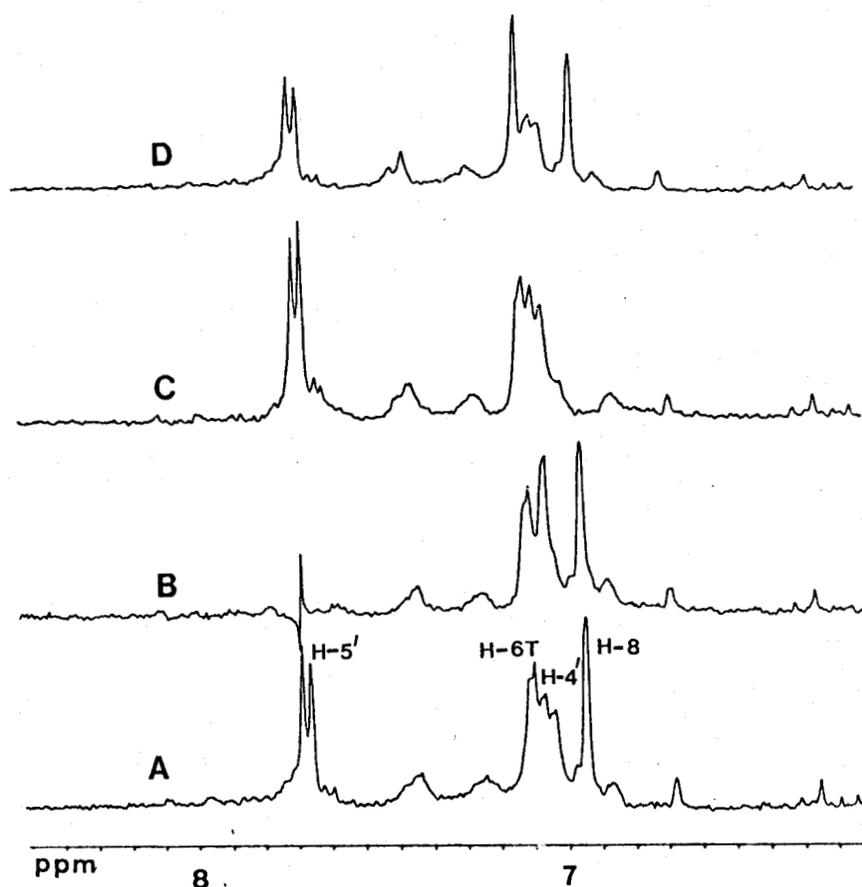


Figure 17 : Attribution des protons H-4', H-8 et H-6 (thymine) dans le photodimère 21d Spectres RMN <sup>1</sup>H 80MHz dans le diméthylsulfoxyde d<sub>6</sub> :  
A : photodimère 21d; B : irradiation du H-5' ; C : irradiation du H-8 ; D : irradiation du CH<sub>3</sub>-5 (thymine).

En ce qui concerne la partie thymine, les déplacements chimiques ( $\delta$  ppm) des protons H-6 et du méthyl-5 sont reportés dans le tableau 2.

Composés	$\delta$ H-6	$\delta$ CH <sub>3</sub> -5
Photoproduit <u>21d</u>	7,15	1,70
Modèle <u>8d</u>	7,50	1,70
$\Delta\delta$	0,35	0
Photoproduit <u>21d</u>	7,45	1,70
Modèle <u>8l</u>	7,50	1,70
$\Delta\delta$	0,05	0

Tableau 2 : Déplacements chimiques en ppm du proton H-6 et méthyl-5 thymine (diméthylsulfoxyde d<sub>6</sub>): calcul de  $\Delta\delta = \delta(\text{modèle}) - \delta(\text{protoproduit})$

Dans les deux cas (n=4, n=12), nous constatons que le déplacement chimique du méthyl-5 est inchangé.

Le proton H-6 dans le composé 211 n'a subi également aucun changement, par contre dans le cas de 21d on note un blindage notable (0,35 ppm).

#### Conclusion :

Dans ces deux photoadduits, la double liaison 5,6 de la thymine n'a pas été affectée. Les deux composés sont probablement des dimères dans lesquels les deux molécules sont liées par un cyclobutane formé par les doubles liaisons 3,4 des deux noyaux psoralènes.

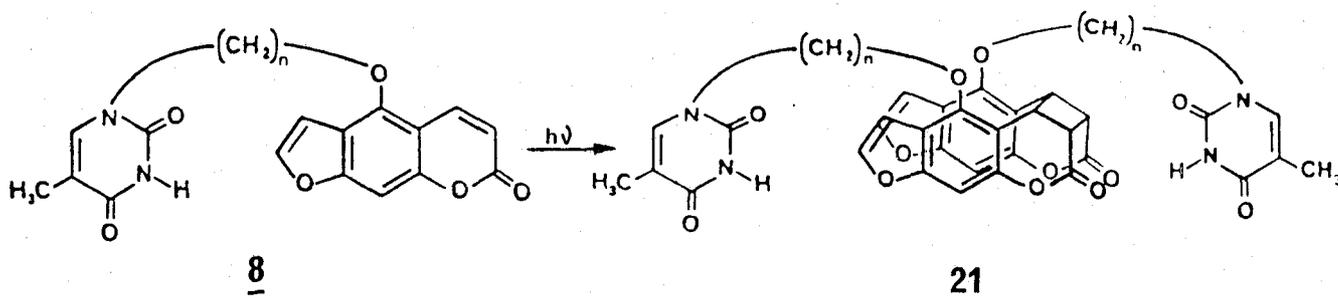
Information sur la configuration de ces photodimères :

Afin de tenter d'établir la configuration de ces composés, nous avons examiné les déplacements chimiques des protons H-4', H-5' et H-8 du psoralène. Ces déplacements sont à comparer avec ceux des modèles correspondants (tableau 3).

Composés	$\delta$ H-5'	$\delta$ H-4'	$\delta$ H-8
Photoproduit <u>21d</u>	7,80	7,10	7,00
Modèle <u>8d</u>	8,00	7,25	7,30
$\Delta\delta$	0,20	0,15	0,30
Photoproduit <u>21l</u>	7,85	7,10	7,00
Modèle <u>8l</u>	8,05	7,30	7,35
$\Delta\delta$	0,20	0,20	0,35

**Tableau 3 :** Déplacements chimiques des protons H-5', H-4' et H-8 psoralène (diméthylsulfoxyde  $d_6$ ): calcul de  $\Delta\delta = \delta(\text{modèle}) - \delta(\text{photoproduit})$ .

Les protons H-4', H-5' et H-8 sont légèrement blindés dans les photodimères par rapport aux modèles respectifs. Ces valeurs de blindage sont équivalentes pour chaque proton des deux adduits. Il est possible d'expliquer ces blindages par un recouvrement des deux noyaux psoralènes. Les composés 21d et 21l seraient donc des photodimères de configuration cis tête à tête (si les noyaux psoralènes étaient cis tête à queue, il n'y aurait plus de recouvrement total).



Conclusion :

Nous pensons que ces photodimères possèdent la géométrie cis tête à tête.

Dans le cas du composé 211 (n=12) : les deux thymines n'interagissent ni entre elles, ni avec les noyaux psoralènes ( $\delta$  H-6 et  $\delta$  CH<sub>3</sub>-5 identiques dans photoadduit et modèle de départ : tableau 2 p. 81).

Pour le composé 21d (n=4), il reste à savoir pourquoi on observe un blindage de 0,35 ppm pour le proton H-6 de la thymine (et non du méthyl-5) (tableau 2 p. 81) : la chaîne plus courte, dans ce cas, induit probablement des interactions.

4) PREMIERES INDICATIONS SUR LE MECANISME :

\* Influence de l'oxygène :

Les modèles Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>12</sub>-5PSO 81 en solution dans le diméthylsulfoxyde (c=1,2x10<sup>-3</sup>M) ont été irradiés en présence et en absence d'oxygène.

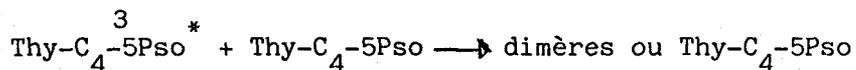
Nous constatons une certaine inhibition de la formation de ces photodimères par l'oxygène (tableau 5 p. 134) : l'état triplet du psoralène pourrait être responsable de la photodimérisation.

\* Photolyse éclair\* :

Des études préliminaires de photolyse éclair ont été menées sur le composé Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d. Le spectre d'absorption triplet-triplet a été enregistré dans l'éthanol à deux concentrations : on constate une forte influence de la concentration sur la durée de vie de l'état triplet. Une désactivation rapide par des molécules restées à l'état fondamental a donc lieu :

---

\* L'étude a été réalisée par J.R. RONFARD-HARET dans le laboratoire de R. BENSASSON (laboratoire de Biophysique du Museum National d'Histoire Naturelle).



$$c = 2 \times 10^{-4} \text{ M} \quad \tau = 4 \text{ } \mu\text{s}$$

$$c' = c/3 \quad \tau = 110 \text{ } \mu\text{s}$$

Cette propriété de désactivation de l'état triplet des psoralènes par des molécules restées à l'état fondamental est d'ailleurs bien connue (72).

Ce résultat serait également un indice de la formation des photodimères 21 à partir de l'état excité triplet du psoralène.

La durée de vie de l'état triplet en présence d'oxygène a été déterminée :  $\tau = 0,320 \text{ } \mu\text{s}$ .

## II. PHOTOREACTIVITE DU MODELE THY-C<sub>4</sub>-4',5'DH5Pso 15d :

Les composés comportant un noyau psoralène hydrogéné en 4',5' sont généralement considérés comme de bons modèles des photoadduits thymine-psoralène cyclobutaniques en 4',5', ce qui nous a amenés à envisager l'étude des modèles correspondants 15.

Seul le composé avec n égal à 4 15d a été synthétisé : en effet toutes les études précédemment réalisées (série 5 : Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8; série 8 : Thy-C<sub>n</sub>-8Pso 8' et Thy-C<sub>n</sub>-4',5'dh8Pso 15') ont montré que la longueur de la chaîne n'avait pratiquement pas d'influence sur la photoréactivité. Par ailleurs la chaîne à 4 atomes de carbone permet le recouvrement des deux noyaux thymine et psoralène ; enfin nous avons constaté que la solubilité était en général la meilleure pour cette longueur.

Nous avons donc effectué l'irradiation à 365nm du composé 15d en solution; comme dans le cas du modèle 8d, la nature du photoproduit

varie avec la concentration du modèle de départ (figure 18),

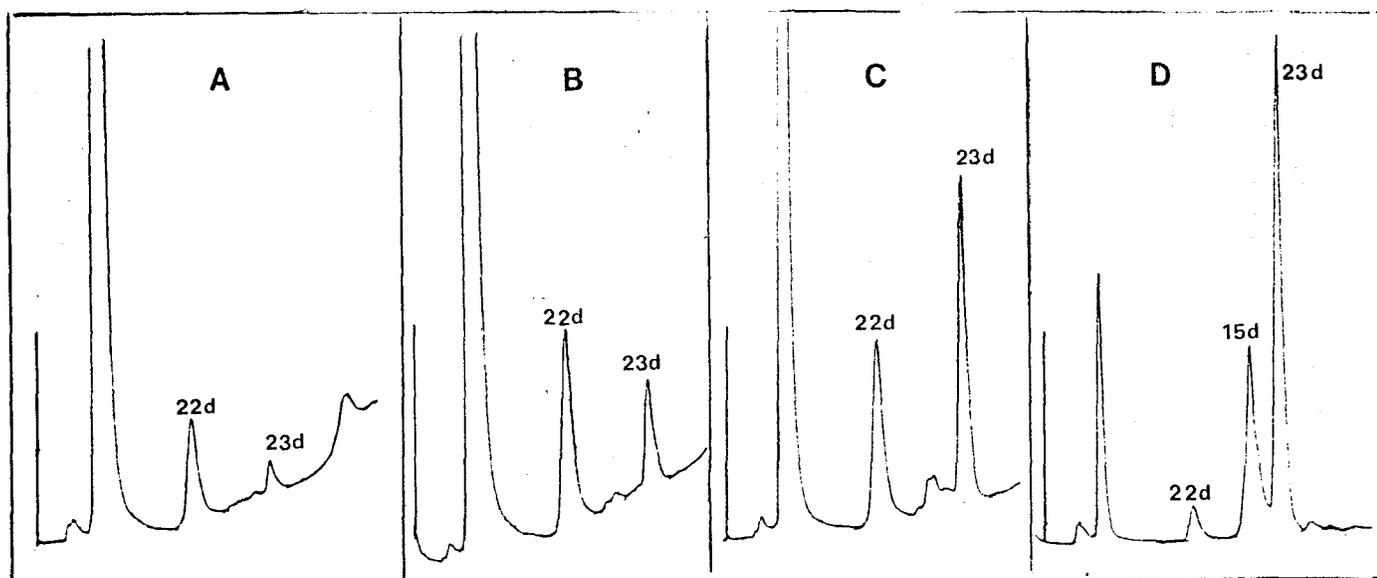


Figure 18 : Irradiation de Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d dans l'eau-DMF (50-50) à différentes concentrations.

A :  $c = 10^{-5} M$

B :  $c = 2,5 \times 10^{-5} M$

C :  $c = 10^{-4} M$

D :  $c = 10^{-3} M$

22d, 23d : photoproduits

Les irradiations ont donc été menées en solution diluée ( $c < 2,5 \times 10^{-5} M$ ), puis en solution concentrée ( $c > 5 \times 10^{-4} M$ ).

## A. ÉTUDE EN SOLUTION DILUÉE :

### 1) INFLUENCE DU SOLVANT :

Le photoproduit 22d est formé dans de nombreux solvants organiques : éthanol, diméthylsulfoxyde, diméthylformamide, acétonitrile, benzène (tr identique).

Dans le chlorure de méthylène par contre, on n'observe pas sa formation.

Dans les mélanges eau-solvant organique la formation de 22d a été également mise en évidence : eau-éthanol (95:5), eau-diméthylformamide (50:50) et eau-acétonitrile (50:50).

Il ne semble donc pas y avoir d'influence du solvant sur la formation du composé 22d.

Le solvant, cependant, joue un rôle au niveau de la vitesse de la réaction : en effet la présence d'eau augmente fortement celle-ci.

Vitesse : eau-diméthylformamide (50:50) > diméthylformamide  
de même : eau-éthanol (95:5) > éthanol.

Remarque : Des solutions de Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d, irradiées dans différents solvants organiques purs ou en présence d'eau, ont été chauffées à une température de 100°C : le photoproduit 22d est stable thermiquement. Nous avons donc effectué l'irradiation dans des conditions préparatives.

## 2) OBTENTION ET CARACTERISATION DU PHOTOPRODUIT 22d:

Nous avons irradié le modèle Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d en solution dans l'eau-éthanol (95:5) (124 mg dans 20l ; c = 1,6 x 10<sup>-5</sup> M). Il est intéressant de noter que l'avancement de la réaction photochimique peut être suivi en regardant la disparition de la fluorescence bleutée\*.

Après purification, le photoproduit 22d est obtenu sous la forme de cristaux.

Ce composé, par irradiation à 254 nm, conduit au modèle Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d : il s'agit donc probablement d'un adduit de type cyclobutane. Sa structure a été précisée par spectrométries de RMN (figure 19) et de masse.

---

\*

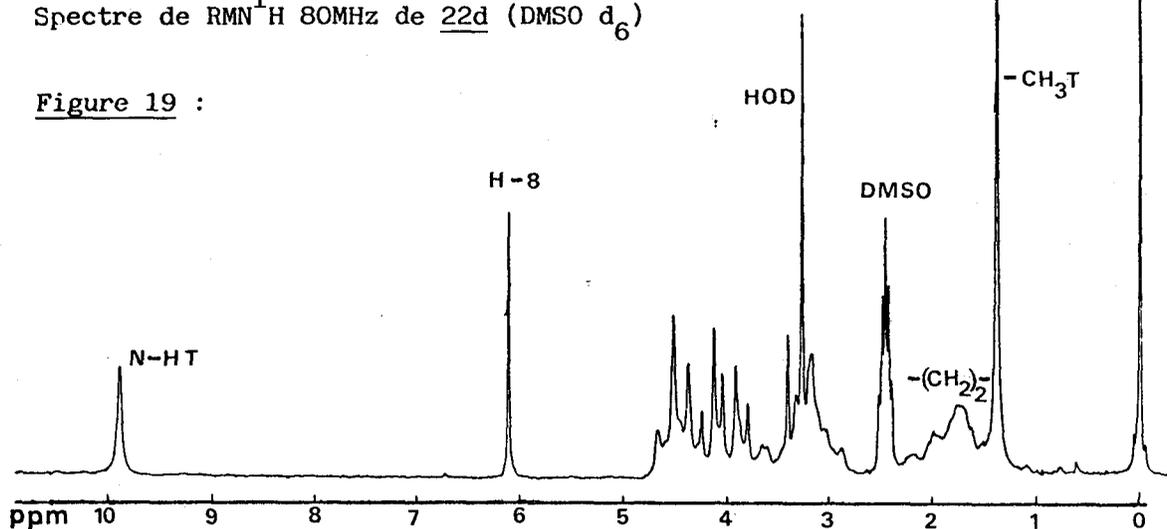
Le temps nécessaire à la formation du photoproduit 22d est d'environ 5 heures (ce qui comparé au photoproduit 20d en série non dihydro, est 5 fois plus faible).

- RMN :

Les spectres de RMN montrent dans la région des protons aromatiques la disparition des protons H-3 et H-4 du noyau psoralène ainsi que du proton H-6 de la thymine : ces protons par rapport au modèle de départ 15d sont fortement blindés ( $\Delta\delta > 1,5$  ppm). Le méthyle en 5 de la thymine est également blindé ( $\Delta\delta = 0,35$  ppm).

Spectre de RMN<sup>1</sup>H 80MHz de 22d (DMSO d<sub>6</sub>)

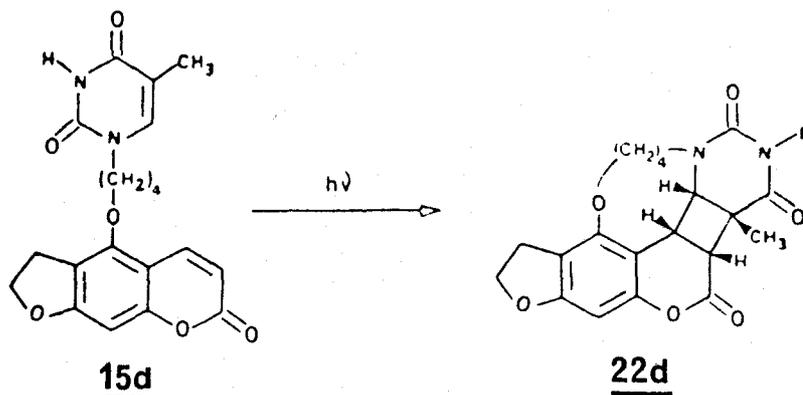
Figure 19 :



Ces résultats indiquent que la double liaison 3,4 du psoralène et la double liaison 5,6 de la thymine sont saturées dans le photoproduit 22d.

- Masse :

Les résultats de spectrométrie de masse sont en faveur d'un produit d'addition intramoléculaire : le pic moléculaire ( $M^+ = 384$ ) du photoproduit est identique à celui du modèle Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d ; on relève également les coupures caractéristiques des noyaux psoralène et thymine.



Il se forme donc, comme dans le cas du modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et dans des conditions semblables d'irradiation, un photoadduit intramoléculaire. Sa configuration ne peut-être établie sans ambiguïté à partir de ces résultats, mais il est possible de faire quelques remarques par référence au composé 20d de configuration cis (RX).

- Si l'on compare les rapports R dans les deux séries (8d et 20d; 15d et 22d)

R étant défini ainsi :

$$R = \frac{\text{tR photoadduit intramoléculaire}}{\text{tR modèle de départ correspondant}}$$

On constate qu'ils sont semblables.

Série psoralène :  $R = \frac{3,1}{4,2} = 0,738$

Série 4',5'dh 5 psoralène:  $R = \frac{2,95}{4,0} = 0,737$

Nous pensons, de ce fait, que ces deux adduits intramoléculaires 20d et 22d possèdent la même configuration c'est à dire cis.

La structure RX de ce composé est en cours de détermination.

### 3) PREMIERES INDICATIONS SUR LE MECANISME :

#### \* Rendements quantiques :

Les valeurs des rendements quantiques de disparition ( $\phi_D$ ) sont supérieures à 0,1 : elles sont beaucoup plus fortes que celles obtenues pour le modèle Thy-C<sub>4</sub>-8Pso 8d ( $\phi_D$  inférieure à 0,05) (détails p. 136).

#### \* Effet de l'oxygène :

Nous avons suivi par CLHP et UV, l'irradiation de solutions de Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d en présence et en absence d'oxygène.

Les irradiations ont été menées dans l'eau-diméthylformamide (50:50) : on constate que l'oxygène inhibe la formation du photoadduit 22d (tableau 5 p.134).

Ces premiers résultats sont en faveur d'une participation de l'état excité triplet du psoralène.

## B. PHOTOREACTIVITE EN SOLUTION CONCENTRÉE :

La formation d'un photoproduit 23d de nature différente de celui isolé en solution diluée (A et tR différents) a été observée en solution concentrée. Celui-ci se forme majoritairement lorsque la concentration en modèle de départ 15d est au moins supérieure à  $7,5 \times 10^{-5}$  M.

### 1) INFLUENCE DU SOLVANT :

Nous avons mis en évidence par CLHP la formation du photoproduit 23d dans de nombreux solvants organiques purs (diméthylformamide, diméthylsulfoxyde, benzène, acétonitrile, éthanol, chlorure de méthylène) et

dans les mélanges eau-diméthylformamide (50:50) et eau-acétonitrile (50:50) (tableau 4 p. 133). Dans le cas de l'acétonitrile (ou eau-acétonitrile) d'autres photoproduits sont observés également.

Si le solvant n'agit pas sur la nature du photoproduit formé, il intervient par contre au niveau de sa vitesse de formation : celle-ci, très basse dans l'éthanol, devient très élevée dans le diméthylsulfoxyde et dans l'eau-diméthylformamide (50:50) (tableau 4 p.133). Nous pouvons relever l'influence de l'eau qui accélère fortement la réaction (tableau 4 p. 133) : dans les mélanges eau-diméthylformamide (50:50) et eau-acétonitrile (50:50) pour un même temps d'irradiation, il y a environ dix fois plus de photoproduit 23d formé que dans la diméthylformamide et l'acétonitrile purs.

Nous avons remarqué en outre que, lorsque les solutions irradiées contenant le photoproduit 23d étaient chauffées, on observait parfois une décomposition de celui-ci. Il est stable dans le diméthylsulfoxyde à 100°C ou à l'ébullition du chlorure de méthylène, par contre dans l'éthanol à la température de 95°C, il est instable : il se forme au moins un produit de décomposition ( $t_R = 1,65$ ). Dans l'eau-diméthylformamide (50:50) dans les mêmes conditions de température, il est également instable (produit de décomposition à  $t_R = 2,0$ ). Dans l'eau-acétonitrile (50:50) lorsqu'on poursuit l'irradiation jusqu'à disparition totale du Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d, le photoproduit 23d formé se décompose. Grâce à ces renseignements, nous avons pu isoler ce composé.

## 2) ISOLEMENT - CARACTERISATION DU PHOTOPRODUIT 23d :

Nous avons choisi d'irradier le composé Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d dans le couple eau-diméthylformamide (50:50) car la photoréaction est rapide et surtout parce que les essais préliminaires avaient montré que le photoproduit formé précipitait au cours de l'irradiation.

Le modèle 15d en solution dans l'eau-diméthylformamide (50:50) ( $c=10^{-3}$  M) a été irradié quelques heures. Le photoproduit 23d recueilli (après précipitation) est pur (CLHP).

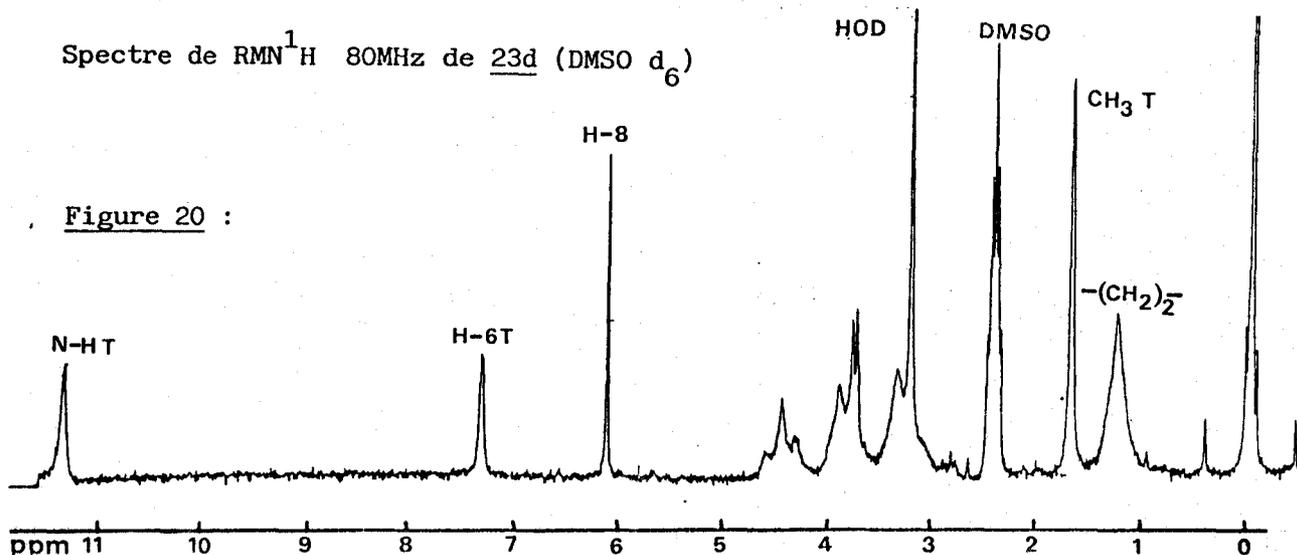
Nous avons déterminé sa structure par les diverses méthodes déjà employées.

Par irradiation à 254 nm, il conduit au modèle Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d : il possède probablement également une structure de type cyclobutane.

Les spectres de RMN (diméthylsulfoxyde d<sub>6</sub>; chloroforme deutérié) (figure 20) de ce composé indiquent un blindage important des protons H-3 et H-4 du psoralène par rapport au produit de départ 15d : la double liaison 3,4 du noyau psoralène est donc saturée. Les déplacements chimiques du proton H-6 et du méthyl-5 de la thymine sont représentés dans le tableau ils sont à comparer avec ceux du modèle 15d : le déplacement du méthyle en 5 est inchangé, tandis que l'on note un léger blindage pour le proton H-6 (0,1-0,2 ppm). D'après ces résultats, la double liaison 5,6 de la thymine n'a pas été saturée et n'est donc pas mise en jeu.

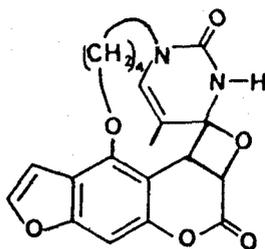
composé	CH <sub>3</sub>		H <sub>6</sub>	
	CDCl <sub>3</sub>	DMSO d <sub>6</sub>	CDCl <sub>3</sub>	DMSO d <sub>6</sub>
Modèle <u>15d</u>	1,87	1,69	6,90	7,50
Photoproduit	1,88	1,70	6,80	7,30
Δδ	-0,01	-0,01	0,10	0,20

Tableau 4 : Déplacements chimiques (δ) des protons H-6 et méthyl-5 thymine dans le modèle 15d et le photoproduit 23d. Spectres de RMN<sup>1</sup>H 80Mhz, diméthylsulfoxyde d<sub>6</sub>.



Deux types de photoproduits sont envisageables :

- dimère par l'intermédiaire d'un cyclobutane entre les doubles liaisons 3,4 des deux noyaux psoralènes.
- oxétane entre un des deux carbonyles de la thymine et la double liaison 3,4 du psoralène.



Bien que très peu probable, l'hypothèse d'un oxétane ne peut être rejetée complètement (67) : la solubilité de ce photoadduit dans le chloroforme est élevée ce qui est étonnant quand on sait que des dimères trans anti des modèles de la série du 8MOP 2 (42) sont très insolubles dans les solvants organiques ; la spectrométrie de masse nous indique un pic moléculaire ( $M^+ = 384$ ) égal à celui du modèle Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d et non à celui d'un dimère. Ces spectres de masse montrent en outre que le photoadduit n'est pas un produit d'addition de solvant sur le modèle 15d.

Afin d'éliminer de façon certaine l'hypothèse d'un oxétane, nous avons enregistré le spectre <sup>13</sup>C (diméthylsulfoxyde d<sub>6</sub>) de ce composé. Par comparaison avec les spectres <sup>13</sup>C de Thy-C<sub>3</sub> 16 et Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d, on ne note aucune différence : les déplacements chimiques des atomes de carbone de la thymine dans 16 et 15d se retrouvent dans le spectre <sup>13</sup>C du composé 23d. (tableau 6 p.135). Il est donc fort probable que ce produit soit un dimère de modèle 15d bien que le pic moléculaire ne soit pas visible dans le spectre de masse : il est possible que ce dimère se coupe dans les conditions utilisées en spectrométrie de masse.

Remarque : Nous ne pouvons pas, comme dans le cas du dimère obtenu en série Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8, nous référer aux déplacements chimiques des protons H-4' et H-5' du noyau psoralène (ces protons ne sont plus détectés

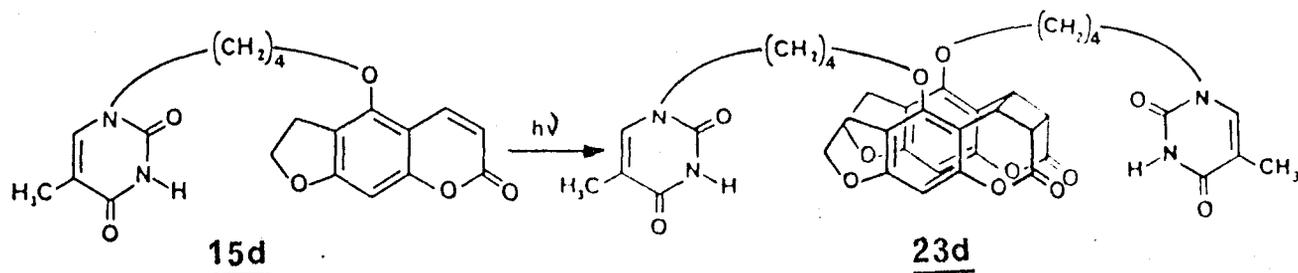
dans la région aromatique à cause de l'hydrogénation de la double liaison 4',5') pour proposer une configuration. Notons cependant que le proton H-8 est blindé de 0,30 ppm, valeur observée pour ce même proton dans le photodimère 21d en série non dihydro (n=4).

Par ailleurs si l'on compare de la même façon que précédemment les rapports R, on constate qu'ils sont semblables :

Série psoralène : R = 1,1

Série 4',5'dh psoralène : R = 1,1

Ces résultats indiquent qu'il est fort probable que le composé 23d possède également une géométrie cis.



Remarque : Il serait intéressant d'hydrogéner le photodimère 21d formé à partir de solution concentrée de Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8d , afin de voir si effectivement il se formerait le photodimère 23d.

### 3) PREMIERES INDICATIONS SUR LE MECANISME :

Comme dans les cas précédents, nous avons étudié l'influence de l'oxygène sur la formation de ce photodimère (23d) postulé (tableau 5 p.134).

Le modèle 15d en solution dans l'eau-diméthylformamide (50:50) ( $c \approx 5 \times 10^{-4} M$ ) a été irradié en présence et en absence d'oxygène. L'évolution de la réaction a été suivie par CLHP et UV. Nous constatons un effet inhibiteur de l'oxygène. Il est possible également que l'état excité triplet du psoralène soit mis en jeu.

-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-



Les modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 et Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d présentent une photoréactivité importante. La nature des produits de photoréaction dépend fortement de la concentration du modèle irradié.

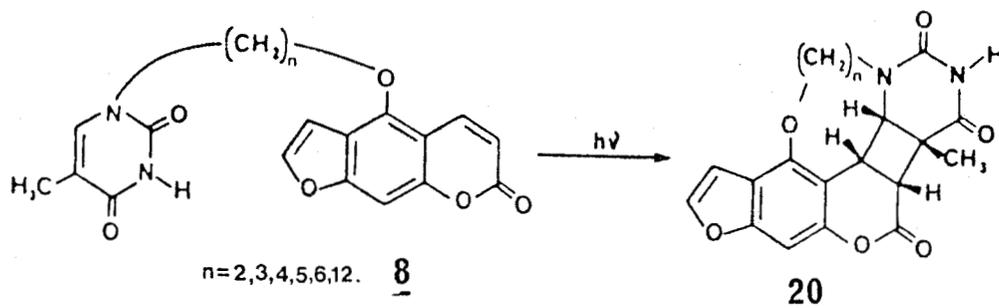
A faible concentration ( $10^{-5}M$ ), l'irradiation du composé Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d conduit uniquement (90 %) à l'addition intramoléculaire [2+2] thymine-psoralène.

Cette réaction présente une régio et stéréosélectivité remarquables :

- l'addition de la double liaison 5,6 de la thymine est seulement observée sur la position 3,4 du noyau pyrone du psoralène.

- seul l'isomère cis (caractérisé par RX) est obtenu.

La formation du même type d'adduit Thy 5,6  $\diamond$  3,4 5Psoralène 8 est également observée lors de l'irradiation des composés Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8b, c, e, f et l à faible concentration. Nous pensons que ces adduits possèdent également la stéréochimie cis. Dans le cas où n est égal à 2; cet adduit a été isolé, sa structure RX est en cours de détermination.



Ce résultat indique, en première analyse que la double liaison 3,4 du psoralène serait plus réactive vis-à-vis de la double liaison 5,6 de la thymine, que la double liaison 4',5' : tout effet conformationnel dû à la chaîne qui favoriserait la réaction sur le cycle pyrone peut donc être exclu, dans la mesure où la réaction est la même pour toutes les longueurs de la chaîne (n = 2, 3, 4, 5, 6 et 12).

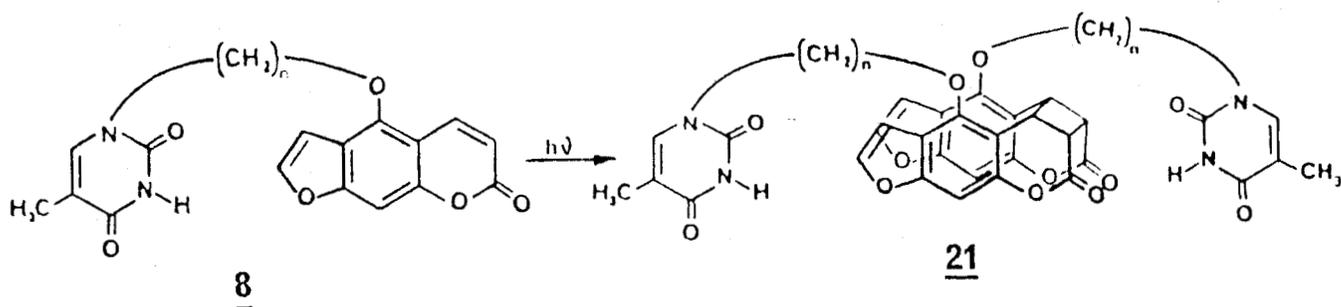
Le comportement photochimique à faible concentration du modèle Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d est semblable : un composé d'addition 3,4 intramoléculaire Thy 5,6  $\diamond$  3,4 4',5'dh5Pso a été isolé. La stéréochimie de cet adduit est actuellement en cours de détermination (RX). Comme dans la série Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 la photoréaction est très sélective (95 %). La formation très sélective de cet adduit montre clairement que les mono-adduits 4',5' formés dans l'ADN peuvent donc photoréagir une seconde fois et conduire à la formation de bisadduits. Ce résultat montre bien l'intérêt porté aux composés dihydro 4',5'-psoralène considérés généralement comme de bons modèles des adduits Thy  $\diamond$  4',5'dh5Pso.

Il est également intéressant de noter que la formation de l'adduit intramoléculaire Thy  $\diamond$  Pso en série dihydro-psoralène 15d est beaucoup plus rapide que dans la série psoralène (8d) ( $\phi_D$  15d = 0,15  $\phi_D$  8d = 0,05).

Notons par ailleurs que dans les deux séries de modèles 8 et 15d la photocycloaddition intramoléculaire thymine-psoralène a lieu quelle que soit la nature du solvant d'irradiation utilisé. Le solvant influe seulement au niveau de la vitesse de la photoréaction. Dans l'eau, les modèles ne présentent pas un comportement photochimique particulier sauf pour le composé 15d (dihydro-psoralène) où la présence d'eau augmente fortement la vitesse de la photoréaction. Ces résultats en fait semblent montrer qu'il n'existerait pas de relation entre la complexation à l'état fondamental et la photoaddition thymine-psoralène.

L'approche intramoléculaire choisie permet donc d'obtenir des quantités importantes d'adduits thymine 5,6  $\diamond$  3,4 psoralène. Elle ouvre la voie à l'étude mécanistique de la photoréaction en raison de la sélectivité observée.

En solution concentrée ( $> 5 \times 10^{-4} M$ ), l'irradiation des composés 8c, d, e, f et l conduit dans tous les cas à la formation de photodimères de modèles résultant de l'addition de deux doubles liaisons 3,4 du psoralène : ces adduits en raison de leur instabilité thermique n'ont pas été isolés mais des études de RMN "in situ" (réalisées pour n = 4 et 12) ont permis de proposer une configuration cis syn.



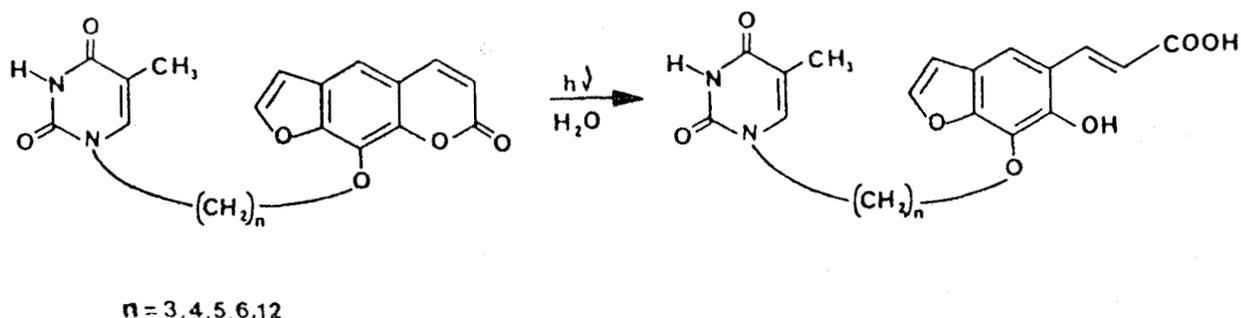
Cette photoréaction est également indépendante du solvant. Remarquons que cette photodimérisation n'a pas lieu lors de l'irradiation du composé Thy-C<sub>2</sub>-5Pso **8b** même en solution très concentrée : seul l'adduit intramoléculaire thymine 5,6  $\diamond$  3,4 psoralène décrit précédemment est formé pratiquement quantitativement.

L'irradiation du modèle (dihydro) Thy-C<sub>n</sub>-4',5'dh5Pso **15d** en solution concentrée conduit (comme dans le cas de **8d**) à la formation d'un photodimère en 3,4. Ce composé isolé, n'a pas encore été complètement caractérisé. Par comparaison au photodimère obtenu en série Thy-C<sub>4</sub>-5Pso, il est fort probable que sa structure soit cis.

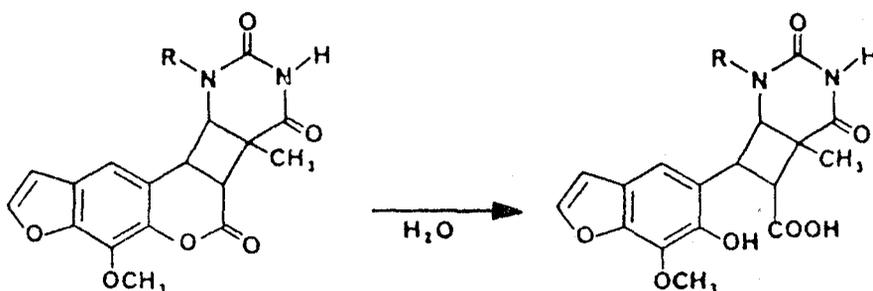
Comme dans le cas précédent, nous n'avons pas noté d'influence du solvant sur la photodimérisation.

\* Comparaison de la série 5 et de la série 8 :

. Dans la série des modèles du 8MOP **2** (Thy-C<sub>n</sub>-8Pso **8'**), il n'a pas été isolé d'adduit entre la thymine et le psoralène. L'irradiation dans l'eau et dans l'éthanol des composés Thy-C<sub>n</sub>-8Pso **8'** à faible concentration conduit principalement à des produits d'ouverture du cycle pyrone et d'addition du solvant, cela quelle que soit la longueur de la chaîne carbonée (n = 3, 4, 5, 6 et 12).



Il est peu probable, en raison des différentes longueurs de chaîne ( $n=3, 4, 5, 6$  et  $12$ ) étudiées dans cette série, que la différence de photoréactivité soit liée à des contraintes stériques empêchant les doubles liaisons ( $4',5'$  ou  $3,4$  du psoralène et  $5,6$  de la thymine) de se recouvrir. Elle pourrait peut être être interprétée sur la base d'une plus grande sensibilité de la lactone à l'ouverture en série  $8$ , que la liaison  $3,4$  soit saturée ou non. En effet divers auteurs ont montré que des adduits (thymine ou diméthyl- $1,3$  thymine)  $5,6 \diamond 3,4$  8MOP cis syn isolés récemment s'ouvriraient dans l'eau ( $24, 27$ ).



CADET et Coll. (résultats non publiés) citent également cette ouverture qui provoquerait un retour aux produits de départ.

En ce qui concerne la photoréactivité du composé Thy- $C_n$ - $4',5'$  8Pso (série 8MOP), en solution diluée des adduits de type  $[2+2]_n$  (adduit thymine-psoralène, ou dimère psoralène-psoralène) ont été mis en évidence, mais ceux-ci, instables, n'ont pu être encore isolés. Néanmoins il faut noter l'influence de l'eau qui comme dans le cas des composés modèles Thy- $C_4$ - $4',5'$ dh5Pso (série 5) augmente très fortement leur photoréactivité. En l'état actuel des résultats nous n'avons pas d'interprétation à ce phénomène.

. Dans la série des composés Thy- $C_n$  8Pso 8', l'augmentation de la concentration en modèle irradié provoque surtout une diminution de la photoréactivité. Les photoproduits formés, probablement des dimères, comme dans la série Thy- $C_n$ -5Pso 8', sont également instables thermiquement.

Photocycloaddition thymine-psoralène :

Seuls des produits d'addition (20 et 22d) de la double liaison 5,6 de la thymine sur la double liaison 3,4 du psoralène (ou 4',5'dh psoralène) ont été obtenus et caractérisés : en effet nous n'avons pas observé par CLHP la formation d'adduit en 4',5'. La photoréaction régiosélective (uniquement en 3,4) est également stéréosélective : isomère cis seulement.

D'autre part les résultats de la littérature semblent indiquer une grande diversité des adduits obtenus : des adduits en 3,4 cis syn ou cis anti (24, 27, 33) et trans syn (33, 43), ainsi que des adduits 4',5' cis syn (25, 26, 32, 34, 35, 37) ont été caractérisés.

Tous ces adduits formés dans des systèmes "organisés" (ADN, film, poudre, gel) montrent en fait que l'on n'observe pas la photoréactivité intrinsèque entre la base pyrimidique et le psoralène : en effet la stéréochimie et la régiosélectivité des adduits obtenues résultent à la fois de la photoréactivité entre les deux chromophores et de la géométrie imposée pour ces systèmes "figés".

Par contre, l'approche intramoléculaire que nous avons suivie, traduit en fait la photoréactivité intrinsèque entre la thymine et le psoralène : quelle que soit la longueur de la chaîne (n=2, 3, 4, 5,6 et 12) seul l'adduit en 3,4 est mis en évidence et seul l'isomère cis est formé.

Remarque : Seul le modèle Thy-C<sub>12</sub>-5Pso 81 possédant une assez longue chaîne peut permettre la formation d'adduits de type anti ou syn, (d'après les modèles moléculaires) : les autres composés (n=2, 3, 4, 5,6) ne peuvent conduire qu'à des adduits anti.

La régiosélectivité que nous avons observée est tout à fait en accord avec les résultats de la littérature (68, 69, 70, 72). En effet d'après des calculs théoriques, SONG et Coll. (68) ont montré que l'état excité triplet photoréactif de nature  $\pi\pi^*$  était localisé plus particulièrement sur la double liaison 3,4. Des résultats préliminaires nous ont indiqué que l'oxygène inhibait la



photoréaction et sont donc en faveur de la participation de l'état excité triplet du psoralène (71).

Remarque : D'autres résultats de la littérature (73) semblent par contre montrer que l'état excité singulet situé sur la double liaison 4',5' réagirait d'abord, puis ce serait l'état excité triplet localisé sur la double liaison 3,4. Soulignons que nous avons également obtenu cet adduit intramoléculaire à partir du modèle comportant un psoralène hydrogéné en 4',5'.

La stéréosélectivité cis ou trans pourrait peut-être s'expliquer de la manière suivante : le groupe méthyle de la thymine orienterait l'approche des deux doubles liaisons (5,6 thymine et 3,4 psoralène) de manière à éviter tout encombrement stérique.

Dans le cas du modèle Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b seul l'adduit intramoléculaire 20b est formé quelle que soit la concentration de départ du modèle 8b irradié c'est à dire que l'on n'observe pas de réaction de dimérisation du modèle 8b.

Une explication possible pourrait être le passage par un exciplexe. Dans ce cas la formation d'un exciplexe serait favorisée par la chaîne très courte (2 carbones + 1 oxygène) qui relie ces deux chromophores (74). Il serait intéressant d'étudier ce modèle en photolyse éclair (un tel exciplexe n'ayant jamais été mis en évidence).

#### Photodimérisation de psoralène :

L'étude photochimique en solution concentrée a permis de mettre en évidence la formation de photodimères. Ces composés sont instables thermiquement cependant nous avons isolé un photodimère dans le cas du modèle Thy-C<sub>4</sub>4',5'dh5Pso 15d. Selon les spectres de RMN, ces dernières possèderaient une configuration cis syn.

L'obtention de dimères de psoralène n'est pas surprenante en effet ceux-ci photodimérisent facilement à l'état solide (16, 17, 29) en solution aqueuse gelée (75, 29) ou en solution organique (28, 29). Cependant peu d'auteurs ont déterminé leur stéréochimie. La configuration d'un dimère 3,4 du 8MOP 2 - formé sélectivement en solution - a été établie : il présente une configuration trans syn (28, 30). Dans le cas du méthoxy-8 dihydro-4',5'psoralène deux dimères trans syn et cis anti ont été obtenus en solution (dichlorométhane) (31). La structure cis syn du dimère de dérivés du 5MOP 1 que nous avons obtenu n'a pas à notre connaissance, été décrite.

D'après les résultats de la littérature il semblerait que l'état triplet du psoralène localisé sur la double liaison 3,4 du psoralène (68) soit responsable de la dimérisation dans certains cas (4',5' dihydro furocoumarines).

Les états excités triplet et singulet seraient impliqués (31) : l'état triplet conduisant, dans le cas des dimères de l'acétoxy-8 psoralène, à une stéréochimie trans syn, l'état singulet à une stéréochimie cis anti.

Dans le cas de la photodimérisation des modèles 8d, 8l et 15d, nous avons constaté une inhibition partielle par l'oxygène ce qui dans l'état actuel des résultats ne peut être interprété.



## A. INDICATIONS GÉNÉRALES :

La silice KIESELGEL 60 0,063-0,200 mm MERCK a été utilisée pour les purifications de produits par chromatographie sur colonne.

Les contrôles de pureté ont été effectués par chromatographie sur couche mince (CCM ; gel de silice F<sub>254</sub> MERCK) et par chromatographie liquide à hautes performances (CLHP ; phase inverse RP 18 MERCK ; appareil WATERS). Nous avons également utilisé une CLHP CHROMATO SPEC PREP JOBIN YVON.

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

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur les spectromètres BRUKER WP 60 (<sup>1</sup>H) et WP 80 (<sup>1</sup>H et <sup>13</sup>C) transformée de FOURIER. Les déplacements chimiques  $\delta$  sont exprimés en ppm avec pour référence interne l'hexaméthylidisiloxane. Les valeurs des constantes de couplage J sont données en Hz. Dans la description des spectres, on utilisera les abréviations suivantes s, d, t, m pour désigner respectivement les mots : singulet, doublet, triplet, multiplet.

Les spectres d'absorption infrarouge (IR) ont été enregistrés sur les spectromètres BECKMAN IR 18 et PERKIN-ELMER 237.

Les spectres d'absorption électronique (UV) ont été enregistrés sur les spectromètres BECKMAN DB-GT (spectre de caractérisation) et BECKMAN ACTA M 5270 (étude UV).

Les spectres de masse ont été réalisés sur un spectromètre RIBER MAG 10-10.

Les analyses élémentaires ont été effectuées par le Service Central de Microanalyse du C.N.R.S.

## B. SYNTHÈSES :

### 0,0'bis(triméthylsilyl) thymine ; 5 :

Une solution d'hexaméthyl-1,1,1,3,3,3 disilazane (HMDS) (30ml large excès) et de thymine (5 g ; 39 mmol) est agitée en présence de sulfate d'ammonium (0,1 g). La suspension, placée dans un appareillage protégé de l'humidité par l'intermédiaire d'un piège de chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) ou de silicagel, est chauffée à reflux de l'HMDS ( $t^\circ\text{C} \simeq 140^\circ\text{C}$  ; 5 à 6 h) jusqu'à dissolution complète de la thymine. On laisse revenir à la température ambiante et on distille sous pression réduite l'HMDS en excès. Le résidu blanc, liquide, obtenu est utilisé sans autre purification pour préparer les dérivés N-1 alkylés de la thymine.

( $\omega$ -bromoalkyl)-1 thymine : Thy- $\text{C}_n$ -Br ; 6 : n=2 : 6b, n=3 : 6c, n=4 : 6d, n=5 : 6e, n=6 : 6f, n=12 : 6l :

\* Composés 6b, 6c, 6d, 6e, 6f :

A la solution de thymine silylée 5 obtenue précédemment (à partir de 5 g de thymine), on ajoute un large excès d' $\alpha, \omega$ -dibromoalcane ( $\simeq 400$  mmol). Le mélange porté à  $50^\circ\text{C}$ , est agité pendant plusieurs jours sous atmosphère d'azote sec, sauf pour les dérivés Thy- $\text{C}_2$ -Br 6b ( $100^\circ\text{C}$ , 1 jour) et Thy- $\text{C}_3$ -Br 6c (température ambiante, 10 jours). L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). Le brut réactionnel est ensuite versé dans l'eau (100 ml). La solution est chauffée quelques minutes à une température de  $90^\circ\text{C}$ . Il se forme un précipité qui est éliminé par filtration. Le

phases organiques sont rassemblées puis séchées sur du sulfate de magnésium. Le chloroforme est ensuite distillé sous pression réduite.

Dans le cas du dérivé 6b, l'excès de dibromoéthane est évaporé sous pression réduite (Eb = 131°C). Le résidu obtenu qui est un mélange de Thy-C<sub>2</sub>-Br 6b et Thy-(C<sub>2</sub>Br)<sub>2</sub> 6b' (thymine bis ω-bromoalkylée sur N-1 et N-3) est chromatographié sur colonne de silice. L'éluant utilisé est le chloroforme. Après évaporation du chloroforme, ces deux dérivés sont cristallisés dans l'acétate d'éthyle. Les deux produits 6b et 6b' sont obtenus sous forme de cristaux incolores.

Dans le cas du dérivé 6c, on élimine également l'excès de dibromopropane par distillation sous pression réduite (Eb<sub>760</sub> = 167°C). Le solide jaune orangé, résiduel est lavé avec l'hexane. Il est ensuite cristallisé (sans autre purification au préalable, peu de sous produits) dans le mélange acétate d'éthyle-hexane (1:1). Il est obtenu sous forme de cristaux incolores.

Pour les dérivés 6d, 6e, 6f, le dibromoalcane en excès n'a pu être éliminé par évaporation sous pression réduite (points d'ébullition élevés). Il a donc été séparé par chromatographie sur colonne de silice en éluant avec du chloroforme puis de l'acétate d'éthyle. Les fractions contenant le produit pur sont rassemblées, l'acétate d'éthyle est évaporé sous pression réduite. Le résidu sec est cristallisé dans le mélange acétate d'éthyle-hexane (1:1).

Les dérivés 6c, 6d, 6e et 6f sont obtenus purs (CCM) et sont caractérisés par leur point de fusion (ces produits ayant déjà été synthétisés et complètement caractérisés dans notre laboratoire) (45).

Thy-C <sub>n</sub> -Br	n = 3 : <u>6c</u>	n = 4 : <u>6d</u>	n = 5 : <u>6e</u>	n = 6 : <u>6f</u>
Rendement	55 %	85 %	80 %	80 %
F°C	137-138	140-141	119-120	123-124
F:Litt.°C (réf)	136-138 (36)	134-135 (37)		111-113 (36)

(Les rendements ont été calculés à partir de la thymine).

Rappels des caractéristiques physico-chimiques.

RMN (CDCl<sub>3</sub>):

Cycle thymine : 6c, 6d, 6e, 6f :  $\delta = 8,8$  à  $9,8$  (s large, 1H, N<sub>3</sub>H);  
7,00 (d, 1H,  $J \leq 1$ Hz ; C6H) ; 1,90 (d, 3H,  $J \leq 1$ Hz ; C5-CH<sub>3</sub>).

Chaîne polyméthylénique :

N<sub>1</sub>-CH<sub>2</sub> : 6c :  $\delta = 3,85$  (t, 2H,  $J = 6$ Hz) ; 6d : 3,70 (m, 2H) ; 6e,  
6f : 3,65 (t large, 2H,  $J = 7$  Hz).

CH<sub>2</sub>-Br : 6c :  $\delta = 3,40$  (m, 2H,  $J = 6$ Hz) ; 6d : 3,40 (m, 2H) ; 6e,  
6f : 3,35 (t large, 2H,  $J = 7$ Hz).

-(CH<sub>2</sub>)<sub>n-2</sub>- : 6c :  $\delta = 2,0$  à  $2,5$  (m, 2H,  $J = 6$ Hz) ; 6d : 1,6 à 2,1  
(m, 4H) ; 6e : 1,0 à 2,0 (m, 6H) ; 6f : 1,0 à 2,0 (m, 8H).

Masse (impact électronique) :

6c : M = 247,12 ; m/e : 248 (14,7 ; (M+1)<sup>+</sup>, Br<sup>81</sup>), 246 (16,7 ;  
(M-1)<sup>+</sup>, Br<sup>79</sup>), 167 (35, Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>).

6d : M = 261,15 ; m/e : 262 (4,8 ; (M+1)<sup>+</sup>), 260 (5,3 ; (M-1)<sup>+</sup>),  
181 (70, Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub><sup>+</sup>).

6e : M = 275,18 ; m/e : 276 (3,1 ; (M+1)<sup>+</sup>), 274 (3,2 ; (M-1)<sup>+</sup>),  
195 (55, Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub><sup>+</sup>).

6f : M = 289,20 ; m/e : 290 (3,5 ; (M+1)<sup>+</sup>), 288 (3,8 ; (M-1)<sup>+</sup>),  
209 (100, Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub><sup>+</sup>).

Thy-C<sub>2</sub>-Br ; 6b :

Rendement : 50 % (calculé par rapport à la thymine).

F : 204-205°C (Litt. : 197-198°C (37))

RMN (CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta = 7,10$  (d fin, 1H,  $J < 1$ Hz ; C6H) ; 4,10 (t, 2H,  
 $J = 6$ Hz ; N1-CH<sub>2</sub>) ; 3,60 (t, 2H,  $J = 6$ Hz ; -CH<sub>2</sub>-Br) ; 1,90 (d fin,  
3H,  $J < 1$ Hz ; C5-CH<sub>3</sub>).

(DMSO d<sub>6</sub>) :  $\delta = 11,40$  (s large, 1H ; N<sub>3</sub>H) ; 7,60 (d fin, 1H,  $J < 1$ Hz ;

C6H) ; 4,2-3,2 (m intégrant pour 4H ; CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub> Br); 1,70 (d fin, 3H, J < 1Hz ; C<sub>5</sub>-CH<sub>3</sub>).

RMN <sup>13</sup>C (DMSO d<sub>6</sub>) : δ = 162,1 (C4) ; 148,8 (C2) ; 139,6 (C6) ; 106,3 (C5) ; 46,6 (N1-CH<sub>2</sub>) ; 28,6 (-CH<sub>2</sub>Br) ; 9,93 (C5-CH<sub>3</sub>).

Masse (impact électronique): M = 233,07 ; m/e : 234 (14,7; (M+1)<sup>+</sup>, Br<sup>81</sup>), 232 (14,5; (M-1)<sup>+</sup>, Br<sup>79</sup>), 126 (37,8 ; Thy<sup>+</sup>), 110 (12,8), 109 (10,1), 107 (9,3; C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>Br), 96 (100), 82 (19,4 ; Thy<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>NCO), 80 (12,7) 55 (22,6), 54 (19,7; Thy<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>NCO-CO), 41 (17,5).

IR (KBr) : 2940, 2860, 1690, 1640, 1470, 1430, 1350, 890, 770, 720 cm<sup>-1</sup>.

UV<sub>max</sub> : EtOH : λnm (ε) : 268 (9950) ; 211 (8200).

Analyse, C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Br :

Calc. %	: C 36,07	H 3,89	N 12,02	Br 34,29
Tr. %	: 36,20	3,72	11,89	34,88

Thy-(C<sub>2</sub>Br)<sub>2</sub> ; 6b' :

Rendement : 10 % (rendement calculé par rapport à la thymine).

F : 90-91°C.

RMN (CDCl<sub>3</sub>) : δ = 7,10 (d fin, 1H, J < 1Hz ; C6H) ; 4,35 (t, 2H, J = 7Hz ; N3-CH<sub>2</sub>) ; 4,10 (t, 2H, J = 6Hz ; N1-CH<sub>2</sub>) ; 3,60 (t, 2H, J = 6Hz ; -CH<sub>2</sub>Br) ; 3,50 (t, 2H, J = 7Hz ; -CH<sub>2</sub>-Br) ; 1,90 (d fin, 3H, J < 1Hz ; C5-CH<sub>3</sub>).

Masse (impact électronique) ; M = 340,03 ; m/e : 342 (10,1 ; (M+2)<sup>+</sup>, Br<sup>81</sup>), 340 (18,7 ; M<sup>+</sup>), 338 (7,3 ; (M-2)<sup>+</sup>, Br<sup>79</sup>), 261 (18,1 ; Thy(C<sub>2</sub>Br)<sub>2</sub><sup>+</sup>-Br), 232 (31,0 ; Thy(C<sub>2</sub>Br)<sub>2</sub><sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>Br), 126 (59,3 ; Thy<sup>+</sup>),

110 (32,1), 109 (22,3 ; C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>Br, Br<sup>81</sup>), 107 (18,5 ; C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>Br, Br<sup>79</sup>), 82 (100 ; Thy<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>NCO), 81 (61,8), 80 (95,1), 79 (57,9), 70 (42,7), 68 (19,9), 56 (18), 55 (35,2), 54 (32,2 ; Thy<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>NCO-CO), 53 (10,5).

IR (KBr) : 3100, 3000, 2950, 1835, 1790- 1540, 1450, 1380, 1355, 1270, 1220, 1195, 1105, 920, 770, 725 cm<sup>-1</sup>.

UV<sub>max</sub> : EtOH : λ nm (ε) : 270 (8890) ; 211 (8070).

Analyse C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Br<sub>2</sub> :

Calc. %	:	C 31,79	H 3,56	N 8,24	Br 47,00
Tr. %	:	32,08	3,51	8,39	47,21

\* Composé Thy-C<sub>12</sub>-Br ; 61 :

Une solution de thymine silylée 5 (obtenue à partir de 5g de thymine) et de dibromo-1,12 dodécane (26g ; 80 mmol) dans la diméthylformamide (DMF) (75 ml) est chauffée à 100°C, sous atmosphère d'azote sec et sous agitation pendant 5 heures. La DMF est ensuite distillée sous pression réduite. Le résidu obtenu est hydrolysé et traité suivant le mode opératoire utilisé lors de l'isolement et de la purification des composés 6d, 6e et 6f.

Ce composé a déjà été synthétisé dans notre laboratoire (45).

Rendement : 70 % (à partir de la thymine).

Rappel des caractéristiques (RMN et masse) :

RMN (CDCl<sub>3</sub>) : δ = 9,80 à 8,80 (s large, 1H ; N3H) ; 7,00 (d, 1H, J < 1Hz ; CGH) ; 3,65 (t large, 2H, J = 7Hz ; N1-CH<sub>2</sub>) ; 3,35 (t large, 2H, J = 7Hz ; CH<sub>2</sub>Br) ; 1,90 (d, 3H, J < 1Hz ; C5-CH<sub>3</sub>) ; 1,25 (s très large, 20H).

Masse (impact électronique) ; M = 373,34 ; m/e : 374 (1,7 ; (M+1)<sup>+</sup>), 372 (1,7 ; (M-1)<sup>+</sup>), 293 (38,5 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub><sup>+</sup>), 126 (100, Thy<sup>+</sup>).

### Hydroxy-5 psoralène ; 4 :

Dans un ballon à 3 cols (thermomètre interne, réfrigérant muni d'un piège à  $\text{CaCl}_2$ , arrivée d'azote sec) contenant du chlorhydrate de pyridine ( $\text{PyH}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , lavé avec de l'éther éthylique puis séché) (3 g ; 26 mmol) porté à 170-180°C, on ajoute du 5MOP 1 (3g ; 13 mmol) en une seule fraction. Le mélange est agité pendant 1 à 4 heures à cette température. L'évolution de la réaction est suivie par CCM (élution éther éthylique puis méthanol-chloroforme (1:8)). La réaction terminée, on verse le brut réactionnel dans de la glace (250 g) et on laisse reposer la solution. Le précipité jaune clair formé est filtré, lavé plusieurs fois avec de l'eau froide puis séché (rendement 90 %). Le produit obtenu est cristallisé deux à trois fois dans l'éthanol absolu sous courant d'azote sec.

L'hydroxy-5 psoralène 4 est alors recueilli sous la forme d'une poudre de couleur variable (jaune clair au brun rouge). Comme nous l'avons vu précédemment (voir p.30), le produit est utilisé sans autre purification (impureté fluorescente très minoritaire <5 %).

Rendement : 50 % (après cristallisation).

F : 270-280°C (Litt. : 275°C (47a)).

RMN ( $\text{CF}_3\text{COOD}$ ) :  $\delta$  = 8,85 (d, 1H, J = 10Hz ; C4H) ; 7,90 (d, 1H, J = 2Hz ; C5'H) ; 7,40 (s, 1H ; C8H) ; 7,25 (d, 1H, J = 2Hz ; C4'H) ; 6,75 (d, 1H, J = 10Hz ; C3H) ; 2,50 (s, 1H, C5-OH).

(DMSO  $d_6$ ) :  $\delta$  = 11,20 (s, 1H ; C5-OH) ; 8,30 (d, 1H, J = 10Hz ; C4H) ; 7,90 (d, 1H, J = 2Hz ; C5'H) ; 7,15 (dd, 1H, J = 2Hz, J < 1Hz ; C4'H) ; 7,10 (s, 1H ; C8H) ; 6,20 (d, 1H, J = 10Hz ; C3H).

Masse (impact électronique) ; M = 202,17 ; m/e : 203 (11,4 ;  $(\text{M}+1)^+$ ), 202 (100 ;  $\text{M}^+$ ), 175 (10,7 ;  $(\text{M}+1)^+-\text{CO}$ ), 174 (54,8 ;  $\text{M}^+-\text{CO}$ ), 145 (12,2 ;  $\text{M}^+-\text{CO}-\text{HCO}$ ), 118 (25,1), 90 (45,9) , 89 (18,9), 63 (25,2), 51 (23,5), 50 (17,5).

IR (KBr) : 3290, 1690, 1620, 1590, 1475, 1450, 1315, 1240, 1150, 1130, 1070, 945, 827, 810, 760  $\text{cm}^{-1}$ .

Hydroxy-5 dihydro-4',5' psoralène , 14 :

A une solution éthanolique (300 ml éthanol absolu) d'hydroxy-5 psoralène 4 (3,15g ; 15,6 mmol), on ajoute du palladium sur charbon à 10 % (0,6g). La solution est dégazée, puis agitée sous atmosphère d'hydrogène à température ambiante et sous pression atmosphérique. L'évolution de l'hydrogénation est suivie par CCM et par mesure du volume d'hydrogène consommé. L'hydrogénation terminée, le mélange est filtré sur célite et le filtrat est amené à sec. Le résidu obtenu est alors dissous dans de l'éthanol. Le produit est précipité en ajoutant de l'eau, il est recueilli sous la forme d'une poudre de couleur orangée (2,05g ; 10 mmol).

Rendement : 65 %.

F : 265-270°C (décomposition).

RMN (DMSO  $d_6$ ) :  $\delta$  = 8,15 (dd, 1H, J = 10Hz, J = 0,5Hz ; C4H) ; 6,35 (s, 1H ; C8H) ; 6,10 (d, 1H, J = 10Hz ; C3H) ; 4,65 (t, 2H, J = 9Hz ; C5'H) ; 3,15 (t, 2H, J = 9Hz ; C4'H) ; 4,5-2,5 (m très large ; C5-OH).

Masse (impact électronique) ; M = 204,19 ; m/e : 205 (12,9 ; (M+1)<sup>+</sup>, 204 (93,5 ; M<sup>+</sup>), 177 (13,3 ; (M+1)<sup>+</sup>-CO), 176 (100, M<sup>+</sup>-CO), 175 (25), 147 (17,6 ; M<sup>+</sup>-CO-HCO), 119 (9,1), 91 (35,9), 89 (18,5), 77 (11,1), 74 (10,9), 69 (12,7), 65 (13,4), 63 (18,6), 53 (18,3), 51 (26,7), 50 (16,8).

IR (KBr) : 3490-2790, 1680, 1615, 1570, 1455, 1290, 1240, 1195, 1130, 1070, 990, 950, 810  $\text{cm}^{-1}$ .

UV<sub>max</sub> : EtOH :  $\lambda$  nm ( $\epsilon$ ) : 334,3 (15650) ; 260,5 (5800) ; 251 (6200) ; 211,5 (27000).

( $\omega$ -bromoéthyl)-5 psoralène : 5Pso-C<sub>2</sub>-Br ; 6b :

Un mélange de dibromo-1,2 éthane (25 ml ; 0,27 mmol) et de carbonate de potassium (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (0,5g ; 3,6 mmol) est agité dans la DMF séchée (10 ml). A la solution on ajoute l'hydroxy-5 psoralène 4 (0,52 g ; 0,257 mmol) en une seule fraction. Le mélange réactionnel, placé à l'abri de la lumière et sous atmosphère d'azote sec, est porté à 70°C pendant 2 à 3 heures, puis laissé à température ambiante une nuit. La réaction terminée, le K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> est filtré et lavé avec de la DMF. La DMF est ensuite distillée sous pression réduite. La purification du résidu sec obtenu est réalisée par chromatographie sur colonne de silice. L'éluant utilisé est le chloroforme. Le solide blanc récupéré, après évaporation du chloroforme est cristallisé dans du méthanol. Le composé 7b se présente sous forme de cristaux blancs (0,46 g ; 1,48 mmol).

Rendement : 60 %.

F : 173-174°C.

RMN (CDCl<sub>3</sub>) :  $\delta$  = 8,30 (d, 1H, J = 10Hz ; C4H) ; 7,70 (d, 1H, J = 2Hz ; C5'-H) ; 7,25 (s, 1H ; C8H) ; 6,95 (dd, 1H, J = 2Hz, J < 1Hz ; C4'H) ; 6,35 (d, 1H, J = 10Hz ; C3H) ; 4,75 (t, 2H, J = 6Hz ; C5-OCH<sub>2</sub>) ; 3,70 (t, 2H, J = 6Hz ; -CH<sub>2</sub>Br).

Masse (impact électronique) ; M = 309,12 ; m/e : 310 (30,5 ; (M+1)<sup>+</sup>, Br<sup>81</sup>), 308 (33,9 ; (M-1)<sup>+</sup>, Br<sup>79</sup>), 215 (12,6 ; M<sup>+</sup>-CH<sub>2</sub>Br), 202 (15,2 ; PsoOH<sup>+</sup>), 201 (57,1 ; M<sup>+</sup>-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>Br), 174 (13,3 ; PsoOH<sup>+</sup>-CO), 173 (30,6), 145 (47,2 ; PsoOH<sup>+</sup>-CO-HCO), 109 (96,1 ; C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>Br, Br<sup>81</sup>), 107 (97,7 ; C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>Br, Br<sup>79</sup>), 90 (12,8), 89 (100), 88 (22), 87 (24), 86 (11,7), 79 (22,2), 77 (15,2), 75 (23,8), 74 (26,3), 69 (12,5), 66 (18,6), 63 (52,4), 62 (22,5), 61 (10,6), 53 (12,5), 51 (62,9), 50 (31,3).

IR (KBr) : 3140-3020, 1720, 1630, 1580, 1465, 1445, 1350, 1280, 1260, 1210, 1150, 1130, 1105, 990, 935, 895, 820, 750, 720 cm<sup>-1</sup>.

UV<sub>max</sub> EtOH :  $\lambda$  nm ( $\epsilon$ ) : 307,5 (14860) ; 266 (16350) ; 248,5 (19770) ;  
232,5 (13670) ; 220 (23300).

Analyse C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>O<sub>4</sub>Br :

Calc. % :	C 50,51	H 2,93	Br 25,85
Tr. % :	50,55	2,76	26,06

$\omega$ -(thyminyl-1) alcoxy-5 psoralènes : Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8 :

\* n=3 : 8c ; n=4 8d ; n=5 8e ; n=6 8f ; n=12 8l :

A un mélange de ( $\omega$ -bromoalkyl)-1 thymine 6 (5 mmol) et de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (large excès, 1g) en solution dans la DMF anhydre (30 ml), on ajoute l'hydroxy-5 psoralène 4 (1g ; 5 mmol). La réaction est conduite à l'abri de la lumière, à une température de 70°C et sous atmosphère d'azote sec. Le mélange est agité pendant 8 à 12 heures et l'avancement de la réaction est suivi par CCM (deux éluations différentes et successives sont utilisées: éther éthylique puis mélange chloroforme-méthanol (8:1)). La réaction terminée, le K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> est filtré puis lavé plusieurs fois avec de la DMF. La DMF est ensuite évaporée sous pression réduite. Le résidu huileux très coloré obtenu est trituré avec de l'éther de pétrole. A 0°C, un solide précipite qui est lavé par de l'eau (3 x 30 ml) puis séché. Une première cristallisation dans l'éthanol absolu sert à éliminer les produits de départ (rendement 70-80 %). La purification se poursuit en chromatographie sur colonne de silice. La colonne utilisée possède une double enveloppe dans laquelle circule de l'eau chaude à une température de 45°C. La colonne est longue de 70 cm et possède un diamètre de 3 cm. Il faut environ 150g de silice pour purifier 500 mg de modèle brut. La silice en suspension dans l'acétate d'éthyle est déposée dans la colonne. On fait ensuite un dépôt solide du produit adsorbé sur de la silice (400 mg/500 ml de CHCl<sub>3</sub> + 10g de silice puis évaporation du solvant). Le dépôt solide est d'abord élué avec un peu de tétrachloro-1,1,2,2 éthane pour bien répartir la silice imprégnée du produit. On utilise ce solvant car il est un mauvais éluant du mélange et

un bon solvant des produits, de plus son point d'ébullition est élevé (» 45°C).

On élue ensuite avec de l'acétate d'éthyle bouillant. On suit la séparation à l'aide d'une lampe UV que l'on place le long de la colonne. Plusieurs litres d'acétate d'éthyle sont nécessaires. Les fractions contenant le modèle pur sont rassemblées et l'acétate d'éthyle est distillé. Le solide résiduel est ensuite cristallisé dans de l'éthanol absolu. Les composés sont obtenus purs et sous la forme de poudre ou de cristaux.

\* n = 2 : 8b :

A une solution de thymine silylée (à partir de 0,5g de thymine) on ajoute une solution de sulfolane (10 ml) contenant l' $\omega$ -bromoéthyl psoralène 6b (0,200g ; 0,65 mmol). Le mélange porté à 100°C, est agité sous courant d'azote pendant 3 jours. L'évolution de la réaction est suivie par CCM. On précipite ensuite le brut par de l'eau (100 ml). Le précipité est filtré, lavé par l'eau pour éliminer la thymine en excès, puis séché (0,210g ; 0,60 mmol). Une cristallisation dans l'éthanol absolu (500 ml) termine la purification (0,160g ; 0,45 mmol). Le composé Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b est recueilli sous la forme de petits cristaux incolores. La structure RX est en cours de détermination dans le laboratoire de M. HOSPITAL à l'Université de Bordeaux.

Produits	Rendement en produit pur	F°C
<u>8b</u>	70 %	284-285 (dec)
<u>8c</u>	20 %	203-204
<u>8d</u>	65 %	215-216
<u>8e</u>	40 %	211-212
<u>8f</u>	40 %	205-206
<u>8l</u>	65 %	123-124

RMN :

Produits	(a) n = 2	(b) n = 3	(b) n = 4
Attributions	<u>8b</u>	<u>8c</u>	<u>8d</u>
<u>Thymine</u>			
N3H (s large, 1H)	11,25	8,50	8,35
C6H (d dans m large, 1H, $J \leq 1\text{Hz}$ )	7,60	7,10-6,75	7,05-6,90
C5CH <sub>3</sub> (d dans m large 3H, $J \leq 1\text{Hz}$ )	1,70	1,85	1,90
<u>Psoralène</u>			
C4H (d, 1H, $J=10\text{ Hz}$ )	8,10	8,15	8,15
C5'H (d, 1H, $J=2\text{Hz}$ )	8,00	7,60	7,65
C8H (s, 1H)	7,30	7,15	7,20
C4'H (dd dans m large, 1H)	7,25	6,90 (7,10-6,75)	7,05-6,90
C3H (d, 1H, $J=10\text{Hz}$ )	6,25	6,30	6,30
<u>Chaîne méthylnique</u>			
O-CH <sub>2</sub> - (t large, 2H)	4,65	4,50	4,45
N-CH <sub>2</sub> - (t large, 2H)	4,05	3,95	3,80
-(CH <sub>2</sub> ) <sub>n-2</sub> - (m large, (2n-4) H)		2,45-1,95	2,15-1,55

SUS  
CCLF

Spectres mesurés dans (a) DMSO d<sub>6</sub>

(b) CDCl<sub>3</sub>

RMN :

Produits	(a) $n = 5$	(b) $n = 6$	(b) $n = 12$
Attributions	<u>8e</u>	<u>8f</u>	<u>8l</u>
<u>Thymine</u>			
$N_3H$ (s large, 1H)	8,40	8,40	2,00 à 1,00
$C6H$ (d dans m large, 1H, $J \leq 1\text{Hz}$ )	7,05-6,80	7,15-6,80	7,05-6,90
$C5CH_3$ (d dans m large, 3H, $J \leq 1\text{ Hz}$ )	1,90	1,85	1,90
<u>Psoralène</u>			
$C4H$ (d, 1H, $J=10\text{ Hz}$ )	8,10	8,15	8,20
$C5'H$ (d, 1H, $J=2\text{Hz}$ )	7,60	7,60	7,60 ( $J=2,5\text{ Hz}$ )
$C8H$ (s, 1H)	7,10	7,15	7,15
$C4'H$ (dd dans m large, 1H)	7,05-6,80	7,15-6,80	7,05-6,90 ( $J=25\text{ Hz}$ )
$C3H$ (d, 1H, $J=10\text{Hz}$ )	6,25	6,25	6,30
<u>Chaîne méthylénique</u>			
$O-CH_2-$ (t large, 2H)	4,40	4,40	4,45
$N-CH_2-$ (t large, 2H)	3,70	3,70	3,65
$-(CH_2)_{n-2}$ (m large, $(2n-4)H$ )	2-1,35	2,05-1,25	1,25 (s large, 16H) + 1,55 (s large 4H)



Masse (impact électronique):

Thy-C<sub>2</sub>-5Pso ; 8b : M = 354,33 ; m/e : 354 (1 ; M<sup>+</sup>), 202 (45,1 ; PsoOH<sup>+</sup>)  
174 (25,4 ; PsoOH<sup>+</sup>-CO), 153 (100 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>), 152 (19,4), 118 (111),  
110 (33,3), 90 (13,0), 89 (23,5), 82 (21,3), 81 (11,3), 63 (10,0),  
55 (12,4 ; ThyCH<sub>2</sub><sup>+</sup>-NHCO-CO), 54 (11,9), 51 (11,2), 42 (11,2).

Thy-C<sub>3</sub>-5Pso ; 8c : M = 368,35 ; m/e : 368 (1 ; M<sup>+</sup>), 202 (0,5), 174  
(2), 167 (100 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>), 139 (15 ; ThyCH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 96 (20 ; ThyCH<sub>2</sub><sup>+</sup>-NHCO).

Thy-C<sub>4</sub>-5Pso ; 8d : M = 382,38 ; m/e : 382 (15 ; M<sup>+</sup>), 202 (10), 181  
(75 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub><sup>+</sup>), 174 (10), 139 (80 ; ThyCH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 96 (100 ; ThyCH<sub>2</sub><sup>+</sup>-NHCO),  
55 (7).

Thy-C<sub>5</sub>-5Pso ; 8e : M = 396,40 ; m/e : 396 (30 ; M<sup>+</sup>), 202 (25), 195  
(100 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub><sup>+</sup>), 174 (15), 139 (99), 127 (98), 69 (50), 55 (20).

Thy-C<sub>6</sub>-5Pso ; 8f : M = 410,43 ; m/e : 410 (20 ; M<sup>+</sup>), 209 (55 ;  
Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub><sup>+</sup>), 202 (45), 174 (20), 139 (55), 127 (75), 96 (35 ; ThyCH<sub>2</sub><sup>+</sup>-  
NHCO), 55 (100).

Thy-C<sub>12</sub>-5Pso ; 8l : M = 494,59 ; m/e : 494 (20 ; M<sup>+</sup>), 293 (80 ;  
Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>11</sub><sup>+</sup>), 202 (100), 174 (26), 139 (13), 127 (93), 96 (80), 69  
(20), 56 (20), 55 (92).

IR (KBr) :

Thy-C<sub>2</sub>-5Pso ; 8b : 3300-2800, 1730, 1695-1655, 1615, 1585, 1460, 1345,  
1215, 1170, 1135, 1105, 1040, 825, 795, 765, 695 cm<sup>-1</sup>.

Thy-C<sub>3</sub>-5Pso ; 8c : 3130, 3010, 2950, 2885, 2830, 1730, 1670, 1460, 1355,  
1205, 1155, 1130, 1095, 1075, 835, 745 cm<sup>-1</sup>.

Thy-C<sub>4</sub>-5Pso ; 8d : 3150, 3020, 2940, 2820, 1725, 1695, 1670, 1635,  
1610, 1460, 1345, 1205, 1165, 1135, 1100, 825, 770 cm<sup>-1</sup>.

Thy-C<sub>5</sub>-5Pso ; 8e : 3130, 3010, 2940, 2820, 1720, 1695, 1670, 1575,  
1455, 1445, 1350, 1200, 1160, 1125, 1075, 810, 760 cm<sup>-1</sup>.

Thy-C<sub>6</sub>-5Pso ; 8f : 3170, 3030, 2940, 2870, 1740, 1690, 1640, 1615,  
1585, 1465, 1360, 1215, 1165, 1140, 1100, 820, 760 cm<sup>-1</sup>.

Thy-C<sub>12</sub>-5Pso ; 8l : 2940, 2870, 1730-1660, 1450, 1350, 1205, 1160,  
1130, 1100, 895, 810, 765 cm<sup>-1</sup>.

UV<sub>max</sub> : EtOH : λ nm (ε) :

Thy-C<sub>2</sub>-5Pso ; 8b : 310 (13380) , 267,5 (25330) ; 250 (21970) ; 234,5 (14700) ; 219 (27190).

Thy-C<sub>3</sub>-5Pso ; 8c : 310 (13700) ; 267,5 (26090) ; 250 (21620) ; 230 (17370).

Thy-C<sub>4</sub>-5Pso ; 8d : 310 (14150) ; 267,5 (25480) ; 250 (22170) ; 230 (16724).

Thy-C<sub>5</sub>-5Pso ; 8e : 310 (14380) ; 267,5 (26680) ; 250 (22700) ; 230 (18830).

Thy-C<sub>6</sub>-5Pso ; 8f : 310 (14400) ; 267,5 (26910) ; 250 (22800) ; 230 (19820).

Thy-C<sub>12</sub>-5Pso ; 8l : 310 (14600) ; 269 (26500) ; 251 (21800) ; 220 (29400).

Analyse :

Formule	<u>8b</u> C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>		<u>8c</u> C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>		<u>8d</u> C <sub>20</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	
M	354,33		368,35		382,38	
Analyse	Calc.	Tr.	Calc.	Tr.	Calc.	Tr.
C%	61,02	60,55	61,95	62,03	62,82	62,55
H%	3,98	3,93	4,38	4,39	4,74	4,76
N%	7,91	7,84	7,61	7,54	7,33	7,22
Formule	<u>8e</u> C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>		<u>8f</u> C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>		<u>8l</u> C <sub>28</sub> H <sub>34</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	
M	396,40		410,43		494,59	
Analyse	Calc.	Tr.	Calc.	Tr.	Calc.	Tr.
C%	63,63	63,61	64,38	64,65	68,0	67,76
H%	5,09	5,08	5,40	5,39	6,93	7,18
N%	6,81	6,81	6,83	6,71	5,66	5,72

$\omega$ -(thyminyl-1) butoxy-5 dihydro-4',5' psoralène :  
Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d :

Le mode opératoire est analogue à celui utilisé pour la synthèse des composés modèles non hydrogénés. Un mélange équimoléculaire de dihydro-4',5' hydroxy-5 psoralène 4 (2,05g ; 10 mmol) et de Thy-C<sub>4</sub>-Br 6d (2,6g ; 10 mmol) est agité en présence de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans de la DMF anhydre (70 ml). Cette solution est portée à 70°C pendant 14 heures à l'abri de la lumière et sous atmosphère d'azote sec. La purification s'effectue par chromatographie sur colonne de silice en utilisant le mélange (CHCl<sub>3</sub>-AcOEt-MeOH) (25:25:1) comme éluant. La purification finale est obtenue par cristallisation dans l'éthanol. Le composé 15d est obtenu sous forme d'une poudre blanche (2,5g ; 6,5 mmol).

Rendement : 65 %.

F = 196-197°C.

RMN (DMSO d<sub>6</sub>) :

Thymine :  $\delta$  = 11,15 (s, 1H ; N3H) ; 7,50 (d, 1H, J < 1Hz ; C6H) ; 1,70 (d dans m large, 3H ; C5CH<sub>3</sub>).

Psoralène :  $\delta$  = 8,00 (d, 1H, J = 10Hz ; C4H) ; 6,50 (s, 1H ; C8H) ; 6,10 (d, 1H, J = 10Hz ; C3H) ; 4,60 (t, 1H, J=8Hz ; C5'H) ; 3,35 (t, 1H, J=8Hz ; C4'H).

Chaîne polyméthylénique :  $\delta$  = 4,20 (m large, 2H ; O-CH<sub>2</sub>) ; 3,65 (m large, 2H ; N-CH<sub>2</sub>) ; 1,70 (m large, 4H ; -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-).

(CDCl<sub>3</sub>) :

Thymine :  $\delta$  = 8,45 (s, 1H ; N3H) ; 6,95 (d, 1H, J < 1Hz ; C6H) ; 1,90 (d dans m large, 3H ; C5CH<sub>3</sub>).

Psoralène :  $\delta$  = 7,90 (d, 1H, J = 10Hz ; C4H) ; 6,40 (s, 1H ; C8H) ; 6,10 (d, 1H, J = 10Hz ; C3H) ; 4,65 (t, 1H ; J = 8Hz ; C5'H) ; 3,35 (t, 1H, J = 8Hz ; C4'H).

Chaîne polyméthylénique :  $\delta = 4,15$  (m large, 2H ; O-CH<sub>2</sub>) ; 3,75 (m large 2H ; N-CH<sub>2</sub>) ; 1,80 (m, 4H ; -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>).

RMN<sup>13</sup>C (DMSO d<sub>6</sub>) :

Thymine :  $\delta = 162,2$  (C<sub>4</sub>) ; 149,5 (C<sub>2</sub>) ; 139,3 (C<sub>6</sub>) ; 106,5 (C<sub>5</sub>) ; 45,0 (N1-CH<sub>2</sub>-) ; 9,9 (C5-CH<sub>3</sub>).

Dihydropсорalène + chaîne polyméthylénique :  $\delta = 163$  (probablement C<sub>2</sub>) ; 158,3 ; 153,9 ; 148,9 ; 137,4 (probablement C<sub>9</sub> ; C<sub>7</sub> ; C<sub>5</sub> ; C<sub>4</sub>) ; 109,5 ; 108,1 ; 106,5 ; 103,4 ; 90,1 (probablement C<sub>3</sub> ; C<sub>6</sub> ; C<sub>10</sub> ; C<sub>8</sub>) ; 70,5 ; 69,1 (probablement C<sub>5'</sub> ; O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>) ; 25,5 ; 24,4 ; 23,0 (probablement C<sub>4'</sub> ; O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N).

Masse (impact électronique) ; M = 384,39 ; m/e : 384 (25 ; M<sup>+</sup>), 203 (50 ; M<sup>+</sup>-Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), 181 (100 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub><sup>+</sup>), 139 (50 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>), 127 (34), 96 (19,8), 77 (19,9), 70 (19,9), 69 (19,9), 65 (19,9), 60 (30), 56 (15), 55 (74,6), 51 (20).

IR (KBr) : 3190-2690, 1740, 1710, 1680, 1455, 1360, 1190, 1120, 1095, 805, 755 cm<sup>-1</sup>.

UV<sub>max</sub> : EtOH :  $\lambda$  nm ( $\epsilon$ ) : 332,5 (16250) ; 272,5 (10850) ; 260 (13400) ; 225 (15500).

Acétonitrile :  $\lambda$  nm ( $\epsilon$ ) : 330 (16200).

Analyse, C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> :

Calc. % : C 62,49 H 5,24 N 7,29

Tr. % : 62,46 5,33 7,25

Propyl-1 thymine : Thy-C<sub>3</sub> ; 16 :

Ce composé, déjà synthétisé dans notre laboratoire (45), a été préparé à partir de thymine et de bromo-1 propane.

Rappel de quelques caractéristiques :

F = 135-136°C (Litt. : 134-136°C (36)).

RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  = 9,60 (s large, 1H; N3H) ; 7,00 (d, 1H,  $J < 1\text{Hz}$  ; C6H) ; 3,65 (t, 2H,  $J = 7\text{Hz}$  ; N1-CH<sub>2</sub>) ; 1,90 (d, 3H,  $J < 1\text{Hz}$  ; C5-CH<sub>3</sub>) ; 1,20 à 2,10 (m, 2H,  $J = 7\text{Hz}$  ; -(CH<sub>2</sub>)-) ; 0,90 (t, 3H,  $J = 7\text{Hz}$  ; -CH<sub>3</sub>).

RMN<sup>13</sup>C : (DMSO d<sub>6</sub>) :  $\delta$  = 162,6 (C4) ; 149,2 (C2) ; 139,64 (C6) ; 106,7 (C5) ; 47,1 (N1-CH<sub>2</sub>) ; 20,52 (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ; 10,05 (C5-CH<sub>3</sub>) ; 8,72 (CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).

Masse (impact électronique) ; M = 168,20 ; m/e : 168 (55 ; M<sup>+</sup>), 139 (15 ; ThyCH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 126 ; (57 ; ThyH<sup>+</sup>), 96 (100), 83 (17), 55 (24).

Propoxy-5 psoralène : 5Pso-C<sub>3</sub> ; 17 :

A un mélange de bromo-1 propane (4 ml, 50 mmol) et de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1g ; 7,2 mmol) dans la DMF anhydre (20 ml), on ajoute en une seule fraction l'hydroxy-5 psoralène 4 (1,0g ; 5 mmol). Le mélange réactionnel, protégé de la lumière et sous atmosphère d'azote, est agité à la température de 70°C pendant 5 heures. Le carbonate de potassium est ensuite filtré puis lavé avec de la DMF. La purification du produit, obtenu après évaporation sous pression réduite de la DMF, est réalisée par chromatographie sur colonne de silice (silice déposée dans l'hexane). Le solvant d'éluion est le chloroforme. Après évaporation du chloroforme des fractions contenant le produit pur, on cristallise celui-ci dans du méthanol. Le 5Pso-C<sub>3</sub> 17 est obtenu sous la forme de petits cristaux (0,60 g ; 2,5 mmol).

Rendement : 50 %.

F : 117-118°C (Litt. : 115-116°C (51)).

RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) :  $\delta$  = 8,15 (d, 1H,  $J = 10\text{Hz}$  ; C4H) ; 7,60 (d, 1H,  $J = 2,2\text{Hz}$  ; C5'H) ; 7,15 (s, 1H ; C8H) ; 6,95 (dd, 1H,  $J = 2,2\text{Hz}$  ; C4'H) ; 6,25 (d,

1H, J = 10Hz ; C3H); 4,35 (t, 2H, J = 6,5Hz ; C5-OCH<sub>2</sub>) ; 1,85 (m, 2H, J = 7Hz; -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>) ; 1,05 (t, 3H, J = 7Hz ; -CH<sub>3</sub>).

Masse (impact électronique) ; M = 244,25 ; m/e : 244 (45 ; M<sup>+</sup>), 202 (100 ; M<sup>+</sup>-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub> = PsoOH<sup>+</sup>), 174 (75 ; PsoOH<sup>+</sup>-CO), 145 (10 ; PsoOH<sup>+</sup>-2CO).

IR (KBr) : 3160, 2960, 1670, 1600, 1580, 1460, 1450, 1360, 1345, 1210, 1175, 1135, 1080, 815, 760 cm<sup>-1</sup>.

UV<sub>max</sub> EtOH : λ nm (ε) : 310 (14520); 267,5 (17170); 250 (17760); 230 (15310).

Analyse, C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> :

Calc. % : C 68,85      H 4,95

Tr. % :      69,15      4,89.

### Propoxy-5 dihydro-4',5' psoralène ; 18 :

Le 5Pso-C<sub>3</sub> 17 (0,4g ; 1,6 mmol) est dissous dans l'éthanol absolu (50 ml). A la solution, on ajoute du palladium sur charbon (0,1 g). Le mélange est placé dans un appareillage d'hydrogénation. L'hydrogénation terminée (suivie par CCM et consommation de l'hydrogène), la solution est filtrée sur célite pour éliminer le charbon. Le filtrat est recueilli et l'éthanol est évaporé sous pression réduite. Le résidu sec dissous dans du chloroforme est chromatographié sur colonne de silice. L'éluant utilisé est l'éther éthylique. Après évaporation sous pression réduite de l'éther éthylique des fractions contenant le produit attendu, le résidu sec est cristallisé dans de l'hexane. Le produit pur 18 est recueilli sous la forme de "paillettes" incolores (0,2 g ; 0,81 mmol).

Rendement : 50 %.

F : 99,5-100,5°C.

RMN (CDCl<sub>3</sub>) : δ = 7,90 (dd, 1H, J = 10Hz, J < 1Hz ; G4H) ; 6,35 (s, 1H; C8H) ; 6,05 (d, 1H, J = 10Hz ; C3H) ; 4,60 (t, 2H, J = 8Hz ; C5'H);

4,05 (t, 2H, J = 6Hz ; O-CH<sub>2</sub>) ; 3,30 (t, 2H, J = 8Hz ; C4'H) ; 1,70 (m, 2H, J = 6Hz ; -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-) ; 1,00 (t, 3H, J = 6Hz ; -CH<sub>3</sub>).

Masse (impact électronique) ; M = 246,26 ; m/e : 247 (19,1 ; (M+1)<sup>+</sup>), 246 (88 ; M<sup>+</sup>), 204 (52,6 ; (M+1)<sup>+</sup>-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>), 177 (11,4), 176 (100 ; (M+1)<sup>+</sup>-CO), 175 (13,4), 147 (11,5 ; (M+1)<sup>+</sup>-CO-HCO), 109 (12,9), 91 (36,9), 89 (21,8), 79 (20,4), 77 (15,8), 69 (34,8), 65 (15,2), 63 (14,4), 53 (18,7), 51 (25,2), 43 (22 ; C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>).

IR (KBr) : 3000-2800, 1710, 1630-1560, 1440, 1390, 1350, 1310, 1240, 1200, 1170, 1120, 1100, 1050, 1000, 970, 890, 870, 830, 800, 760, 700 cm<sup>-1</sup>.

UV<sub>max</sub> EtOH : λ nm (ε) : 332,5 (17000), 260 (5800), 250 (6000) 227,5 (11250).

Acétonitrile : λ nm (ε) : 330 (16500), 260 (5700).

Analyse, C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub> :

Calc. % : C 68,28      H 5,73

Tr. % : 68,75          5,65

## C. ETUDES PHYSICOCHEMISTIQUES :

### 1) ETUDE PAR SPECTROPHOTOMETRIE UV :

Les solvants utilisés lors de cette étude sont de l'éthanol RP pour analyse "PROLABO", de l'acétonitrile RPE-ACS CARLO ERBA et de l'eau distillée dans un appareillage en quartz.

Des solutions mères de concentration de l'ordre de  $10^{-3}$  M sont préparées à partir d'échantillons pesant environ 15 à 50 mg (précision  $\pm 0,1$  mg) dissous dans de l'éthanol ou de l'acétonitrile.

La loi de Beer Lambert a été vérifiée pour chaque produit dans le solvant utilisé, ceci à partir de cinq solutions de concentration échelonnée entre  $5 \times 10^{-6}$  et  $5 \times 10^{-5}$  ou  $10^{-4}$  M en général (fonction de la solubilité).

Les solutions utilisées pour calculer %H sont préparées au minimum quatre fois (2 pesées au moins et 2 dilutions par pesée) en diluant 20 fois les solutions mères par de l'eau ou le solvant organique de la solution mère. Dans le cas de produits peu solubles dans l'eau, les spectres ont été enregistrés immédiatement après la dilution finale. L'enregistrement des spectres a été effectué sur un spectrophotomètre BECKMAN ACTA M 5270.

Dans la plupart des cas, nous avons utilisé des cuves en quartz de 1 cm de trajet optique ; cependant pour certains composés (8c ; 8e; 8f; 17) en raison de leur très faible solubilité, nous avons employé des cuves de 10 cm de trajet optique.

Les forces d'oscillateur sont calculées à partir des valeurs de densité optique (relevées tous les 2,5 nm) selon la méthode d'intégration de Simpson programmée sur un calculateur HP 9825 A. En couplant le calculateur à un traceur de courbes HP 7225 A, il est possible de comparer les différents spectres UV.

Pour l'étude UV en température, nous avons utilisé une cellule thermostatée : la cuve est thermostatée par un système comprenant un appareil BECKMAN CTC 250 (régulation du chauffage, désembuage des fenêtres de la cellule) et un cryostat LAUDA (circulation froide eau-éthylène glycol).

Pour tous les cas la détermination de %H se fait toujours à partir des spectres du composé modèle et des composés de référence, pris dans les mêmes conditions expérimentales.

## 2) ETUDE PAR SPECTROMETRIE DE RMN :

Nous avons utilisé lors de cette étude, du DMSO  $d_6$  à 100% de pureté isotopique et de l'eau lourde  $D_2O$  à 99,75 %.

Les spectres ont été enregistrés à 27°C sur un spectromètre BRUKER WP 80.

Nous n'avons pu étudier les composés de référence 5Pso- $C_3$  17 et 4',5'dh5Pso- $C_3$  18 dans le mélange  $D_2O$ -DMSO  $d_6$  (95:5), ceux-ci étant très peu solubles dans l'eau. Même le composé méthoxy-5 psoralène 1, un peu plus soluble dans l'eau n'a pu être étudié : après 60000 scans ( $c = 5,8 \times 10^{-5} M$ ) on obtient un spectre très difficilement interprétable. En ce qui concerne l'étude des modèles Thy- $C_4$ -5Pso 8d et Thy- $C_4$ -4',5'dh5Pso 15d, les concentrations utilisées sont environ de  $5 \times 10^{-5} M$ .

Dans les tableaux 1 et 2, nous avons reporté seulement les déplacements chimiques des protons aromatiques du psoralène (3, 4, 8, 4', 5') et des protons H 6 et  $CH_3$  de la thymine. Les protons 3,4 ainsi que les protons 4',5' du noyau psoralène sont couplés l'un avec l'autre et sont détectés sous la forme de doublets

$$J_{3,4} = 10 \text{ Hz}$$

$$J_{4',5'} = 2 \text{ Hz.}$$

Composé	C4H <sup>ad</sup>	C5'H <sup>ad</sup>	C8H <sup>ac</sup>	C4'H <sup>ad</sup>	C3H <sup>ad</sup>	C6H <sup>bc</sup>	C5CH <sub>3</sub> <sup>bc</sup>
Thy-C <sub>3</sub> <sup>*</sup>						7,36	1,72
Thy-C <sub>4</sub> -5Pso	8,25	7,67	7,16	6,99	6,27	7,17	1,45
Thy-C <sub>4</sub> -4',5'dh5Pso	8,05		6,44		6,14	7,25	1,57

Tableau 1 : Etude par RMN<sup>1</sup>H des composé Thy-C<sub>3</sub> 16, Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d.

spectres enregistrés à 27 °C dans un mélange D<sub>2</sub>O-DMSO d<sub>6</sub> (95:5) à la concentration de  $5 \times 10^{-5}$  M.

a : Protons du noyau psoralène ; b : Protons du noyau thymine ;

c : Protons détectés sous la forme de singulets ;

d : Protons détectés sous la forme de doublets.

\* Résultat identique à  $c = 10^{-4}$  M.



Composé	C4H <sub>ad</sub>	C5'H <sub>ad</sub>	C8H <sub>ac</sub>	C4'H <sub>ad</sub>	C3H <sub>ad</sub>	C <sub>bc</sub>	C5CH <sub>bc</sub> <sub>3</sub>
Thy-C <sub>3</sub>						7,47	1,68
5Pso-C <sub>3</sub>	8,15	7,97	7,30	7,25	6,26		
Thy-C <sub>4</sub> -5Pso	8,16	7,98	7,31	7,27	6,27	7,50	1,69
4',5'dh5Pso-C <sub>3</sub>	7,95	4,58	6,47	3,34	6,11		
Thy-C <sub>4</sub> -4',5'dh5Pso	7,98	4,59	6,48	3,35	6,11	7,50	1,69

Tableau 2 : Etude par RMN<sup>1</sup>H des composés de référence Thy-C<sub>3</sub> 16, 5Pso-C<sub>3</sub> 17, 4',5'dh5Pso-C<sub>3</sub> 18 et des composés modèles Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d. Spectres enregistrés à 27°C dans le DMSO d<sub>6</sub> pour des concentrations d'environ 10<sup>-3</sup> M.

a : Protons du noyau psoralène ; b : Protons du noyau thymine ;

c : Protons détectés sous la forme de singulets ;

d : Protons détectés sous la forme de doublets.



## D. ÉTUDE PHOTOCHEMIQUE :

### 1) INDICATIONS GÉNÉRALES :

#### 1°/ Conditions d'irradiation :

Les solvants utilisés sont de qualité dite "pour spectroscopie". L'eau a été bidistillée dans un appareillage en quartz peu avant utilisation ( $\text{pH} \simeq 6$ ). Dans le cas des essais préparatifs, nous avons utilisé de l'eau distillée.

#### - Irradiation à 365 nm.

Les récipients contenant les solutions à irradier sont en pyrex. Les solutions avant irradiation sont soigneusement désoxygénées par bullage d'argon U. Les récipients sont ensuite bouchés. Les solutions placées à 10 cm environ de la lampe sont agitées et refroidies (courant d'air comprimé) pendant toute la durée de l'irradiation.

L'irradiation à 365 nm se fait par une lampe à mercure haute pression PHILIPS HPW 125W.

L'éclairement énergétique arrivant sur les solutions, mesuré avec une thermopile KIPP et ZONEN est de 5 à 8  $\text{mW/cm}^2$ .

#### - Irradiation à 254 nm.

Les irradiations à 254 nm sont effectuées à l'air libre dans de petits cristallisoirs sans désoxygénation préalable. La lampe utilisée est une lampe à mercure basse pression PHILIPS TUV 15W.

L'éclairement énergétique reçu par les solutions placées à quelques centimètres est environ de 0,5  $\text{mW/cm}^2$ .

Les irradiations à 254 nm suivies par RMN sont réalisées dans des tubes en quartz contenant des solutions non désoxygénées.

## 2°/ Analyse des solutions irradiées et détection des photoproduits formés :

L'analyse des solutions se fait essentiellement par CLHP analytique (appareil WATERS ; colonne de phase inverse RP 18 10  $\mu$ m ou 18  $\mu$ m MERCK, programmeur de solvant 660, deux pompes M-5000 détecteur UV 440) et par CCM. Le programme d'élution dure 10 minutes et évolue linéairement au cours du temps.

t = 0	50 % eau 50 % méthanol-eau (95:5).
t = 10mn	100 % méthanol-eau (95:5).

Les photoproduits formés sont détectés par leur absorption à 254 nm et 365 nm ou 254 nm et 280 nm. En raison des faibles concentrations des solutions, les volumes injectés sont au minimum de 150-200  $\mu$ l.

2) RESULTATS - TABLEAUX :

\* Tableau 1 : Caractéristiques chromatographiques

(tR et  $\Lambda(254)$  des photoadduits intramoléculaires, des photodimères et des modèles ).

	Série psoralène						Série dihydro psoralène	
	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	n=12		
Adduit <u>20</u>	V x tR	2,05	2,45	3,30	3,80	4,30	6,55	<u>22d</u> 2,95
	A	3,1	3,0	2,50	2,9	3,6	3,2	
Modèle <u>8</u>	V x tR	3,65	4,00	4,40	4,85	5,40	7,20	<u>15d</u> 4,0
	A	1,75	1,55	1,58	1,75	1,88	1,66	
Photodimère <u>21</u>	V x tR		4,55	4,8	5,4	5,8	7,75	<u>23d</u> 4,5
	A		1,99	2,03	2,00	2,00	1,98	

Les valeurs des temps de rétention (tR) sont exprimées à une constante près V ; V (vitesse d'enregistrement) = 0,5 cm/mn).

Les rapports d'absorption A correspondent à :

$$A = \frac{\text{hauteur (cm) signal à 254 nm}}{\text{hauteur (cm) même signal à 280 nm}}$$

\* Tableau 2 : Irradiation du modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d en solution diluée ( $c = 10^{-5} M$ ) dans différents solvants : obtention du même photo-adduit 20 caractérisé par A (le temps de rétention tR est toujours le même).

Solvant	Ethanol	DMSO	Acétonitrile	Eau-DMF (50:50)	Eau-éthanol (95:5)	Méthanol	DMF
A( <u>20d</u> )	2,54	2,62	2,54	2,50	2,53	2,52	2,56
A( <u>8d</u> )	1,62	1,67	1,59	1,63	1,57	1,59	1,63

\* Tableau 3 : Irradiation des modèles Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d et Thy-C<sub>12</sub>-5Pso 81 en solution concentrée ( $c = 5 \times 10^{-4} M$ ) dans différents solvants : obtention des photodimères 21d et 211 caractérisés par les mêmes rapports A(254).

Solvant	Ethanol	DMSO	Acétonitrile	DMF	Eau-DMF	Acétone
A( <u>21d</u> )	2,06	2,08	2,05	2,06	2,04	2,00
A( <u>211</u> )				1,96	1,98	

\* Tableau 4 : Irradiation des modèles Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8d, 8l et du modèle Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d en solution concentrée (c = 5x10<sup>-4</sup>M) : variation du rapport R (avancement de la réaction) en fonction du solvant d'irradiation.

$$R = \frac{\text{hauteur signal photodimère } \underline{21}}{\text{hauteur signal modèle } \underline{8}} \quad (\text{à } 254\text{nm à un même temps d'irradiation})$$

Série psoralène :  $R_1 = \frac{h \text{ photodimère } \underline{21d}}{h \text{ modèle } \underline{8d}}$        $R_2 = \frac{h \text{ photodimère } \underline{21l}}{h \text{ modèle } \underline{8l}}$

Solvant	Concentration	Temps d'irradiation	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
DMSO	1,2 x 10 <sup>-3</sup>	1h30	-	25
	10 <sup>-3</sup>	1h10	7	-
	5 x 10 <sup>-4</sup>	1h30	2	-
		3h30	5	
	4 x 10 <sup>-4</sup>	1h15	-	12,5
Eau-DMF (50:50)	10 <sup>-3</sup>	2h30	1,8	1,1
	5 x 10 <sup>-4</sup>	1h	0,3	
		3h	0,7	
		5h	1	
DMF	10 <sup>-3</sup>	2h30	1,8	0,5
	5 x 10 <sup>-4</sup>	1h		
		1h30	0,55	
		3h30	1,2	
Acétone	2 x 10 <sup>-3</sup>	1h30		0,2
	5 x 10 <sup>-4</sup>	2h15	0,2	0,6
Ethanol	5 x 10 <sup>-4</sup>	1h30	0,5	
		3h30	1,25	
Acétonitrile	5 x 10 <sup>-4</sup>	6h	0,7	
Méthanol	1,3 x 10 <sup>-3</sup>	2h	0,3	
		8h	0,9	

Série dihydropsoralène :  $R' = \frac{h \text{ photodimère } 22d}{h \text{ modèle } 15d}$

Solvant	Concentration	Temps d'irradiation	R'
Eau-DMF (50:50)	$10^{-3}$	2mn	1,68
DMF	$10^{-3}$	25mn	0,10
Eau-acétonitrile (50:50)	$5 \times 10^{-4}$	30mn	0,5
Acétonitrile	$5 \times 10^{-4}$	30mn	0,06
Ethanol	$2,6 \times 10^{-4}$	12h	3,2
DMSO	$1,9 \times 10^{-3}$	2h30	4,15
Chlorure de méthylène	$5 \times 10^{-4}$	25mn	0,12



\* Tableau 5 : Irradiation des modèles 8d, 8l et 15d en présence et en absence d'oxygène : comparaison des rapports R.

$$R = \frac{\text{hauteur du signal à 254 nm du photoproduit à } t}{\text{hauteur du signal à 254 nm du modèle à } t = 0}$$

t = temps d'irradiation

	I	II	III	IV	V
	20d 8d	21d (a) 8d (b)	21l 8l	22d 15d	23d 15d
Absence d'O <sub>2</sub>	0,05	0,40 0,18	0,48	0,09	0,75
Présence d'O <sub>2</sub>	0,005	0,15 0,07	0,15	0,008	0,29

I : 8d ; Eau-éthanol (90:10) ; c = 2,6 x 10<sup>-5</sup>M ; t = 1h.

II : 8d ; a : DMSO ; c = 1,2 x 10<sup>-3</sup>M ; t = 1h30.

b : Eau-DMF (50:50) ; c = 1,4 x 10<sup>-3</sup>M ; t = 2h30

III : 8l ; DMSO ; c = 1,2 x 10<sup>-3</sup>M ; t = 1h30.

IV : 15d ; Eau-DMF (50:50) ; 10<sup>-3</sup>M ; t = 1h.

V : 15d ; Eau-DMF (50:50) ; 10<sup>-3</sup>M ; t = 1h.

\* Tableau 6 : Spectres de RMN  $^{13}\text{C}$  80MHz des composés 15d, 16 et 23d (DMSO  $d_6$ ) ;  $\delta$  exprimé en ppm.

<u>15d</u> : $\delta$	<u>16</u> : $\delta$	<u>23d</u> : $\delta$
163,0		166,2
162,2	162,6	162,2
158,3		159,3
153,9		150,3
149,6	149,2	149,7
148,9		148,8
139,3	139,6	139,2
137,4		
109,5		
108,1		108,1
106,5	106,7	106,6
103,4		102,7
90,1		90,1
70,5		69,5
69,1		67,6
45,0	47,1	45,0
25,5		26,2
24,4		24,3
23,0	20,5	22,7
9,9	10,0	9,9
	8,7	



Détermination des rendements quantiques  $\phi_D$

$$\phi_D = \frac{\left(\frac{\Delta c}{\Delta t}\right)_{t=0} \times V}{I \text{ absorbé}} = \frac{k C_0 V}{I_0 (1-10^{-D_0})}$$

- V = Volume de la solution dans la cuve
- C<sub>0</sub> = Concentration du composé à t = 0
- c = Variation de la concentration du composé irradié.
- D<sub>0</sub> = Valeur de la densité optique à la longueur d'onde d'irradiation (365 nm).
- I<sub>0</sub> = Intensité de la lumière incidente.

Le composé en solution, placé dans une cuve en quartz est irradié à 365 nm (sous courant d'argon). La disparition du composé de départ est suivie par UV. Les différents spectres enregistrés au cours de l'irradiation permettent de tracer  $\ln\left[\frac{(D_0)_{t=0}}{(D_0)_t}\right] = f(t)$  qui est une droite de pente k.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

- \* Thy-C<sub>n</sub>-5Pso 8b, 8c, 8l : eau-DMF (50:50) c = 10<sup>-5</sup>M  $\phi_D < 0,05$ .
- \* Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d :  
 eau-DMF (50:50) ; c = 10<sup>-5</sup>M  
 eau-éthanol (95:5) ; c = 10<sup>-5</sup>M  $\phi_D > 0,15$

### 3) OBTENTION ET CARACTERISATION DES PHOTOPRODUITS :

#### Irradiation de Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d : Obtention du photoproduit 20d :

Le composé Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d (140 mg ; 0,36 mmol) est dissous dans un mélange eau-éthanol (20 l ; 5 à 10 % d'éthanol ; c = 1,8 x 10<sup>-5</sup> M). Cette solution, après désoxygénation par barbotage d'argon (2 heures), est irradiée à 365 nm sous courant d'argon et sous agitation. L'avancement de la photoréaction est suivie par CLHP. Après 24 heures d'irradiation, on atteint un état photostationnaire, l'irradiation est arrêtée. Il reste encore du produit de départ. Pour éliminer l'eau, deux méthodes différentes ont été utilisées. La plus simple (mais la plus longue) consiste en l'évaporation sous pression réduite dans un appareil de type "cyclone". La seconde nécessite l'utilisation de la CLHP préparative. Des volumes d'environ 5 litres sont passés sur une colonne de silice : le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d ainsi que le photoproduit 20d restent adsorbés sur la silice tandis que l'eau s'écoule.

Après passage des 5 litres, le modèle Thy-C<sub>4</sub>-5Pso 8d ainsi que le photoadduit 20d sont élués par du méthanol. Les différentes fractions méthanoliques sont rassemblées et le méthanol est facilement éliminé par évaporation sous pression réduite. Le résidu sec, repris par du chlorure de méthylène, est chromatographié sur une colonne de silice (phase inverse) (élution avec CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Le photoadduit de même que le composé de départ restant sont ainsi séparés et récupérés. Après évaporation du chlorure de méthylène, le photoadduit 20d est lavé au pentane puis cristallisé dans l'éthanol (≈ 200 ml). Il est obtenu sous la forme de cristaux incolores (45 mg; 0,12 mmol).

Rendement : 30 à 40 % (sur plusieurs essais).

F : 335°C (décomposition).

RMN (DMSO d<sub>6</sub>) : δ = 9,65 (s large, 1H ; N3H thymine) ; 7,85 (d, 1H, J = 2,5Hz ; C5'H) ; 7,10 (dd, 1H, J = 2,5Hz, J ≤ 0,5Hz ; C4'H) ; 6,95 (s, 1H; C8H) ; 5,05-4,65 (m, 1H) ; 4,40-3,55 (massif intégrant pour 4H comportant plusieurs pics distincts) ; 3,55-2,85 (massif intégrant pour 2H au moins (pic H<sub>2</sub>O) comportant deux pics distincts) ; 2,35-

1,20 (massif intégrant pour 7H comportant un pic distinct à 1,40 (s, 3H ; C5-CH<sub>3</sub> thymine).

Masse (irradiation chimique CH<sub>4</sub>) ; M = 382,38 ; m/e : 411 (4 ; M<sup>+</sup>+29), 383 (100 ; M<sup>+</sup>1), 382 (10, M<sup>+</sup>), 203 (9 ; M<sup>+</sup>-Thy-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), 183 (29), 181 (98 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub><sup>+</sup>), 173 (10,5), 171 (9).

IR (KBr) : 3315 (large), 2950, 1750, 1670, 1600, 1485, 1465, 1395, 1365, 1345, 1275, 1250, 1215, 1125, 970, 890, 820, 780 cm<sup>-1</sup>.

UV<sub>max</sub> : EtOH : λ nm (ε) : 260 (12870) ; 227,5 (29690).  
eau-EtOH (95:5) : λ nm (ε) : 227,5 (27850).

Analyse, C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub> :

Calc. % : C 62,82    H 4,74    N 7,33

Tr. % :        62,70        4,70        7,33

Structure RX : déterminée.

Irradiation de Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b : obtention du photoproduit 20b :

Le composé Thy-C<sub>2</sub>-5Pso 8b (45 mg ; 0,13 mmol) est dissous dans le mélange eau-DMF (40:60) (200 ml ; c = 6,5 x 10<sup>-4</sup>M). La solution fluorescente verte est désoxygénée par barbotage d'argon. La solution contenue dans un flacon bouché est irradiée pendant 3 heures (avec agitation). L'évolution de la photoréaction est suivie par CLHP (disparition totale du produit de départ après 3 heures d'irradiation - 1 seul pic visible) détecté à 254 nm. Le solvant est ensuite évaporé et le photoadduit 20d est lavé avec de l'eau (27 mg ; 0,08 mmol).

Rendement : 60 %.

RMN (DMSO d<sub>6</sub>) : δ = 9,90 (s, 1H ; N3H thymine) ; 7,90 (d, 1H, J = 2Hz ; C5'-H) ; 7,10 (s, 1H ; C8H) ; 6,95 (dd, 1H, J = 2Hz ; J < 1Hz ; C4'H) ; 4,6-2,00 (massif complexe intégrant pour 5H comportant plusieurs pics

distincts à 4,45 ; 4,35 ; 4,00 ; 3,90 ; 3,80 ; 3,55 ; 3,45 ; 2,80 ; 2,55) ; 2,05 (massif intégrant pour 5H comportant deux pics distincts à 1,50 (s, 3H ; C5CH<sub>3</sub> thymine) et 1,15.

Masse (impact électronique) ; M = 354,33 ; m/e : 354 (1,2 ; M<sup>+</sup>), 202 (5,6 ; M<sup>+</sup>-Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 174 (6,1 ; PsoOH<sup>+</sup>-CO), 153 (100 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub><sup>+</sup>), 110 (8,8), 73 (9,5), 59 (22), 58 (10), 55 (5,8).

#### Irradiation de Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d ; obtention de 22d :

Le modèle Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d (124 mg ; 0,32 mmol) en solution dans le mélange eau-éthanol (95:5) (20 l ; c=1,6 x 10<sup>-5</sup>M) est irradié à 365 nm après désoxygénation par barbotage d'argon (2 heures). L'évolution de la réaction est suivie par CLHP. La fin de la photoréaction est marquée par la disparition de la fluorescence bleutée de la solution. Après 5 heures d'irradiation la réaction est terminée. Le solvant est éliminé par évaporation. Le résidu sec contenant principalement le photoproduit 22d plus quelques sous produits (entre autres le photodimère) en très faible quantité (analyse CLHP), est cristallisé directement dans le méthanol (sans autre purification préalable).

Le photoadduit est obtenu sous forme de cristaux incolores (63 mg ; rendement : 50 %).

F > 305°C.

RMN (DMSO d<sub>6</sub>) : δ = 9,94 (s, 1H ; N3H thymine) ; 6,07 (s, 1H ; C8H) ; 4,70-2,70 (massif intégrant pour 11 protons comportant plusieurs pics distincts à 3,15 ; 3,30 ; 3,35 ; 3,75 ; 3,90 ; 4,00 ; 4,10 ; 4,20 ; 4,35 ; 4,50 ; 4,65) ; 2,35-1,25 (massif intégrant pour 7 protons comportant un pic bien distinct à 1,37 (s, 3H, C5CH<sub>3</sub> thymine).

Masse (impact électronique) ; M = 384,39 ; m/e : 384 (20, M<sup>+</sup>), 203 (43, M<sup>+</sup>-Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), 182 (12,5), 181 (77 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub><sup>+</sup>), 139 (43, Thy-CH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 138 (14), 127 (30), 109 (10), 96 (100), 91 (15), 69 (20),

55 (56), 43 (18), 41 (25).

(ionisation chimique  $\text{CH}_4$ ) ;  $M = 384 : m/e : 413 (3,2 ; M^{+29}), 385 (26,4 ; M^{+1}), 384 (1,4 ; M^{+})$  et coupures identiques à celles obtenues par impact électronique.

IR (KBr) : 3320, 2950, 1750, 1690, 1610, 1480, 1440, 1380, 1335, 1250, 1160, 1110, 1010, 990, 960, 860, 815, 770, 755, 710  $\text{cm}^{-1}$ .

UV<sub>max</sub> : EtOH :  $\lambda$  nm ( $\epsilon$ ) : 222 (26320).

Analyse,  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$  :

Calc. % : C 62,49 H 5,24 N 7,29

Tr. % : 62,24 5,17 7,16

Irradiation de Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d : obtention du photodimère 23d :

Le modèle Thy-C<sub>4</sub>-4',5'dh5Pso 15d (90 mg ; 0,23 mmol) est dissous dans le mélange eau-DMF (50:50) (40 ml ;  $c=5,8 \times 10^{-3}\text{M}$ ). Après désoxygénation par barbotage d'argon (30 minutes), la solution est irradiée à 365 nm. Après 4 à 5 heures d'irradiation, le photodimère 23d commence à précipiter. L'irradiation est arrêtée et la solution est mise à 0°C pour faciliter la précipitation. Le photodimère est filtré, lavé à l'eau et séché. Il est obtenu à l'état pur sous la forme d'une poudre blanche ( $m = 65$  mg).

Rendement : 70 %.

F : 164-170°C.

RMN (DMSO  $d_6$ ) :

Thymine :  $\delta = 11,10$  (s, 2H ; 2N3H) ; 7,30 (d, 2H,  $J < 1\text{Hz}$  ; 2C<sub>6</sub>H) ; 1,70 (d, 6H,  $J < 1\text{Hz}$  ; 2C<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>).

Psoralène et chaîne polyméthylénique :  $\delta = 6,10$  (s, 2H ; 2C8H) ; 4,70-

2,90 (massif intégrant pour 20 protons comportant différents massifs: 4,70-4,20 (4H) ; 4,20-3,50 (8H) ; 3,50-2,90 (8H) ; plusieurs pics sont distincts à 4,45 ; 3,90 ; 3,80 ; 3,75 ; 3,35) ; 1,25 (s large, 8H ; 2-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-).

RMN<sup>13</sup>C (DMSO d<sub>6</sub>) :

Thymine : δ = 162,2 (C<sub>4</sub>) ; 149,7 (C<sub>2</sub>) ; 139,2 (C<sub>6</sub>) ; 106,6 (C<sub>5</sub>) ; 45,0 (N1-CH<sub>2</sub>) ; 9,9 (C5-CH<sub>3</sub>).

Autres pics à : δ = 166,2 ; 159,3 ; 150,3 ; 148,8 ; 108,9 ; 102,7 ; 90,1 ; 69,5 ; 67,6 ; 26,2 ; 24,3 ; 22,7.

Masse (impact électronique) ; M = 768,78 ; m/e : 384 (11,3 ; M<sup>+</sup>/2), 203 (36,0 ; M<sup>+</sup>/2-Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), 181 (83,0 ; Thy(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub><sup>+</sup>), 139 (44,1 ; Thy-CH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 127 (37,0), 96 (100), 55 (37,0).

(ionisation chimique CH<sub>4</sub>) ; m/e : 413 (12, M<sup>+</sup>/2+29) , 385 (100, M<sup>+</sup>/2+1), 384 (24, M<sup>+</sup>/2).

IR (KBr) : 3700-3300, 3150, 3040, 2930, 1770, 1675, 1615, 1455, 1355, 1315, 1165, 1120, 975, 810 cm<sup>-1</sup>.

UV<sub>max</sub> : EtOH : λ nm (ε) : 270 (25670).

Analyse, C<sub>40</sub>H<sub>40</sub>N<sub>4</sub>O<sub>12</sub>, 2H<sub>2</sub>O :

Calc. % :	C 59,69	H 5,51	N 6,96
Tr. % :	59,29	5,33	7,02

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

1. A. MUSTAFA : "Fuopyrans and Fuopyrones" (J. WILEY Ed.), Interscience New-York, (1967), p. 14.
2. H. KUSKE, Archiv. Dermatol. Syphil., (1938), 178, 112.
3. A.M. EL MOFTY, J. Roy. Egyptian M.A., (1948), 31, 651 ; *ibid.*, (1952) 35, 1 ; Brit. J. Dermatol., (1952), 64, 431.
4. L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, *Experientia*, (1962), 18, 153.
5. J.A. PARRISH, T.B. FITZPATRICK, L. TANENBAUM, M.A. PATHAK, *New Engl. J. Medicin.* , (1974), 291, 1207.
6. A. SARASIN, *La Recherche*, (1982), 920.
7. Articles revues : L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, *Photophysiology*, (1972), 7, 115 ; O.S. SONG, K.J. TAPLEY Jr., *Photochem and Photobiol.*, (1979) 29, 1177.
8. D.D. GRUBE, R.D. LEY, R.J. FRY, *Photochem. and Photobiol.*, (1977), 25, 269.
9. F. ZAJDELA, E. BISAGNI, *Carcinogenesis*, (1981), 2, 121.
10. G. RODIGHIERO, F. DALL'ACQUA, *Photochem. and Photobiol.*, (1976), 24, 647 ; B.J. PARSONS, *Photochem. and Photobiol.*, (1980), 32, 813.
11. M. GRANGER, F. TOULME, C. HELENE, *Photochem. and Photobiol.*, (1982), 36, 175.
12. F.M. VERONESE, O. SCHIAVON, R. BEVILACQUA, F. BORDIN, G. RODIGHIERO, *Photochem. and Photobiol.*, (1982), 36, 25.
13. L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, G. CAPORALE, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, (1954) 1213.
14. M.A. PATHAK, J.H. FELLMAN, *Nature*, (1960), 185, 382.
15. M.A. PATHAK, J.H. FELLMAN, K.D. KAUFMAN, *J. Invest. Dermatol.*, (1960) 35, 165.
16. F. WESSELY, J. KOTLAN, *Monatsch.*, (1955), 86, 430.
17. G. RODIGHIERO, V. CAPPELLINA, *Gazzetta* , (1961), 91, 103.

18. F. DALL'ACQUA, G. RODIGHIERO, Atti. Accad. naz. Lincei, Rend. Classe. Sci. fis. mat. nat., (1966), 40, 411.
19. L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, F. DALL'ACQUA, Experientia, (1965), 21, 24.
20. L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, F. DALL'ACQUA, Experientia, (1965), 21, 22.
21. C.H. KRAUCH, D.M. KRAMER, A. WACKER, Photochem. and Photobiol., (1967), 6, 341.
22. L. MUSAJO, F. BORDIN, G. CAPORALE, S. MARCIANI, G. RIGATTI, Photochem and Photobiol., (1967), 6, 711.
23. L. MUSAJO, F. BORDIN, R. BEVILACQUA, Photochem. and Photobiol., (1967), 6, 927.
24. B.S. HAHN, P.C. JOSHI, L.S. KAN, S.Y. WANG, Photobiochem. and Photobiophys., (1981), 3, 113.
25. K. STRAUB, D. KANNE, J.E. HEARST, H. RAPOPORT, J. Amer., Chem. Soc., (1981), 103, 2347.
26. D. KANNE, K. STRAUB, J.E. HEARST, H. RAPOPORT, J. Amer. Chem. Soc., (1982), 104, 6754.
27. D. KANNE, K. STRAUB, H. RAPOPORT, J.E. HEARST, Biochemistry, (1982), 21, 861.
28. C.H. KRAUCH, S. FARID, Chem. Ber., (1967), 100, 1685.
29. S. MARCIANI, F. DALL'ACQUA, P. RODIGHIERO, G. CAPORALE, G. RODIGHIERO, Gazzetta, (1970), 100, 435.
30. J. GERVAIS, F.C. DE SCHRYVER, Photochem. and Photobiol., (1975), 21, 71.
31. J. GERVAIS, N. BOENS, F.C. DE SCHRYVER, Nouv. J. Chim., (1979), 3, 163.
32. E.J. LAND, F.A. RUSHTON, R.L. BEDDOES, J.M. BRUCE, R.J. CERNIK, S.C. DAWSON, O.S. MILLS, J.C.S. Chem. Comm., (1982), p. 22.
33. J. CADET, L. VOITURIEZ, P.C. JOSHI, S.Y. WANG, Abst. Annual. Congr. Photobiol. Vancouver, (1982), 26 juin - 1er juillet.
34. J. CADET, L. VOITURIEZ, F. GABORIAU, P. VIGNY, S. DELLA NEGRA, Photochem. and Photobiol., (1983), 37, 363.
35. S. C. SHIM, Y. Z. KIM, Photochem. and Photobiol., (1983), 38, 265.
36. F. DALL'ACQUA, S. CAFFIERI, D. VEDALDI, A. GUIOTTO, P. RODIGHIERO, Photochem. and Photobiol., (1983), 37, 373.
37. S. PECKLER, B. GRAVES, D. KANNE, H. RAPOPORT, J.E. HEARST, S.H. KIM, J. Mol. Biol., (1982), 162, 157.

38. a) J. BOLTE, C. DEMUYNCK, J. LHOMME, J. Amer. Chem. Soc. (1976), 98, 613.  
b) J. BOLTE, C. DEMUYNCK, J. LHOMME, J. Medicin. Chem., (1977), 20, 1607.  
c) J. BOLTE, C. DEMUYNCK, J. LHOMME, Bull. Soc. Chim. France, (1980), p. 316.  
d) J. BOLTE, C. DEMUYNCK, J. LHOMME, M.C.FOURNIE-ZALUSKI, B.P. ROQUES, Biochemistry, (1979), 18, 4928.
39. J. BOLTE, C. DEMUYNCK, M.F. LHOMME, J. LHOMME, J. BARBET, B.P. ROQUES, J. Amer. Chem. Soc., (1982), 104, 760.
40. J. FAHY, Thèse de 3ème Cycle, Lille, (1982).
41. a) A. CASTELLAN, J.P. DESVERGNE, Photochem. and Photobiol., (1981), 34, 183.  
b) J.P. BIDEAU, G. BRAVIC, C. COURSEILLE, A. CASTELLAN, J.P. DESVERGNE Eur. J. Medicin. Chem., (1982), 17, 95.
42. J.L. DECOUT, Thèse de Doctorat ès Sciences, Lille, 1983.
43. S.C. SHIM, J.S. KOH, H.K. SHIM, Photochem. and Photobiol., (1983), 38, 369.
44. D. BROWNE, J. EISINGER, N.J. LEONARD, J. Amer. Chem. Soc., (1968), 90, 7302.
45. N. J. LEONARD, R.S. Mc CREEDIE, M.W. LOGUE, R.L. CUNDALL, J. Amer. Chem. Soc., (1973), 95, 2320.
46. T. NISHIMURA, I. IWAI, Chem. and Pharm. Bull. (Japan), (1964), 12, 352.
47. N.J. LEONARD, K. GOLANKIEWICZ, R.S. Mc CREEDIE, S.M. JOHNSON, J.C. PAUL, J. Amer. Chem. Soc., (1962), 91, 5855.
48. K. GOLANKIEWICZ, Heterocycles, (1977), 7, 1.
49. F. KAZMIERCZAK, J. LANGER, K. GOLANKIEWICZ, Roczniki Chemii Ann. Soc. Chim. Polonorum, (1973), 47, 1943.
50. G.I. FEUTRILL, R.N. MIRRINGTON, Tetrahedron Letters, (1970), 16, 1327.
51. A. SCHONBERG, G. AZIZ, J. Amer. Chem. Soc., (1955), 77, 2563.
52. a) N. ECKHARD, Ger. Offen., (1977), 2, 724, 207.  
b) L. RENE, J.P. BUISSON, R. ROYER, Bull. Soc. Chim. France, (1975), p. 2763.  
c) R. ROYER, J.P. LECHARTIER, P. DEMERSEMAN, Bull. Soc. Chim. France, (1971), 1707.

53. E. SPATH, G. KUBICZEK, Chem. Ber., (1937), 70, 1253.
54. W. STECK, B.K. BAILEY, Canad. J. Chem., (1969), 47, 3577.
55. C. ANTONELLO, S. MARCIANI-MAGNO, O. GIA, F. CARLASSARE, F. BACCICHETTI  
F. BORDIN, Il Farmaco, Ed. Sci., (1979), 34, 139.
56. G. RODIGHIERO, G. CAPORALE, Farmaco, Ed. Sci., (1955), 10, 760.
57. a) I. TINOCO Jr., J. Amer. Chem. Soc., (1960), 82, 4785 ; (1961),  
83, 5047.  
b) W. RHODES, J. Amer. Chem. Soc., (1961), 83, 3609.
58. C. ALLEN BUSH, P.O.P. TS'O : "Basic Principles in Nucleic Acid  
Chemistry" (P.O.P. TS'O Ed.), Academic press, New-York, Londres 1974  
Vol. II.
59. K.I. OKAMOTO, A. ITAYA, S. KUSABAYASHI, Chem. Letters, (1974), 1167
60. M.M. WARSHAW, I. TINOCO Jr., J. Mol. Biol., (1966), 20, 29.
61. J.L. DECOUT, J. LHOMME, Tetrahedron Letters, (1981), 22, 1247.
62. J.L. DECOUT, J. LHOMME, Photochem. and Photobiol., (1983), 37, 155.
63. N.S. KONDO, K.N. FANG, P.S. MILLER, P.O.P. TS'O, Biochemistry,  
(1972), 11, 1991.
64. P.O.P. TS'O, N.S. KONDO, M.P. SCHWEIZER, D.P. HOLLIS, Biochemistry,  
(1969), 8, 997.
65. B. GAUGAIN, J. BARBET, R. OBERLIN, B.P. ROQUES, J.B. LE PECQ,  
Biochemistry, (1978), 24, 5071.
66. C. GIESSNER-PRETTRE, B. PULLMAN, Biochem. Biophys. Research. Comm.,  
(1976), 70, 578.
67. a) S.Y. WANG, J. Amer. Chem. Soc., (1971), 93, 2768.  
b) S.Y. WANG, D. F. RHOADES, ibid., (1971), 93, 2554.
68. P.S. SONG, M.L. HARTER, T.A. MOORE, W.C. HERNDON, Photochem. and  
Photobiol., (1971), 14, 521.
69. W.W. MANTULIN, P.S. SONG, J. Amer. Chem. Soc., (1973), 95, 5122.
70. T.A. MOORE, A.B. MONTGOMERY, A.L. KWIRAM, Photochem. and Photobiol.  
(1976), 24, 83.
71. R. BEVILACQUA, F. BORDIN, Photochem. and Photobiol., (1973), 17,  
191.
72. R.V. BENSASSON, E.J. LAND, C. SALET, Photochem. and Photobiol.,  
(1978), 27, 273.
73. P.C. BEAUMONT, B.J. PARSONS, G.O. PHILLIPS, J.C. ALLEN, Biochim.  
Biophys. Acta, (1979), 562, 214.

74. K. ZACHARIASSE, W. KUHNLE, Z. Physik. Chem., (1976), 101, 267.  
75. G. RODIGHIERO, F. DALL'ACQUA, G. CHIMENTI, Ann. Chim. (Italia), (1968),  
58, 551.

-o-o-o-o-o-o-o-o-o-o-

