

50376
1986
111

50376
1986
111

N° d'ordre : 50

T H E S E

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE FLANDRES ARTOIS

pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN CHIMIE

Spécialité : Chimie Organique et Macromoléculaire

par

Abderrahim W A R D A N I

" RECHERCHE DE NOUVEAUX INTERCALANTS DU DNA :
SYNTHESE DE BENZO(b)PHENANTHROLINES-1,7 ET DE PYRROLOACRIDINES"

Soutenue le 18 Juillet 1986 devant la Commission d'Examen

Professeurs	R. CARRIE	Président, Rapporteur
	M. DEBAERT	Rapporteur
	E. BISAGNI	Examineur
	J. FAHY	Examineur
	B. HECQUET	Examineur
	J. LHOMME	Examineur



Ce travail a été réalisé au laboratoire de Chimie Organique Biologique de l'Université des Sciences et Techniques de LILLE - FLANDRES - ARTOIS, sous la direction de Monsieur le Professeur J. LHOMME.

Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour les enseignements et les conseils qu'il m'a prodigués et pour la disponibilité dont il a su faire preuve au long de mon travail.

Je remercie Monsieur R. CARRIE, Professeur à l'Université de RENNES I d'avoir accepté la présidence de mon Jury.

Mes plus vifs remerciements s'adressent également à Monsieur M. DEBAERT, Professeur à la faculté de Pharmacie de LILLE, qui a bien voulu être rapporteur de cette thèse.

Je remercie Monsieur E. BISAGNI directeur de recherche CNRS, Monsieur J. FAHY ingénieur de recherche à la Société Fabre ainsi que Monsieur B. HECQUET, Directeur de Recherche à l'Hopital Oscar Lambret qui a accepté de faire partie de mon jury.

J'exprime ma reconnaissance à Monsieur J.E. ANDERSON, Professeur à l'University College de LONDRES ainsi qu'à Monsieur J. MELLOR, Professeur à l'Université de SOUTHAMPTON pour les discussions fructueuses que nous avons eues lors de leurs séjours au laboratoire.

Je tiens également à remercier Madame M.F. LHOMME pour toute l'aide qu'elle m'a apportée lors de la rédaction de ce travail.

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

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

Messieurs B. MOUCHEL et P.W. WATKIN du service de RMN pour leurs conseils et leur aide technique.

Monsieur G. RICART responsable du spectromètre de masse.

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

Madame R. DRUON et Monsieur F. DUPLATEAU qui ont participé avec beaucoup de gentillesse à la réalisation de ce manuscrit.

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

S O M M A I R E

- - o o 0 o o - -

PREMIERE PARTIE : INTRODUCTION.

I.	Résumé.....	1
II.	Rappel Bibliographique.....	5
III.	Introduction.....	16

DEUXIEME PARTIE : SYNTHESE DE L'AMINO-10 BENZO (b) PHENANTHROLINE-1,7 31 ET LE 3H-PYRROLO (2,3-c) AMINO-9 ACRIDINE 37b.

IV.	Schéma général de synthèse.....	31
V.	Protection de la proflavine. <u>1</u>	34
VI.	Activation de la proflavine monoacétylée <u>14</u> par le chlorure de mésyle.....	46
VII.	Cyclisation.....	54
VIII.	Activation de la proflavine monoacétylée <u>14</u> par le chlorure de tosyle.....	66
IX.	Deuxième schéma de synthèse du dérivé <u>31</u>	74
X.	Synthèse de la 3H-pyrrolo (2,3-c) amino-9 acridine <u>37b</u>	82

TROISIEME PARTIE : DERIVES DE L'AMINO-10 BENZO (b) PHENANTHROLINE-1,7 31.

XI.	Etude de l' amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 <u>31</u>	89
XII.	Tests biologiques.....	110
XIII.	Conclusion.....	112

QUATRIEME PARTIE : ANNEXES

Synthèse de "l'hétérodimère" : Proflavine-(CH₂)₃-cytosine....115
Synthèse d'un macrocycle azoté.....125

PARTIE EXPERIMENTALE :.....133

BIBLIOGRAPHIE :.....175

PREMIERE PARTIE

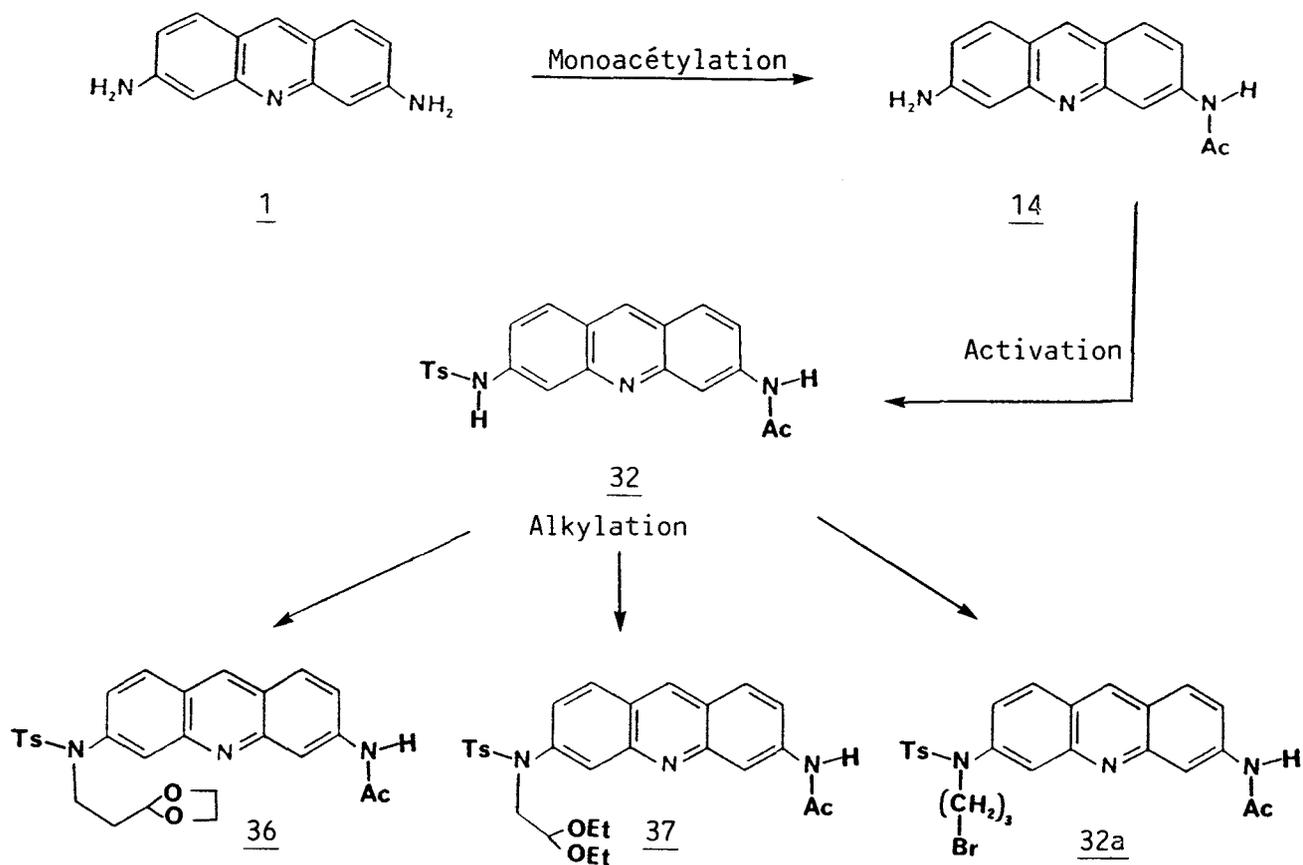
-- 0 0 0 0 0 0 0 0 --

INTRODUCTION

I. RESUME :

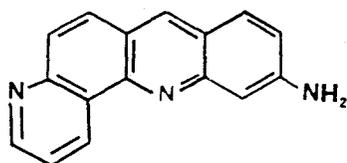
Ce travail a trait à la synthèse de nouvelles molécules tétracycliques susceptibles de s'intercaler dans le DNA et de posséder des propriétés antitumorales. Ces molécules sont obtenues à partir de la diamino-3,6 acridine, molécule connue pour ses activités biologiques importantes (1, 2, 3, 4, 5).

Nous avons protégé la diamino-3,6 acridine 1 par monoacétylation d'une fonction amine (dans l'acide propionique en présence d'anhydride acétique à -20°C). La nucléophilie de l'autre atome d'azote est augmentée par sulfonylation de la proflavine monoacétylée 14.

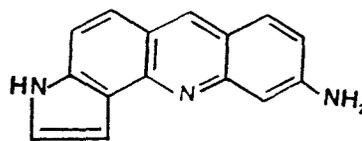


L'alkylation de la proflavine monoacétylée, monotosylée 32 a permis d'obtenir les dérivés suivants : la (N-acétyl, N'-(propionaldéhyde éthylène-acétal), N'-tosyl) diamino-3,6 acridine 36, la (N-acétyl, N'-(acétaldéhyde diéthyl-acétal), N'-tosyl) diamino-3,6 acridine 37, la (N-acétyl, N'-(bromo-3 propyl), N'-tosyl) diamino-3,6 acridine 32a.

Nous avons formé l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 et la 3H-pyrrolo(2,3-c)amino-9 acridine 37b par cyclisation intramoléculaire et hydrolyse des groupes protecteurs à partir des dérivés 36 et 37 respectivement.



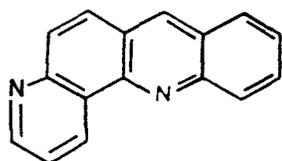
31



37b

L' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 est obtenue également par réaction entre la proflavine monoacétylée 14 et le tétraméthoxy-1,1,3,3 propane, puis hydrolyse du (N-acétyl) amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 14b obtenue.

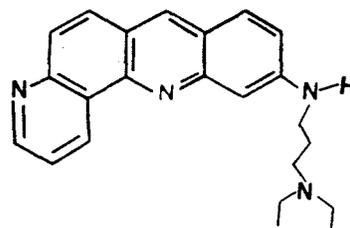
Les tests biologiques réalisés *in vitro* sur des cellules cancéreuses ont révélé des activités cytotoxiques chez ces nouvelles molécules 37b, 14b et 31. Quelques modifications structurales ont été apportées sur le dérivé le plus actif 31 dans le but d'augmenter son activité antitumorale : trois dérivés de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 ont été préparés ; la benzo(b)phénanthroline-1,7 34, le méthyl sulfate de méthyl-4 amino-10 benzo(b)phénanthrolinium-1,7 31b et la ((diéthylamino)-3 propyl) amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 46.



34



31b

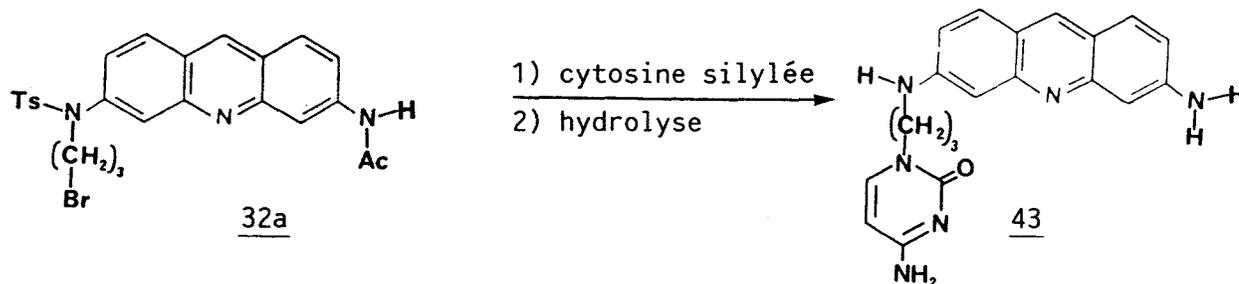


46

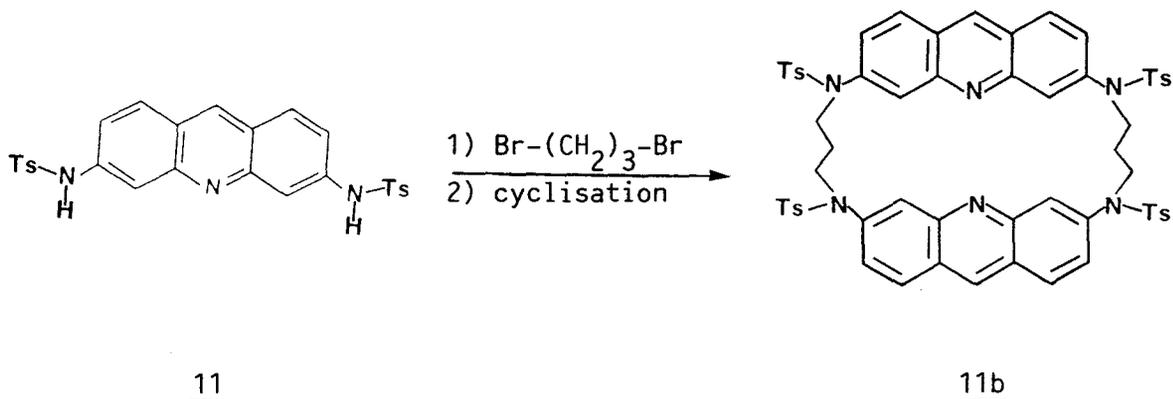
Les dérivés 34 et 31b sont obtenus successivement par désamination et quaternisation de l'atome d'azote pyridinique (en position 4) de l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31. Le dérivé 46 est obtenu au départ du (N-acétyl, N'-(bromo-3 propyl), N'-tosyl) diamino-3,6 acridine 32a par l'intermédiaire de la réaction de SKRAUP, suivie de la condensation entre le dérivé bromé obtenu 44 et la diéthylamine.

Les réactions de modification de la proflavine 1 mises au point dans ce travail ont été également utilisées pour atteindre d'autres objectifs développés en collaboration dans le laboratoire :

- Le modèle cytosine-(CH₂)₃-proflavine 43 servant pour l'étude des interactions moléculaires entre un intercalant et un couple de bases complémentaires a été synthétisé par réaction de condensation entre la (N-acétyl, N'-(bromo-3 propyl), N'-tosyl) diamino-3,6 acridine 32a et la cytosine silylée, suivie de l'hydrolyse acide du produit 42 obtenu.



- Nous avons également étudié la réactivité de la proflavine 1 vis-à-vis du chlorure de tosylo : la proflavine ditosylée 11 obtenue a été exploitée pour la synthèse du macrocycle 11b.



Des tableaux reprenant les principaux produits cités dans ce travail et leurs caractéristiques RMN ¹H apparaissent aux pages 171, 172 et 173.

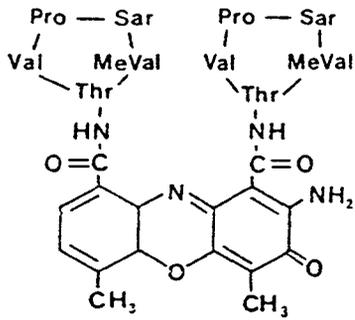
II. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES :

Un certain nombre de substances, toutes constituées de plusieurs noyaux aromatiques condensés, ayant des propriétés pharmacologiques diverses (antitumorales, antiparasitaires, antibactériennes), sont capables de se fixer sur le DNA.

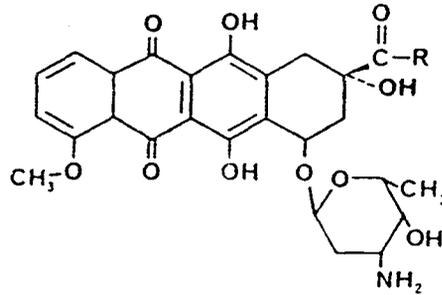
Parmi ces substances on trouve des "drogues" antitumorales, telles que l'actinomycine D (6), l'adriamycine (7), l'ellipticine (8, 9) et les amino acridines (10), qui interagissent fortement in vitro avec le DNA (11, 12).

La découverte du code génétique (13) et l'établissement de la structure du DNA par WATSON et CRICK (14) ont conduit de nombreux auteurs à étudier les interactions de cette macromolécule avec des dérivés biologiquement actifs, à structure aromatique plane (15). PEACOCKE et SKERRET (16) ont montré que la proflavine se complexe fortement au DNA par l'intermédiaire de deux types d'interactions.

- La plus faible (d'énergie d'activation de $2 \text{ Kcal. mole}^{-1}$) correspond à une liaison ionique entre le noyau acridine, protoné à pH physiologique, et les résidus phosphates du DNA (figure 1).

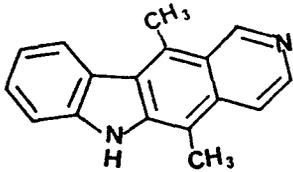


Actinomycine D

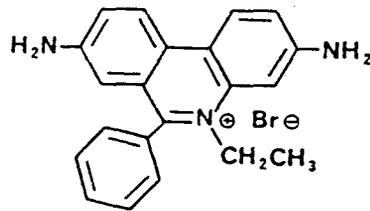


Daunomycine R = CH₃

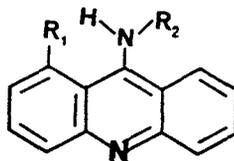
Adriamycine R = CH₂OH



Ellipticine



Bromure d'éthidium



Aminoacridine

Ledacrine R₁=NO₂, R₂=(CH₂)₃-N(CH₃)₂



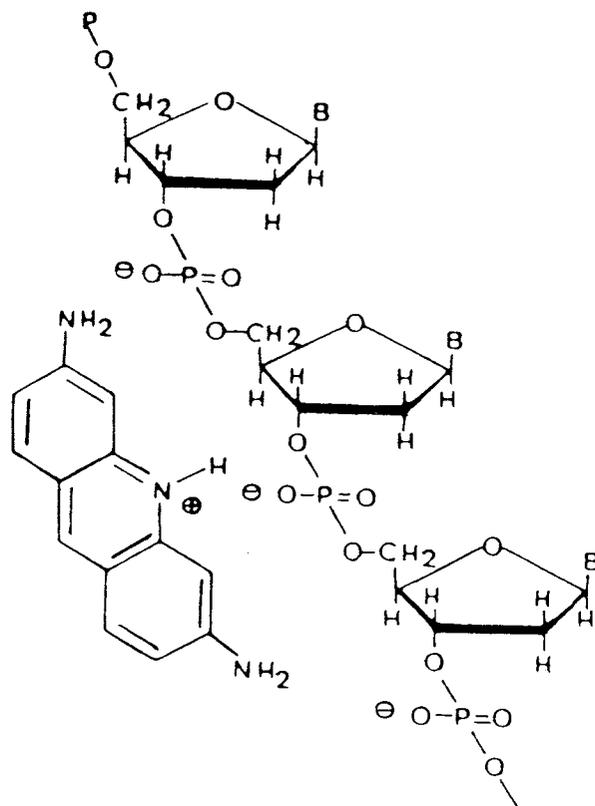


Figure 1 : Mode de liaison externe entre proflavine et DNA

- La nature du second type d'interaction a été proposée par LERMAN en 1961 : il s'agit de l'intercalation de la molécule plane, qui vient s'insérer entre deux plateaux de bases nucléiques (17). Ceux-ci formant des plans parallèles distants de 3,4 Å, ce phénomène nécessite une déformation du DNA : l'énergie d'activation mesurée est de l'ordre de 10 Kcal. mole⁻¹.

Il faut donc que deux paires de bases adjacentes s'écartent l'une de l'autre pour que la proflavine puisse s'intercaler, ce qui revient globalement à un allongement de la macromolécule (Figure 2).

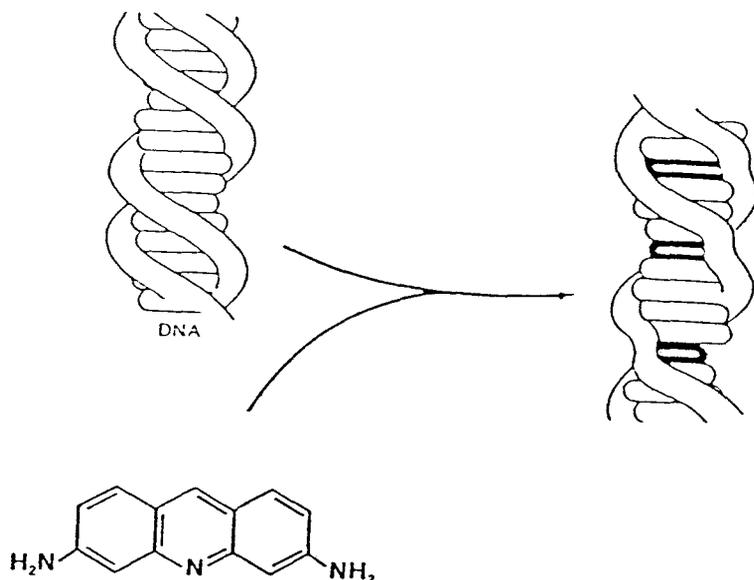


Figure 2 : Représentation schématique de l'intercalation de la proflavine avec allongement du DNA.

De très nombreuses études physicochimiques confirmèrent cette proposition (diminution de la constante de sédimentation, augmentation de la viscosité et augmentation de la température de fusion du DNA (18)). Beaucoup d'entre elles furent effectuées sur le bromure d'éthidium depuis la mise en évidence et les premières caractérisations de son interaction avec le DNA (19, 20, 21) jusqu'à la cristallisation du complexe dinucléotide-éthidium qui a permis la visualisation directe du complexe et la détermination de la structure par radiocristallographie (22) (Figure 3).

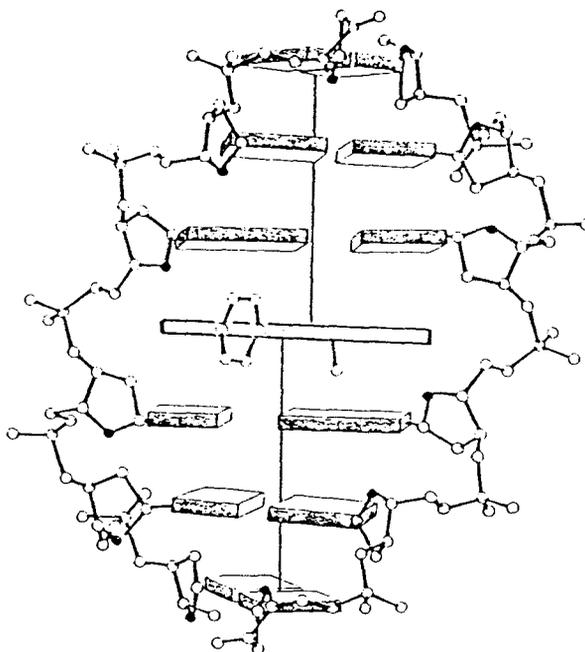


Figure 3 : Schéma d'intercalation du bromure d'éthidium.

Parmi les effets les plus caractéristiques observés pour une molécule intercalée, on relève la perturbation du spectre d'absorption (Figure 4).

- Effet hypochrome : diminution de l'absorption dans toute la zone du spectre.
- Effet bathochrome : déplacement du maximum d'absorption vers les grandes longueurs d'onde (23).

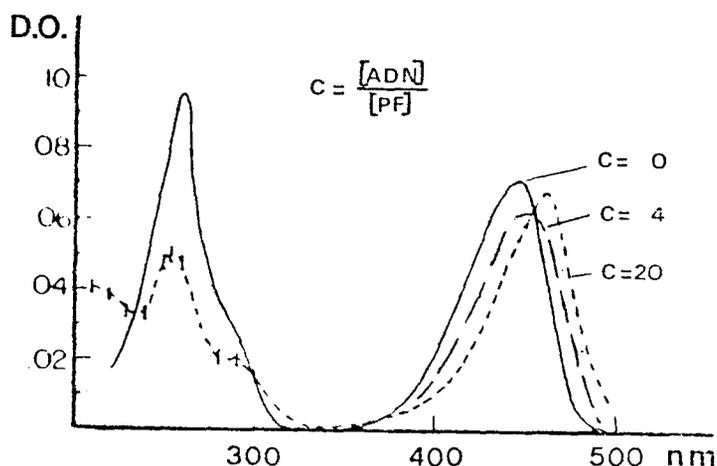


Figure 4 : Variation du spectre U.V. de la proflavine en présence de concentration croissante de DNA (d'après WEILL et CALVIN).

Lorsque les acridines sont ainsi complexées, elles acquièrent une activité optique, par effet COTTON induit, ce qui rend possible leur étude par dichroïsme circulaire. Cette dernière constatation montre bien que l'intercalation est asymétrique, l'intercalant adoptant une certaine orientation vis-à-vis des bases nucléiques (24).

Les études de fluorescence apportent également des renseignements précieux pour l'étude des interactions spécifiques intercalants - bases nucléiques. On observe une diminution de l'intensité de fluorescence de la proflavine lorsqu'elle est intercalée (23, 25), et il y a une relation linéaire entre cette décroissance et le pourcentage de paires de bases guanine-cytosine (26, 27).

L'interprétation de ces différents types de mesures a amené les conclusions suivantes sur le mécanisme et la géométrie de l'intercalation des acridines (24, 28).

- L'énergie de liaison est d'environ 10Kcal. mole^{-1} .
- La longueur du DNA augmente avec le nombre de molécules intercalées.
- Les trois noyaux aromatiques des acridines ont une surface de 38 \AA^2 , correspondant à peu près à la surface de deux bases complémentaires appariées ($\approx 50 \text{ \AA}^2$). Par exemple les quinoléines, composés bicycliques, présentent des interactions moins fortes avec les bases nucléiques (29).
- En plus des interactions de type VAN DER WALLS entre les noyaux aromatiques empilés, une force électrostatique semble intervenir : la protonation sur l'azote hétérocyclique des acridines stabilise l'intercalation.
- L'intercalant se trouve dans un plan parallèle à celui des bases nucléiques, et l'appariement de celles-ci par liaisons hydrogène n'est pas ou peu modifié.

D'un point de vue biologique, les agents intercalants possèdent des propriétés très diverses. Certains appartiennent à la classe des antibiotiques utilisés dans la chimiothérapie du cancer, comme l'actinomycine, l'adriamycine et la daunorubicine (30) (p. 6). Des dérivés photosensibles comme les psoralènes (p. 12) ont une activité importante dans le traitement de maladies de la peau (psoriasis) (31). D'autres sont antimalariques, les plus connus étant la chloroquine et la quinacrine (32).

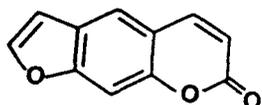
Les intercalants peuvent agir de plusieurs façons au niveau du DNA :

- Dans certains cas, l'interaction se limite à la formation d'un complexe réversible avec le DNA. La complexation met en jeu essentiellement des interactions d'empilement auxquelles s'ajoutent en général des contributions de type ionique ou liaison "H" entre le squelette ribo-phosphate et un élément de structure du composé actif.

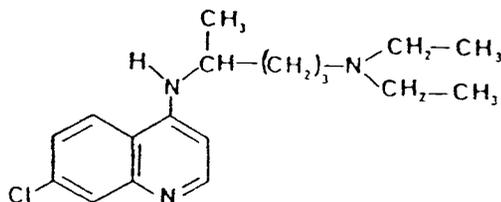
ex : la quinacrine, le bromure d'éthidium (33)....

- Dans d'autres cas, l'activation métabolique de la molécule, avant son intercalation, la transforme en une espèce réactive devenue capable de se fixer de manière covalente sur certains sites des bases nucléotidiques.

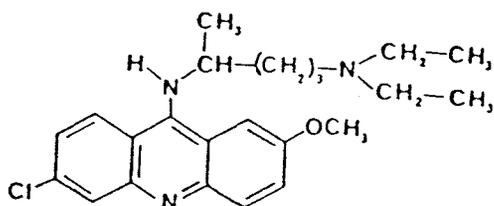
ex : la mitomycine, le daunomycine et les dérivés de l'ellipticine (p. 6 et 12) (34) utilisés en chimiothérapie anticancéreuse.



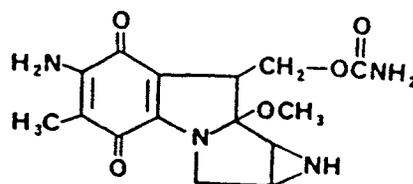
Psoralène



Chloroquine



Quinacrine



Mitomycine

- Pour d'autres composés comme le psoralène (utilisé contre le psoriasis), on peut observer, après intercalation et sous l'action du rayonnement UV des réactions de photo-addition entre les doubles liaisons de la molécule intercalée et celles des bases nucléotidiques (principalement la thymine). On peut former ainsi des pontages intra-brin voire inter-brin dans la macromolécule (35).

- Pour tenter d'augmenter l'activité thérapeutique, des dimères d'intercalants ont été synthétisés (figure 5) (36) ; leur affinité pour le DNA est considérablement augmentée. Les travaux les plus récents font état de trimères d'acridine (37, 38) présentant des constantes d'affinité pour le DNA du même ordre de grandeur que celles des protéines de régulation (38).

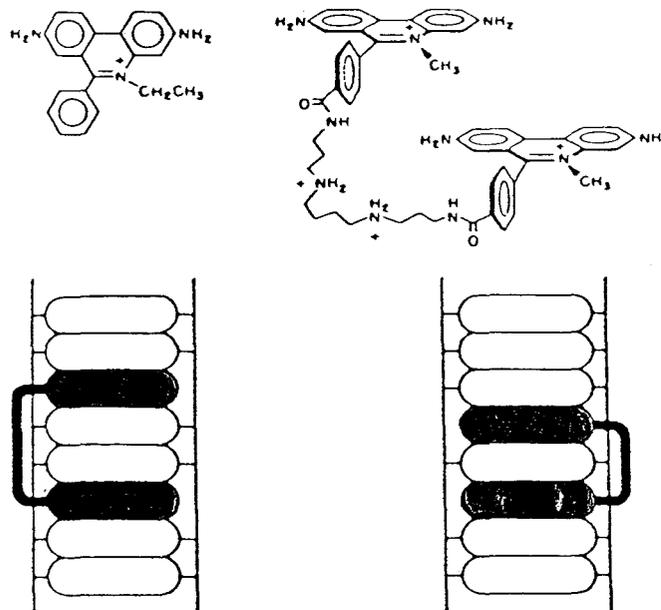


Figure 5 : Représentation schématique de l'intercalation du dimère du bromure d'éthidium dans le DNA.

Si le mécanisme physicochimique d'interaction de ces molécules avec le DNA est relativement connu, on manque par contre d'informations sur les relations entre la nature du complexe formé et l'activité biologique. Pour qu'une molécule soit active deux phénomènes indépendants sont nécessaires :

- 1°/ La capacité de la molécule à se complexer avec le DNA.
- 2°/ La reconnaissance du complexe formé par des fonctions cellulaires.

Pour un petit nombre de structures, on a pu montrer que l'interaction avec le DNA inhibe (ou ralentit) l'activité du DNA polymérase et par voie de conséquence empêche le déroulement normal de la synthèse protéique (39).

- Les intercalants peuvent également servir de vecteurs pour amener une structure particulière ou une activité spécifique au voisinage de sa cible : le DNA. C'est le cas par exemple de modèles reproduisant les effets de la bléomycine (40) ou des composés porteurs de fonctions photoactivables capables de réagir avec le DNA et des macromolécules voisines comme les protéines de la chromatine (41).

- Une approche originale a également été utilisée pour étudier le phénomène de reconnaissance de séquences oligonucléotidiques complémentaires (42), un intercalant comme l'acridine est fixée (par l'intermédiaire d'une chaîne polyméthylénique) sur la fonction 3'OH terminale d'une tétradésoxythymidine. Ceci conduit à renforcer considérablement les interactions avec la séquence complémentaire de type poly-rA.

- Actuellement, plusieurs drogues antitumorales constituent l'arsenal thérapeutique.

La détermination de la structure du complexe entre le DNA et les substances intercalantes par radiocristallographie (22) fait qu'il est théoriquement possible d'imaginer toute une série de molécules capables d'interagir avec une haute affinité avec le DNA. La synthèse d'une série de molécules dans la série des ellipticines (9, 43, 44, 45, 47, 49) a montré que l'affinité pour le DNA est une condition nécessaire pour obtenir une activité

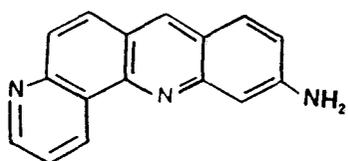
antitumorale dans cette série. Récemment il a été montré que la synthèse de molécules polyintercalantes permettait d'obtenir des molécules ayant une affinité très élevée pour le DNA (36, 46, 48), et parmi celles-ci plusieurs ont des activités antitumorales importantes.

Malgré leur faible spécificité, ces substances constituent une thérapeutique d'appoint indispensable.

La préparation de quelques dérivés capables de s'intercaler reste une voie attractive pour de nouvelles drogues antitumorales ayant une plus grande activité, un meilleur index thérapeutique et surtout un plus large spectre d'action. L'étude de la relation entre le processus de liaison avec le DNA et l'activité biologique des différentes drogues pourrait conduire à une bonne compréhension du mécanisme impliqué.

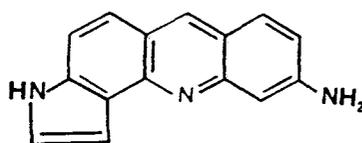
III. INTRODUCTION :

Notre travail a porté essentiellement sur la synthèse d'une série de molécules possédant des squelettes tétracycliques nouveaux ; l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31, la 3H-pyrrolo(2,3-c)amino-9 acridine 37b, et plusieurs dérivés. Ces molécules sont issues du squelette de la diamino-3,6 acridine 1 (proflavine).



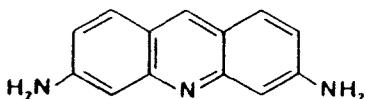
31

Amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7



37b

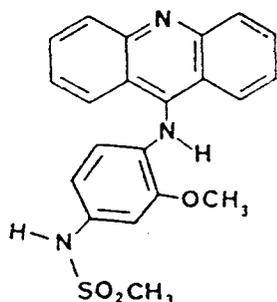
3H-pyrrolo(2,3-c)amino-9 acridine



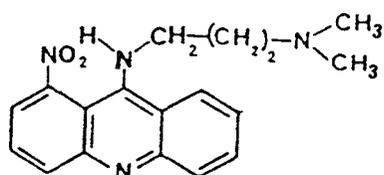
1

Diamino-3,6 acridine (proflavine : Pf)

Les dérivés d'acridine sont connus depuis longtemps pour leurs propriétés biologiques. Plusieurs dérivés ont été découverts possédant des propriétés antitumorales importantes, notamment l'amsacrine (89) et la lédacrine (90) ce dernier dérivé est utilisé actuellement comme médicament anticancéreux en Pologne.

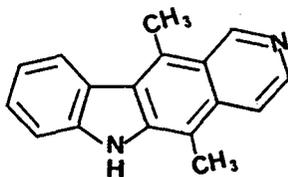


Amsacrine



Lédacrine

Les nouveaux systèmes 31 et 37b que nous nous sommes proposés de synthétiser, possèdent des analogies de structure avec un certain nombre de composés pour lesquels l'intercalation dans le DNA a été démontrée et qui dans certains cas possèdent des activités antitumorales importantes. Citons notamment l'ellipticine et ses dérivés

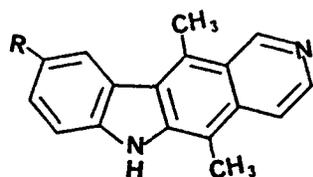


Ellipticine (6H-pyridocarbazole)

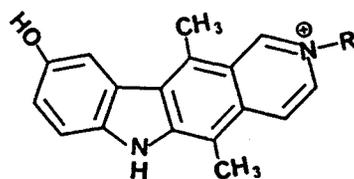
La découverte des premières propriétés antitumorales de l'ellipticine est due à des chimistes australiens en 1967. Cette propriété fut confirmée par des chercheurs américains ; des essais cliniques ont été entrepris aux Etats-Unis entre 1968 et 1970, mais vite abandonnés du fait de l'apparition d'effets toxiques secondaires importants, notamment de troubles cardiovasculaires. Des cliniciens français obtinrent également des résultats très encourageants (1969) avec des dérivés de l'ellipticine : la méthoxy-9 ellipticine (p. 19). Mais les essais furent également abandonnés à l'époque, faute de reproductibilité correcte des résultats.

Par ailleurs, il s'avérait nécessaire d'entreprendre une recherche fondamentale portant sur le mécanisme de l'action antitumorale de ces substances et les relations entre leur structure et leur activité pharmacologique. Ces recherches ont abouti en 1971 à la première démonstration de l'intercalation dans le DNA (69). L'hypothèse selon laquelle le DNA pourrait constituer la cible de ces substances conduisent à la synthèse de nouveaux dérivés de l'ellipticine, tels l'hydroxy-9 ellipticine et divers hydroxy-9 ellipticiniums (p. 19) dérivant de l'hydroxy-9 ellipticine par quaternisation de l'atome d'azote pyridinique (44,70) . Certains de ces produits révélèrent des propriétés antitumorales très supérieures à celles de la molécule originale d'ellipticine.

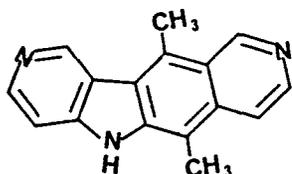
L'ellipticine et tous ses dérivés actifs manifestent une affinité relativement élevée pour les acides nucléiques ; mais si l'affinité pour le DNA semble être une condition nécessaire de l'efficacité antitumorale elle n'en constitue pas une condition suffisante : l' amino-9 ellipticine et la fluoro-9 ellipticine (p. 19) ont par exemple des affinités pratiquement identiques à celles de l'hydroxy-9 ellipticine et de l'éthyl-2 hydroxy-9 ellipticinium (p. 19) sans manifester de propriétés antitumorales comparables à celle de ces deux derniers composés.



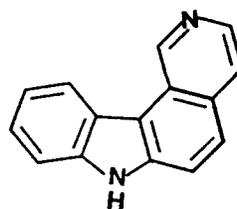
- R = H, ellipticine
- R = OCH₃, méthoxy-9 ellipticine
- R = OH, hydroxy-9 ellipticine
- R = NH₂, amino-9 ellipticine
- R = F, fluoro-9 ellipticine



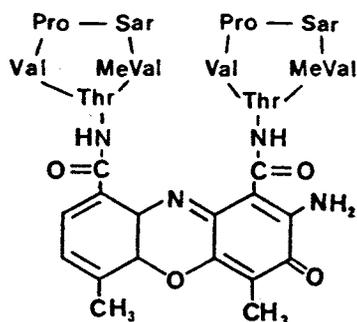
- Hydroxy-9 ellipticinium
- R = Et, éthyl-2, hydroxy-9 ellipticinium



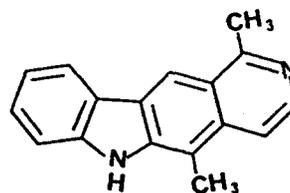
Aza-ellipticine



Iso-ellipticine



Actinomycine C₁



Olivacine

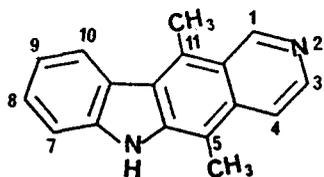


Il semble donc que l'affinité pour le DNA conditionne l'efficacité de l'ellipticine et de ses dérivés ; il apparaît également qu'une ou plusieurs autres caractéristiques doivent intervenir pour la renforcer. Notons que :

- La déméthylation de l'ellipticine (en 5 ou 11) enlève toute activité biologique (8, 9, 91).
- L'hydroxylation de l'ellipticine en position 9 conduit à un composé environ 40 fois plus cytotoxique in vitro sur la leucémie L 1210 et plus antitumoral aux faibles doses que l'ellipticine elle même.

En effet, après injection intraveineuse de l'ellipticine, celle-ci est oxydée quasi-instantanément par les oxygénases mixtes à cytochrome P 450 du foie qui interviennent déjà dans le métabolisme d'autres substances anticancéreuses. L'oxydation de l'ellipticine conduit à plusieurs métabolites : le plus abondant est l'hydroxy-9 ellipticine (plus actif que l'ellipticine) l'hydroxy-7 ellipticine apparaît également (moins actif que l'ellipticine).

Ces observations peuvent être généralisées : les cinq dérivés les plus cytotoxiques dans une série de douze ellipticines sont les cinq molécules portant une fonction hydroxyle en 9 (tableau 1).



Ellipticine

Substance	DL ₅₀ (a)		ILS (%) (b)			DL ₀ (c)	Coefficient d'affinité: pour le DNA (d)
	ng/ml	μM	1	1/2	1/5	(mg/Kg)	
			en fraction de DL ₀				
9-OHE	3,9	0,015	53	58	28	50	2,0 x 10 ⁶
6-CH ₃ 9-OHE	6,0	0,022	-	-	-	-	1,2 x 10 ⁷
2-C ₂ H ₅ 9-OHE	9,6	0,033	57	88	119	50	1,0 x 10 ⁶
			47 %*	32 %*	15 %*		
2-6-diCH ₃ 9-OHE	11,9	0,041	78	75	55	15	4,0 x 10 ⁶
2-CH ₃ 9-OHE	13,8	0,05	62	53	28	5	1,3 x 10 ⁶
9-NH ₂ E	138	0,53	18	0	-	150	1,2 x 10 ⁶
9-OCH ₃ E	164	0,60	70	-	-	70	1,0 x 10 ⁵
E	242	0,99	68	40	12	50	1,5 x 10 ⁵
2-CH ₃ E	437	1,68	18	22	17	13	2,3 x 10 ⁵
9-FE	1035	3,94	-	-	-	> 250	6,4 x 10 ⁵
7-OHE	1421	5,44	-	-	-	-	1,0 x 10 ⁵
9-BrE	4115	12,7	inactive			> 500	4,0 x 10 ⁵
Actinomycin D	1,24	0,001	45	-	36	0,87	2,3 x 10 ⁶

Tableau 1 : Comparaison des effets cytotoxiques et antitumoraux des dérivés de l'ellipticine.

a) Dose qui inhibe de 50 % la croissance de cellules leucémiques L 1210 après 48 heures de culture ;

b) Pourcentage d'augmentation de la durée de survie par rapport aux témoins (10⁵ cellules L 1210 par souris, traitement unique par voie i.p. 24 heures après la greffe des cellules) ;

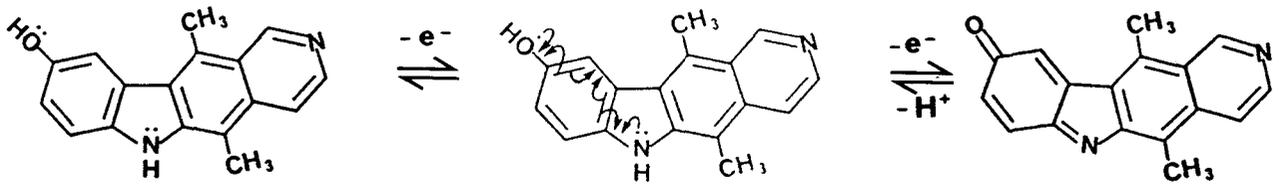
c) Dose maximale jamais mortelle (traitement i.p.) ;

d) Mesures faites à 25°C dans du NaCl 0,1 M et tris HCl 0,1 M (pH 7,4) ; - pas testé ; * Pourcentage de souris guéries : temps de suivie supérieur à 45 jours.



Trois hypothèses peuvent rendre compte de ces observations :

- La première repose sur l'augmentation de l'affinité des ellipticines pour le DNA après leur hydroxylation en position 9 ; cette affinité est multipliée par un facteur qui peut varier de 10 à plus de 100 selon les dérivés de l'ellipticine.
- La présence du substituant méthyle sur les cycles intercalants est un facteur critique pour l'affinité avec le DNA et pour l'efficacité biologique. Un tel rôle critique pour le groupe méthyle est aussi observé dans la série de l'actinomycine, par exemple la 4,6-didéméthyle actinomycine C₁ possède une affinité 30 fois plus petite que celle de l'actinomycine C₁ et est dépourvue d'activité biologique (6, 9).
- La troisième hypothèse est fondée sur une propriété particulière des hydroxy-9 ellipticines, liée à la structure para-amino-phényl-hydroxyle. Les dérivés hydroxy-9 sont facilement oxydés en dérivés para-quinone-imines par départ de deux atomes d'hydrogène (92). Une étape intermédiaire de cette oxydation, qui pourrait se produire en milieu biologique est constituée par l'apparition d'une forme phénoxy radicalaire, suivie de l'apparition de la forme quinone.



Hydroxy-9 ellipticine

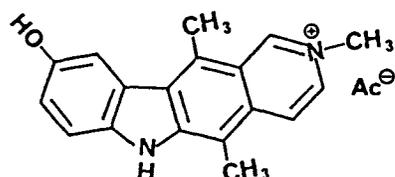
Forme phénoxy radicalaire
intermédiaire

Forme para-quinone
imine

Les formes radicalaires ont, en général, une durée de vie très courte, mais elle sont particulièrement réactives. Ces réactions pourraient entraîner des modifications irréversibles au niveau de la cible ultime des hydroxy-9 ellipticines, que pourrait être le DNA.

Enfin, les propriétés antitumorales des ellipticines étudiées chez l'animal de laboratoire, permettent à ce niveau, de classer ces agents parmi les substances anticancéreuses les plus actives que nous possédons à l'heure actuelle, tant par l'intensité de leurs effets, que par l'étendue du spectre des tumeurs expérimentales sensibles et par la qualité d'index chimiothérapique.

Ces recherches ont abouti au développement et à la commercialisation du médicament anticancéreux français connue sous le nom du celiptium (acétate d'hydroxy-9, méthyl-2 ellipticinium).



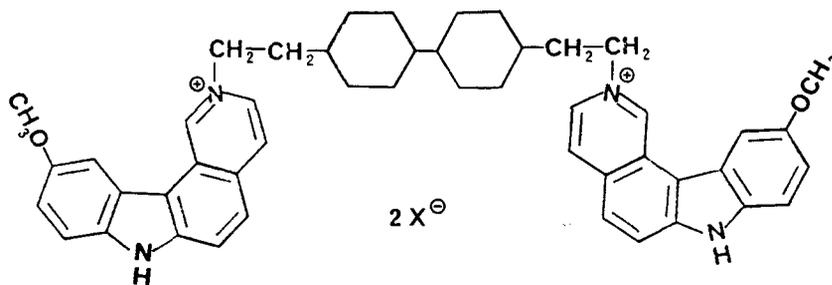
Celiptium

Depuis que l'activité antitumorale de l'ellipticine et de plusieurs de ses dérivés a été démontrée, cette série hétérocyclique a retenu l'attention de nombreuses équipes de chimistes et de biologistes.

Des familles chimiques proches de celles des ellipticines, par exemple, les iso-ellipticines (9), et les aza-ellipticines (47) (p. 26) ont été synthétisées et étudiées. Plusieurs de ces dérivés fournissent également des composés actifs.

Dans la série des iso-ellipticines, par exemple, il a été montré (9) que les 7-pyridocarbazoles (iso-ellipticines) peuvent conduire à des dérivés capables de s'intercaler dans le DNA avec les mêmes propriétés que celles des 6H-pyridocarbazoles (ellipticines) et ni la position de l'atome d'azote, ni le changement de la localisation du cycle pyridinique dans le système tétracyclique n'affectent la capacité d'intercalation dans le DNA.

Les propriétés antitumorales dans cette série sont faibles. Elles ont été considérablement augmentées par la synthèse de dimères de 7-H pyrido carbazole (50). Dans ce cas, il a été démontré que seule la série de dimères avec une chaîne rigide attachée en position 2 du 7H-pyridocarbazole est active, un dérivé dans cette série est en voie de commercialisation : le ditercalinium.



Ditercalinium

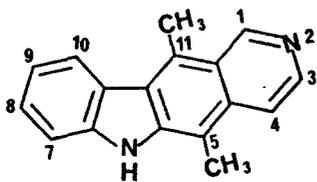
Notons également dans ce cas que la substitution du ditercalinium par le groupe méthyle dans une position autre que la position 6 augmente l'activité antitumorale, qu'aucune corrélation n'a été observée entre la constante d'affinité de l'agent intercalant et les propriétés pharmacologiques (50, 92).

D'autre part, deux dimères d'ellipticine ont été préparés ; ils sont complètement inactifs sur la leucémie L 1210.

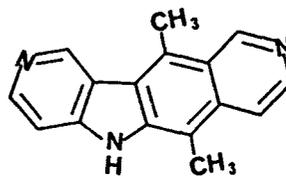
L'affinité marquée pour le DNA, et l'intercalation pour ce dernier, est une propriété commune à l'ensemble de ces composés. A elle seule, celle-ci n'est toutefois pas suffisante pour expliquer leur pouvoir antitumoral. En effet, dans une même série de produits ayant tous une forte affinité pour les acides nucléiques, certains ne manifestent aucune activité biologique (48, 93), et il est probable qu'une activation métabolique de la drogue est nécessaire.

Dans le cas des dérivés hydroxylés ou méthoxylés des ellipticines et iso-ellipticines, la formation d'une quinone-imine intermédiaire, réagissant ensuite avec les nucléophiles, est possible dans tous les cas. Une telle transformation en quinone-imine et la présence de divers composés qui en dérivent ont d'ailleurs été démontrés in vitro sans ambiguïté, au départ de l'hydroxy-9 ellipticinium (94). Cependant, les composés aza-9 ellipticines (p.26) ne peuvent pas conduire à ce type d'intermédiaires et leurs importantes activités biologiques laissent supposer que pour ce type de drogue, un autre chemin métabolique est possible. Enfin, les dimères d'intercalants constituent une nouvelle classe d'intercalants ; ces composés expriment leur toxicité à travers un nouveau mécanisme d'action, complètement différent des autres drogues intercalantes (50).

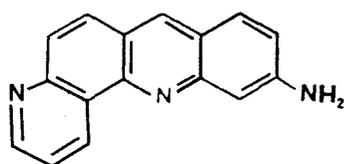
Un examen attentif de la structure du complexe d'intercalation et de certaines molécules actives, tel les ellipticines, les aza-ellipticines, et les iso-ellipticines, nous a permis d'imaginer la synthèse de nouvelles molécules 31 et 37b qui offrent une structure et une surface comparables à celles de ces composés et susceptibles de s'intercaler dans le DNA et éventuellement de présenter des propriétés antitumorales.



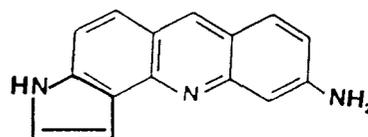
Ellipticine



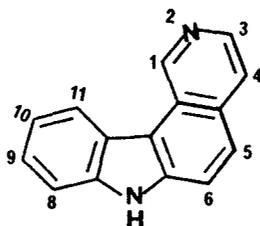
Aza-ellipticine



Amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7



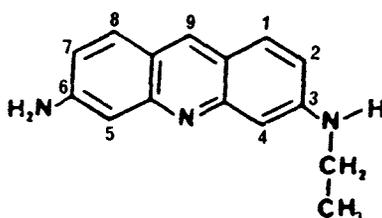
3H-pyrrolo(3,2-c)amino-9 acridine



Iso-ellipticine



Sur le plan chimique, ce travail a son origine dans une observation faite, dans le laboratoire, par FAHY (54). Il a pu démontrer que les dérivés monoalkylés sur un seul atome d'azote de la proflavine possèdent une réactivité particulière en position 4 et 5. A 65°C et dans un milieu tamponné à pD = 4,6 (tampon deutéroacétate), les protons C_4-H et C_5-H de l'éthyl proflavine (Pf-Et) s'échangent et ceci à des vitesses différentes.



N-éthyl diamino-3,6 acridine(Pf-Et)

On observe un échange rapide du proton C_4-H ($t_{1/2} = 10$ heures) et un échange plus long du proton C_5-H ($t_{1/2} = 40$ heures).

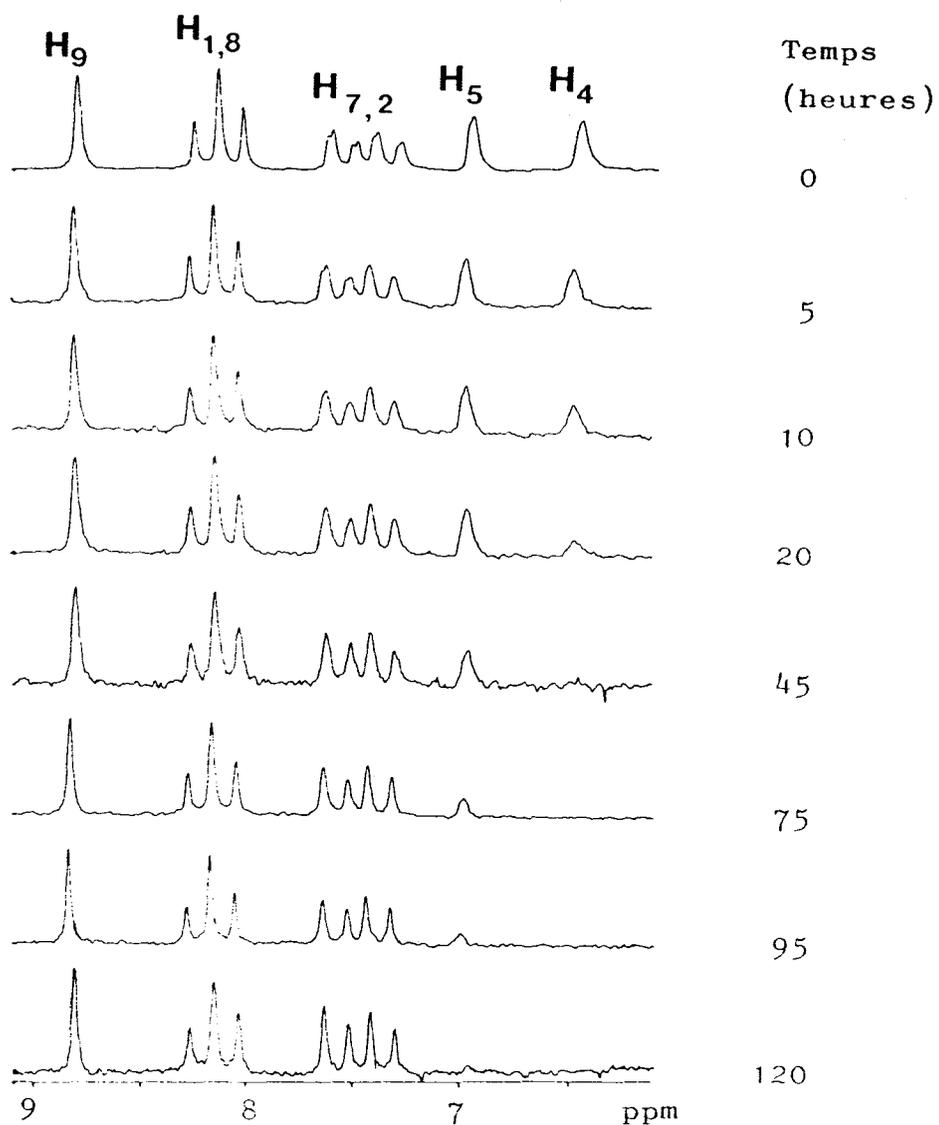
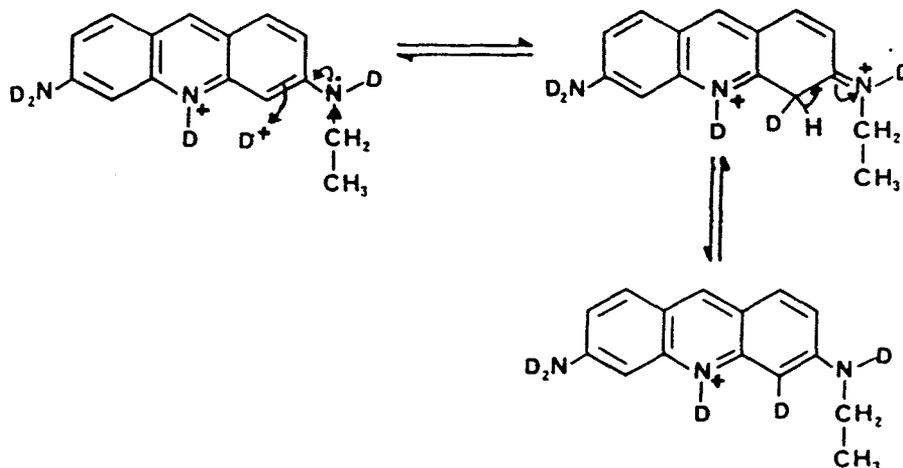
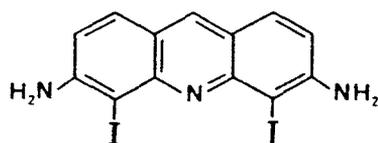


Figure 6 : Cinétique d'échange des protons C₄-H et C₅-H de Pf-Et.

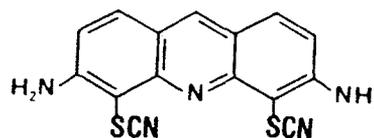
L'échange plus rapide du proton C₄-H serait dû à l'effet donneur du groupe alkyle sur la fonction amine en position 3, stabilisant ainsi l'espèce iminium intermédiaire suivant le mécanisme.



MARTIN et KELLY ont étudié par RMN ^1H et ^{13}C une série de dérivés d'acridine. Ils ont remarqué que dans le cas de la proflavine les positions C_4 et C_5 montrent une densité électronique plus élevée que les positions C_2 et C_7 . Cependant, la littérature fournit très peu de données sur la réactivité de ces produits. On relève que les traitements de la diamino-3,6 acridine 1 par le thiocyanate de potassium dans l'acide acétique en présence de brome (52) ou par l'iodure de potassium dans un tampon phosphate à $\text{pH} = 6,8$ en présence de chloramine-T (51) conduisent respectivement à la dithiocyano-4,5 diamino-3,6 acridine et à la diiodo-4,5 diamino-3,6 acridine.



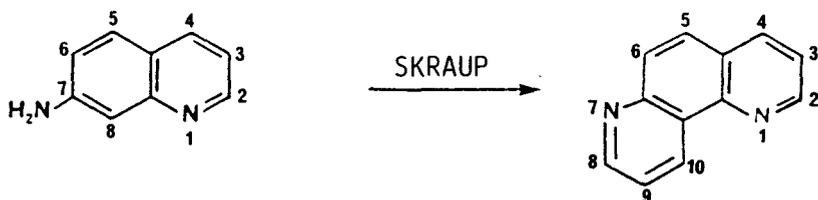
Diamino-3,6 diiodo-4,5 acridine



Diamino-3,6 dithiocyano-4,5 acridine

Les auteurs ne donnent aucune interprétation sur la sélectivité et le mécanisme de cette réaction.

Notons également que le même comportement est observé pour des systèmes de structure comparable. En effet, à la température de 50°C et à pD = 7,5 à 3,0, seul le proton C₈-H de l'amino-7 quinoléine est échangé. La réaction de SKRAUP (88) fournit un seul isomère provenant de la cyclisation en position 8.



Amino-7 quinoléine

Phénanthroline-1,7

Ces observations nous ont incités à mettre à profit cette réactivité particulière pour accéder aux squelettes nouveaux 31 et 37b en utilisant comme étape clef une cyclisation régiosélective sur le carbone C₄ d'une monoalkylproflavine correctement fonctionnalisée.

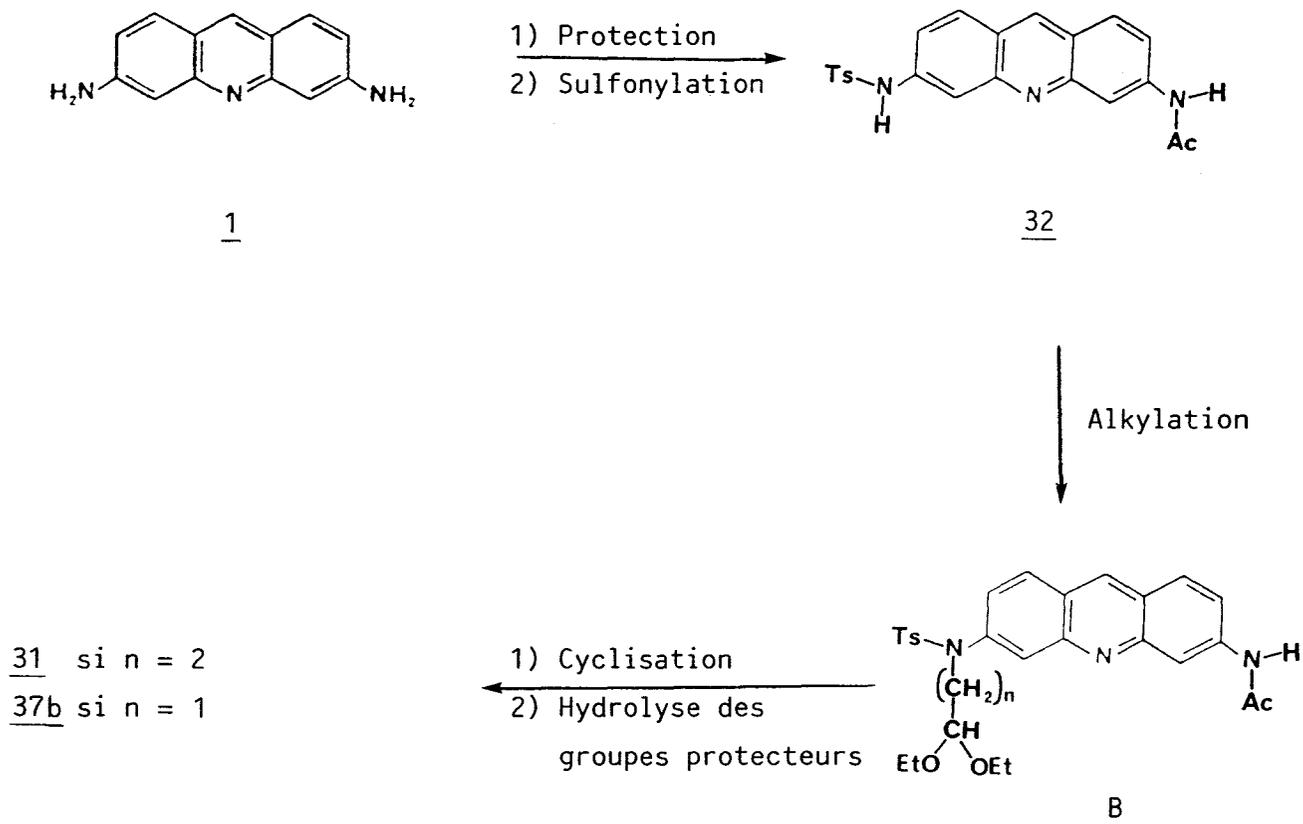
DEUXIEME PARTIE

- - o o o 0 o o o - -

SYNTHESE DE L'AMINO-10 BENZO (b) PHENANTHROLINE-1,7 31
ET LE 3H-PYRROLO (2,3-c) AMINO-9 ACRIDINE 37b

IV. SCHEMA GENERAL DE SYNTHESE :

Le schéma de synthèse que nous avons imaginé pour la synthèse de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 et le 3H-pyrrolo(2,3-c)amino-9 acridine 37b est décrit ci-dessous.



Pour obtenir l'intermédiaire clef B qui par cyclisation intramoléculaire peut conduire respectivement aux cycles à 5 et 6 chaînons, la proflavine doit être préalablement protégée et activée.

1. Protection de la proflavine :

Nous avons testé deux méthodes de monoprotection : 1/ par l'intermédiaire d'une résine formylée en formant une liaison imine sur un seul atome d'azote qui laisse la deuxième fonction amine libre et 2/ par monoacétylation. Seule la protection par acétylation a pu être exploitée avec succès.

2. Activation de la seconde fonction amine de la proflavine :

L'activation est réalisée par sulfonylation, nous avons utilisé successivement les groupes mésyle et tosyle. Bien que la proflavine acétylée, mésylée 20 permette de former l'intermédiaire clef B, nous avons préféré utiliser le groupe tosyle, car le dérivé alkylé correspondant 36 fournit plus facilement le dérivé 31.

3. Alkylation :

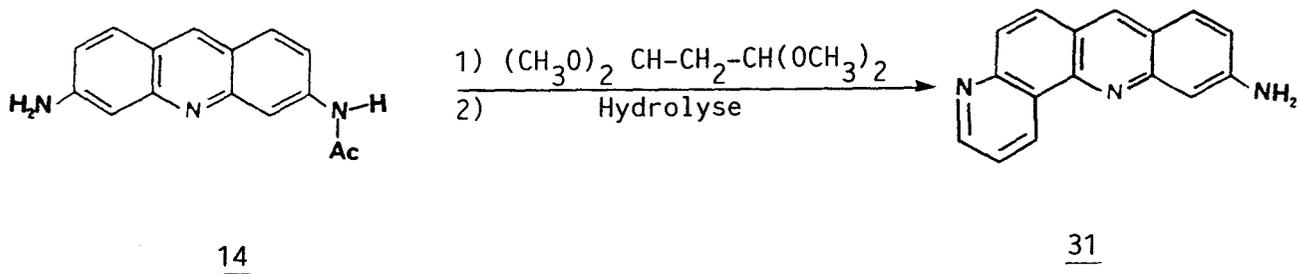
Le choix de la chaîne alkyle dépend du cycle désiré. Nous avons choisi d'alkyler respectivement avec le bromo-3 propionaldéhyde éthylène-acétal ou le bromoacétaldéhyde diéthyl-acétal, car les produits obtenus sont susceptibles de donner l'hétérocycle aromatique correspondant en une seule étape (71).

4. Cyclisation et hydrolyse des groupes protecteurs :

La cyclisation des acétals du genre B se fait généralement en milieu acide. Si $n=2$, la cyclisation et l'hydrolyse des groupes acétyle et tosyle peuvent être réalisées en une seule étape pour donner 31.

Lorsque $n = 1$, l'hydrolyse basique du groupe tosyle est nécessaire après cyclisation et desacétylation en milieu acide.

Un deuxième schéma a été imaginé pour la synthèse de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31.

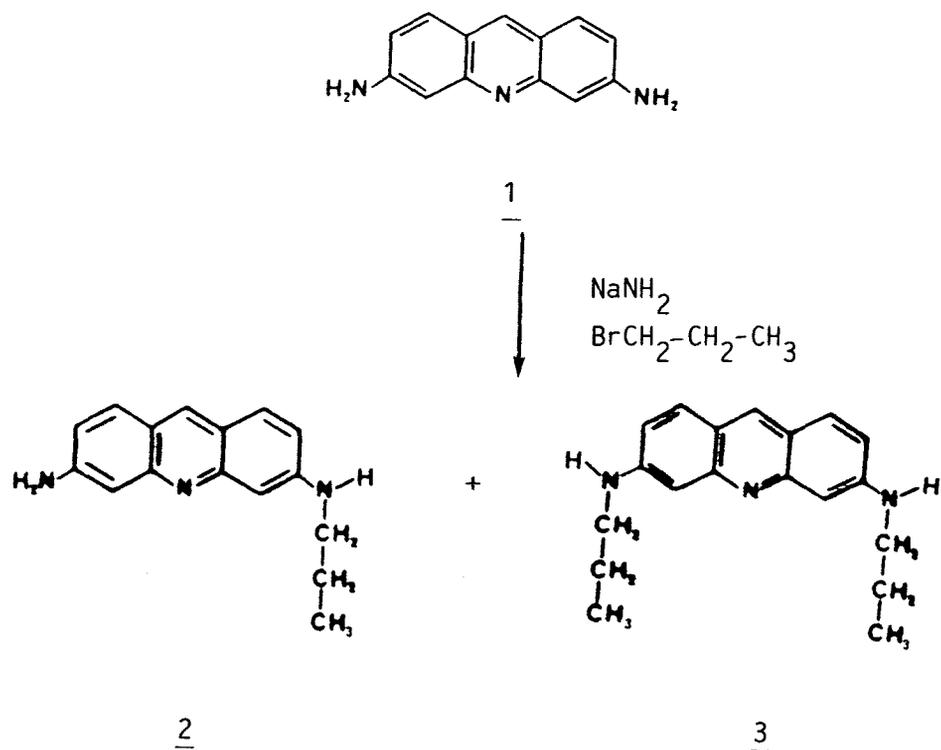


Ce schéma met à profit la monoacétylation de la proflavine. La condensation entre le tétraméthoxy-1,1,3,3 propane et la proflavine monoacétylée 14, puis hydrolyse du groupe acétyle permet d'aboutir au dérivé 31.

V PROTECTION DE LA PROFLAVINE

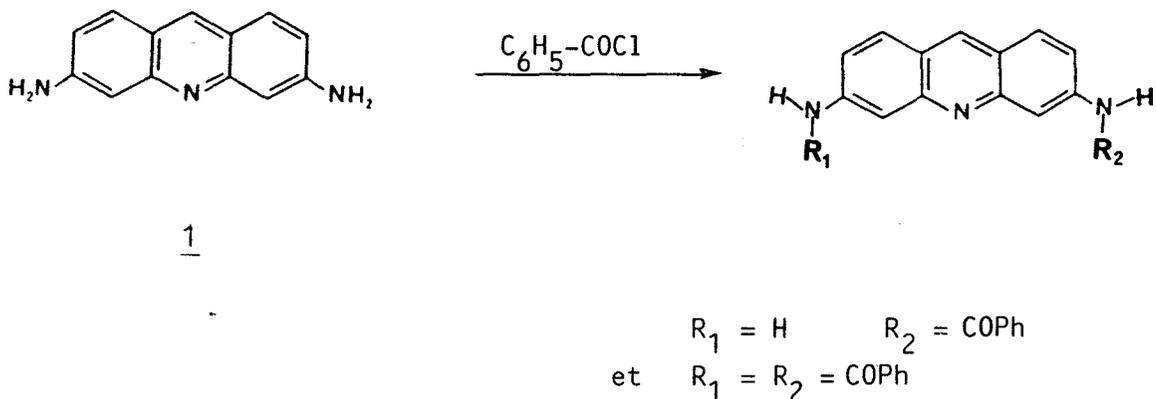
RENAULT et BERLOT ont mis au point de bonnes conditions d'alkylation directe de l'amino-4 quinoléine. en utilisant les amidures alcalins dans le HMPT (55).

En se basant sur ces résultats, FAHY (54) a tenté d'utiliser les mêmes conditions pour alkyler la proflavine 1. La réaction se fait avec un très mauvais rendement et un manque total de sélectivité.



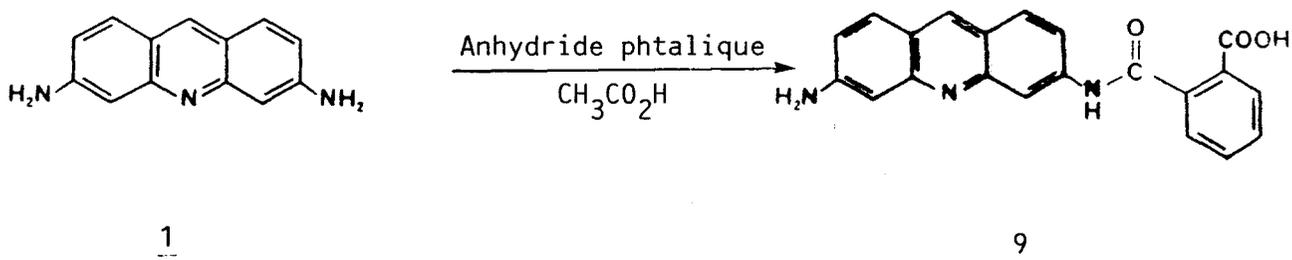
Plusieurs essais de monoprotection ont été tentés par FAHY (54) sur la diamino-3.6 acridine 1. Aucun d'eux n'a abouti à des sélectivités importantes :

Avec le chlorure de benzoyle, dans les conditions décrites par SCHOTTEN et BAUMANN, aucune sélectivité n'a été observée.



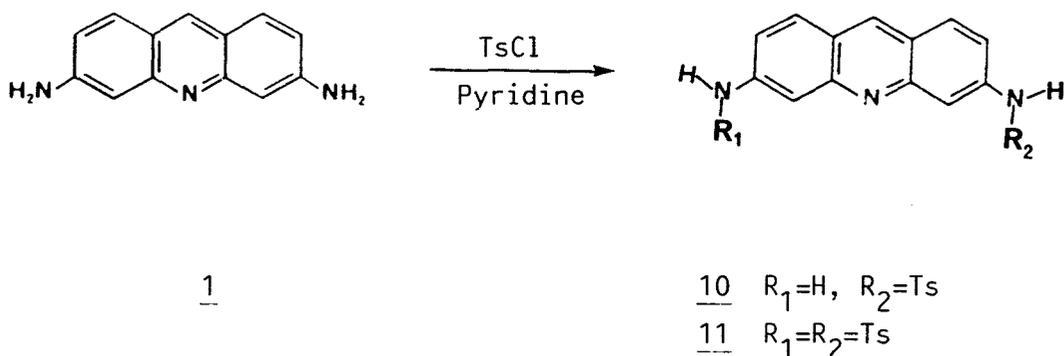
De la même manière, aucune sélectivité n'a été observée avec l'anhydride trifluoroacétique dans la diméthylformamide en présence d'imidazole.

Le traitement de la proflavine 1 avec un excès d'anhydride phtalique dans l'acide acétique glacial, à la température ambiante, a donné un seul produit résultant de la réaction sur un seul atome d'azote avec un très bon rendement.



Mais ni l'alkylation directe en présence d'une base, ni la réaction d'activation de la deuxième fonction amine avant l'alkylation par le chlorure de tosylo du produit 9 n'ont été couronnées de succès.

Le problème de la monoprotection de la proflavine 1 a été résolu partiellement par FAHY (54) en faisant réagir la proflavine avec le chlorure de tosyloxy dans la pyridine : on obtient un mélange de produits monotosylés 10 et ditosylés 11, avec une certaine sélectivité au niveau de la monotosylation (on obtient un rendement intermédiaire entre 20 et 55 % en produit monotosylé).



Nous avons répété cette réaction : outre les produits mono- et disulfonylés, nous avons également isolé le composé tétratosylé. Leur identification et leur exploitation complémentaire sont décrites p. 125 .

Dans la mesure où notre travail était axé essentiellement sur la synthèse de nouveaux squelettes, nous nous sommes efforcés de mettre au point une méthode de monofonctionnalisation sélective et efficace.

Deux méthodes de monoprotection ont été imaginées :

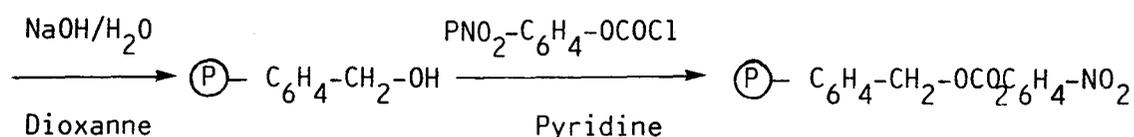
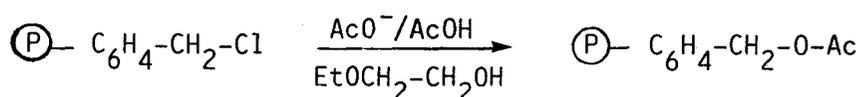
- Une première méthode fait intervenir une résine formylée qui bloque la diamino-3,6 acridine 1 par un seul atome d'azote en laissant la deuxième fonction amine libre pour réagir.
- La deuxième méthode utilise le groupe acétyle comme groupe protecteur.

1/ UTILISATION DE LA RESINE COPOLYMERE STYRENE 2% DIVINYLBENZENE POUR LA MONOPROTECTION DE LA PROFLAVINE 1 :

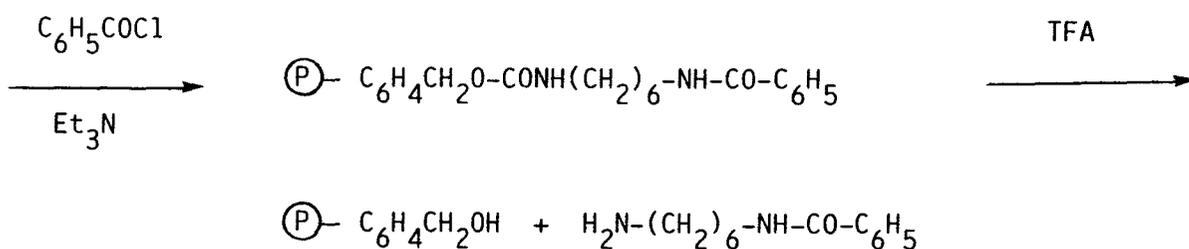
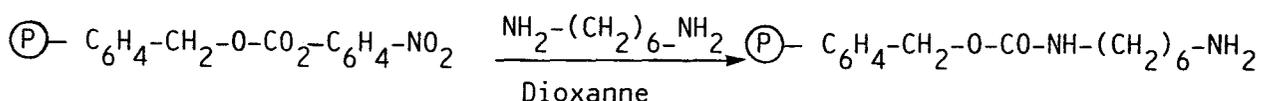
LEZNOFF et ses Collaborateurs ont utilisé la résine de MERRIFIELD pour bloquer une seule fonction dans des diols, des dialdéhydes, des dichlorures et des diamines symétriques(56,58). La méthode décrite par LEZNOFF pour la monofonctionnalisation de diamines symétriques est longue et laborieuse.

* Préparation de la résine :

Ⓟ = résine copolymère - styrène - 2 % divinylbenzène.



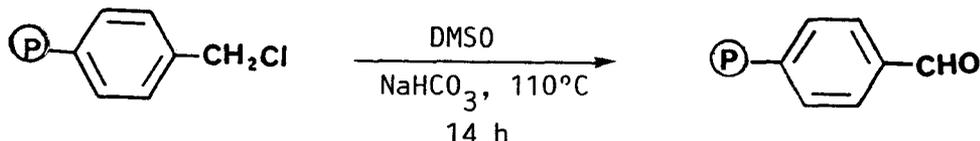
* Exemple d'utilisation : monobenzoylation de l'hexaméthylène diamine:



Nous avons donc pensé à l'ancrage de la proflavine 1 par un seul atome d'azote par formation d'un lien imine au moyen d'une résine formylée. Une réaction du même genre est décrite dans la littérature (53) (formation du lien imine, acylation de la fonction amine libre, puis hydrolyse sélective du lien imine sans affecter la fonction amide) avec le diamino-1,6 hexane.

La résine formylée est obtenue par oxydation de la résine chlorométhylée dans le diméthylsulfoxyde en présence de bicarbonate de sodium selon KORNBLUM (57).

a) Oxydation du groupe chlorométhyle de la résine copolymère - styrène 2 % divinylbenzène en groupe formyle :



Nous avons reproduit les conditions opératoires décrites (53). La réaction d'oxydation a été complète et la résine formylée obtenue est caractérisée par spectroscopie infrarouge.

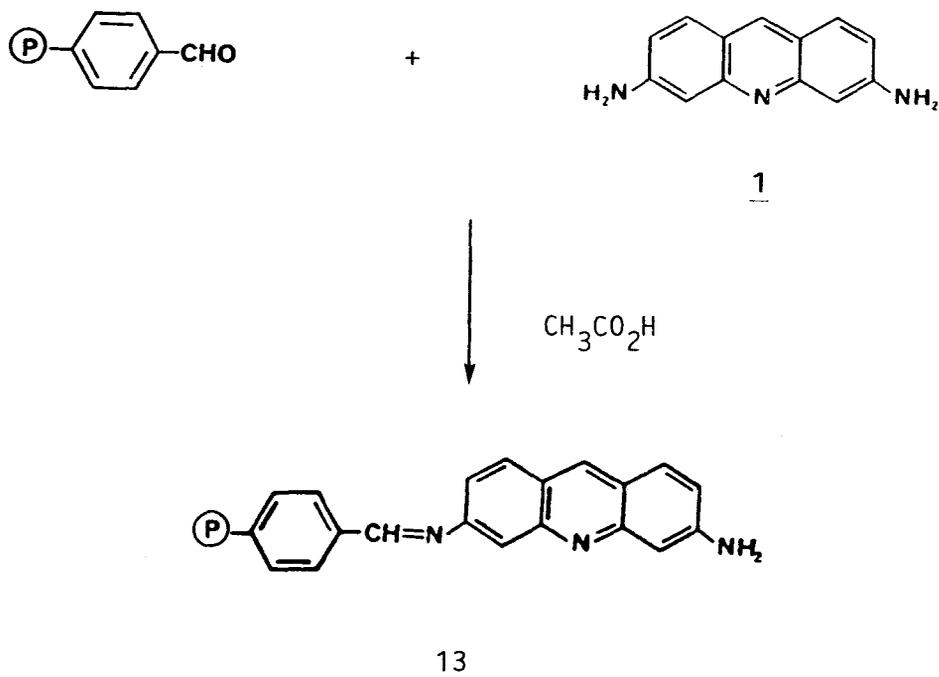
La disparition de la bande caractéristique du groupe CH₂Cl, à 1270 cm⁻¹, et l'apparition d'une bande intense à 1700 cm⁻¹ attribuée au carbonyle aldéhydique indique que tous les groupes chlorométhylés ont été oxydés en aldéhyde.

b) Ancrage de la proflavine sur la résine formylée :

L'ancrage de la diamino-3,6 acridine 1 par une seule fonction amine a été réalisé par réaction de 3 équivalents de 1, et d'un équivalent de

résine formylée (58) dans l'acide acétique.

Ⓟ = résine copolymère-styrène 2 % divinylbenzène



L'évolution de la réaction a été suivie par la disparition de la bande C=O aldéhydique à 1700 cm^{-1} (on n'observe pas d'apparition de bande imine à 1650 cm^{-1} (53), car cette région du spectre est masquée par l'absorption de la proflavine). Dans tous les essais qui ont été réalisés, la disparition de la bande C=O aldéhydique était toujours incomplète.

La capacité (nombre de m.e.q./g) relativement faible de la résine et surtout le faible rendement de la réaction de blocage ne nous permettent pas d'espérer l'obtention pratique de grandes quantités du dérivé monofonctionnalisé désiré.

Nous avons préféré abandonner cette voie, et rechercher d'autres réactions de monofonctionnalisation.

2/ MONOPROTECTION DE LA PROFLAVINE PAR LE GROUPE ACÉTYLE :

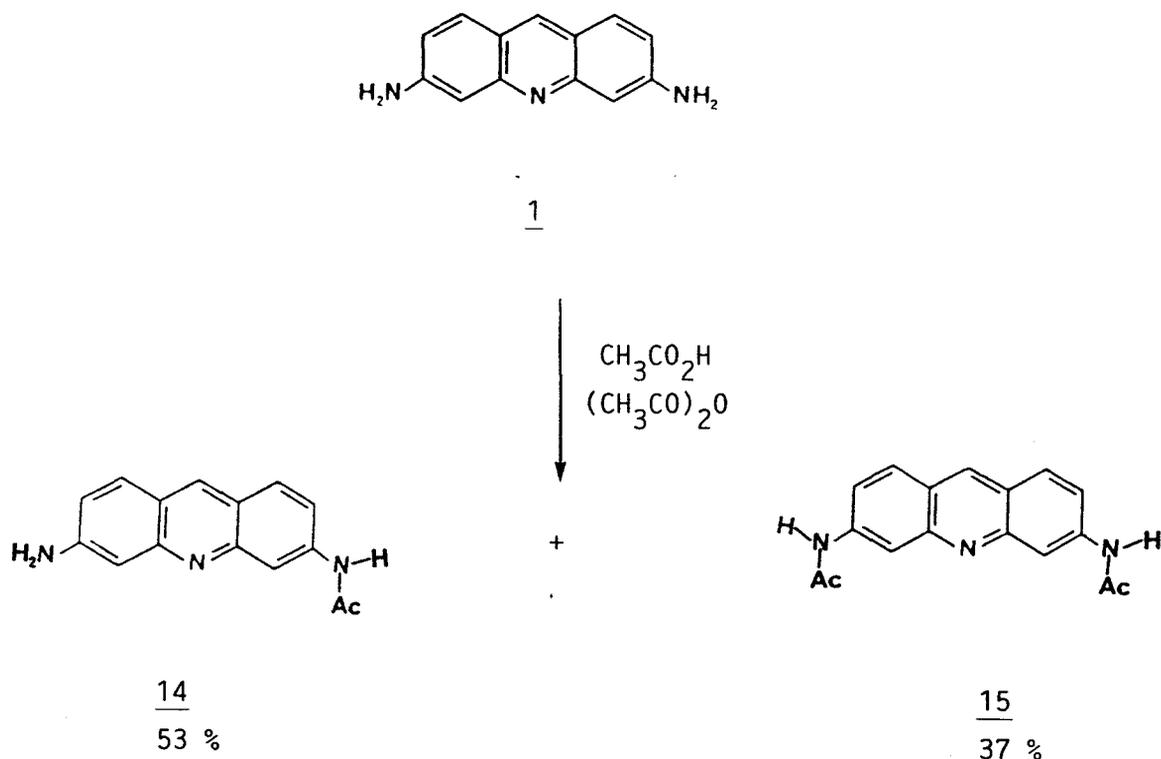
MARTIN et ALBERT (59,65) ont décrit que l'acylation de la proflavine 1 par l'anhydride acétique dans l'acide acétique à 100°C pendant une heure donne l'acétamido-3 amino-6 acridine 14. Après cristallisation, le produit obtenu est contaminé avec de la diacétamido-3,6 acridine 15 et la proflavine de départ 1 qui n'a pas réagi. Aucun rendement n'est de fait indiqué.

SYNTHÈSE DE L'ACÉTAMIDO-3 AMINO-6 ACRIDINE 14 :

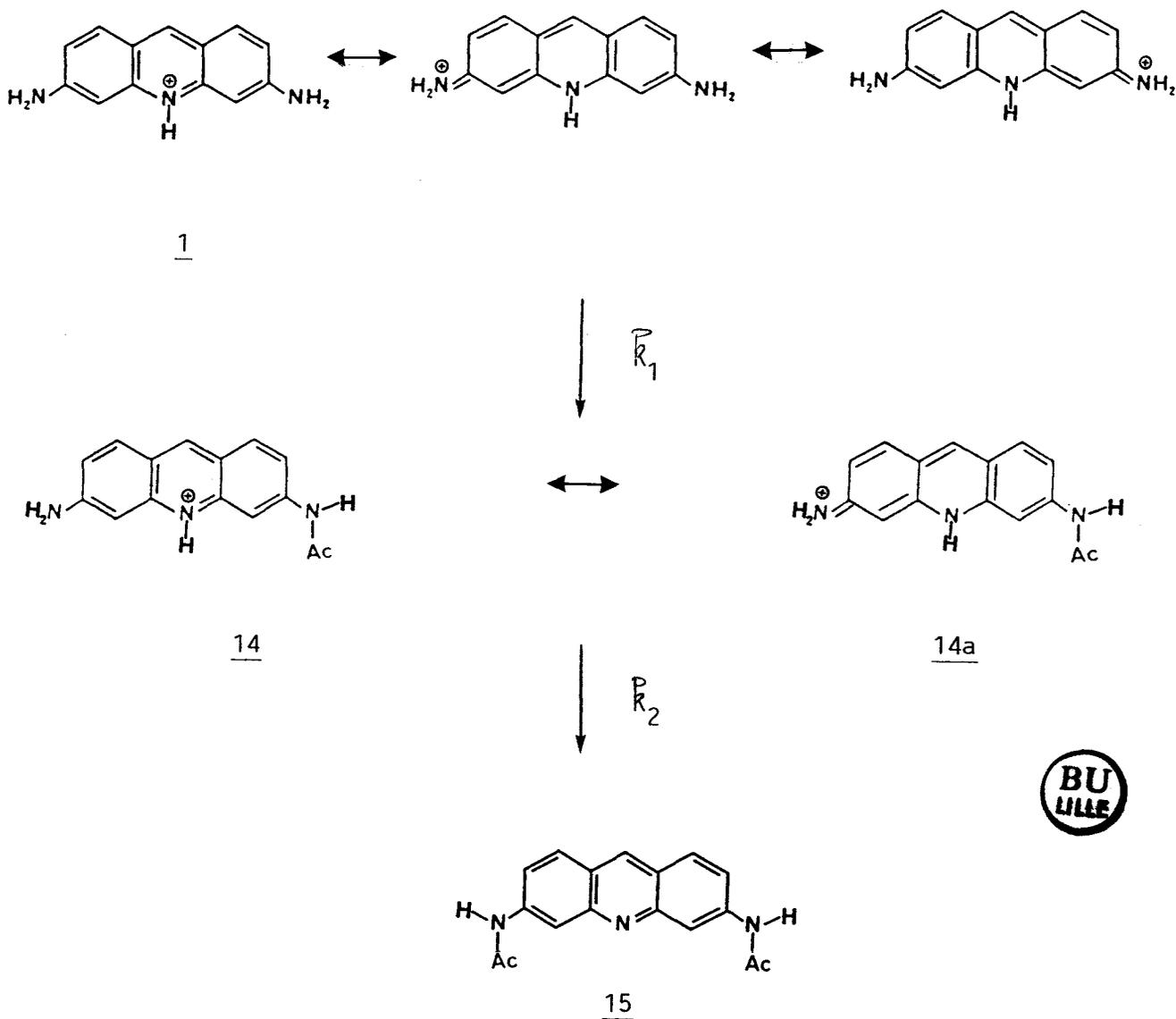
* Acétylation de la proflavine 1 dans l'acide acétique :

Nous avons répété cette réaction dans les mêmes conditions que celles décrites par les auteurs (59,65) , et nous avons noté que, dans ces conditions, la réaction est incomplète, et la sélectivité est faible.

Il se forme du produit de bis-acétylation et il reste du produit de départ qui n'a pas réagi.



La formation préférentielle du produit monoacétylé 14 pourrait s'expliquer par l'existence de l'intermédiaire N-acétyl, diamino-3,6 acridinium 14a qui présente une densité de charge sur l'atome d'azote de l'amine primaire inférieure à celle existant au niveau des amines primaires dans la proflavine 1. Ces différences de densité de charge pourraient expliquer une constante de vitesse k_1 (formation du produit monoacétylé 14) supérieure à la constante k_2 de formation du produit diacétylé 15.



Nous basant sur cette hypothèse, nous avons pensé améliorer le rendement de la monofonctionnalisation en modifiant les conditions opératoires. En travaillant à des températures plus basses on observe de fait une amélioration appréciable de la monoacétylation par l'anhydride acétique dans l'acide acétique quand on passe de 100°C à 60°C. La température de 60°C correspond sur le plan pratique à une limite de solubilité de la proflavine 1 dans l'acide acétique (100 mmol/L d'acide acétique) ; en dessous de 60°C, la proflavine 1 précipite.

* Acétylation de la proflavine 1 dans l'acide propionique :

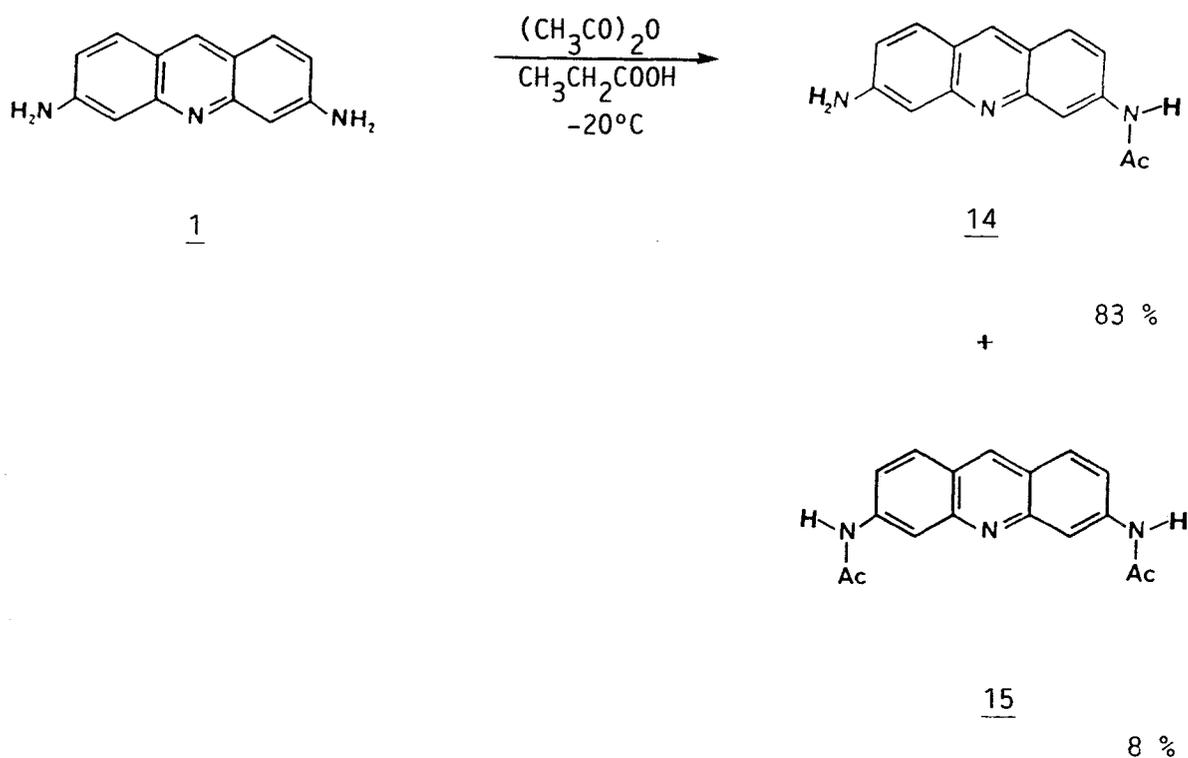
Pour pouvoir travailler à plus basse température dans un milieu où la proflavine demeure protonée, nous avons remplacé l'acide acétique par l'acide propionique, car ce dernier solubilise très bien la diamino-3,6 acridine 1.

Nous avons réalisé la monofonctionnalisation dans l'acide propionique en présence d'un excès d'anhydride acétique à température ambiante. La chromatographie sur plaque de silice a montré qu'il y a disparition complète de la proflavine de départ 1 avec l'apparition, comme produit majoritaire, de la proflavine monoacétylée 14, contaminée par un peu de produit monopropionylé. Ce dernier est issu de la réaction entre la proflavine 1 et l'anhydride mixte obtenu après l'échange entre l'anhydride acétique et l'acide propionique.

Ce produit est décelable dans le spectre de RMN du proton fait sur le brut réactionnel (environ 5 %) qui montre la présence d'un triplet vers 1,08 ppm attribuable aux protons méthyle du groupe propionyle (CO-CH₂CH₃).

A -20°C et en présence d'un large excès d'anhydride acétique dans l'acide propionique, le taux de transformation de la proflavine 1 est supérieur à 95 %. Le rendement en produit monoacétylé 14 isolé, est de 83 % ; seulement 8 % de proflavine 1 ont été transformés en produit bisacétylé 15.

A cette température (-20°C), aucune trace de proflavine acétylée par le groupe propionyle n'est observée dans le spectre de RMN ¹H du brut réactionnel.



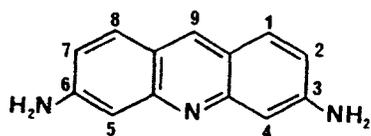
Les deux produits de la réaction 14 et 15 sont séparables par chromatographie sur colonne d'alumine en utilisant comme éluant le mélange acétone/acétate d'éthyle dans des proportions 50/50.

Les propriétés spectrales (RMN ^1H , masse et infrarouge) de la N-acétyl diamino-3,6 acridine sont identiques à celles décrites dans la littérature (59).

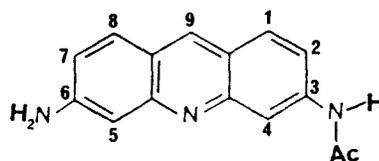
Spectre de RMN ^1H :

L'introduction d'un groupe acétyle sur un atome d'azote de la proflavine 1 provoque des variations importantes dans les déplacements chimiques de certains protons de 14 par rapport à ceux de la proflavine 1, et

notamment le proton C_4-H qui apparait à 8,28 ppm* (ce proton se trouve à 6,83 ppm dans la proflavine 1). La position de ce proton a été déterminée par des expériences de découplage. L'irradiation de ce proton (C_4-H), fait disparaître le faible couplage ($\approx 2\text{Hz}$) avec le proton C_2-H (Figure 6).



Proflavine 1



N-acétyl, diamino-3,6 acridine 14

Composé	H ₁	H ₂	H ₄	H ₅	H ₇	H ₈	H ₉	CH ₃	NH ₂
Proflavine <u>1</u>	7,63	6,88	6,83	6,83	6,88	7,63	8,30	-	5,79
N-acétyl, diamino-3,6 acridine <u>14</u>	7,85	7,41	8,28	6,87	6,95	7,70	8,49	2,15	5,99

Tableau 2 : Comparaisons des déplacements chimiques de la proflavine 1 et de la N-acétyl, diamino-3,6 acridine 14. (spectres enregistrés dans le DMSO-d₆).

* L'introduction d'un groupe amino en position C-3 (et C-6) sur le noyau de l'acridine (situation rencontrée dans la proflavine) provoque un blindage très important (1,3 ppm) pour les protons C_4-H et moindre (0,5 ppm) pour C_2-H (51).

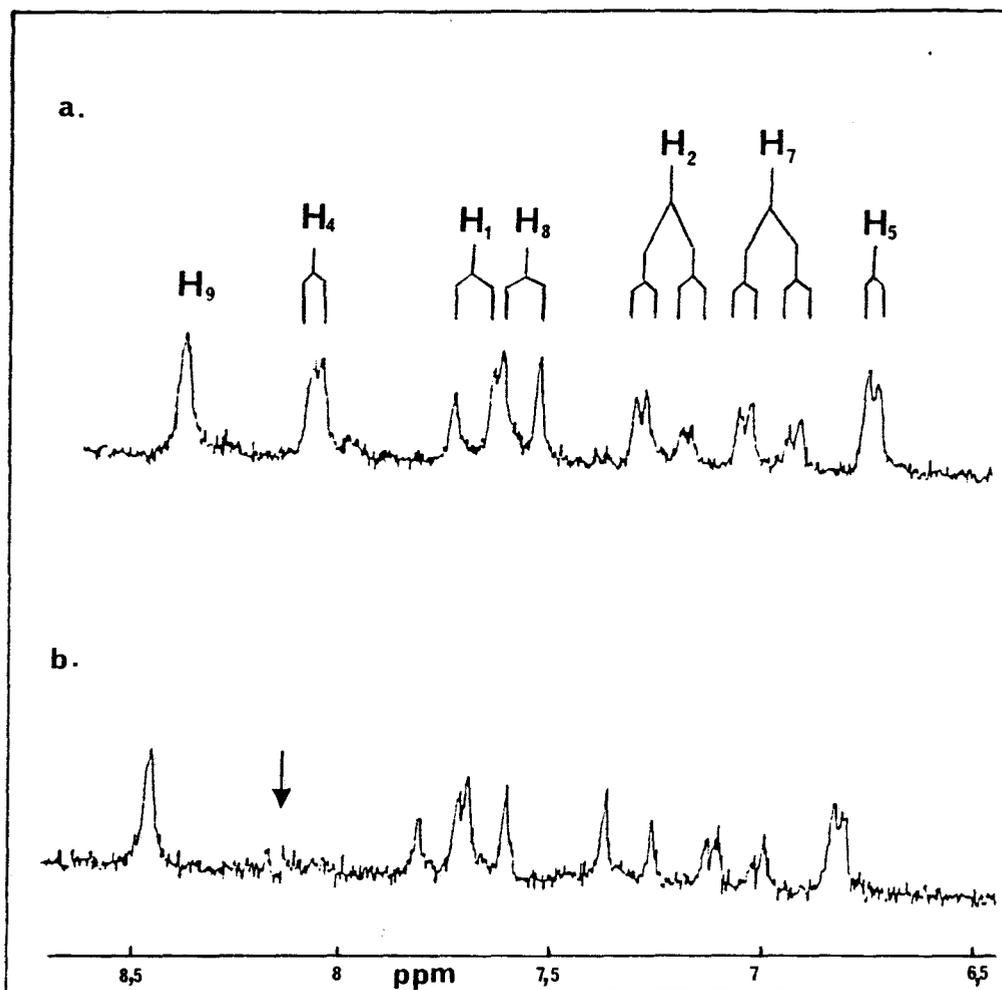


Figure 7 : Partie aromatique du spectre RMN ^1H de la proflavine monoacétylée 14, a. Spectre de 14 non irradié, b. Spectre de 14 avec irradiation du proton $\text{C}_4\text{-H}$. (enregistrés dans le DMSO-d_6).

Le déblindage du proton $\text{C}_4\text{-H}$ peut être attribué selon MARTIN et KELLY (51) à une diminution de la densité électronique au niveau du carbone C-4 due à l'effet attracteur du groupe acétyle et à l'anisotropie diamagnétique du groupe carbonyle.

Dans le spectre de masse, l'ion moléculaire apparaît à $M^+=251$; cette valeur correspond à la formule globale $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$.

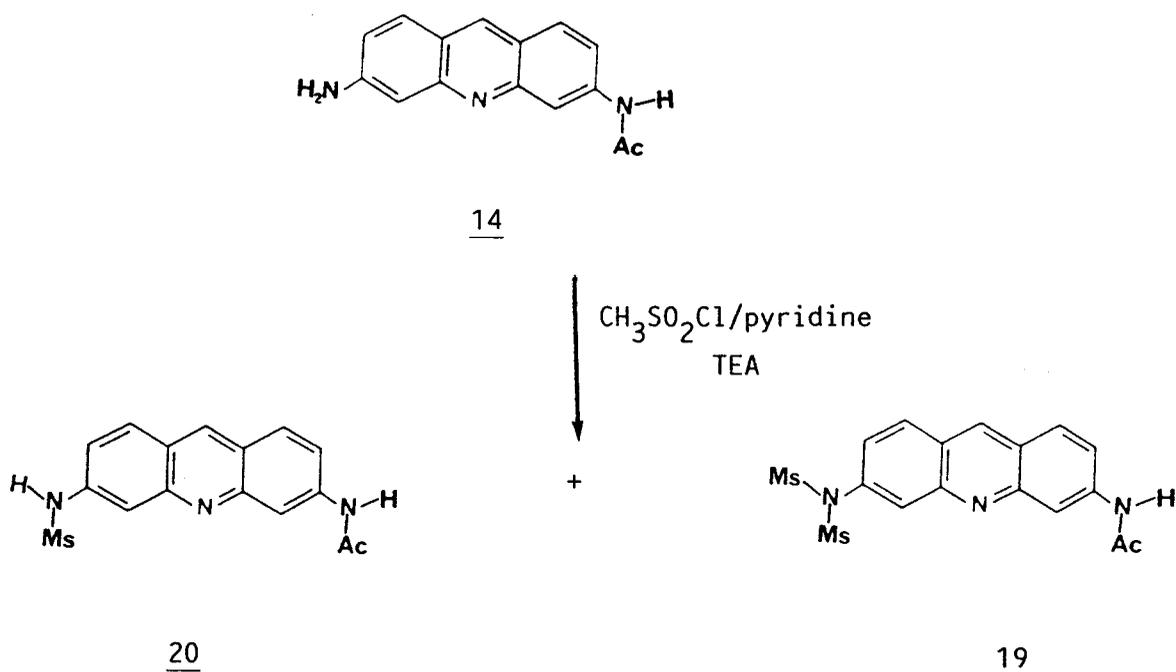
VI. ACTIVATION DE LA PROFLAVINE MONOACÉTYLÉE PAR LE CHLORURE DE MÉSYLE :

L'alkylation directe de la proflavine en présence de base ne donne pas de bons résultats (on obtient un très mauvais rendement et aucune sélectivité n'est observée (54)).

Une activation de l'atome d'azote libre vis-à-vis de l'alkylation est nécessaire. Nous avons utilisé le dérivé mésylé.

La réaction entre la proflavine acétylée 14 et le chlorure de mésyle dans la pyridine pendant 8 heures fournit un mélange de deux produits nouveaux : la proflavine monoacétylée, monomésylée 20 (45 %) et la proflavine monoacétylée, dimésylée 19 (16 %) avec une transformation incomplète de la proflavine acétylée de départ 14. On observe une précipitation des sels d'acridinium.

L'addition de triéthylamine empêche la précipitation, rend le milieu homogène et permet une transformation complète du produit de départ 14 avec une modification des proportions des produits formés : produit monoacétylé, monomésylé 20 (64 %), et produit monoacétylé, dimésylé 19 (28 %).

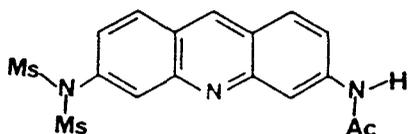


Si l'on est en présence d'un large excès de chlorure de mésyle et de triéthylamine, après 20 heures à la température ambiante, seul le produit 19 est obtenu avec un rendement de 86 %. Notons que même avec un défaut de chlorure de mésyle, il est impossible d'éviter la formation du dérivé 19.

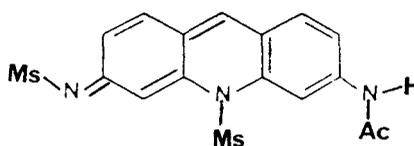
La structure du dérivé 19 a été déterminée par spectrométrie de masse et par analyse élémentaire puis confirmée par RMN du proton et du carbone.

Spectre de masse :

Dans le spectre de masse l'ion moléculaire apparaît à $M^+ = 407$; deux structures sont ainsi possibles : les deux groupes mésyle sont situés sur deux atomes d'azote différents (intra et extracyclique) 19a, ou sur le même atome d'azote d'amine primaire 19.



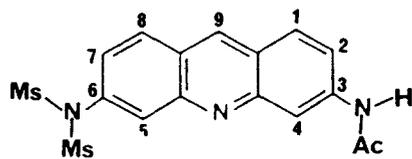
19



19a

Spectre de RMN ^1H :

On remarque la présence d'un proton échangeable vers 10,42 ppm correspondant au proton porté par l'atome d'azote de l'acétamide, la présence d'un singulet intégrant pour six protons à 3,6 ppm prouve la présence de deux groupes mésyles.



19

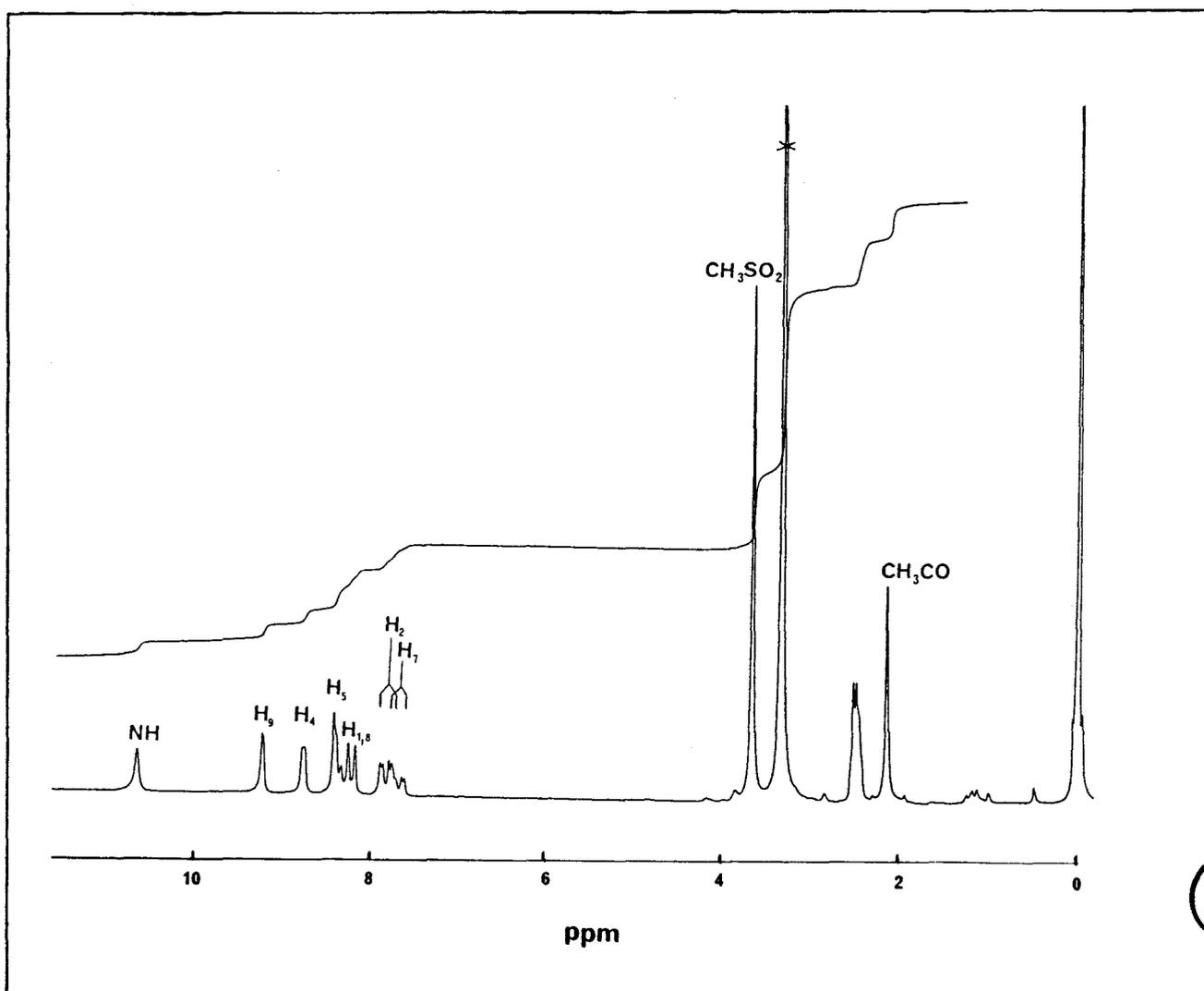


Figure 8 : Spectre de RMN ^1H de la proflavine monoacétylée dimésylée 19 (enregistré dans le DMSO- d_6).

Spectre de RMN ^{13}C :

Dans le spectre on observe la présence de 16 pics correspondant à la formule globale $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}_2$, le signal correspondant aux deux groupes méthyles du radical mésyle se présente sous forme d'un seul pic à 45,1 ppm.

Les spectres de RMN ^1H et ^{13}C conduisent à la conclusion que les deux groupes mésyles sont identiques, ce qui est en faveur de la structure 19.

La structure du dérivé 20 a été établie par RMN, spectre de masse, ultra-violet et infrarouge.

Le spectre de RMN ^1H du dérivé 20 montre la présence de deux singulets vers 2,11 ppm (3 protons) et 3,11 (3 protons) attribuables aux trois protons du groupe acétyle et mésyle respectivement. Le déplacement chimique des autres protons est en accord avec la structure 20.

Le spectre de masse du produit 20 montre l'ion moléculaire à $\text{M}^+=329$.

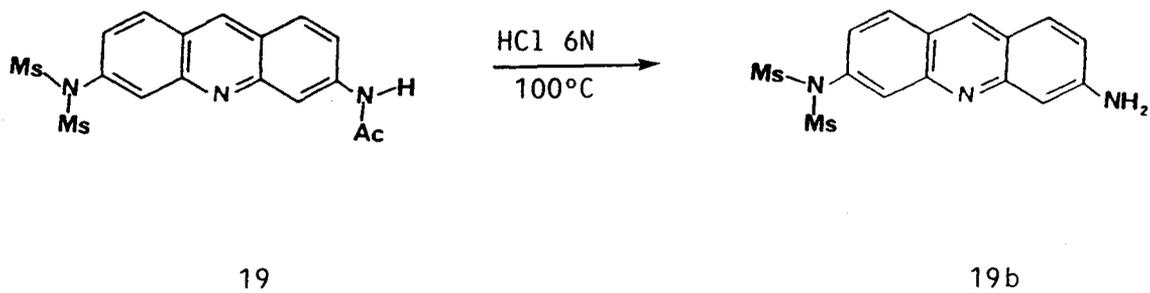
Il apparait donc qu'il serait impossible de sulfonyler sélectivement la proflavine acétylée 14 ; dans tous les cas on obtient un mélange de produits mono et disulfonylés. Nous avons donc examiné la réactivité du produit disulfonylé pour savoir s'il pouvait fournir aisément le dérivé monosulfonylé désiré 20.

Plusieurs essais d'hydrolyse sélective d'un seul groupe mésyle ont été tentés sur le produit 19.

a. Hydrolyse acide :

Les deux groupes mésyles situés sur un même atome d'azote dans le dérivé 19 sont très stables en milieu acide.

Le traitement du produit 19 par HCl 6N à la température de 100°C pendant deux heures donne un nouveau produit dont les propriétés spectrales correspondent à la structure 19b.



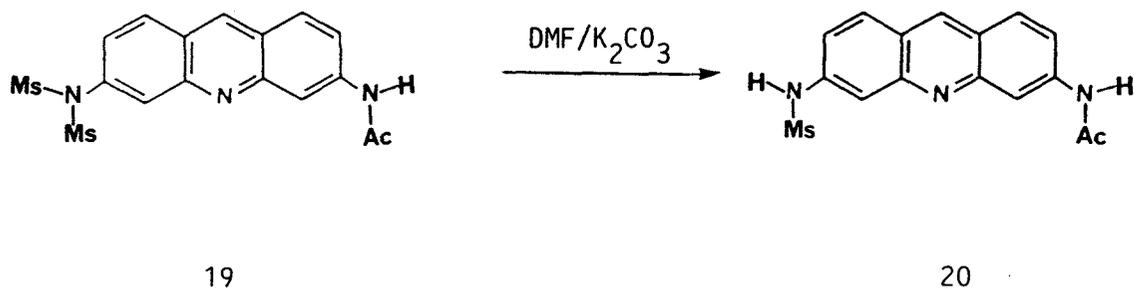
Dans le spectre de RMN¹H la disparition du signal correspondant au groupe méthyle de la fonction acétyle et la présence d'un signal échangeable intégrant pour deux protons vers 6,22 ppm confirme l'hydrolyse du groupe acétyle et la présence d'une fonction NH₂ libre sur la molécule.

La présence d'un singulet vers 3,57 ppm (6 protons) prouve que les groupes mésyles n'ont pas été touchés.

le spectre IR montre la disparition de la bande C=O de l'amide vers 1670 cm⁻¹ et l'apparition des bandes caractéristiques des amines primaires aromatiques (3115-3450 cm⁻¹).

b. Hydrolyse basique :

Le chauffage à 100°C du produit 19 dans la diméthylformamide en présence du carbonate de potassium pendant 14 heures fournit le produit 20 avec un rendement de 86 %.



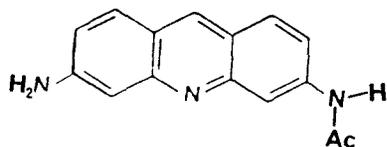
La même réaction d'hydrolyse réalisée à 80°C dans la diméthylformamide en présence d'eau et de carbonate de potassium se fait avec un rendement quasi-quantitatif en 45 minutes.

Il est intéressant de remarquer que l'hydrolyse s'arrête au composé monosulfonylé 20 et il n'y a pas trace du produit aminé-NH₂.

On dispose donc d'une méthode efficace et aisée pour transformer avec un bon rendement la proflavine monoacétylée 14 en dérivé monomésylé 20.

La méthode retenue pour obtenir la proflavine monoacétylée, monomésylée 20, consiste à faire réagir le produit 14 avec un excès de chlorure de mésyle dans la pyridine en présence de la triéthylamine pendant une nuit à 4°C. Après évaporation du solvant et élimination du chlorhydrate de la triéthylamine, le mélange réactionnel contenant les produits 19 et 20 est porté à 80°C dans la diméthylformamide en présence d'eau et de carbonate de potassium (sans séparation préalable des deux produits) pendant 1 heure.

Le rendement obtenu à partir de la proflavine monoacétylée est de 86 %.

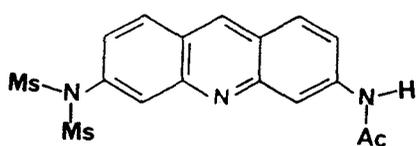


14

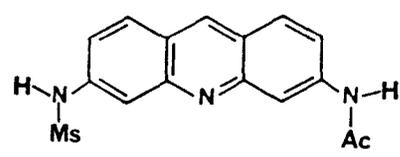
MsCl/pyridine
TEA



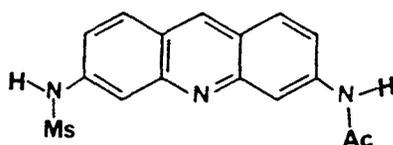
+



19



20

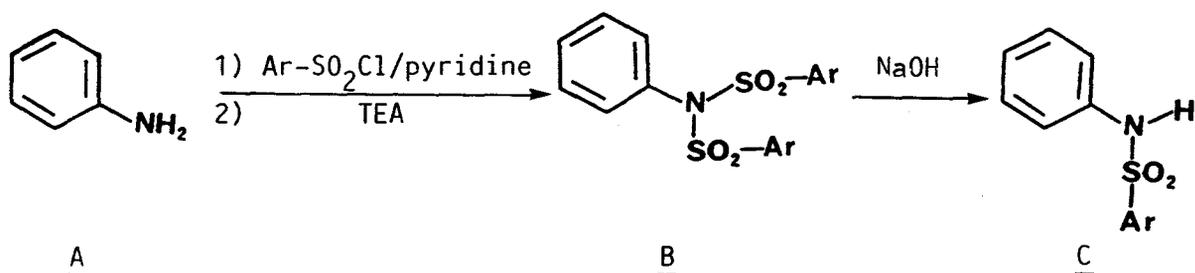


20

86 %



La disulfonation des amines primaires aromatiques et aliphatiques est connue dans la littérature : on rapporte que le traitement de l'amino-2 pyridine par le chlorure de benzène sulfonyle dans la pyridine suivi d'un traitement par la triéthylamine fournit l'amino-2 pyridine disulfonylée B ; ce dernier peut être transformé en dérivé monosulfonylé C par traitement avec de la soude 2N (72).



La disulfonylation a été mise à profit plus tard pour transformer l'amine primaire en un bon groupe partant (73) ; ainsi le groupe $\text{N}(\text{SO}_2\text{-R})_2$ a-t-il été remplacé soit par un hydrogène (désamination) (74) soit par un halogène (73).

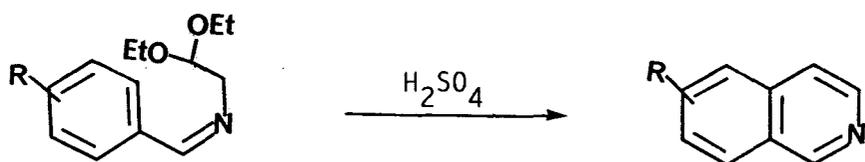
Enfin, l'attaque nucléophile du groupe disulfonylé porté par un atome de carbone asymétrique se fait avec un contrôle stéréochimique (la réaction se fait avec inversion de configuration) (75) .

En conclusion, nous disposons d'une bonne méthode qui permet d'obtenir le produit 20 avec un bon rendement ; le groupe mésyle favorise l'alkylation sur la proflavine et permet une préparation facile des précurseurs nécessaires à la cyclisation. Le choix de la chaîne éthyle dépend du cycle désiré.

VII. CYCLISATION :

Pour la synthèse d'hétérocycles aromatiques azotés à 5 ou 6 chaînons, un grand nombre de méthodes font appel à la cyclisation de dérivés acétaliques :

Pour la synthèse des isoquinoléines selon POMERANZ-FRITSCH l'acide sulfurique est utilisé comme agent cyclisant (83).



16

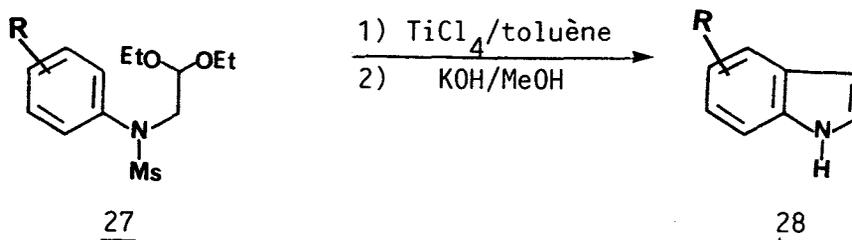
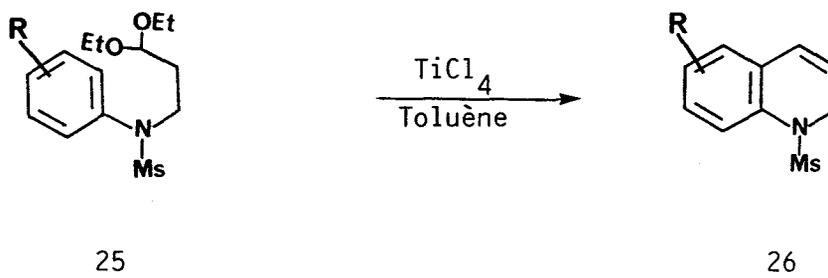
Isoquinoléine

Certains auteurs ont employé pour cycliser le même acétal, un mélange : acide acétique - anhydride trifluoroacétique - trifluorure de bore (84). Les rendements obtenus pour la cyclisation de l'acétal 16 sont variables. Ils s'étendent de 0 à 80 %.

Plus tard NORDLANDER (en 1981) a utilisé le mélange acide trifluoroacétique - anhydride trifluoroacétique pour synthétiser des indoles à partir du N-(acétaldéhyde diéthyl-acétal) N-(acétyl trifluoroacétique) aniline 23 avec un bon rendement (81). Notons que dans ce cas, les auteurs bloquent la fonction N-H sous forme d'acétamide trifluoroacétique.



Enfin, très récemment, en 1984, SUNDBERG et LAURINO (60) ont décrit la synthèse d'hétérocycles à 5 et 6 chaînons à partir de l'aniline ; ils protègent et activent l'amine par le groupe mésyle et préparent le N-mésyle de la dihydro-1,2 quinoléine 26 et l'indole 28 à partir des dérivés alkylés de l'aniline 25 et 27 respectivement, en présence du tétrachlorure de titane.

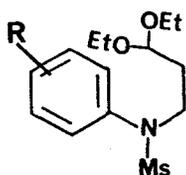


Le cours de la réaction dépend du substituant présent sur le cycle aromatique : se produisant à 0°C pour les dérivés méthoxylés en méta, la cyclisation nécessite une température de 130°C pour les composés bromés en para.

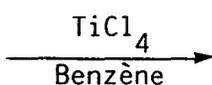
La cyclisation s'accompagne souvent d'un pourcentage de désalkylation dans le cas des dérivés para et méta-substitués, la désalkylation est presque totale pour les dérivés substitués en ortho. Le groupe mésyle a été introduit par les auteurs pour orienter en présence du tétrachlorure de titane vers la cyclisation, tant pour les cycles à 5 que pour les cycles à 6 chaînons.

La cyclisation est plus rapide lorsque l'on forme un cycle à 6 chaînons, elle est beaucoup plus lente lors de la formation d'un cycle à 5 chaînons.

Nous avons choisi d'utiliser les conditions décrites par SUNDBERG et ses collaborateurs (60), qui permettent de travailler dans des conditions très douces et surtout de mettre à profit la proflavine monoacétylée monomésylée 20 (même précurseur que celui utilisé par les auteurs) qui permet d'accéder à la fois à des cycles à 5 et 6 chaînons. En outre la présence du groupe mésyle va favoriser l'alkylation de 20.



25



26

Pour former un cycle à 6 chaînons à partir d'une amine primaire aromatique, les auteurs ont utilisé comme précurseur, le méthane sulfonamide de la N-(diéthoxy-3,3 propyl) aniline 25.

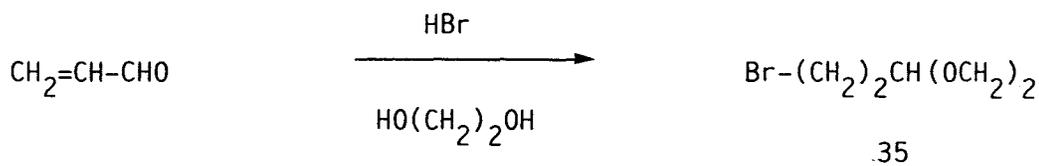
Nous nous sommes proposés de préparer le dérivé 22, susceptible d'avoir les mêmes propriétés de cyclisation que 25.

1/ PREPARATION DU (N-ACÉTYL, N'-(PROPIONALDEHYDE ETHYLENE-ACÉTAL), N-MESYL) DIAMINO-3,6 ACRIDINE 22 :

Ce dérivé 22 a été préparé par réaction entre la proflavine monoacétylée, monomésylée 20 et le bromo-3 propionaldéhyde éthylène-acétal 35. Nous avons choisi d'utiliser un acétal de type dioxolanne, car ces derniers sont plus stables que les diéthyl-acétals.

a. Synthèse du bromo-3 propionaldéhyde diéthylène-acétal :

La préparation du dérivé 35 se fait en une seule étape à partir de l'acroléine en présence d'acide bromhydrique, le solvant étant l'éthylène glycol, selon le mode opératoire décrit par BUCHI et WUEST (61).

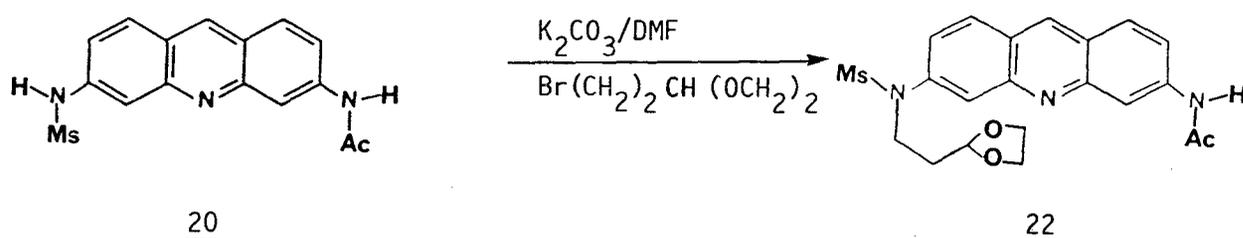


Le bromoacétal 35 est obtenu après distillation sous pression réduite avec un rendement de 58 %.

Le spectre de RMN ¹H montre la présence d'un triplet à 4,91 ppm caractéristique du proton pseudoaldéhydique, et d'un singulet à 3,84 ppm (4 protons) attribuable aux méthylènes de l'acétal. Les protons en α et β par rapport à l'atome de brome apparaissent respectivement à 3,40 et 2,12 ppm.

b. Réaction d'alkylation :

Cette réaction est effectuée à la température de 80°C dans la diméthylformamide en présence de carbonate de potassium et d'un excès de bromo-3 propionaldéhyde éthylène-acétal 35 pendant 3 heures. Elle conduit au produit désiré 22 avec un rendement de 72 %.



Dans le spectre de RMN 1H apparait un singulet (4H) attribué aux $2CH_2$ de l'acétal à 3,33 ppm, un triplet caractéristique intégrant pour un proton vers 4,85 ppm attribuable au proton pseudoaldéhydique. On retrouve le doublet caractéristique vers 8,53 ppm du proton C_4-H , le singulet déblindé du proton C_9-H (8,95 ppm), et les deux doublets de doublets vers 7,61 et 7,49 ppm attribuables aux protons C_7-H et C_2-H respectivement. Les positions respectives de ces derniers ont été déterminées par des expériences de découplage (l'irradiation du signal correspondant au proton C_4-H fait disparaître le couplage en J^4 entre le C_4-H et le C_2-H). Le déplacement chimique des autres protons est en accord avec la structure 22.

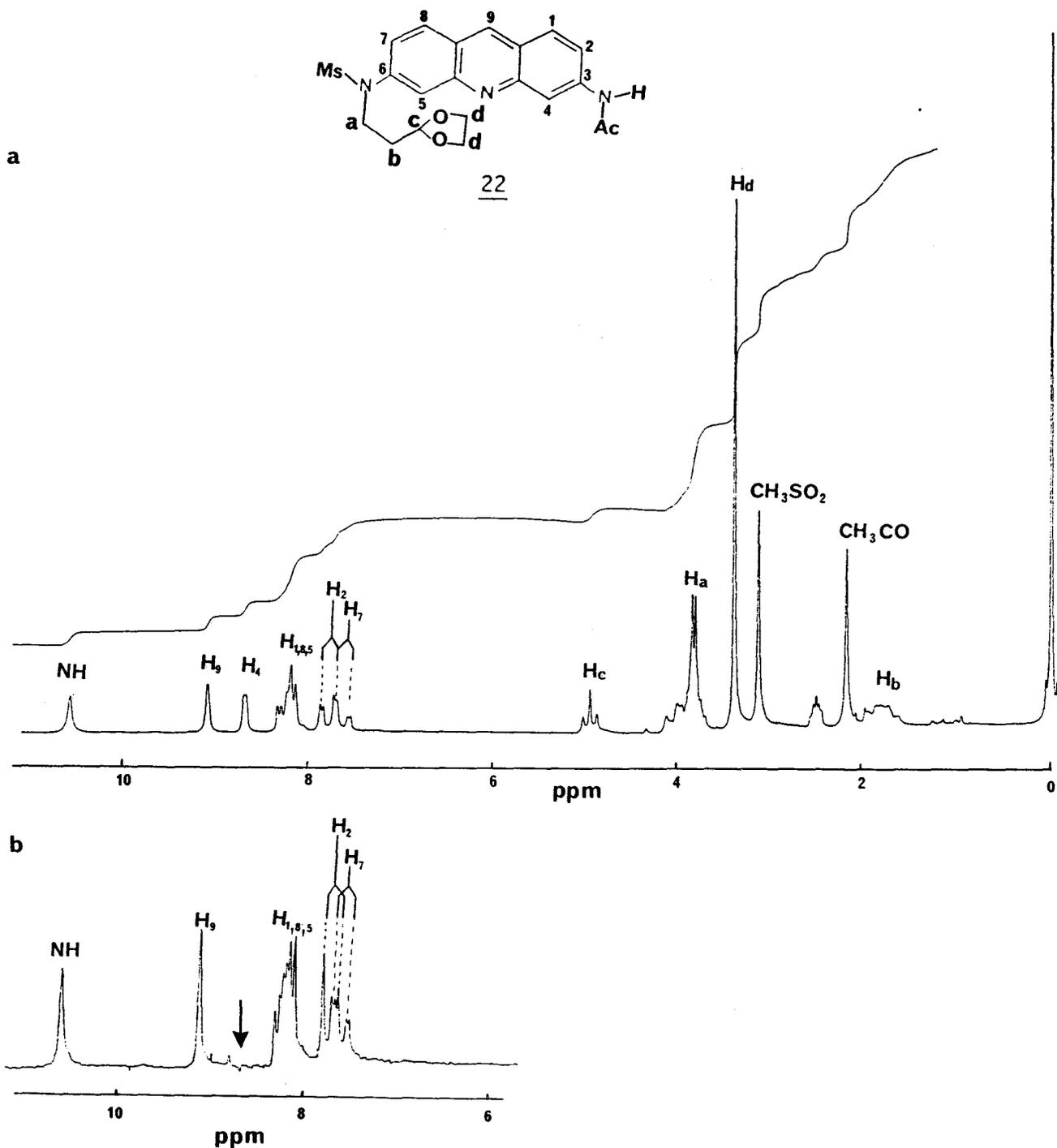


Figure 9 : Spectre de RMN ^1H du dérivé **22** : (a), (b) spectre de la partie aromatique de **22** avec irradiation du proton C_4 -H (enregistré dans le DMSO-d_6).

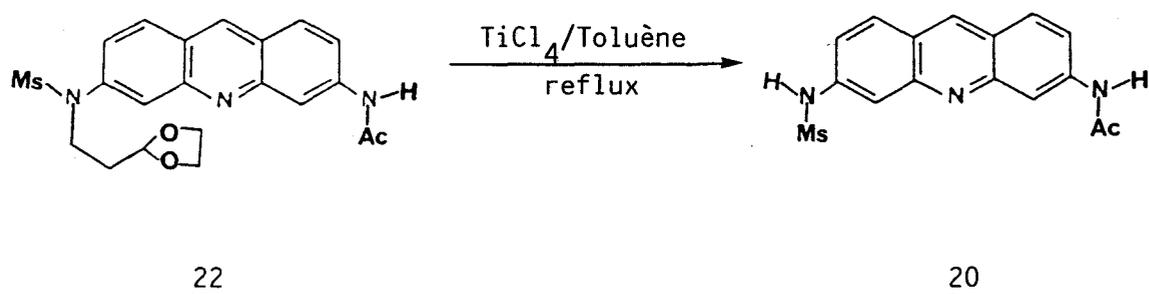
Spectre de masse : l'ion moléculaire n'apparaît pas, mais on observe un pic à $m/e=350$ correspondant à la perte du radical mésyle (CH_3SO_2).

2. CYCLISATION DANS LE TOLUENE EN PRESENCE DE TiCl₄ :

La réaction de cyclisation du produit 22 catalysée par le tétrachlorure de titane dans le toluène n'a pas abouti.

A température ambiante le produit de départ 22 reste inchangé.

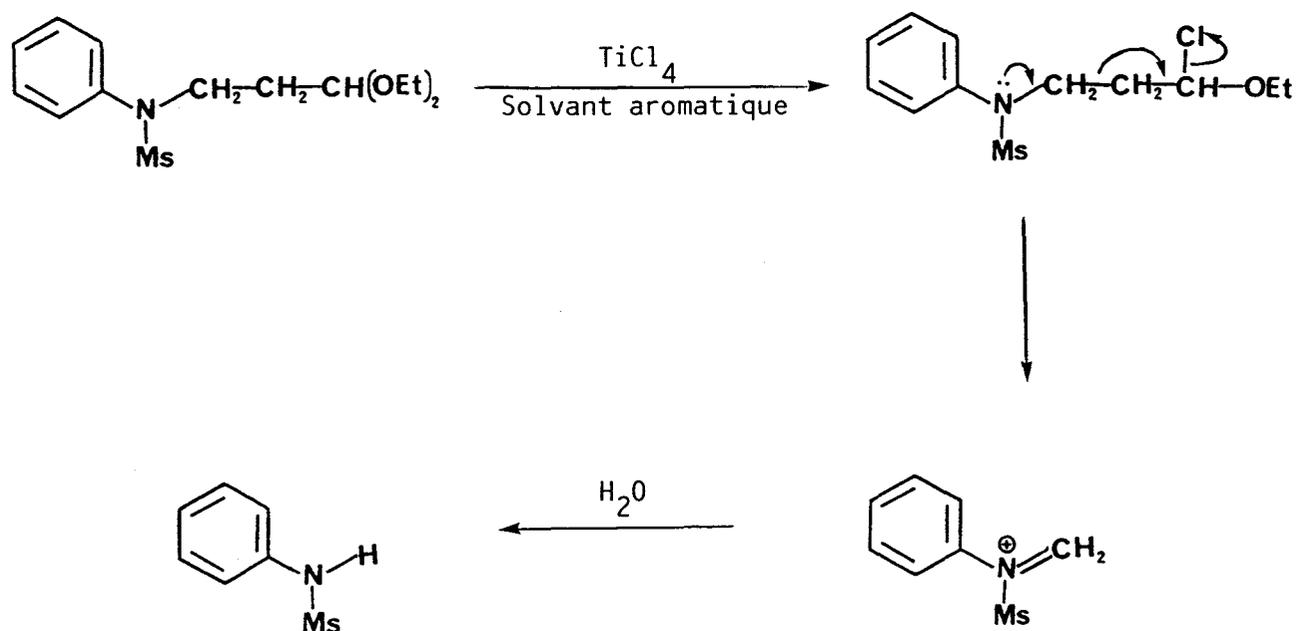
Après une nuit à reflux, on observe une désalkylation totale du produit 22 en produit 20.



Le produit désalkylé 20 est identifié par comparaison avec celui obtenu par hydrolyse basique du produit monoacétylé dimésylé 19 (p. 51).

Comme noté précédemment, un comportement similaire a été observé par SUNDBERG (60) lors de la cyclisation de certains dérivés 25 et 27 (p. 55) : la cyclisation de dérivés substitués par des groupes donneurs en para ou en méta par rapport à la fonction amine primaire se fait avec de très bons rendements. Dans ce cas seulement un faible pourcentage de désalkylation est observé. Lorsque ces mêmes dérivés 25 et 27 sont substitués par des groupes donneurs en ortho, la cyclisation ne se fait pas, et dans certains cas la désalkylation est presque totale.

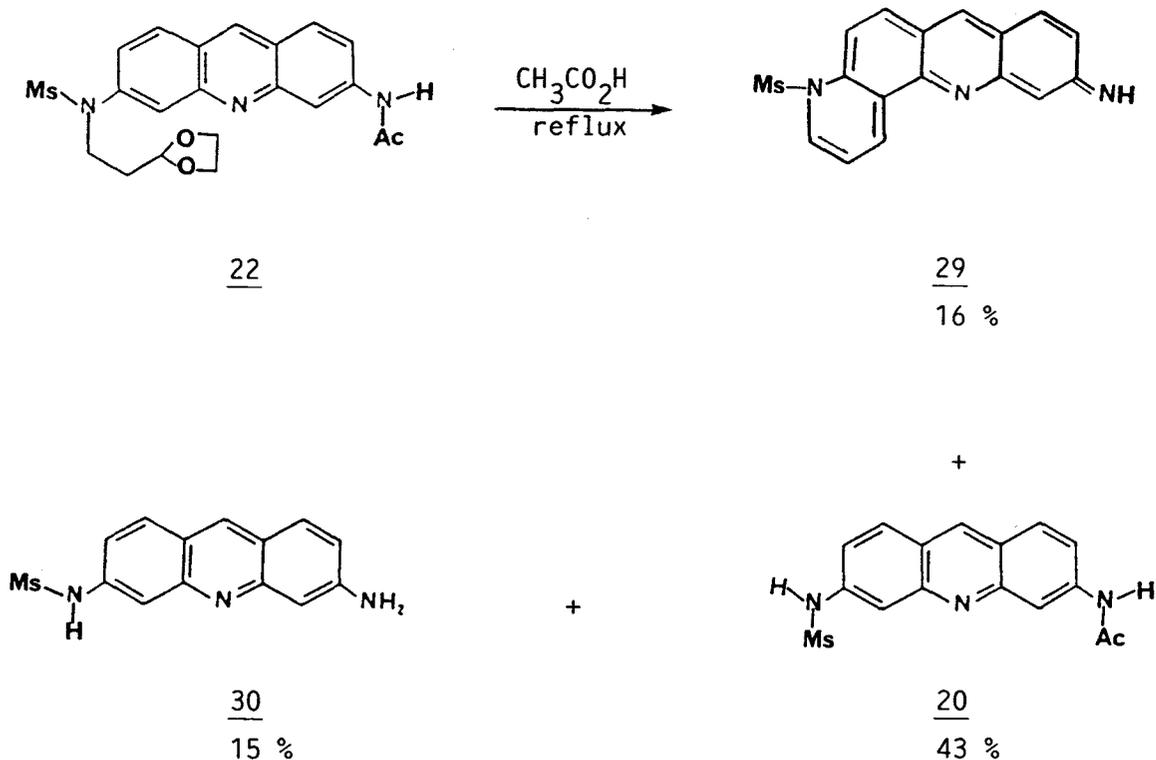
Les auteurs (60) ont attribué cette désalkylation à une fragmentation selon GROB, suivant le schéma :



Bien que SUNDBERG et ses collaborateurs n'aient pas décrit d'autres conditions de cyclisation, nous avons étudié le comportement de 22 dans divers milieux acides.

3. CYCLISATION DANS L'ACIDE ACETIQUE :

Dans l'acide acétique au reflux pendant cinq jours le produit 22 conduit à un mélange de trois produits 20, 29 et 30 dont les structures ont été déterminées par l'ensemble de leurs propriétés spectrales.



Le produit 20 est identifié par comparaison avec l'échantillon obtenu par hydrolyse basique du composé 19 (les spectres de RMN ^1H , masse, infrarouge et ultra-violet sont tous identiques).

Le produit monomésylé 30 résulte d'une désalkylation suivie d'une perte d'acétyle en milieu acide.

Dans le spectre de RMN ^1H la présence d'un signal large échangeable vers 6,63 ppm (2H) prouve l'existence d'un NH_2 libre, on trouve le signal vers 2,96 ppm du groupe méthyle du radical mésyle.

Le spectre infrarouge montre la disparition de la bande carbonyle de l'amide à 1700 cm^{-1} , et l'apparition des bandes caractéristiques des amines primaires aromatiques ($3450\text{-}3350\text{ cm}^{-1}$).

Dans le spectre de masse l'ion moléculaire apparaît à $M^+=287$. On observe aussi un ion intense à $m/e=208$ provenant de la perte du radical mésyle.

Le produit cyclisé 29 est obtenu avec un rendement de 16 %. Sa structure a été déterminée par RMN ^1H et par spectrométrie de masse.

Spectre de RMN ^1H :

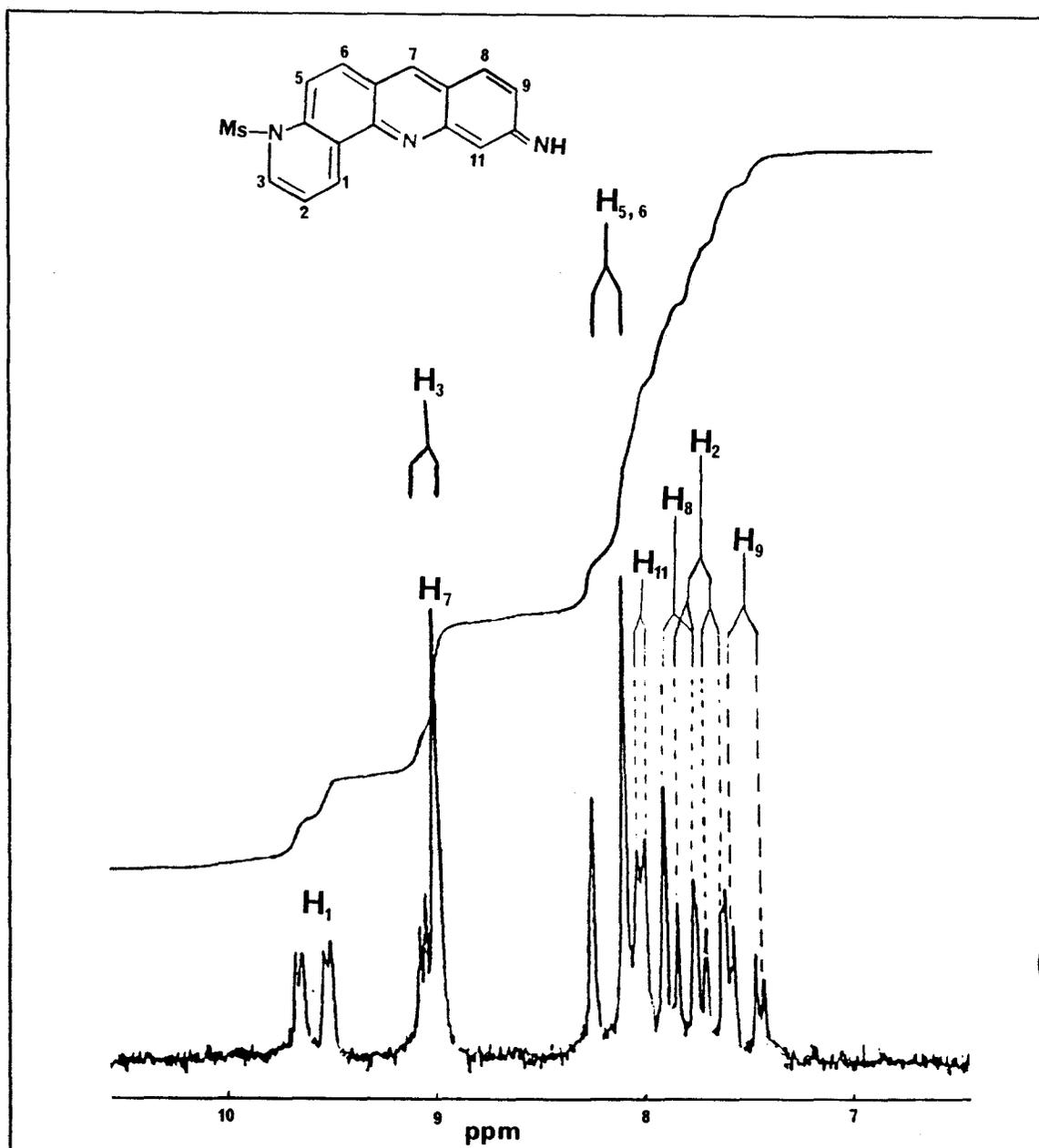


Figure 10 : Partie aromatique du spectre de RMN ^1H du dérivé 29 (enregistré dans le DMSO-d_6)

Dans le spectre de RMN ^1H (Figure 10), la position et la multiplicité des protons $\text{C}_1\text{-H}$ (9,57, dd), $\text{C}_3\text{-H}$ (9,02, dd) et $\text{C}_5\text{-H}$ (8,17, d) sont en accord avec la structure angulaire proposée 29. Ce genre de structure sera discuté plus en détail, p. 70.

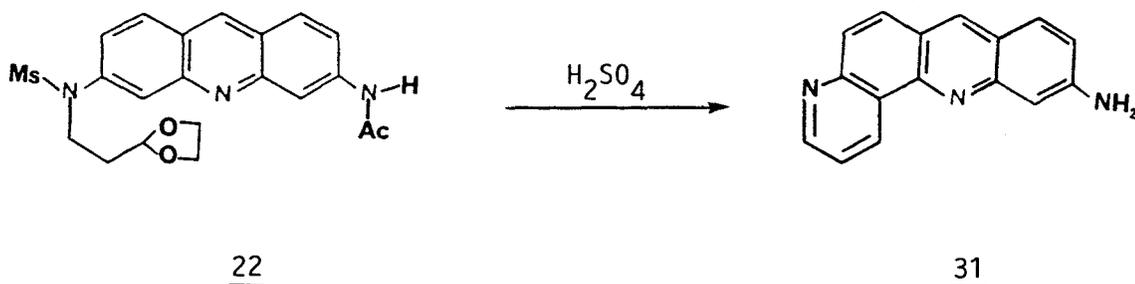
Spectre de masse :

L'ion moléculaire apparait à $M^+=323$; on observe également un pic intense à $m/e=244$ correspondant à la perte du radical mésyle (à partir de l'ion moléculaire). Le spectre de masse montre également la perte de 3 molécules d'acide cyanhydrique, ce comportement est caractéristique de ce genre de molécules (96a).

La cyclisation dans l'acide acétique permet d'accéder au produit de cyclisation 29, mais le rendement n'est pas satisfaisant : par conséquent ces conditions ne peuvent être exploitées avec profit pour obtenir le dérivé cyclisé final 31.

4. CYCLISATION DANS L'ACIDE SULFURIQUE :

Nous avons choisi l'acide sulfurique en espérant réaliser en même temps la cyclisation et l'hydrolyse des deux groupes acétyle et mésyle ; la réaction se fait par chauffage de 22 dans l'acide sulfurique concentré à 100°C pendant 2 heures.



La chromatographie sur plaque de silice montre la présence de plusieurs produits ; après plusieurs séparations par chromatographie sur colonne de silice, puis par chromatographie sur couche mince, le produit désiré 31 est obtenu sous forme pure avec un rendement très faible (environ 5 %).

La caractérisation de ce produit est décrite p. 70.

En conclusion, nous avons utilisé plusieurs conditions pour cycliser le dérivé 22. La réaction dans l'acide acétique fournit le dérivé cyclisé mésylé 29 avec un rendement de 16 %, la cyclisation dans l'acide sulfurique donne en une seule étape le dérivé 31 avec un rendement d'environ 5 %, et enfin la réaction dans le mélange tétrachlorure de titane-benzène ne donne aucun produit de cyclisation.

Devant cet échec, nous avons cherché d'autres voies qui permettraient de cycliser l'acétal de type 22 avec de meilleurs rendements.

Par analogie, nous avons préparé le tosylate 36, bien qu'aucune comparaison concernant la cyclisation des tosylates et mésylates ne soit décrite dans la littérature.

VIII. ACTIVATION DE LA PROFLAVINE MONOACÉTYLÉE 14 PAR LE CHLORURE DE TOSYLE :

De la même manière que pour obtenir le dérivé mésylé 20, la proflavine monoacétylée 14 a été traitée par le chlorure de tosyle dans la pyridine en présence de triéthylamine.

Il se forme deux produits : la proflavine monoacétylée, monotosylée 32 (54 %) et la proflavine monoacétylée ditosylée 33 (18 %) que nous avons séparées par chromatographie sur colonne de silice.

* Détermination de la structure des dérivés 32 et 33 :

Dans le spectre de RMN ^1H du produit monoacétylé, ditosylé 33, le groupe méthyle du radical tosyle apparaît à 2,41 ppm sous forme d'un seul pic intégrant pour six protons, le même signal intégrant cette fois pour trois protons apparaît à 2,23 ppm pour le dérivé 32.

Le spectre infrarouge montre également deux bandes d'absorption caractéristiques des sulfonamides entre 1160 et 1080 cm^{-1} en plus de la bande carbonyle de l'amide vers 1670 cm^{-1} .

Par analogie avec les observations faites en série mésylsulfonate, nous avons étudié l'hydrolyse du dérivé ditosylé 33 en composé monotosylé 32. Le chauffage du dérivé 33 dans un mélange eau-diméthylformamide (1/6) en présence du carbonate de potassium pendant 14 heures fournit le dérivé monoacétylé, monotosylé 32 avec un bon rendement (82 %).

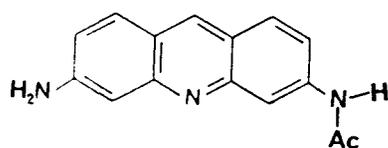
Par conséquent, la méthode utilisée en série méthane sulfonyle a pu être étendue à cette série.

La proflavine monoacétylée 14 est mise en réaction avec un excès de chlorure de tosyle dans la pyridine en présence de triéthylamine pendant une nuit à température ambiante. Après évaporation du solvant et élimination du

chlorhydrate de triéthylamine, le mélange réactionnel contenant les produits 32 et 33 est porté à 100°C dans le mélange eau-diméthylformamide (1/6) en présence de carbonate de potassium pendant 14 heures.

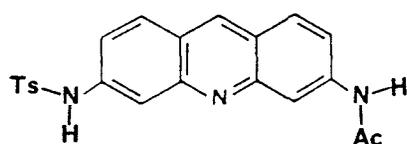
Le rendement obtenu à partir de la proflavine monoacétylée 14 est de 75 %.

D'une manière identique à ce qui se passe pour 20, la proflavine monoacétylée, monotosylée 32 peut être alkylée par le bromo-3 propionaldéhyde éthylène-acétal 35 pour donner le précurseur 36, susceptible de former un cycle à 6 chaînons.



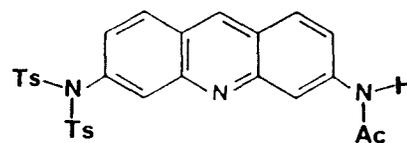
14

TsCl/pyridine
TEA
T° amb.



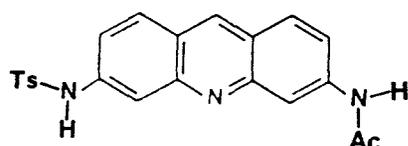
32

+



33

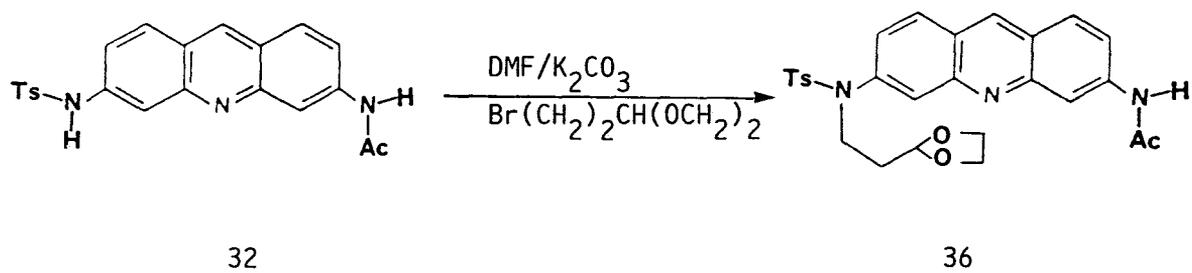
K_2CO_3 /DMF/H₂O
100°C



32

1. ALKYLATION DU DERIVE 32, PAR LE BROMO-3 PROPIONALDEHYDE
ETHYLENE-ACETAL :

La préparation du produit 36 se fait par chauffage à 60°C pendant 4 heures de la proflavine monoacétylée, monotosylée 32 avec un excès du bromo-3 propionaldéhyde éthylène-acétal dans la diméthylformamide en présence de carbonate de potassium. Le produit 36 est obtenu avec un rendement de 75 %.



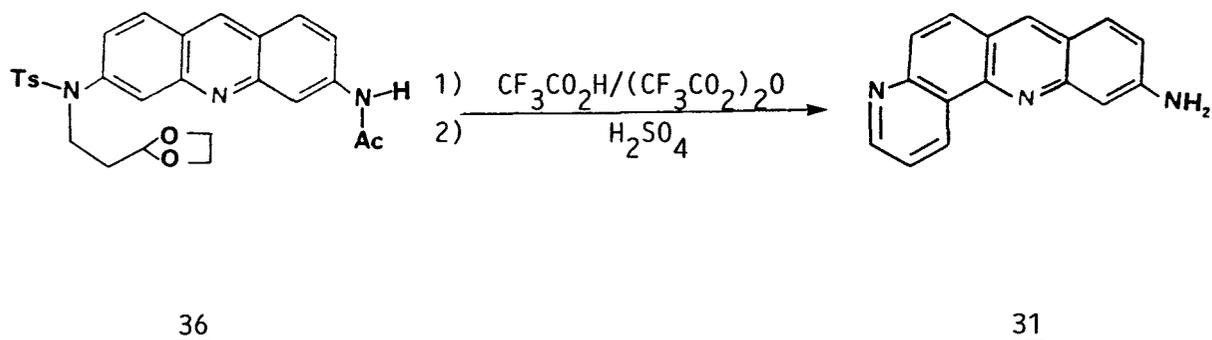
La RMN ¹H montre la présence d'un signal sous forme d'un triplet vers 4,83 ppm (intégrant pour un proton) caractéristique du proton pseudo-aldéhydique, d'un singulet intégrant pour quatre protons vers 3,35 ppm attribuable aux méthylènes de l'acétal.

Dans le spectre de masse, l'ion moléculaire n'apparaît pas, on observe un pic à m/e=350 provenant de la perte du radical tosylo.

2. CYCLISATION DU DERIVE 36 :

Des essais préliminaires nous ont permis de choisir parmi les conditions décrites ; seule la cyclisation dans le mélange acide trifluoroacétique - anhydride trifluoroacétique (puis hydrolyse des groupes acétyle et tosylo) et dans l'acide sulfurique permettent d'aboutir au produit désiré 31.

- a) Dans le mélange, acide trifluoroacétique - anhydride trifluoroacétique :



Le (N-acétyl, N'-(propionaldéhyde éthylène - acétal), N'-tosyl) diamino-3,6 acridine 36 est chauffé à reflux pendant une nuit dans une solution de 30 % (v/v) d'anhydride trifluoroacétique dans l'acide trifluoroacétique. Une chromatographie sur plaque de silice montre la présence de plusieurs produits. Le chauffage du brut réactionnel dans l'acide sulfurique à 50°C pendant 2 heures fournit le produit désiré 31 avec un rendement d'environ 30 %.

- b) Dans l'acide sulfurique concentré :

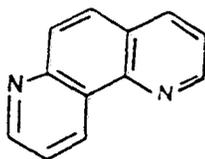
La réaction se fait par chauffage pendant 1 heure 30 de l'acétal 36 dans l'acide sulfurique concentré à 75°C. Après purification par chromatographie sur colonne de silice, l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 est obtenu avec un rendement de 40 %.

La cyclisation dans l'acide sulfurique à l'avantage de former l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 en une seule étape (la cyclisation et l'hydrolyse des groupes acétyle et tosyl se font en même temps).

La structure de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 a été déterminée par l'ensemble de ses propriétés spectrales.

Spectre de RMN ¹H :

Nous avons attribué la structure angulaire du dérivé 31 par comparaison avec la phénanthroline-1,7.



Phénanthroline-1,7

Cette molécule possède une structure analogue à celle de la partie angulaire de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31. L'étude par RMN ¹H de la phénanthroline-1,7 a été réalisée par PERKAMPUS (85) par comparaison avec une série d'isomères de phénanthroline.

Nous reproduisons dans le tableau 3, les déplacements chimiques des protons de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31, comparés à ceux de la phénanthroline-1,7. Nous avons choisi une numérotation telle que l'on ait correspondance entre les deux systèmes.

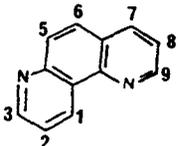
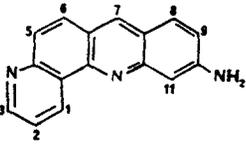
	: H ₁	: H ₂	: H ₃	: H ₅	: H ₆	: H ₇	: H ₈	: H ₉	: H ₁₁	: NH ₂	:
	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
	: 9,40	: 7,51	: 8,88	: 7,95	: 7,73	: 8,03	: 7,37	: 8,88	:	:	:
	: dd	: dd	: dd	: d	: d	: dd	: dd	: dd	: -	: -	:
Phénanthroline-1,7	: 8/2	: 8/4,5	: 4,5/2	: 9	: 9	: 8/2	: 8/4,5	: 4,5/2	:	:	:
	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
	: 9,49	: 7,68	: 8,95	: 8,04	: 7,68	: 8,69	: 7,57-7,80	: 7,14	: 7,12	: 6,15	:
	: dd	: dd	: dd	: d	: d	: s	: dd	: d2	: s	:	:
	: 8,25/1,83	: 8,25/4,40	: 4,40/1,83	: 9,34	:	: 8,80	: 8,80/2,20	: 2,20	:	:	:
<u>31</u>	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:

Tableau 3 : Déplacements chimiques, multiplicités et constantes de couplage de la phénanthroline-1,7 et de l'amino-10 benzo(b) phénanthroline-1,7 31.

Par comparaison avec la phénanthroline-1,7, on peut relever une similitude pour :

- 1/ La position des protons C₁-H, C₂-H et C₃-H, ainsi que pour la multiplicité et les valeurs des constantes de couplage de ces signaux.
- 2/ La présence d'un seul singulet caractéristique du proton C₇-H, exclut une structure linéaire correspondant à une cyclisation sur C₅. Dans ce cas on observerait deux singulets de type C₇-H vers les champs faibles.
- 3/ La présence du doublet caractéristique du proton C₅-H à 8,04 ppm.

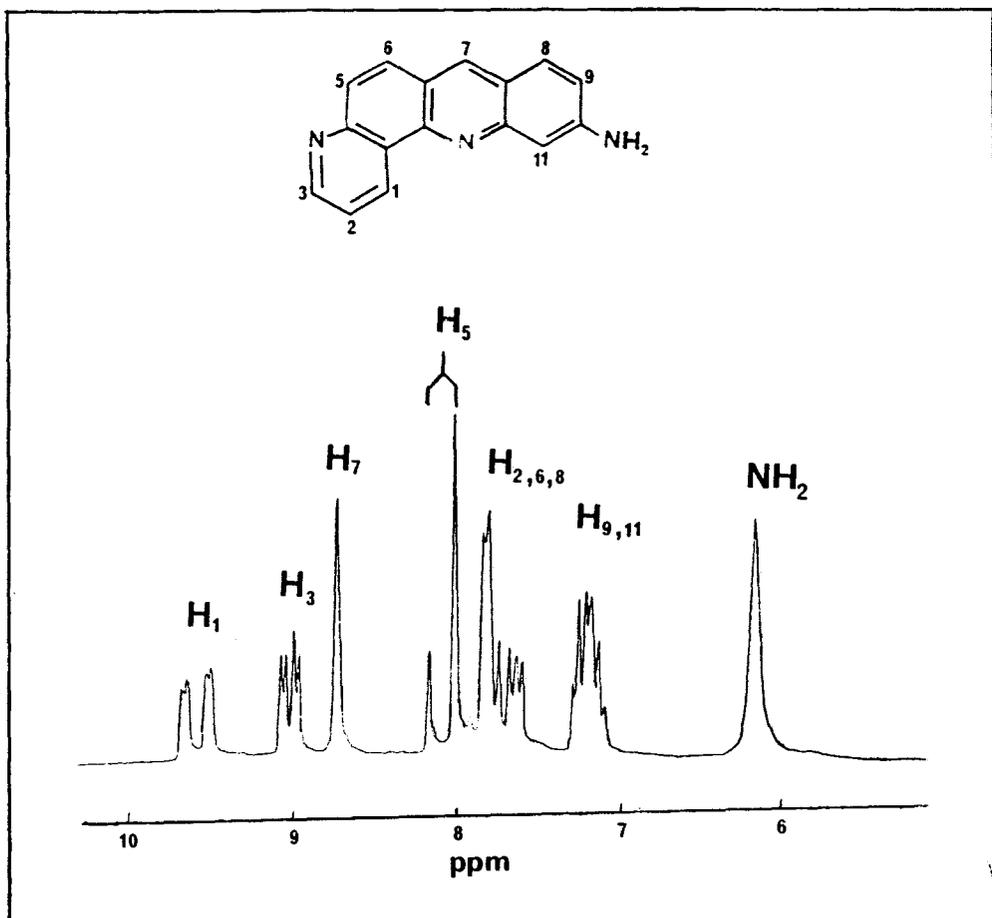


Figure 11 : Partie aromatique du spectre de RMN ^1H de l' amino-10 benzo(b)-phénanthroline-1,7 31 (enregistré dans le $\text{DMSO}-d_6$).

Les attributions des déplacements chimiques des protons $\text{C}_1\text{-H}$, $\text{C}_2\text{-H}$ et $\text{C}_3\text{-H}$ de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 ont été faites grâce à des expériences de découplage : le proton $\text{C}_2\text{-H}$ apparaît comme un doublet de doublets centré à 7,68 ppm, sa multiplicité s'interprète comme résultant du couplage (8,25 et 4,4Hz) avec les protons $\text{C}_1\text{-H}$ et $\text{C}_3\text{-H}$ respectivement. L'irradiation du doublet de doublets à 7,68 ppm ($\text{C}_2\text{-H}$) modifie la multiplicité des signaux à 9,49 ppm ($\text{C}_1\text{-H}$) et 8,95 ppm ($\text{C}_3\text{-H}$). Les autres protons apparaissent à des valeurs comparables à celles des mêmes protons dans la proflavine 1 et la phénanthroline-1,7.

Lorsqu'on chauffe* l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 dans le DMSO-d₆ en présence d'eau deutériée pendant 20 heures à 65°C, on observe un échange des protons C₁₁-H et NH₂** . L'échange du proton C₁₁-H s'accompagne de la disparition du couplage ⁴J avec le proton C₉-H. L'échange du proton C₁₁-H se fait presque instantanément lorsqu'on fait le spectre de RMN ¹H dans le mélange tampon deutéroacétate; pD = 4,6. Une fois la réaction terminée, nous avons évaporé le solvant, solubilisé dans l'eau (pour échanger les deutérium de la fonction amine primaire) et isolé le produit. En spectrométrie de masse, le dérivé obtenu montre le pic moléculaire à M⁺=246, alors que celui du produit de départ 31 est de M⁺=245. Il s'agit donc bien d'un échange H/D.

Spectre de masse :

Dans le spectre de masse, le pic correspondant à l'ion moléculaire apparait à M⁺=245, on observe aussi des pics à m/e=218, 191 et 164 correspondant chaque fois à la perte d'une molécule d'acide cyanhydrique (96a).

Le spectre infrarouge montre la présence de la bande d'absorption due à la vibration de la liaison N-H caractéristique des amines primaires aromatiques vers 3440 cm⁻¹.

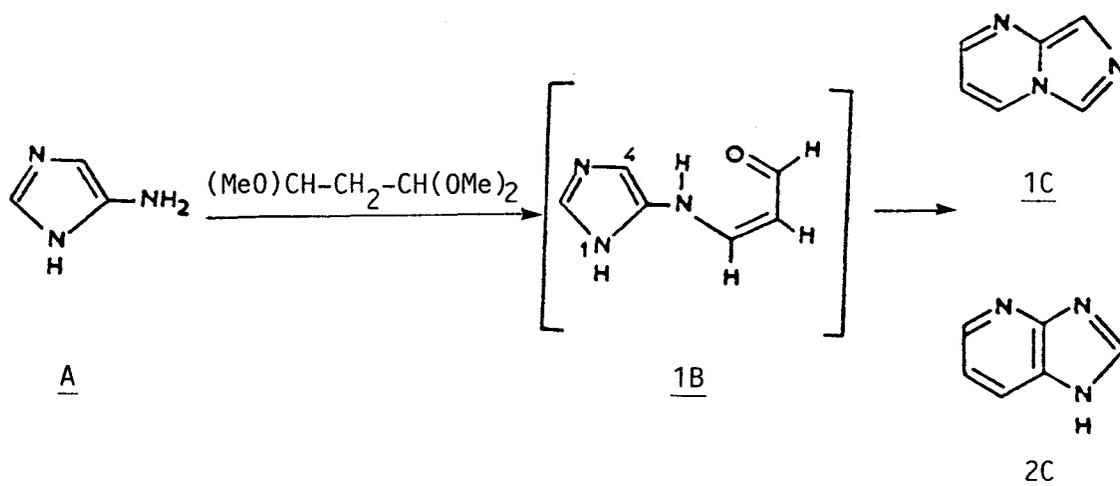
En conclusion, nous avons mis au point une méthode qui permet de préparer le produit final 31 avec des rendements raisonnables : l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 est obtenu avec un rendement de 30 % par cyclisation dans le mélange acide trifluoroacétique - anhydride trifluoroacétique, et de 40 % par cyclisation dans l'acide sulfurique. Toutefois, cette voie nécessite plusieurs étapes. Nous avons donc essayé de rechercher un deuxième schéma qui permette un accès plus rapide au même dérivé 31.

* La réaction est réalisée dans le tube de RMN.

** Le signal des protons NH₂ disparaît instantanément lorsqu'on ajoute D₂O dans le DMSO-d₆.

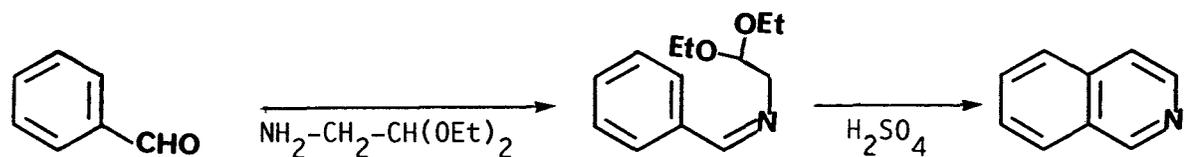
IX. DEUXIEME SCHEMA DE SYNTHESE : OBTENTION DE L'AMINO-10, BENZO(b)-PHENANTROLINE-1,7 31 PAR REACTION ENTRE LA PROFLAVINE MONOACETYLEE 14 ET LE TETRAMETHOXY-1,1,3,3 PROPANE, PUIS HYDROLYSE DU N-ACETYLAMINO-10 BENZO(b)PHENANTHROLINE-1,7 14b :

Il est décrit dans la littérature (76, 77) que la réaction d'un amino-4 imidazole A et d'un composé β -dicarbonylé conduit à deux séries de produits : l'intermédiaire 1B à chaîne ouverte fournit par cyclisation, les hétérocycles correspondants C.



Des composés analogues à 1B ont été isolés dans des réactions comparables (76).

D'autres exemples sont également décrits dans la littérature, notamment par POMERANZ-FRITSCH (83) concernant la synthèse d'isoquinoléines : le benzaldéhyde est transformé en base de SCHIFF avec l'aminoacétal ; la cyclisation de cette base de SCHIFF par l'acide sulfurique conduit à l'isoquinoléine suivant la schéma indiqué :



Benzaldéhyde

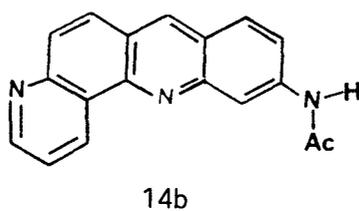
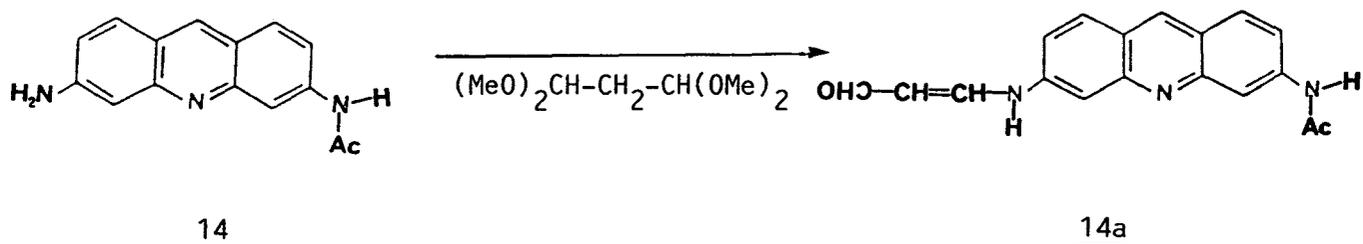
Base de SCHIFF
2B

Isoquinoléine

Nous nous sommes inspirés de ces méthodes qui permettent de former un hétérocycle à six chaînons au départ d'une amine primaire et d'un dérivé carbonyle, puis cyclisation intramoléculaire des intermédiaires aldéhydiques B par attaque nucléophile sur le carbonyle aldéhydique.

1. SYNTHESE DU N-ACÉTYLAMINO-10 BENZO(b)PHENANTHROLINE-1,7 14b :

Les meilleurs conditions permettant la formation du N-acétylamino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 14b, consistent à chauffer à reflux la proflavine monoacétylée 14 dans l'acide acétique en présence d'un large excès du tétraméthoxy-1,1,3,3 propane pendant 14 heures. Le meilleur rendement obtenu en produit pur 14b est de 10 %.



Le mécanisme de cette réaction la plus vraisemblable met en oeuvre l'intermédiaire 14a (visible par chromatographie sur plaque de silice au cours de la réaction) résultant de l'attaque par l'amine primaire libre de la proflavine monoacétylée 14 d'un carbonyle du composé β -dicarboxylé. La fermeture du cycle à six chaînons s'accomplit ensuite par attaque du carbonyle aldéhydique par le carbone C₅ (plus nucléophile que le carbone C₇) pour donner exclusivement le dérivé cyclisé angulaire 14b.

La structure de l'intermédiaire 14a et du produit final 14b a été déterminé par RMN ¹H et par spectrométrie de masse.

* N-(formyl-2 vinyl) diamino-3,6 acridine 14a :

Cet intermédiaire 14a est isolé du mélange réactionnel par arrêt de la réaction après seulement une heure de reflux entre la proflavine monoacétylée 14, le tétraméthoxy-1,1,3,3 propane et l'acide acétique. Une purification est nécessaire pour séparer le N-(formyl-2 vinyl) diamino-3,6 acridine du dérivé 14b formé et de la proflavine monoacétylée de départ 14.

Spectre de RMN ^1H :

La structure de ce produit 14a a été déterminé par des expériences de découplage, par comparaison avec la structure de la proflavine monoacétylé 14 et avec des structures N-(formyl-2 vinyl) analogues (76, 86).

Le spectre de RMN ^1H montre la présence de deux protons échangeables vers 10,44 et 10,33 ppm correspondant aux protons NH de l'acétamide et de l'énamine secondaire respectivement ; en présence de D_2O on observe également une modification au niveau de la multiplicité de H_a . Le proton H_b apparaît comme un doublet de doublets centré à 5,67 ppm. Sa multiplicité s'interprète comme résultant de couplage (12,46 Hz et 8,98 Hz) avec H_a et H_c . L'irradiation du doublet de doublets à 5,67 ppm modifie la multiplicité des signaux correspondant à H_a (8,3 ppm) et H_c (9,32 ppm). Par sa position, le signal à 9,32 ppm est attribué au proton aldéhydique. On observe également les signaux caractéristiques vers les champs bas correspondant aux protons $\text{C}_9\text{-H}$ (8,81 ppm) et $\text{C}_4\text{-H}$ (8,41 ppm). Les autres déplacements chimiques des autres protons sont en accord avec la structure proposée.

Spectre de masse :

Dans le spectre de masse le pic correspondant à l'ion moléculaire apparaît à $M^+=305$, on observe aussi deux ions à $m/e=276$ et 262 provenant respectivement de la perte du radical formyle (CHO) et du groupe acétylé (CH_3CO) au départ de l'ion moléculaire.

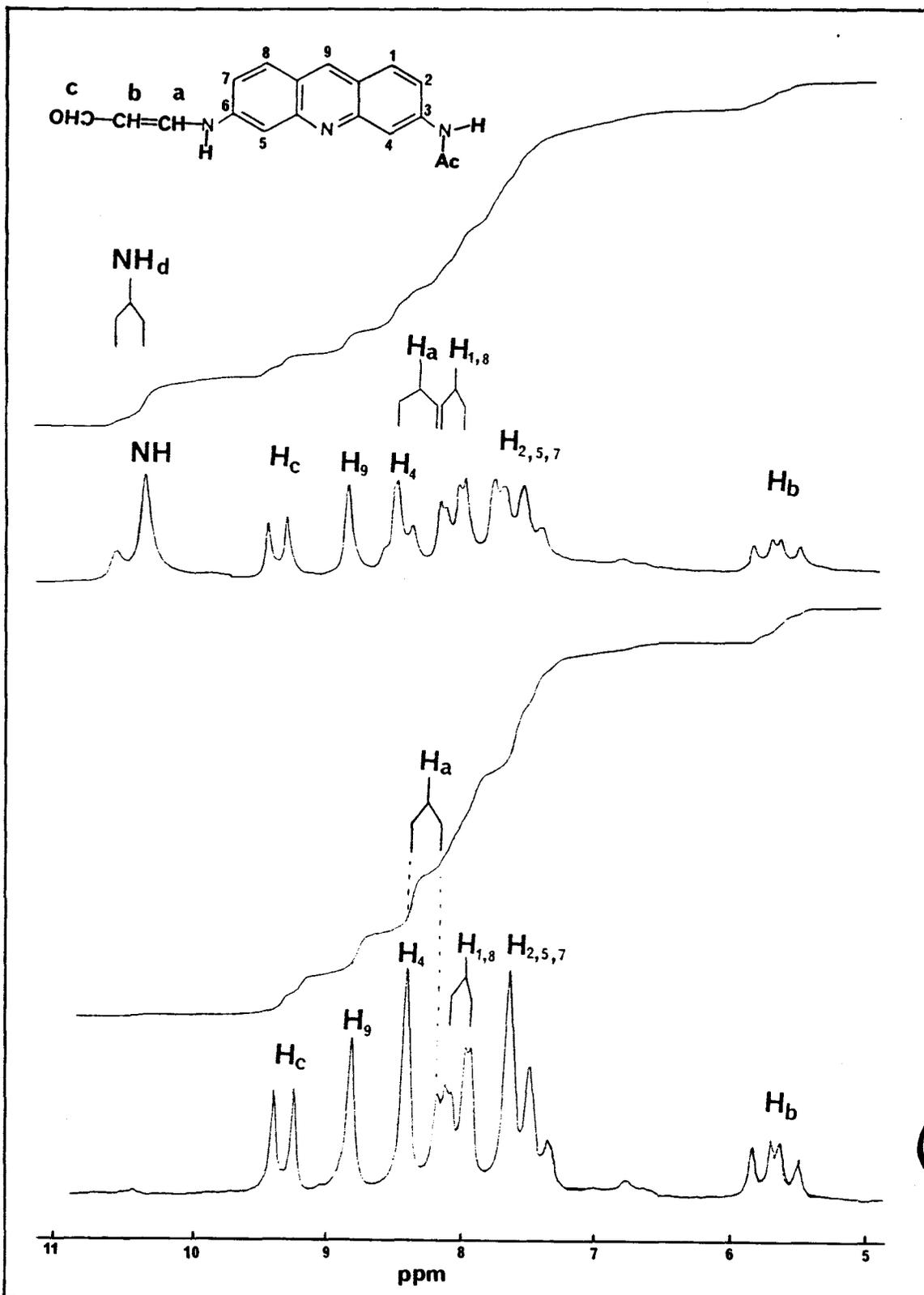


Figure 12 : Spectre RMN ^1H du dérivé 14a enregistré successivement dans DMSO-d_6 et $\text{DMSO-d}_6 + \text{D}_2\text{O}$.

* N-acétylamino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 14b :

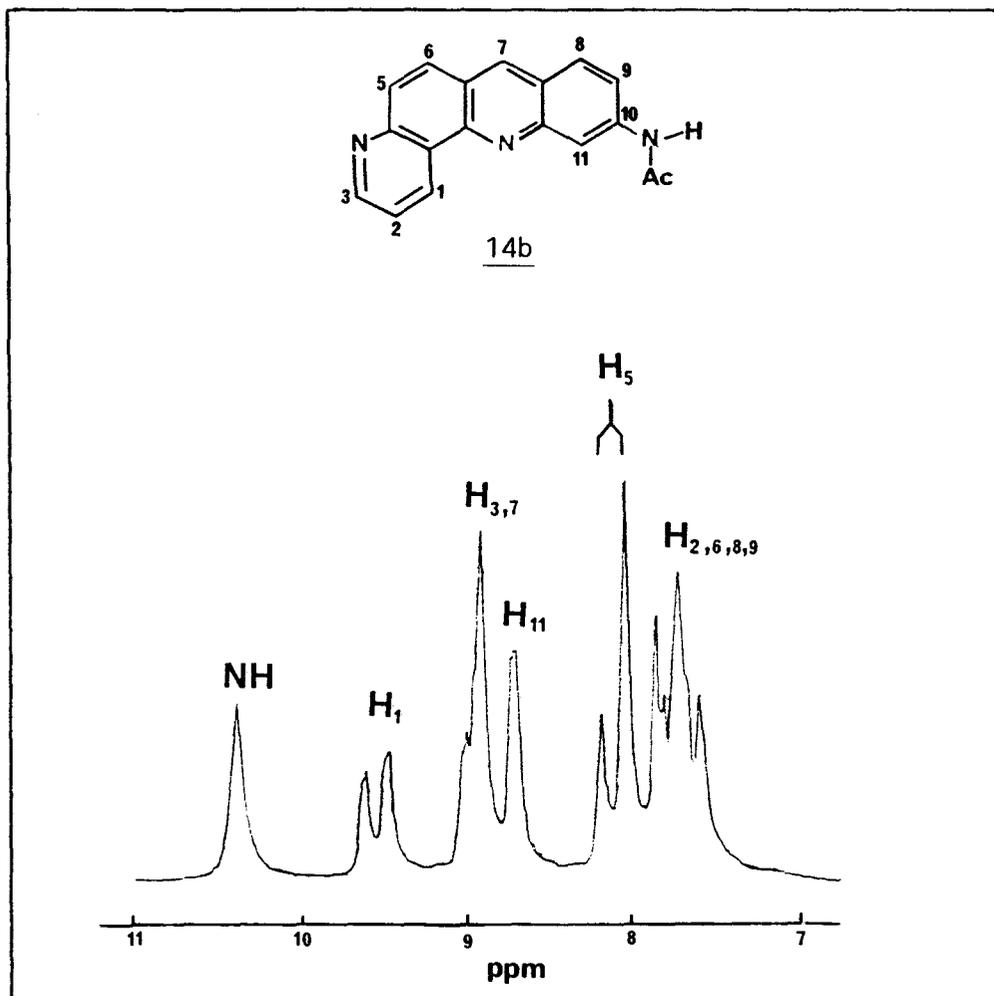
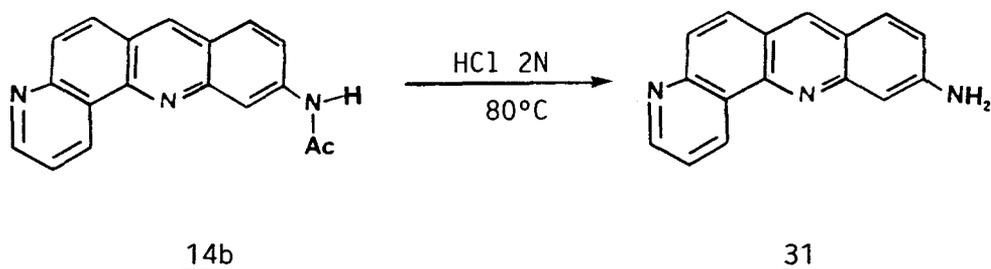


Figure 13 : Spectre de RMN ¹H de la partie aromatique du dérivé 14b (enregistré dans le DMSO-d₆).

Dans le spectre de RMN ¹H, on observe les protons caractéristiques de la structure angulaire : C₁-H (9,56 ppm), C₃-H (8,97 ppm) et C₅-H (8,14 ppm). Les protons NH et CH₃ de l'acétamide apparaissent à 10,42 ppm (échangeable) et 2,15 ppm respectivement. On observe également le proton caractéristique C₁₁-H à 8,74 ppm, déblindé par la présence du groupe acétyle ; les protons C₂-H, C₆-H, C₈-H et C₉-H apparaissent sous forme d'un massif entre 7,89 et 7,63 ppm.

Le spectre de masse montre la présence d'un pic correspondant à l'ion moléculaire à $M^+=287$, on observe aussi trois ions à $m/e=245$, 218 et 191 provenant respectivement de la perte de (CH_3+HCN) , (CH_3+3HCN) au départ de l'ion moléculaire. Ce genre de comportement (perte de trois molécules d'acide cyanhydrique) est également observé dans le cas de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31.

2. HYDROLYSE DU DERIVE 14b, OBTENTION DE L'AMINO-10 BENZO(b)-PHENANTHROLINE-1,7 31 :



L'obtention de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 se fait par chauffage du dérivé 14b dans une solution d'acide chlorhydrique 2N à 80°C pendant 3 heures.

Le dérivé 31 est obtenu avec un rendement de 82 %.

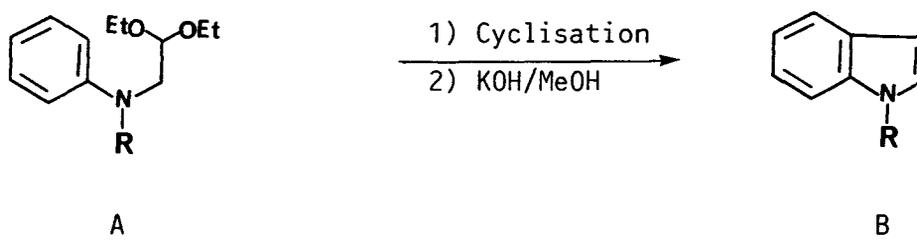
Le produit obtenu 31 est caractérisé par comparaison avec celui obtenu par cyclisation de l'acétal 36 (p. 69). Les spectres de RMN 1H , de masse, d'infrarouge et d'ultra-violet sont tous identiques.

En conclusion : Nous avons mis au point deux méthodes qui permettent l'accès à l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 : 31. La première méthode utilise l'alkylation de la proflavine préalablement protégée et activée. La cyclisation de l'acétal obtenu et l'hydrolyse des groupes protecteurs (acétyl et tosyl) se font en une seule étape. Le rendement global en l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 à partir de la proflavine est de 18 %.

La deuxième méthode permet d'obtenir le même produit 31 (après trois étapes de réaction) avec un rendement global de 7 %. Malgré le faible rendement de cette deuxième méthode, elle a été souvent utilisée pour obtenir le dérivé 31 en raison de sa rapidité.

X. P R E P A R A T I O N D U 3H - P Y R R O L O (2 , 3 - c)
A M I N O - 9 A C R I D I N E 37b :

La préparation d'indoles non substitués a été étudiée notamment par NORDLANDER en 1981 (81), puis plus récemment par SUNDBERG en 1984 (60). Dans les deux cas, ces auteurs utilisent pour former un hétérocycle azoté à 5 chaînons un acétal du genre A résultant de la réaction entre le bromoacétaldéhyde diéthyl-acétal et l'aniline substituée par un groupe attracteur sur l'atome d'azote.

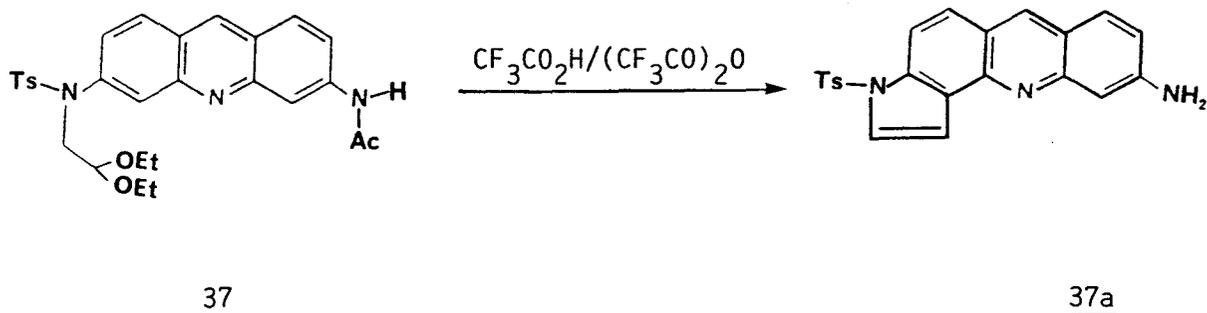


Le dérivé A est cyclisé soit par le mélange acide trifluoroacétique - anhydride trifluoroacétique (NORDLANDER R = COCF₃), soit par le tétrachlorure de titane dans le benzène (SUNDBERG R = SO₂CH₃). Par analogie nous avons préparé le dérivé 37 susceptible de cycliser dans les mêmes conditions que A.

1. SYNTHÈSE DU DÉRIVÉ 37 :

D'une façon tout à fait comparable à 36, l'alkylation du produit 32 par le bromoacétaldéhyde diéthyl-acétal pendant quatre jours dans la diméthylformamide en présence du carbonate de potassium à la température de 80°C fournit le produit 37 avec un rendement de 57 % en produit pur.

a. Cyclisation dans le mélange acide trifluoroacétique - anhydride trifluoroacétique :



La cyclisation se fait par chauffage au reflux pendant 24 heures de l'acétal 37 dans une solution de 30 % (v/v) d'anhydride trifluoroacétique dans l'acide trifluoroacétique. Le brut réactionnel est chauffé ensuite dans une solution de méthanol saturé d'acide chlorhydrique gazeux pour compléter l'hydrolyse du groupe acétyle et du groupe trifluoroacétyle qui peut éventuellement se former au cours de la réaction. Après purification par chromatographie sur colonne de silice la tosyl-3 pyrrolo (2,3-c) amino-9 acridine 37a est obtenue avec un rendement de 30 %.

Le spectre de RMN ^1H montre la présence d'un signal échangeable vers 6,07 ppm attribuable aux protons de l'amine primaire. Les protons de type proflavine ($\text{C}_8\text{-H}$ et $\text{C}_{10}\text{-H}$) apparaissent à 7,04 ppm et 6,97 ppm respectivement.

La présence d'un seul signal sous forme d'un singulet caractéristique du proton $\text{C}_6\text{-H}$ (8,67 ppm) vers les champs faibles est en accord avec la structure angulaire proposée 37a.

Les autres protons apparaissent entre 7,46 et 7,27 ppm pour les protons $\text{C}_1\text{-H}$ et $\text{C}_2\text{-H}$ et autour de 7,82 ppm pour les protons $\text{C}_4\text{-H}$, $\text{C}_5\text{-H}$ et les protons aromatiques du groupe tosylo.

Dans le spectre de masse le pic correspondant à l'ion moléculaire apparaît à $M^+=287$, on observe également un pic à $m/e=232$ correspondant à la perte du groupe tosylo à partir de l'ion moléculaire.

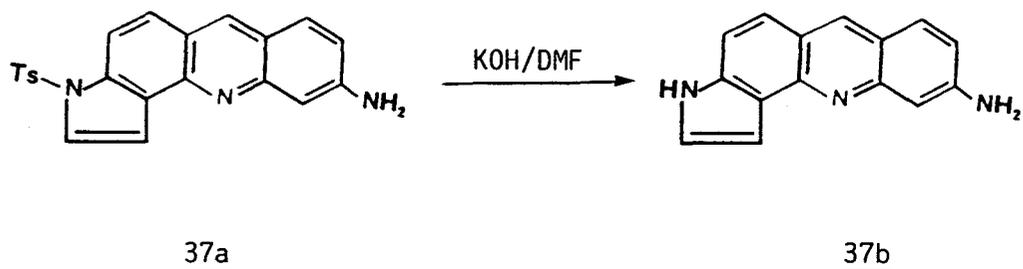
b. Cyclisation dans le mélange : chlorure de méthylène - acide méthane sulfonique :

Nous avons également utilisé des milieux acides décrits pour la synthèse de cycles aromatiques de type benzénique (66, 67).

Le chauffage au reflux pendant 4 jours du dérivé 37 dans une solution à 10 % d'acide méthane sulfonique dans le chlorure de méthylène, fournit la tosylo-3 pyrrolo(2,3-c)amino-9 acridine 37a avec un rendement de 39 %.

Les deux méthodes permettent donc d'aboutir au produit désiré 37a. La cyclisation dans le mélange chlorure de méthylène - acide méthane sulfonique, bien que plus lente permet d'obtenir le produit 37a avec un meilleur rendement.

c. Hydrolyse du groupe tosylo : obtention du 3H-pyrrolo(2,3-c)amino-9 acridine 37b :



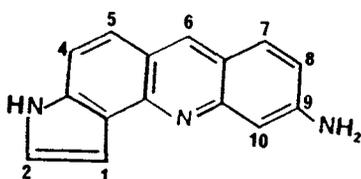
L'hydrolyse des groupes sulfonyles ou acyles situés sur un atome d'azote pyrolique se fait généralement dans le méthanol en présence de potasse (63, 96).

Les meilleurs rendements (73 %) ont été obtenus par chauffage pendant 5 heures à 70°C du dérivé 37a dans le mélange diméthylformamide - potasse en excès.

Spectre de RMN ^1H :

Le spectre de RMN ^1H a été enregistré à 400 MHz. Les déplacements chimiques, les multiplicités et les constantes de couplage sont repris dans le tableau ci-dessous :

H ₁ ou H ₂	H ₂ ou H ₁	H ₄ ou H ₅	H ₅ ou H ₄	H ₆	H ₇	H ₈	H ₁₀	NH ₂	NH
7,51	7,44	7,70	7,63	9,05	7,94	7,12	7,10	7,31-7,22	12,23
d	d	d	d	s	d	dd	s	m	s
3,1	3,1	8,9	8,9		9,4	9,4/1,9			large



37b



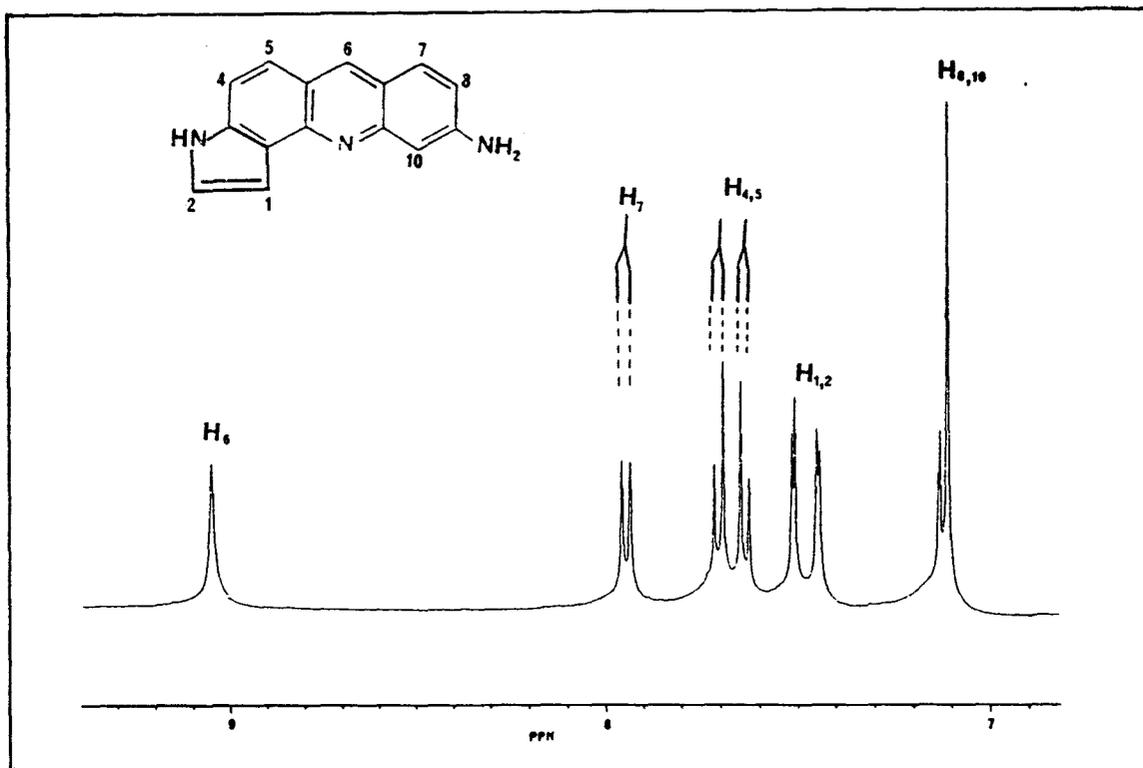


Figure 14 :Partie aromatique du spectre de RMN ^1H du dérivé 37b (enregistré dans le $\text{DMSO-d}_6\text{-D}_2\text{O}$)

Le spectre de RMN ^1H du dérivé 37b montre la présence de trois protons échangeables : entre 7,31 et 7,22 ppm pour les protons de l'amine primaire et à 12,23 ppm pour le proton NH indolique.

La présence à la fois d'un seul signal caractéristique du type $\text{C}_6\text{-H}$ vers les champs faibles et d'un système AB caractéristique, attribuable aux protons $\text{C}_4\text{-H}$ et $\text{C}_5\text{-H}$ confirme la structure angulaire proposée 37b.

Les protons indoliques $\text{C}_1\text{-H}$ et $\text{C}_2\text{-H}$ apparaissent sous forme de deux doublets à 7,51 et 7,44 ppm. Le proton de type proflavine en position 8 apparait vers 7,12 ppm. Bien que ce signal soit partiellement recouvert, on distingue la structure d'un doublet de doublets résultant du couplage avec les protons $\text{C}_7\text{-H}$ (9,4Hz). $\text{C}_{10}\text{-H}$ apparait à 7,10 ppm, sa multiplicité est perturbée par les signaux correspondants au proton $\text{C}_8\text{-H}$.

Dans le spectre de masse, l'ion moléculaire apparait à $\text{M}^+=233$, on observe aussi un pic correspondant à la perte d'une molécule d'acide cyanhydrique à partir de l'ion moléculaire à $m/e=206$.

Le spectre infra rouge montre la présence des bandes N-H pyrrolique et d'amine primaire aromatique entre 3400 et 3200 cm^{-1} .

TROISIEME PARTIE

-- o o o 0 o o o --

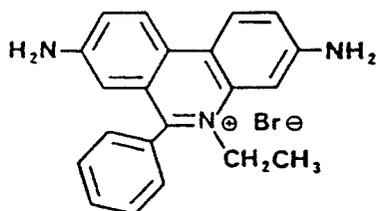
DERIVES DE L'AMINO-10 BENZO (b) PHENANTHROLINE-1,7 31

XI. ETUDE DE L'AMINO-10 BENZO(b)
PHENANTHROLINE-1,7 31 :

Lors des tests biologiques réalisés in vitro (p. 110), le dérivé 31 s'est avéré être le plus cytotoxique. Nous avons alors entrepris la synthèse de quelques dérivés de 31 susceptibles de présenter une cytotoxicité plus importante vis-à-vis des cellules cancéreuses. L'affinité pour le DNA étant, en général, un facteur qui favorise l'activité antitumorale des drogues intercalantes, nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'étude de l'affinité de l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 avec le DNA, puis aux facteurs conditionnants cette affinité.

1. INTERACTION DE L'AMINO-10 BENZO(b)PHENANTHROLINE-1,7 31
AVEC LE DNA (détermination réalisée avec J.F. CONSTANT) :

Pour déterminer la constante d'affinité (K) du dérivé 31 pour la macromolécule, nous avons utilisé la technique mise au point dans le laboratoire du Pr. ROQUES (Paris VI) (78). Cette méthode consiste à déterminer l'affinité d'un composé pour le DNA par compétition avec un intercalant dont les paramètres d'intercalation sont bien connus : le bromure d'éthidium (K=2,2.10⁵ M⁻¹ ; n=2) (95).



Bromure d'éthidium (Bet)

Nous avons procédé de la manière suivante :

Le composé intercalant à étudier est mis en solution avec le DNA de thymus de veau. On ajoute ensuite des quantités croissantes de bromure d'éthidium qui déplacent progressivement le dérivé intercalé. Ce phénomène peut être analysé quantitativement. En effet, lorsque le Bet s'intercale, l'intensité de son spectre d'émission de fluorescence est considérablement exaltée (jusqu'à 17 fois) et la valeur mesurée rend compte directement de la quantité de Bet intercalée et donc de compétiteur déplacé.

Le cas général de plusieurs ligands (i) en compétition pour les mêmes sites d'interaction est décrit par l'équation établie par Mc GHEE et VON HIPPEL (96).

$$r_i = B \cdot K_i (rf_i - \sum_i r_i) \frac{(1 - \sum_i n_i r_i)^n}{(1 - \sum_i (n_i - 1) r_i)^{n-1}}$$

On note K_i la constante d'affinité du composé i pour la macromolécule.

n_i le nombre de paires de bases couvertes.

B est la concentration molaire du DNA exprimée en paires de bases.

r_i représente le rapport de la concentration en composé i lié sur la concentration en DNA.

rf_i est le rapport de la concentration totale en composé i sur la concentration en DNA.

Dans le cas qui nous intéresse, nous nous limitons à deux ligands en compétition (les paramètres d'interaction de l'un d'eux étant parfaitement connus).

En proposant différentes valeurs pour le couple (n, K), la courbe $r=f(rf)$ calculée à l'aide de l'équation citée plus haut peut être ajustée aux points expérimentaux.

Nous avons reproduit dans la figure 15 la courbe calculée $v=f(rf)$ et les points expérimentaux pour le dérivé 31.

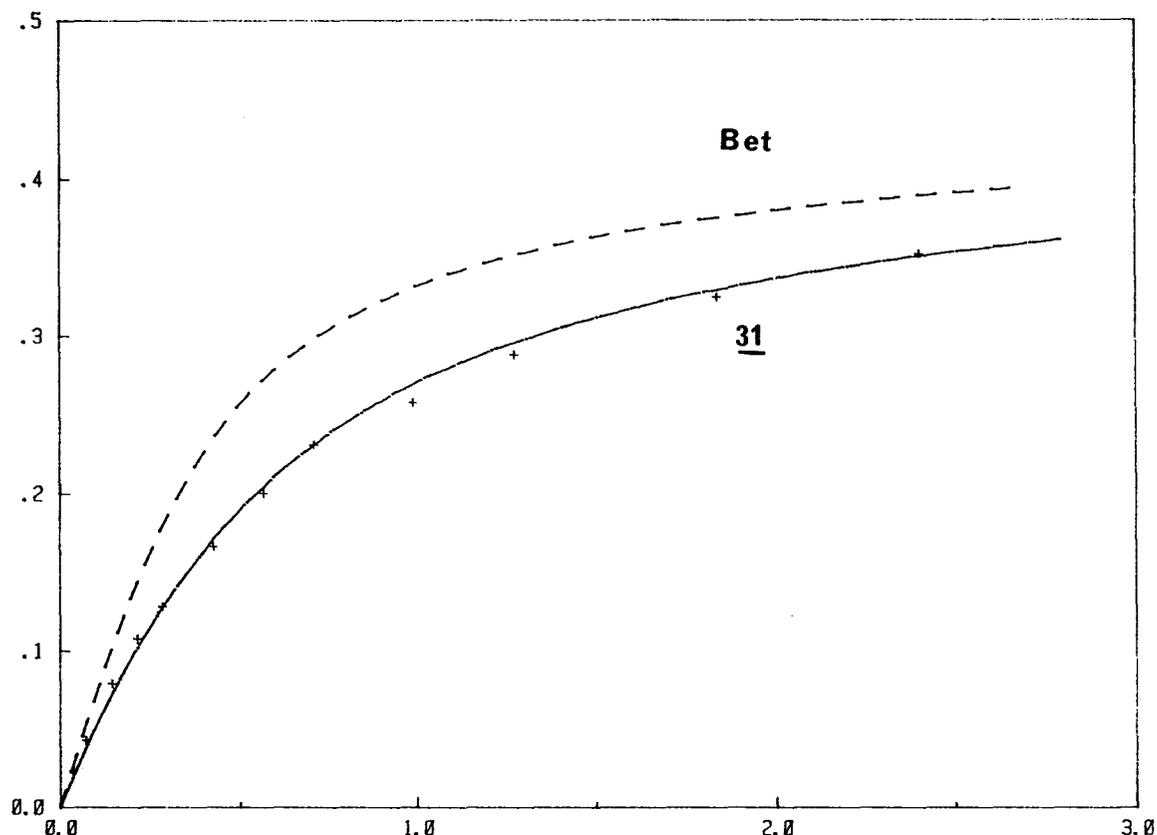


Figure 15: Détermination des valeurs de K et n pour l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 par ajustement de la courbe calculée $r=f(rf)$ et des points expérimentaux ($B=1,7 \cdot 10^{-5}M$; $C=2 \cdot 10^{-5}M$; Tampon Tris, HCl ($2,5 \cdot 10^{-3}M$) pH = 6,9 ; NaCl $1 \cdot 10^{-1}M$; EDTA $2 \cdot 10^{-4}M$; 5 % EtOH).

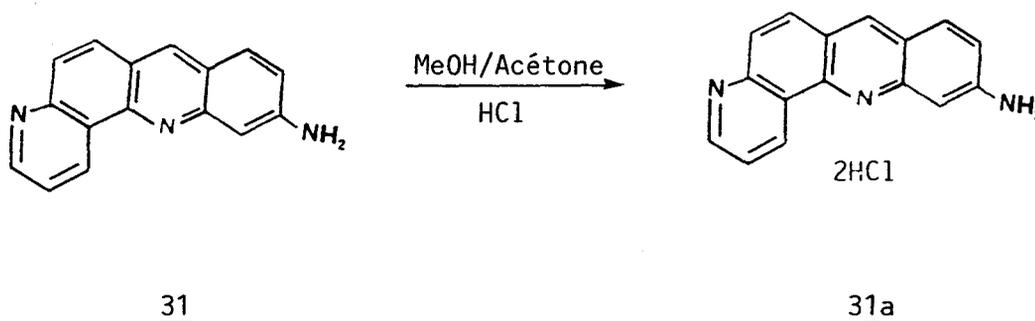
Les valeurs obtenues pour les paramètres K et n pour l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 sont : $K=4 \cdot 10^4 M^{-1}$ et $n=1,8$ respectivement. Cette valeur de K est relativement faible bien que de l'ordre de grandeur attendu. L'augmentation de la surface ne conduit donc pas à une augmentation de la constante d'affinité par rapport à la proflavine (K (proflavine) = $1,1 \cdot 10^5 M^{-1}$; K (ellipticine) = $1,5 \cdot 10^5 M^{-1}$). Cela pourrait être expliqué par une faible protonation de l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 dans le milieu au pH utilisé.

2. DETERMINATION DU pKa DU DERIVE 31 :

D'une manière générale, l'affinité des intercalants hétérocycliques azotés pour le DNA dépend du pKa de la molécule (9), la présence d'une charge positive sur le noyau favorise les interactions avec le biopolymère. Nous avons décidé de déterminer approximativement les pKa du dérivé 31 car les valeurs obtenues permettraient d'avoir des renseignements précieux sur le degré de protonation en milieu physiologique et par conséquent sur son interaction avec le DNA.

Nous avons déterminé les pKa de 31 à partir de son chlorhydrate, car le dérivé 31 sous forme de base libre présente une solubilité médiocre dans l'eau pure.

a. Préparation du chlorhydrate de l' amino-10 benzo(b) phénanthroline-1,7 31a :



Nous avons transformé le produit 31 en chlorhydrate par l'acide chlorhydrique gazeux dans une solution de méthanol-acétone. Le dosage du double chlorhydrate de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31a a été réalisé par spectrophotométrie ultra-violette et par dosage potentiométrique, puis confirmé par analyse élémentaire.

b. Titration potentiométrique :

Nous avons titré le chlorhydrate de l' amino-10 benzo(b)-phénanthroline-1,7 31a par une solution aqueuse de soude. La courbe de titrage ci-dessous montre la neutralisation des deux fonctions acides.

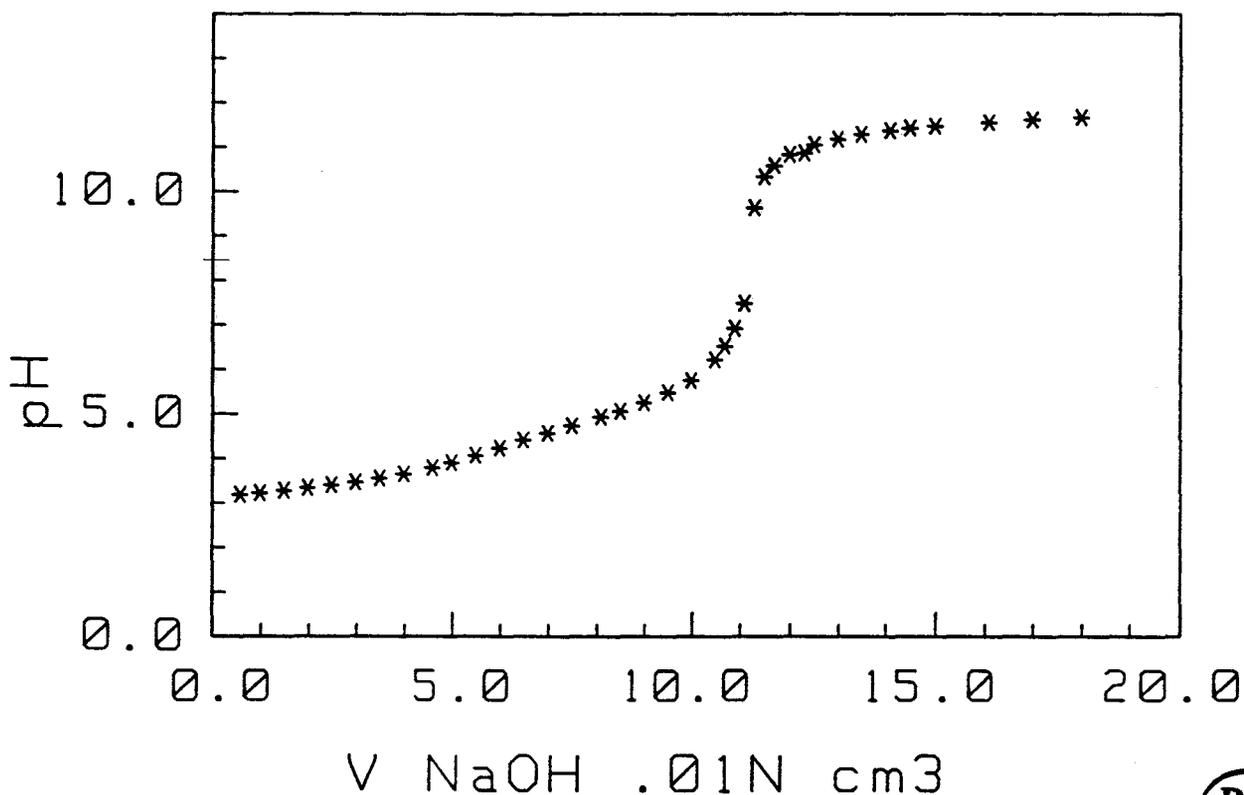


Figure 16 : Courbe de titrage potentiométrique par une solution aqueuse de soude 0,01N du dérivé 31a dissous dans le mélange éthanol - eau (50/50).

Nous avons déterminé approximativement les pKa à l'aide des valeurs de pH relevées à $\frac{1}{2}$ première équivalence ($\text{pH} = \text{pKa}_1$), à première équivalence ($\text{pH} = (\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2)/2$) et à $\frac{1}{2}$ seconde équivalence ($\text{pH} = \text{pKa}_2$).

On trouve :

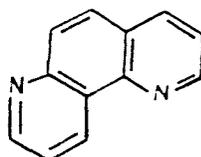
$$\text{pKa}_1 = 3,4$$

$$\text{pKa}_2 = 5$$

Ces valeurs sont à comparer à celles mesurées pour la phénanthroline-1,7 (99).

$$\text{pKa}_1 = 1,82$$

$$\text{pKa}_2 = 4,65$$

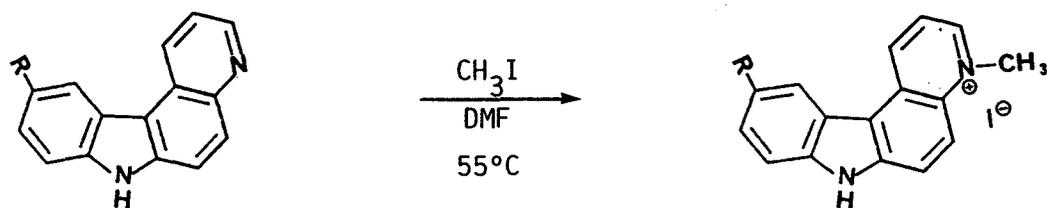


Phénanthroline-1,7

A pH physiologique (7,4), l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 n'est donc pas protonée. La quaternisation de l'atome d'azote pyridinique est nécessaire pour introduire une charge positive de manière permanente et favoriser l'affinité pour le DNA.

3. QUATERNISATION DU DERIVE 31, FORMATION DU METHYLSULFATE DE METHYL-4 AMINO-10 BENZO(b)PHENANTHROLINIUM-1,7 31b :

La quaternisation d'atomes d'azote pyridiniques se fait généralement par le sulfate de méthyle dans le benzène selon SCHOCK (68), ou par l'iodure de méthyle dans un solvant polaire (9). Nous avons utilisé les mêmes conditions que celles qui ont permis la quaternisation des pyridocarbazoles (9).



Lorsqu'on traite l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 à 55°C ou à température ambiante dans la diméthylformamide en présence d'un léger excès d'iodure de méthyle, la chromatographie liquide haute performance (C.L.H.P.) montre la formation de plusieurs produits. Nous avons ensuite utilisé le sulfate de méthyle dans le benzène. Ces conditions permettent une sélectivité plus grande, due à la précipitation du dérivé quaternisé formé au cours de la réaction. En C.L.H.P. on note la présence de deux pics correspondant à la formation de deux produits 31b et 31c (Figure 17).

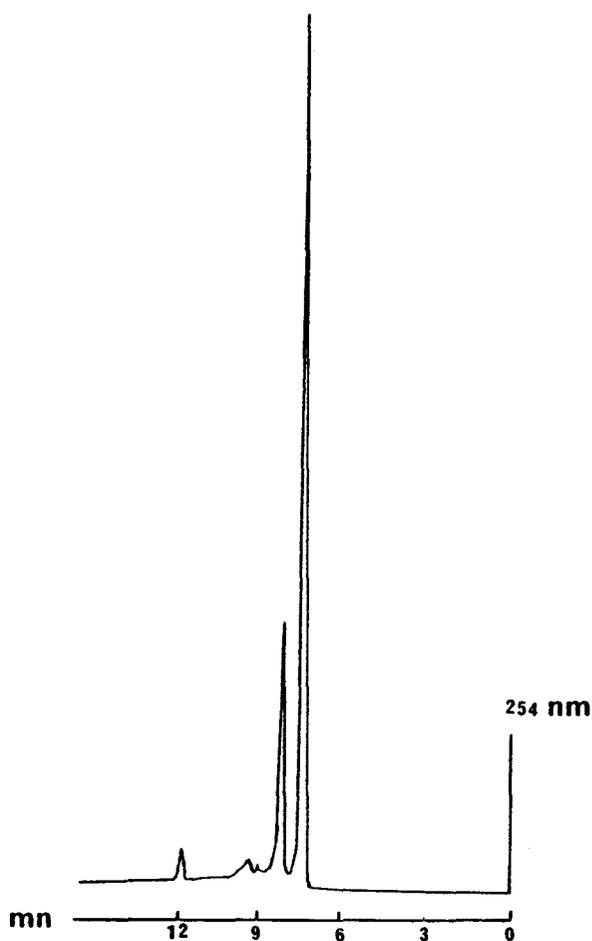
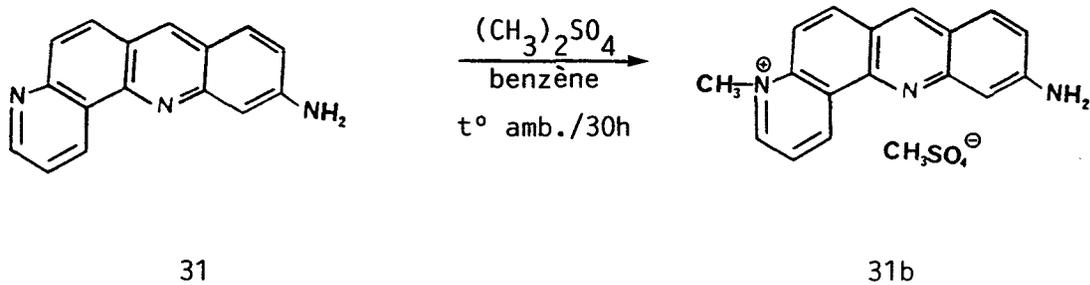


Figure 17 : Chromatogramme C.L.H.P. : brut réactionnel de la réaction entre 31 et sulfate de méthyle dans le benzène.

* Après séparation par chromatographie sur colonne d'alumine, suivie d'une purification par cristallisation fractionnée dans le méthanol, le produit 31b est isolé et identifié comme étant le méthyl sulfate de méthyl-4 amino-10 benzo(b)phénanthrolium-1,7 31b. Le rendement est égal à 56 %.



Le méthyl sulfate de méthyl-4 amino-10 benzo(b)phénanthrolium-1,7 31b est caractérisé par l'ensemble de ses propriétés spectrales (RMN ¹H, spectre de masse, infrarouge et ultra-violet).

Spectre de RMN ¹H :

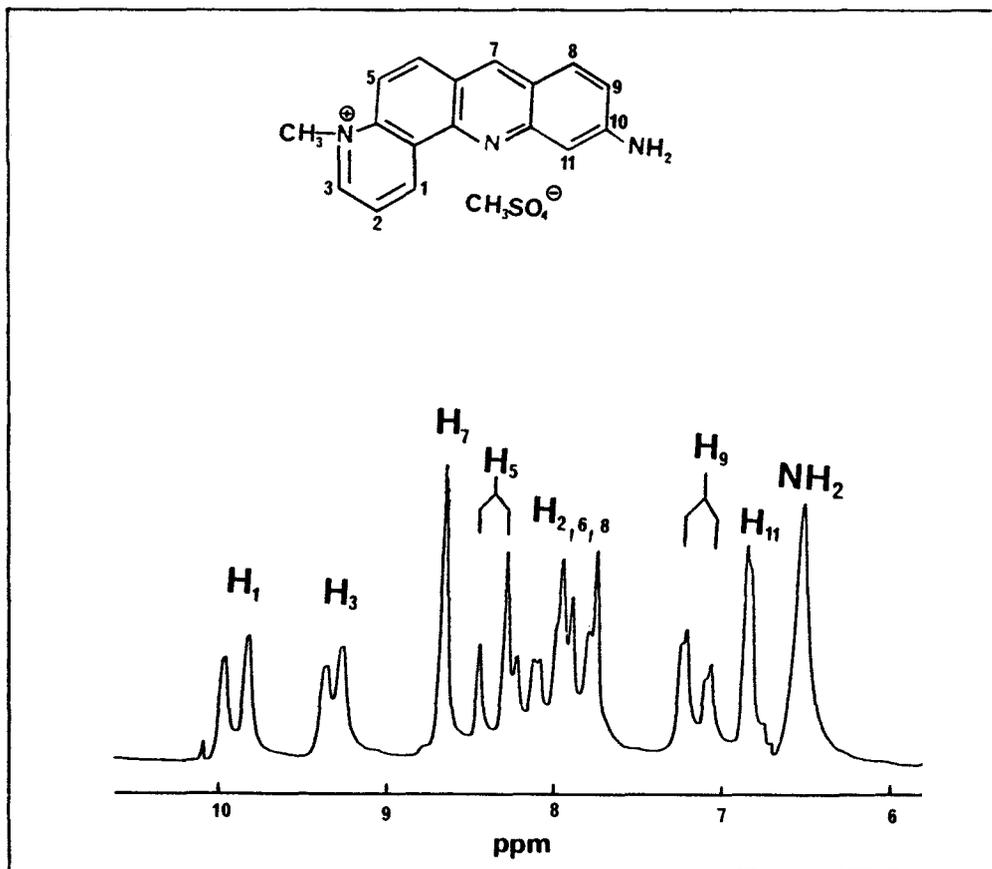
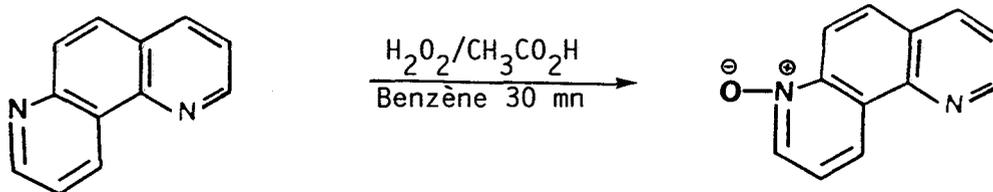


Figure 18 : Partie aromatique du spectre de RMN ¹H du méthyl sulfate de méthyl-4 amino-10 benzo(b)phénanthrolium-1,7 31b (enregistré dans le DMSO-d₆).

Le signal échangeable à 6,50 ppm intégrant pour deux protons montre la présence d'un NH_2 libre sur la molécule. Les protons du groupement méthyle en position 4 donnent un singulet à 4,54 ppm, alors que le singulet à 3,39 ppm peut être attribué au groupement méthyle de l'anion. Les déplacements observés pour les protons portés par le cycle angulaire ($\text{C}_1\text{-H}$, $\text{C}_2\text{-H}$ et $\text{C}_3\text{-H}$) déplacés vers les champs bas, par rapport aux mêmes protons dans la molécule non quaternisée 31, sont en accord avec la présence du groupe méthyle en position 4. On observe également la séparation des signaux correspondant aux protons $\text{C}_9\text{-H}$ et $\text{C}_{11}\text{-H}$.

MLOKOWSKI et KLOC (100) ont montré que la N-oxydation de la phénanthroline-1,7 (pourtant moins sensible aux effets stériques) par le péroxyde d'hydrogène à reflux dans le benzène pendant 30 mn se fait exclusivement sur l'atome d'azote en position 7 (atome d'azote le plus dégagé)



Phénanthroline-1,7

Par conséquent la quaternisation (en général plus sensible aux effets stériques (87) que la N-oxydation) de l'amino-10 benzo(b)-phénanthroline-1,7 31 se fait comme prévu sur l'atome d'azote en position 4.

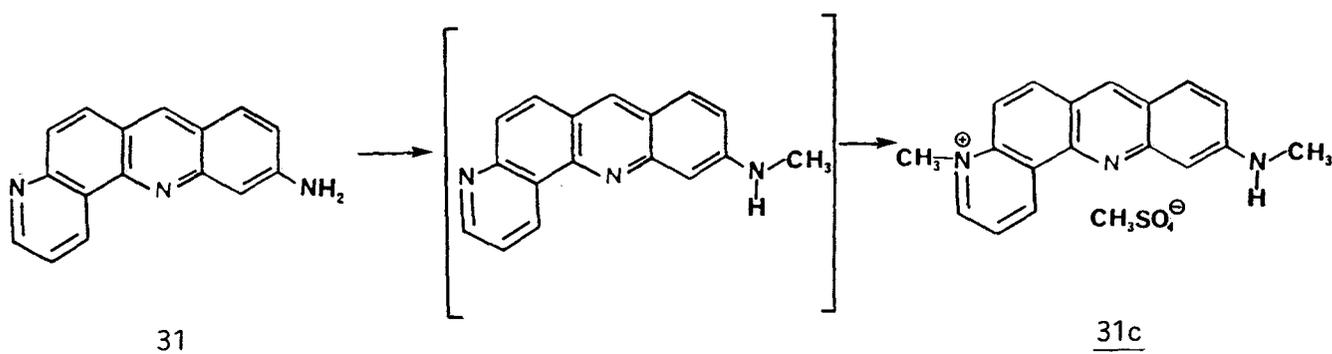
Spectre de masse :

Dans le spectre de masse l'ion moléculaire n'apparaît pas, mais on observe un pic à $m/e=245$ correspondant à la perte du groupe méthyle, ce comportement est caractéristique des ammoniums quaternaires.

Le spectre infrarouge enregistré en pastille de KBr présente bien la bande caractéristique du groupement amine primaire aromatique à 3420 cm^{-1} .

Le spectre ultra-violet enregistré dans l'éthanol présente une allure qui diffère de celle de l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 et de son sel double 31a.

* Le second produit correspondant au pic (b) dans le chromatogramme C.L.H.P. n'a pu être isolé sous forme pure.



Il s'agit fort probablement du dérivé 31c. En effet, dans le spectre de masse* du mélange réactionnel, on observe un pic à $m/e=259$ correspondant à la perte du radical méthyle à partir de l'ion moléculaire.

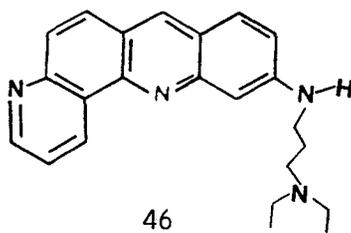
4. SYNTHÈSE DE LA ((DIETHYLAMINO)-3 PROPYL) AMINO-10 BENZO(b) PHENANTHROLINE-1,7 46 :

Lors des études de relation "structure-activité" dans la série des ellipticines (49) et des aza-ellepticines (47), divers types de chaînes ont

* La polarité plus faible du dérivé 31c est compatible avec la structure proposée.

été introduites sur le noyau pyridocarbazole dans le but d'améliorer leurs propriétés antitumorales. Ces études ont montré que les propriétés biologiques dépendent très fortement de la nature de la chaîne ; de bons résultats ont été obtenus pour des chaînes latérales du type $\text{NH}(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ lorsque $n=3$.

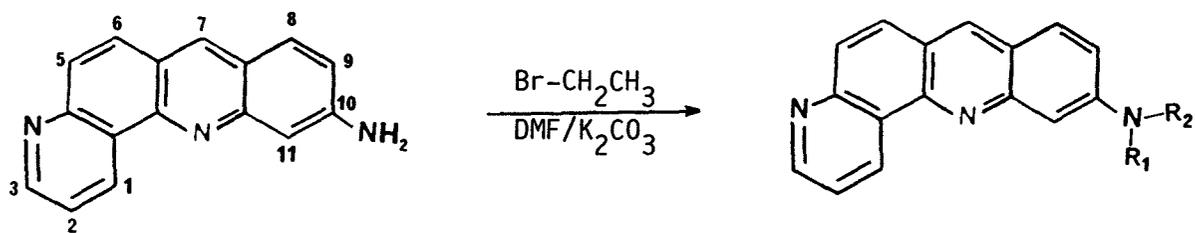
Nous avons pensé utile de synthétiser à partir de l'amino-10 benzo-(b)phénanthroline-1,7 31, le dérivé 46 substitué par la chaîne $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$.



a. Alkylation du dérivé 31 :

Une voie de synthèse envisageable consisterait à alkyler l'amine primaire du dérivé 31 par un dérivé halogéné de type $\text{X}-(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{Et})_2$. Avant d'entreprendre cette réaction nous avons étudié l'alkylation de l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 par un halogénure modèle plus simple, le bromure d'éthyle.

Des essais préliminaires réalisés en milieu basique ont conduit à des mélanges complexes. Une réaction plus propre est observée en milieu neutre, lorsqu'on chauffe à 80°C le dérivé 31 dans la diméthylformamide en présence de bromure d'éthyle pendant 24 heures ; une chromatographie sur couche mince montre la formation majoritaire de deux nouveaux produits, et des traces d'un produit très polaire de fluorescence rouge à 365 nm , caractéristique dans cette série des dérivés quaternisés.



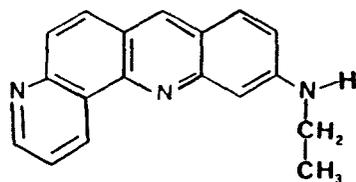
31

45

45a $R_1 = H$ $R_2 = Et$
45b $R_1 = R_2 = Et$

La partie la moins polaire, analysée par spectrométrie de masse, correspond au mélange d'éthylamino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 45a ($M^+ = 273$ et $m/e = 258$) et de diéthylamino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 45b ($M^+ = 301$ et $m/e = 286$). Dans les deux cas on observe le pic correspondant à l'ion moléculaire, et un autre pic correspondant à la perte du groupe méthyle à partir de l'ion moléculaire.

Après séparation par chromatographie sur colonne de silice, puis sur plaque préparative, une petite quantité d'éthylamino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 45a a été isolée et caractérisée.



45a

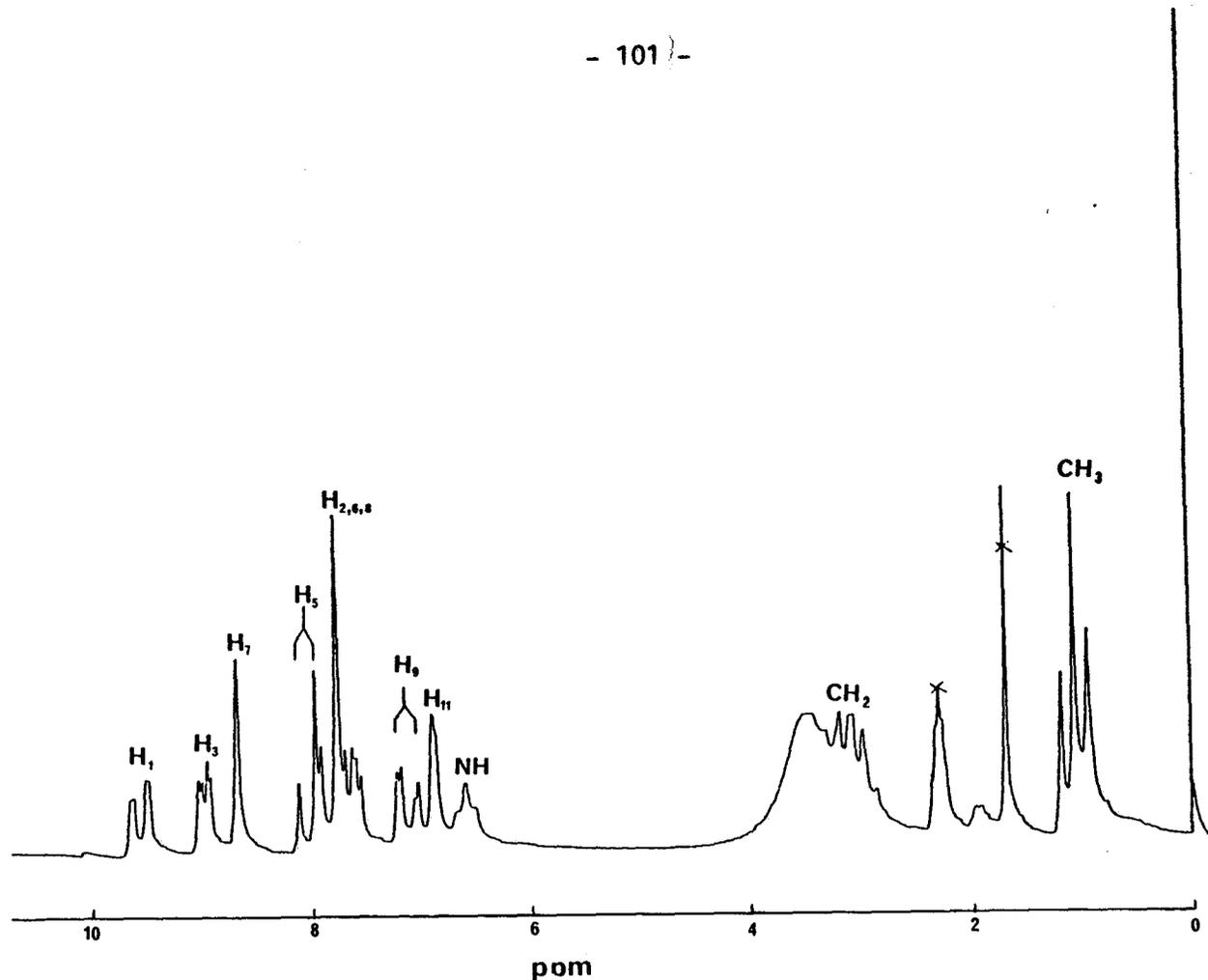
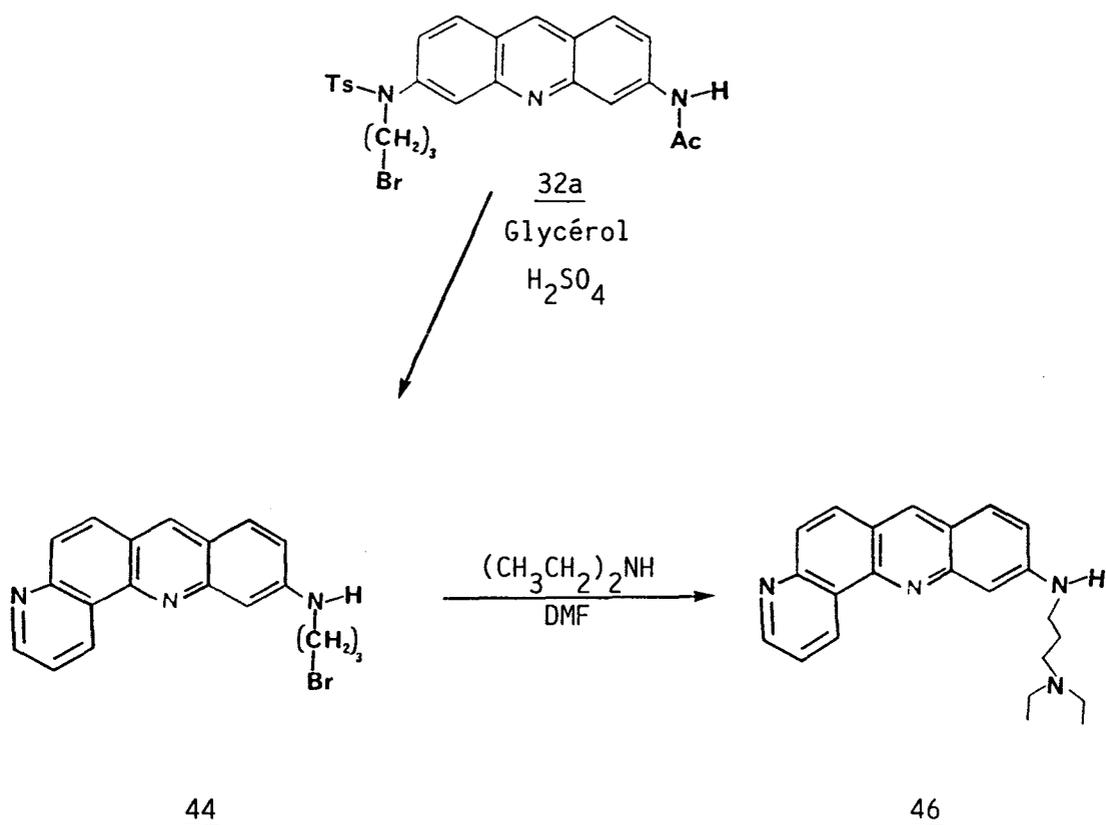


Figure 19 : Spectre de RMN ^1H du dérivé 45a (enregistré dans le DMSO-d_6).

Dans le spectre de RMN ^1H , l'hydrogène du groupement amine en position 10 apparaît vers 6,65 ppm. Bien que ce signal soit large, on distingue la structure d'un triplet. Ce proton est en effet couplé à ceux du méthylène voisin, ce qui explique la structure complexe du signal correspondant à ce méthylène vers 3,27 ppm. Ce couplage à travers l'atome d'azote, également observé dans le cas de structures analogues (79) disparaît par addition d'eau deutériée. On trouve vers 3,27 ppm et 1,25 ppm les signaux correspondant au groupe éthyle. Les protons $\text{C}_9\text{-H}$ et $\text{C}_{11}\text{-H}$ sont mieux différenciés que dans l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31. Les déplacements chimiques des autres protons sont en accord avec la structure proposée 45a.

Dans le spectre de masse le pic correspondant à l'ion moléculaire apparaît à $\text{M}^+=273$, on observe aussi un pic à $m/e=258$ correspondant à la perte du groupe méthyle à partir de l'ion moléculaire.

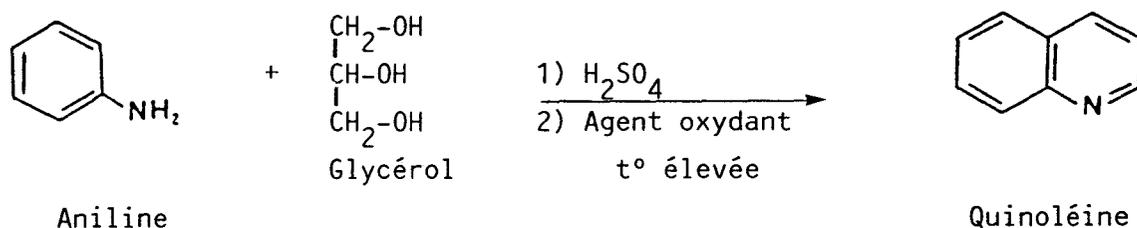
En conclusion, il apparait que l'alkylation se fait essentiellement sur l'azote extra-nucléaire à la différence de ce qui est observé au cours de la méthylation. Cette voie permet donc d'obtenir le produit attendu. Néanmoins, devant son manque de sélectivité et la difficulté d'isoler le produit de monoalkylation sous forme pure, nous l'avons abandonnée au profit d'une autre méthode qui met en jeu la (N-acétyl, N'-(bromo-3 propyl), N'-tosyl) diamino-3,6 acridine 32a traitée dans les conditions de SKRAUP ; la (bromo-3 propyl) amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 44 résultante est condensée avec la diéthylamine pour donner le produit final 46.



b. Synthèse de la (bromo-3 propyl) amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 44 :

La réaction de SKRAUP (88) est d'une grande utilité dans la synthèse hétérocyclique, elle permet la formation d'un cycle hétéroaromatique à partir d'une amine primaire aromatique en une seule étape. Cette réaction a été souvent utilisée pour la synthèse des quinoléines. Dans cette réaction, on chauffe un mélange d'aniline, de glycérol et d'acide sulfurique concentré en

présence d'un oxydant, habituellement du nitrobenzène ou du pentoyde d'arsenic.



Le caractère très dur des conditions utilisées excluait totalement l'emploi de cette réaction pour réaliser une monocyclisation en amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 à partir des dérivés de la proflavine précédemment mentionnés.

Par contre dans le cas présent, l'une des fonctions amines primaires est bloquée par alkylation et on peut donc envisager l'utilisation de cette voie.

Le traitement du dérivé 32a (préparé initialement avec un objectif différent, p. 119) pourrait conduire :

- 1/ à l'hydrolyse des fonctions acétamide et sulfonamide.
- 2/ à la formation d'un nouveau cycle à partir de l'amine primaire libre.

De fait le chauffage (80°C, 1 heure) du dérivé 32a dans l'acide sulfurique en présence d'un excès de glycérol conduit avec un rendement de 27 % au produit 44. Le même rendement est observé en présence ou en absence d'agent oxydant.

Le spectre de RMN ^1H de la (bromo-3 propyl) amino-10 benzo(b)-phénanthroline-1,7 44, ressemble à celui de l'éthylamino-10

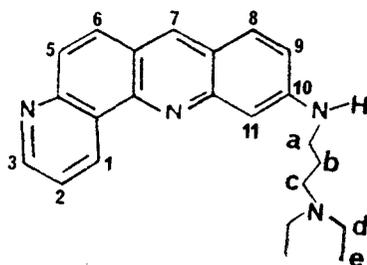
benzo(b)phénanthroline-1,7 45a, dans laquelle la fonction amine primaire est également substituée par une chaîne alkyle. On retrouve les protons C_1-H (dd, 9,57 ppm), C_3-H (dd, 8,15 ppm) et C_5-H (d, 8,03 ppm) caractéristiques de la structure angulaire 31. Les protons correspondant à la chaîne bromopropyle apparaissent à 2,01 ppm pour les protons méthyléniques en β de l'atome de brome et entre 3,9 et 3,5 ppm pour les protons méthyléniques en α des atomes d'azote et de brome. Les protons C_9-H et $C_{11}-H$ sont également mieux différenciés que dans l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31.

Le spectre infrarouge montre les bandes dues au groupement N-H vers 3200 cm^{-1} .

c. Condensation entre la diéthylamine et le dérivé 44 : obtention de la ((diéthylamino)-3 propyl)amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 46 :

Les amines secondaires aliphatiques réagissent aisément avec les halogénures d'alkyle dans le benzène, pour donner l'amine tertiaire correspondante avec de bons rendements (80).

Le chauffage de la (bromo-3 propyl) amino-10 benzo(b)-phénanthroline-1,7 44 à 60°C pendant 10 heures dans la diméthylformamide en présence de diéthylamine fournit le dérivé 46 avec un rendement de 73 %.



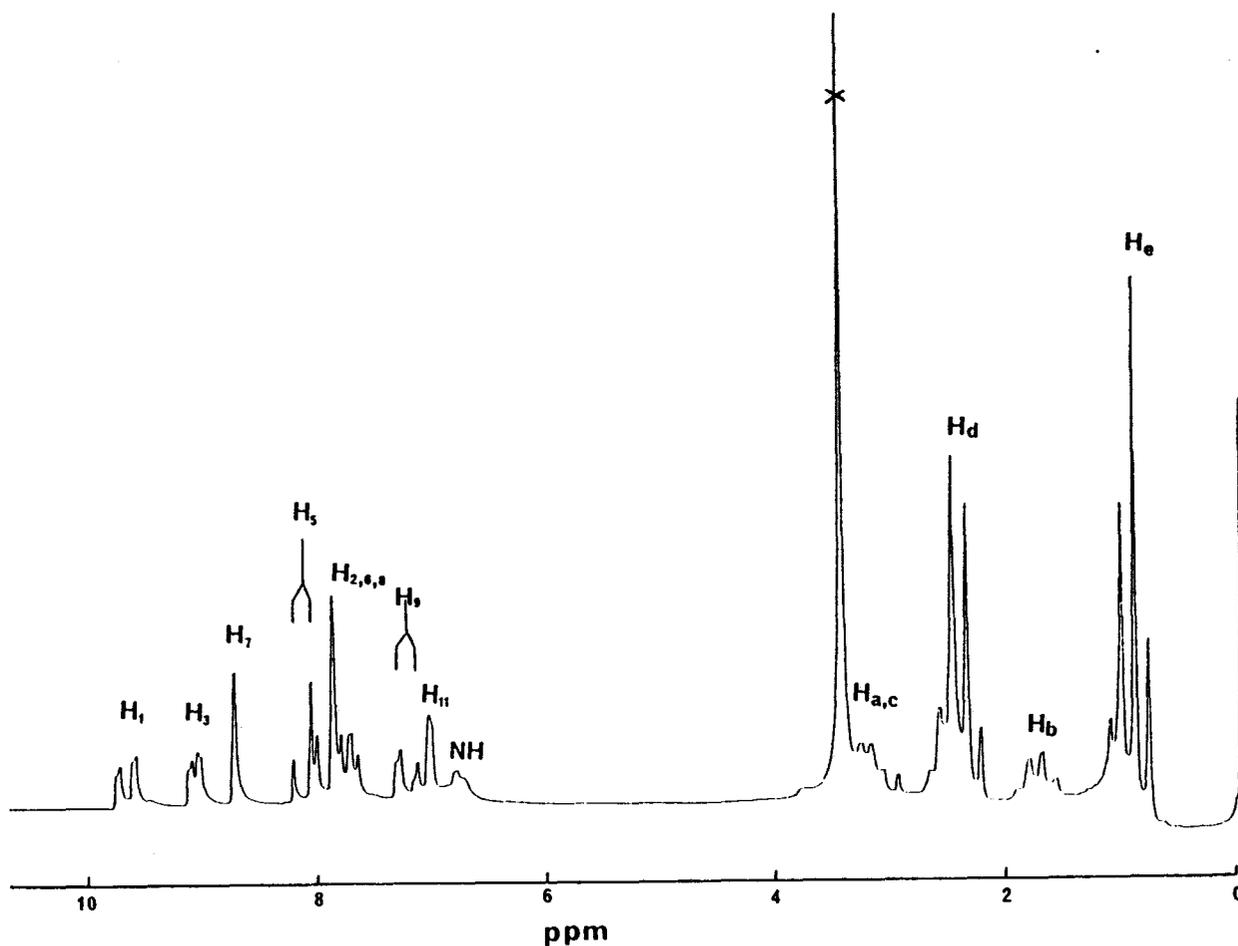


Figure 20 : Spectre de RMN ^1H du dérivé 46 (enregistré dans le DMSO-d_6).

Le spectre de RMN ^1H présente dans la partie correspondant aux protons aromatiques, les pics caractéristiques de l'amino-10 benzo(b)-phénanthroline-1,7 31 alkylée sur l'amine primaire. On observe également vers les champs forts, les signaux caractéristiques de la chaîne (diéthyl amino)-3 propyle, notamment le triplet à 0,91 ppm et le quadruplet à 2,41 ppm des radicaux éthyloxy. Tous les autres signaux sont en accord avec la structure proposée 46.

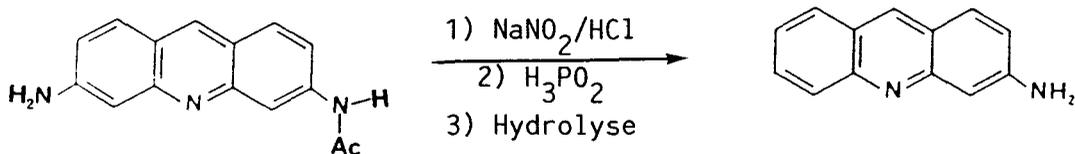
Dans le spectre de masse, le pic de l'ion moléculaire n'apparaît pas, on observe un pic à $m/e=272$ dû à la perte du radical diéthylamino méthylène $((\text{Et})_2\text{N-CH}_2)$.

Le spectre ultra-violet, dans l'éthanol, présente l'allure caractéristique du spectre de l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31, avec cependant un déplacement des maxima vers le visible.

5. Préparation de la benzo(b)phénanthroline-1,7 34 :

Nous nous sommes également proposés de préparer la benzo(b)phénanthroline-1,7 34 résultant de la désamination du dérivé 31. Le produit obtenu ne possède aucun substituant sur le cycle aromatique. Sa surface est donc plus faible que celle des dérivés précédents. Ce composé peut être intéressant pour les études d'intercalation dans le DNA.

La réaction de diazotation des amines primaires se fait généralement par l'intermédiaire du nitrite de sodium, en présence d'une solution aqueuse d'un acide minéral. Le sel de diazonium obtenu est réduit par l'acide hypophosphoreux. Cette méthode a été souvent utilisée pour désaminer les amines primaires aromatiques, notamment par MARTIN et TONG (59) pour éliminer une fonction amine de la proflavine 1. L'amino-3 acridine est obtenue avec un rendement d'environ 48 %.

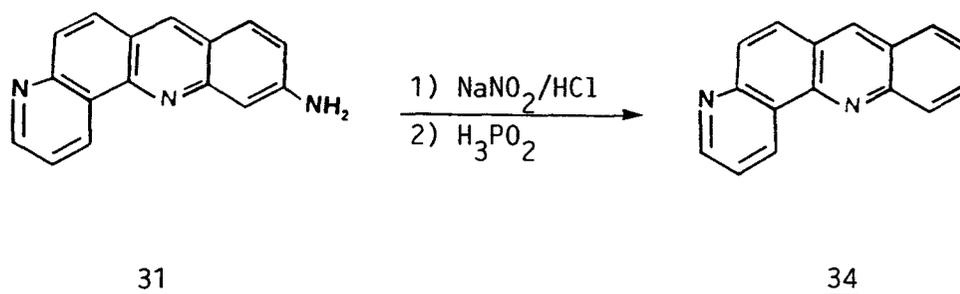


14

Amino-3 acridine

Dans certains cas, la réaction peut également se faire par l'intermédiaire du nitrite du n-pentyle dans le tétrahydrofurane en une seule étape (82).

- a) Désamination du dérivé 31 par le nitrite de sodium en présence d'acide chlorhydrique aqueux :



Le sel de diazonium est formé par action du nitrite de sodium dans un solution d'acide chlorhydrique aqueux à 4°C. Le sel de diazonium formé est réduit par l'acide hypophosphoreux. On obtient après purification par chromatographie sur colonne de silice avec un rendement de 40 % le produit attendu. La structure de la benzo(b)phénanthroline-1,7 34 a été déterminée par l'ensemble de ses propriétés spectrales.

Dans le spectre de RMN ^1H , on observe la disparition du signal échangeable (vers 6,15 ppm dans le dérivé 31) correspondant aux protons de l'amine primaire. On retrouve les déplacements caractéristiques des protons ($\text{C}_1\text{-H}$ à 9,58 ppm et $\text{C}_3\text{-H}$ à 9,03 ppm) portés par le cycle angulaire.

Les autres protons aromatiques résonnent tous entre 8,35 et 7,65 ppm. Ils apparaissent sous forme d'un massif complexe.

Spectre de RMN ^1H :

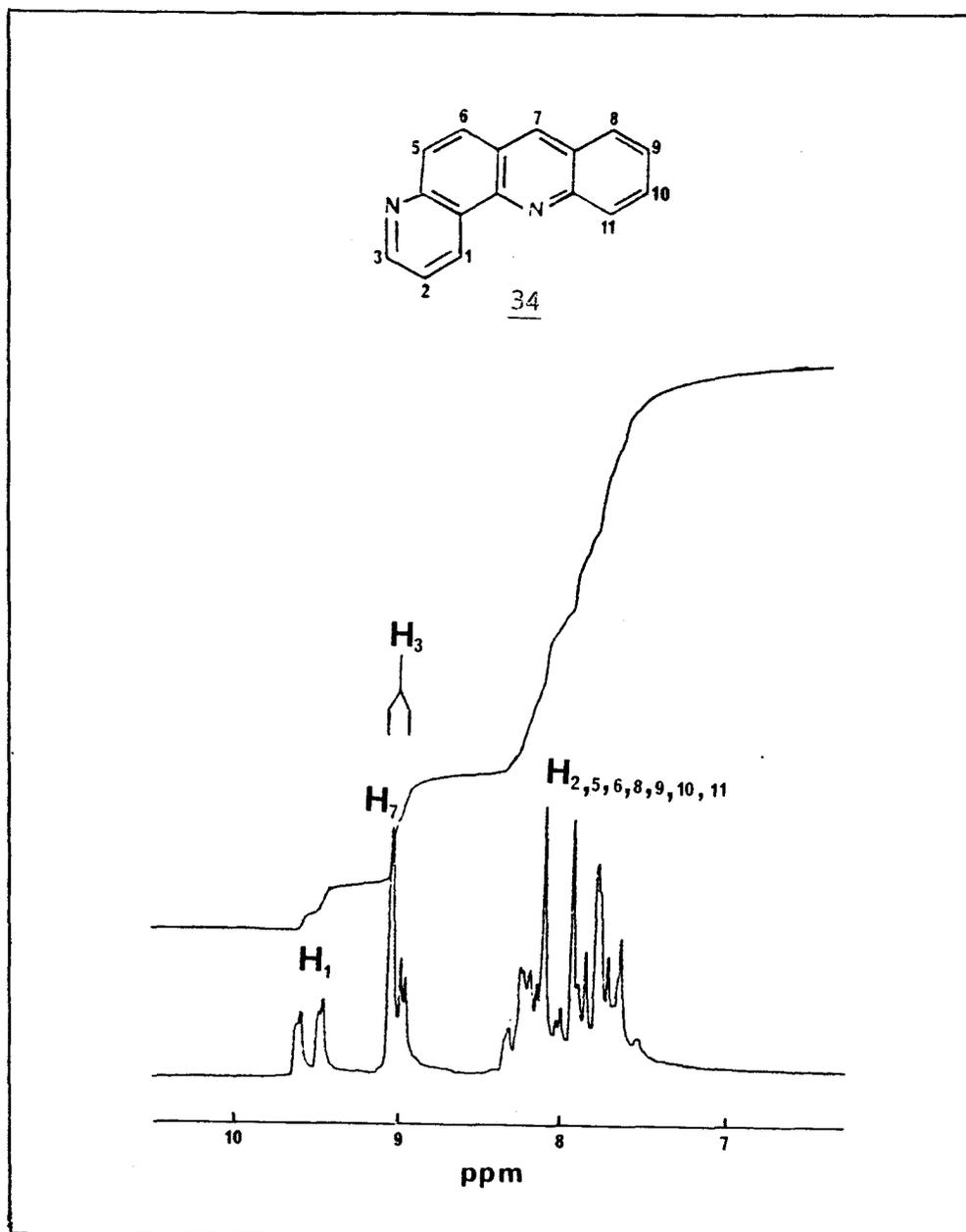


Figure 21 : Partie aromatique du spectre de RMN ^1H de la benzo(b)phénanthroline-1,7 **34** (enregistré dans le DMSO-d_6)

Dans le spectre de masse, on observe le pic correspondant à l'ion moléculaire à $M^+=230$, et un autre pic correspondant à la perte d'acide cyanhydrique à partir de l'ion moléculaire ($m/e=203$). Le comportement est caractéristique de ce genre de molécules.

Dans le spectre infrarouge, on observe également la disparition des bandes caractéristiques des amines primaires aromatiques vers 3400 cm^{-1} .

b. Diazotation du dérivé 31 par le nitrite du n-pentyle dans le tétrahydrofuranne :

La diazotation se fait par chauffage au reflux pendant 5 heures d'une solution contenant l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31, le tétrahydrofuranne et un excès de nitrite de n-pentyle. Après filtration du brut réactionnel sur une colonne de silice, on obtient le dérivé 34 avec un rendement inférieur à 10 %.

XII. TESTS BIOLOGIQUES :

les test antitumoraux ont été réalisés au laboratoire de pharmacodynamique clinique du Centre Oscar Lambret de Lille par HECQUET. Les tests de cytotoxicité in vitro sont réalisés sur des cellules tumorales en culture. Ils portent sur deux lignées d'origine mammaire humaine : MCF-7 et T-47D.

Les produits testés sont mis en contact à différentes concentrations avec les cellules en culture pendant 7 jours. Ensuite, les cellules mortes sont éliminées des milieux de culture et les cellules vivantes sont comptées et comparées à des cultures témoins.

Les résultats repris dans le tableau ci-dessous, sont exprimés en pourcentage de cellules vivantes dans les différentes cultures avec produit par rapport aux cultures témoins, puis en concentration de produit nécessaires pour obtenir un rapport de 50 %.

Nous constatons (tableau 4) que l'ordre d'activité des produits testés est le suivant : 31b > 31 > 37b > 14b.

A une même concentration, l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 est plus active que la 3H-pyrrolo(2,3-c)amino-9 acridine 37b. Dans la série de l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31, on observe une diminution de l'activité lorsque la molécule 31 est acétylée, par contre la quaternisation du même dérivé 31 améliore l'activité antitumorale.

La valeur ID_{50}^* est comprise entre 1 et 5 $\mu\text{g/ml}$ pour les dérivés 31, 31b et 37b, elle est supérieure à 10 $\mu\text{g/ml}$ pour le dérivé 14b.

* Dose qui inhibe de 50 % la croissance des cellules traitées.

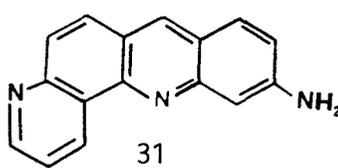
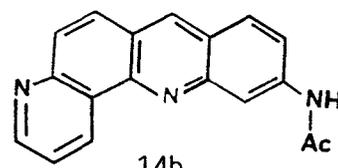
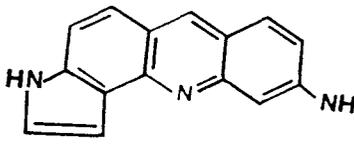
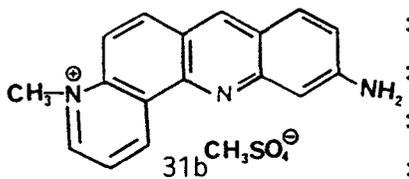
Produits	Concentration		pourcentage de cellules vivantes
	M/l	$\mu\text{g/ml}$	
témoin			100
 31	$4 \cdot 10^{-5}$	10	13
	$2 \cdot 10^{-5}$	5	47
	$4 \cdot 10^{-6}$	1	76
témoin			100
 14b	$3,4 \cdot 10^{-5}$	10	56
	$1,7 \cdot 10^{-5}$	5	71
	$3,4 \cdot 10^{-6}$	1	95
témoin			100
 37b	$4,3 \cdot 10^{-5}$	10	21
	$2,1 \cdot 10^{-5}$	5	63
	$4,3 \cdot 10^{-6}$	1	81
témoin			100
 31b	$1,3 \cdot 10^{-5}$	5	39
	$2,6 \cdot 10^{-6}$	1	60,7
	$1,3 \cdot 10^{-6}$	0,5	84



Tableau 4 : Activité cytotoxique in vitro sur des cellules cancéreuses (MCF-7 et T-47D).

XIII. CONCLUSION :

L'objectif de notre travail était de synthétiser de nouveaux hétérocycles qui présentent une analogie de structure avec des dérivés possédant des activités antitumorales, tels que l'ellipticine et ses dérivés (qui possèdent une forte affinité pour le DNA).

Pour ce faire, nous avons choisi la proflavine 1 comme précurseur. Cette molécule possède une réactivité particulière en position C-4 et C-5. Nous avons mis à profit cette propriété pour mettre au point une méthode sélective de cyclisation qui permet d'aboutir à la formation d'un cycle à 5 et 6 chaînons avec des rendements raisonnables.

La cyclisation des dérivés de la proflavine substituée par une chaîne de type $X(CH_2)_nCH(OR)_2$ sur un seul atome d'azote primaire fournit exclusivement des dérivés angulaires 31 et 37b. De la même manière que pour les ellipticines et les familles chimiques proches de celle-ci, ces nouvelles molécules tétracycliques hétéroaromatiques présentent une taille et une forme favorables à un positionnement presque idéal dans le site d'intercalation avec un maximum de recouvrement entre l'hétérocycle et les paires de bases du DNA.

L'activité antitumorale déterminée *in vitro*, montre une cytotoxicité relativement faible mais très significative pour ces nouvelles molécules* 31 et 37b.

L'interaction entre l'intercalant et le DNA étant un facteur nécessaire à l'activité biologique, nous avons déterminé la constante d'association entre l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 (le dérivé le plus actif) et le DNA de thymus de veau.

Malgré l'augmentation de la surface de la molécule par rapport à la proflavine de départ, la valeur de la constante d'affinité mesurée pour l'amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31 ($K=4.10^4 M^{-1}$) reste inférieure aux valeurs observées pour les ellipticines (ellipticine $K=1,5 10^5 M^{-1}$).

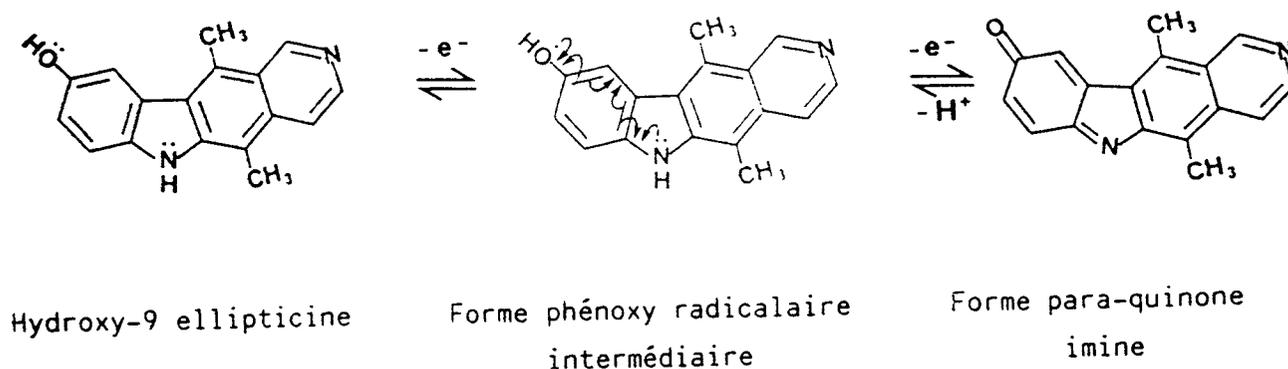
* ID_{50} pour 31 et 37b entre 10^{-5} et 10^{-6} M/L
 ID_{50} pour l'hydroxy-9 ellipticine = $0,99.10^{-6}$ M/L.

Pour rendre compte de cette valeur relativement faible de la constante d'association entre le dérivé 31 et le DNA, nous avons déterminé les pK_a du dérivé 31. Les valeurs obtenues montrent que l' amino-10 benzo(b)-phénanthroline-1,7 31 n'est pas protonée à pH physiologique.

L'activité antitumorale *in vitro* du dérivé 31 a été sensiblement améliorée par l'introduction d'une charge positive permanente par quaternisation de l'atome d'azote pyridinique de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31.

Les nouveaux intercalants (31 et 37b) qui ont été synthétisés peuvent servir de point de départ pour l'obtention de dérivés plus actifs. Nous avons synthétisé quelques dérivés par substitution d'une chaîne de type diéthylaminopropyl 46 et par désamination 34 à partir de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 31.

La ((diéthylamino)-3 propyl) amino-10 benzo(b)phénanthroline-1,7 46 est complètement protonée à pH physiologique, et susceptible de présenter une forte affinité pour le DNA. La benzo(b)phénanthroline-1,7 34 ne présente aucun substituant sur le noyau benzénique, ce dérivé permettra de montrer si la fonction amine est indispensable à l'activité antitumorale. Par ailleurs, l'absence de substituants sur le cycle benzénique laissera cette position libre pour d'éventuelles oxydations métaboliques se produisant pour plusieurs intercalants antitumoraux de structure voisine.



Plusieurs choses restent à regarder dans cette série, notamment la réactivité de la position C-11 vis-à-vis de la substitution électrophile (le proton $C_{11}-H$ s'échange presque instantanément à $pD=4,6$) ; la méthylation en

cette position est susceptible de fournir des dérivés intéressants. Si on regarde l'analogie avec les ellipticines : les dérivés les plus actifs dans cette série sont ceux qui sont méthoxylés ou hydroxylés sur la position 9. Ces derniers subissent une activation métabolique qui les transforme en quinone-imine intermédiaire, réagissant ensuite avec les nucléophiles (94), par conséquent l'hydroxylation sur les positions 9 ou 10 de l' amino-10 benzo(b)phénanthroline 31 pourrait conduire également à des composés intéressants. Le même type de modulation pourrait être également envisagé dans la série de la 3H-pyrrolo(2,3-c)amino-9 acridine 37b.

Enfin, une étude de la relation entre la structure et la constante d'association avec le DNA d'une part et l'activité d'autre part doit être faite dans les deux séries (31 et 37b) ; on pourrait en déduire les caractéristiques structurales que devraient présenter ces deux séries de molécules pour être susceptibles d'avoir des activités antitumorales importantes.

QUATRIEME PARTIE

-- o o o 0 o o o --

ANNEXES

A N N E X E S

=====

Les connaissances acquises dans la chimie de la proflavine au cours des synthèses précédemment décrites ont été exploitées de manière complémentaire dans deux cas :

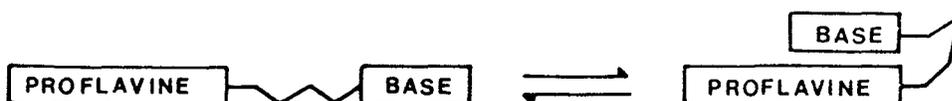
- Pour la synthèse de molécules "hétéro-dimères" de type Proflavine-(CH₂)₃cytosine destinées à des études d'interactions moléculaires.
- Pour la synthèse d'un macrocycle comportant deux noyaux acridine.

A N N E X E I

=====

S Y N T H E S E D E "L' H E T E R O D I M E R E" : P R O F L A V I N E - (C H ₂) ₃ - C Y T O S I N E

Dans le cadre d'un programme d'étude des interactions moléculaires entre substances intercalantes et bases nucléotidiques (interactions qui sont à l'origine du processus d'intercalation) CONSTANT (97) et FAHY (54) ont récemment synthétisé et étudié au laboratoire une série de molécules "modèles" dans lesquelles un intercalant est fixé aux bases nucléotidiques par une chaîne hydrocarbonée. Sous l'influence d'interactions attractives noyau-noyau entre intercalant et base, ces systèmes peuvent se replier :

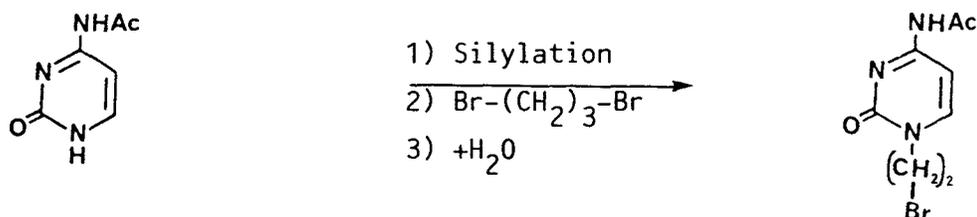


Des études physicochimiques de ces systèmes permettent d'atteindre divers paramètres des interactions mises en jeu. C'est dans ce contexte que nous avons réalisé la synthèse du système suivant qui requiert comme dans les schémas précédents, une monoprotection - monoactivation pour alkyler l'une des fonctions amine de la proflavine.

Deux voies ont été explorées :

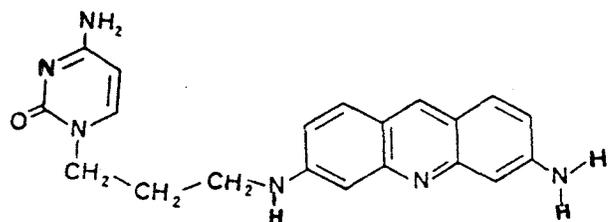
1. La première implique dans une première étape la fixation d'une chaîne bromopropyle sur la cytosine protégée. La proflavine est introduite dans une seconde phase.
2. La seconde utilise la démarche inverse : fixation de la chaîne sur le noyau proflavine suivie de l'introduction de la cytosine silylée.

1. PREMIERE VOIE DE SYNTHESE :

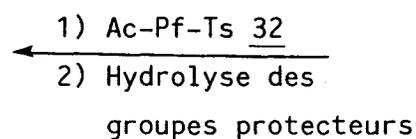


38

40

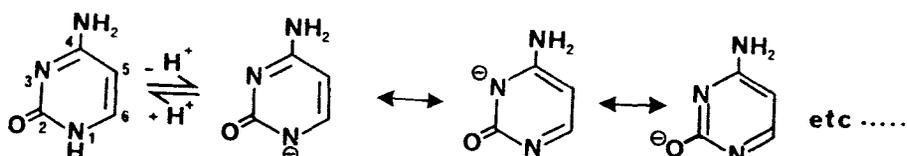


43



Le premier schéma que nous avons imaginé consiste à préparer la cytosine alkylée 40 à partir de la cytosine protégée (acétylée, silylée), suivie d'une condensation avec la proflavine acétylée et tosylée 32, puis hydrolyse des groupes protecteurs.

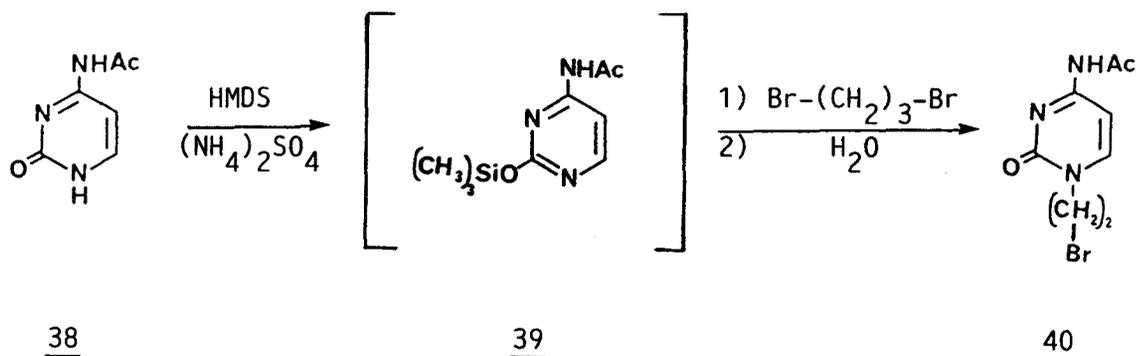
En milieu basique, la cytosine donne lieu aux équilibres suivants :



pKa = 12,3.

Dans ces conditions, l'alkylation sélective de la position 1 est difficile. On peut diminuer l'alkylation en position 3 en encombrant ce site par acétylation de la fonction amine primaire portée par le carbone 4. La principale réaction parasite observée est la O-alkylation. Cette méthode a été employée par LEONARD et BROWNE (62). La sélectivité de la réaction est augmentée lorsque l'on protège la fonction hydroxyle et la fonction amide par les groupes triméthylsilyles (62).

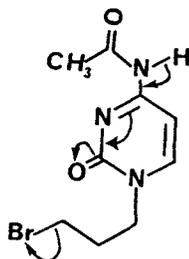
a. Synthèse du N-acétyl, (bromo-3 propyl)-1 cytosine 40 :



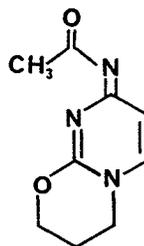
Le composé 40 a été synthétisé selon la méthode décrite dans la littérature par LEONARD (62). Il s'agit d'une alkylation de la N-acétyl cytosine préalablement silylée*, par le dibromo-1,3 propane en présence de carbonate de potassium. Après hydrolyse des groupements silyles on aboutit au produit 40 (rendement de 30 %) dont les propriétés spectrales sont en accord avec celles décrites dans la littérature (62).

b. Condensation entre le dérivé 40 et la proflavine monoacétylée, monotosylée 32 :

Plusieurs conditions de condensation entre la proflavine monoacétylée, monotosylée 32 et le dérivé 40 ont été essayées (DMF ou DMSO ou acétone en présence de carbonate de potassium) : quelques soient les conditions utilisées, on aboutit toujours à la cyclisation intramoléculaire du dérivé 40 suivant le mécanisme :



40

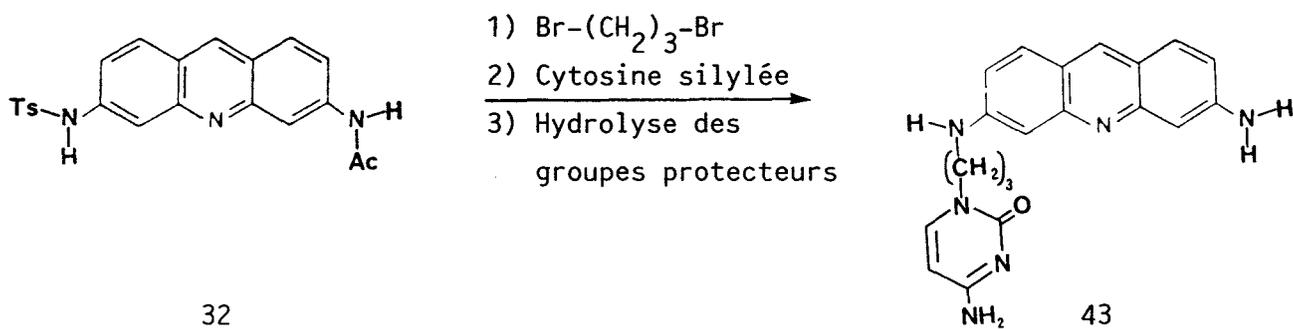


41

La présence de ce produit 41 a été mise en évidence par spectrométrie de masse : le pic correspondant à l'ion moléculaire apparait à $M^+=193$, on observe également deux pics à $m/e=178$ et $m/e=151$ correspondant à la perte soit d'un méthyle soit d'un cétène à partir de l'ion moléculaire.

* La cytosine acétylée, silylée n'est pas isolées du milieu réactionnel.

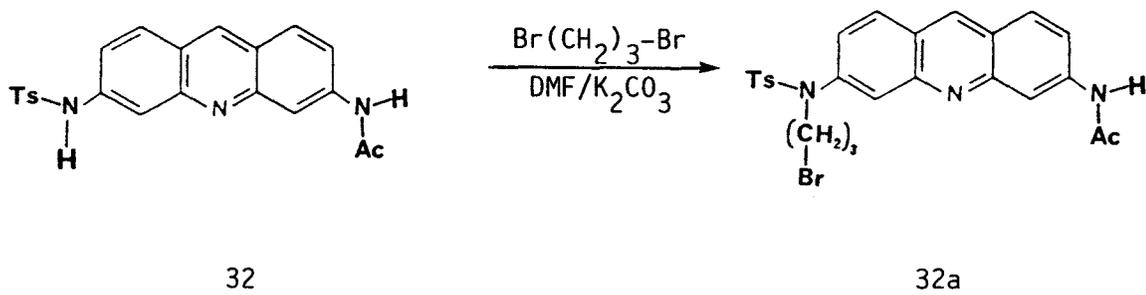
2. DEUXIEME VOIE DE SYNTHESE :



Dans ce schéma, on commence par fixer la chaîne bromopropyle sur le noyau proflavine, le dérivé obtenu 32a est condensé avec la cytosine silylée. Enfin, l'hydrolyse des groupes protecteurs en milieu acide permet d'obtenir le produit désiré 43.

a. Préparation du dérivé 32a :

Nous avons traité la proflavine monoacétylée monotosylée 32 par un large excès de dibromo-1,3 propane dans la diméthylformamide en présence de carbonate de potassium.



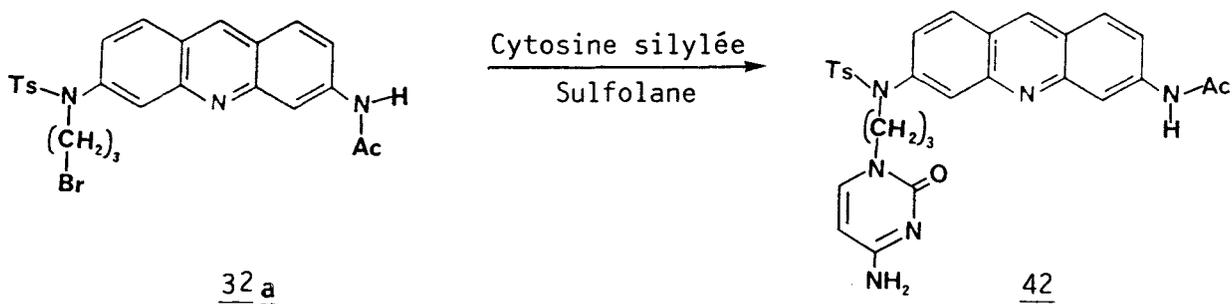
Après 10 heures de réaction à la température ambiante, le dérivé 32a est obtenu avec un rendement de l'ordre de 70 %.

On remarque dans le spectre de RMN ^1H du produit obtenu 32a la présence des signaux correspondant à la chaîne bromo-3 propyle entre 4,25-3,00 ppm ($\text{CH}_2\text{-Br}$ et $\text{CH}_2\text{-N}$) et à 2,00 ppm pour le CH_2 en β du brome.

Le spectre ultra-violet est caractéristique de ce type de composé (absorption à 370, 275 et 243 nm).

b. Condensation entre le dérivé 32a et la cytosine silylée et hydrolyse des groupes protecteurs :

Récemment, OGILVIE a montré qu'il était possible d'alkyler sélectivement la position 1 de la cytosine silylée, sans acétylation préalable (63).

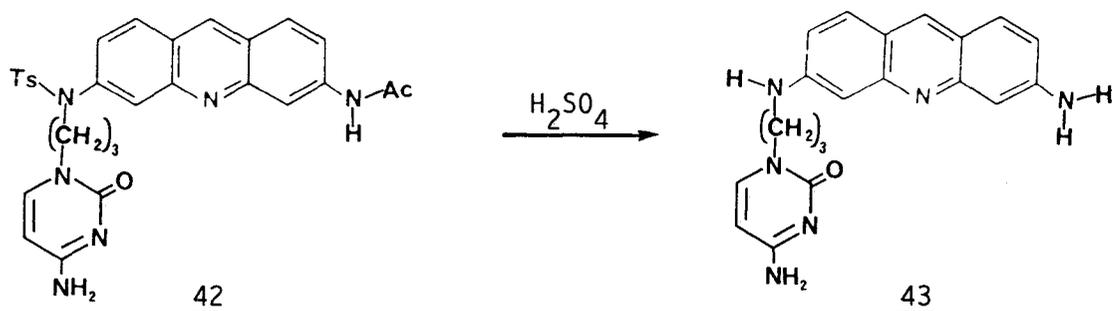


Nous avons silylé la cytosine par l'hexaméthylsilylazane (HMDS) en présence de sulfate d'ammonium comme pour la silylation de la N-acétyl cytosine 38 (p. 117). La cytosine silylée obtenue est condensée directement* avec le dérivé 32a dans le sulfolane à 80°C. Après 48 heures de réaction, le dérivé 42 est isolé avec un rendement de 61 %.

* La cytosine silylée n'est pas isolée du milieu réactionnel.

Dans l'analyse du spectre de RMN ^1H (DMSO-d_6) nous trouvons les signaux caractéristiques des demi-molécules de départ. La cytosine est identifiée par la présence d'un doublet à 5,55 ppm correspondant à l'un de ces deux protons en position 5 ou 6, l'autre étant masqué par le massif aromatique compris entre 8,50 et 7,20 ppm (protons de la proflavine et du groupe tosylo) ainsi que par l'apparition d'un signal échangeable à 6,95 ppm apporté par sa fonction amine primaire.

Dans la dernière étape, les groupements tosylamide et acétamide sont hydrolysés. Pour ceci nous avons utilisé la méthode largement employée pour les tosylamides aliphatiques (64) par chauffage dans l'acide sulfurique concentré à 80°C.

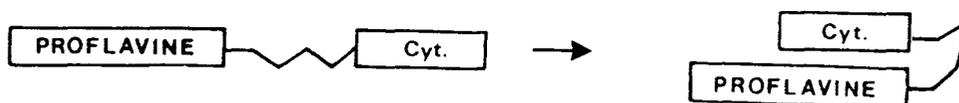


La réaction est extrêmement propre et quantitative. L'analyse sur couche mince de silice montre que la totalité du produit de départ a été consommée après 15 minutes et qu'il s'est formé un produit intermédiaire que nous n'avons pas isolé mais qui est sans doute le produit de détosylation. Après 3 heures, ce produit intermédiaire a été complètement transformé en dérivé 43.

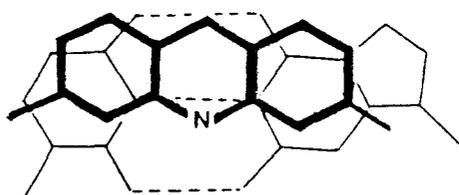
Il a été identifié par l'analyse de son spectre de RMN ^1H qui montre la disparition de tous les signaux correspondants aux groupes protecteurs acétyle et tosylo. En spectrométrie de masse (ionisation chimique par l'ammoniac), nous observons le pic de l'ion moléculaire ($M^+=361$). La pureté de 43 a été contrôlée par chromatographie sur couche mince et chromatographie liquide haute performance sur phase inverse (C.L.H.P.).

Ce modèle a été étudié par CONSTANT (97) qui est parvenu à des conclusions intéressantes :

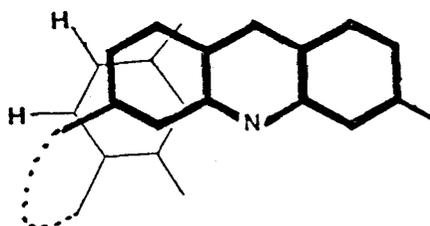
- Dans l'eau les interactions intramoléculaires noyau-noyau sont suffisamment puissantes pour que le modèle 43 existe sous forme totalement repliée.



- Les géométries des formes repliées (déterminées par RMN ^1H) sont proches de celles de la proflavine intercalée.



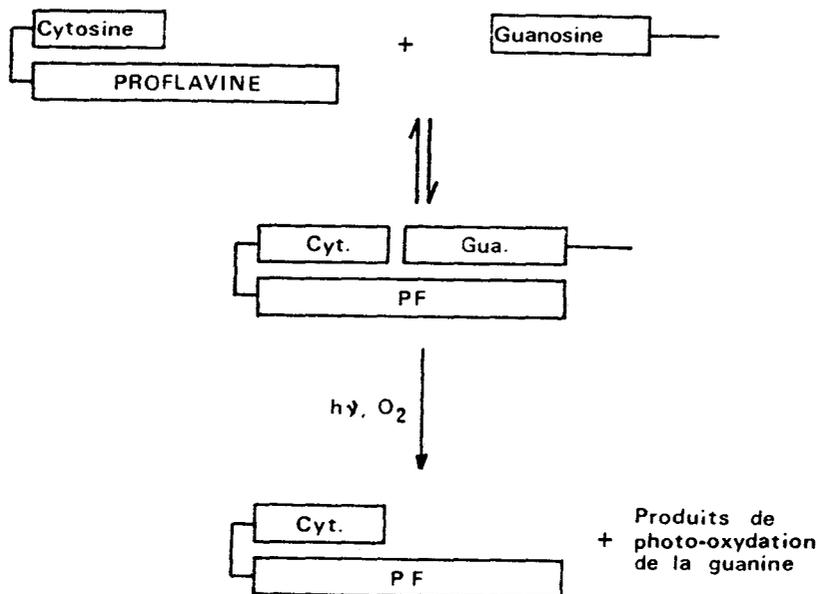
Pf intercalée



Cyt-C₃-Pf

Ces propriétés ont permis de mettre en évidence des interactions d'empilement avec le couple de bases complémentaires en utilisant le composé modèle comme matrice.

A l'aide de tels systèmes, nous étudions l'activité photodynamique de la proflavine sur la guanosine sélectivement complexée par le modèle Cyt-C₃-Pf 43 (en collaboration avec le laboratoire du Dr. CADET - C.E.N.G. Grenoble).

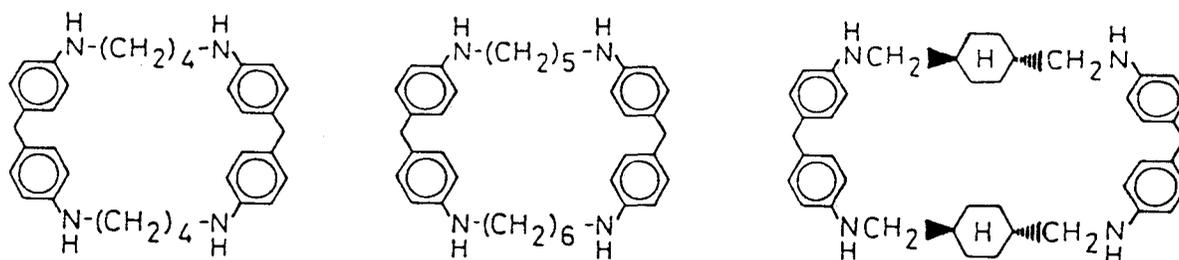


ANNEXE II

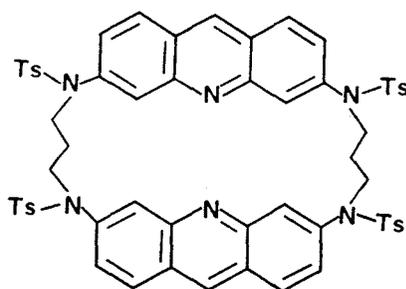


SYNTHÈSE D'UN MACROCYCLE AZOTE

Récemment, divers macrocycles capables de former des complexes d'inclusion en solution ont été synthétisés ; ce sont généralement des cyclophanes. On peut citer notamment les systèmes de KOGA (98) qui sont utilisés pour complexer sélectivement des molécules organiques.

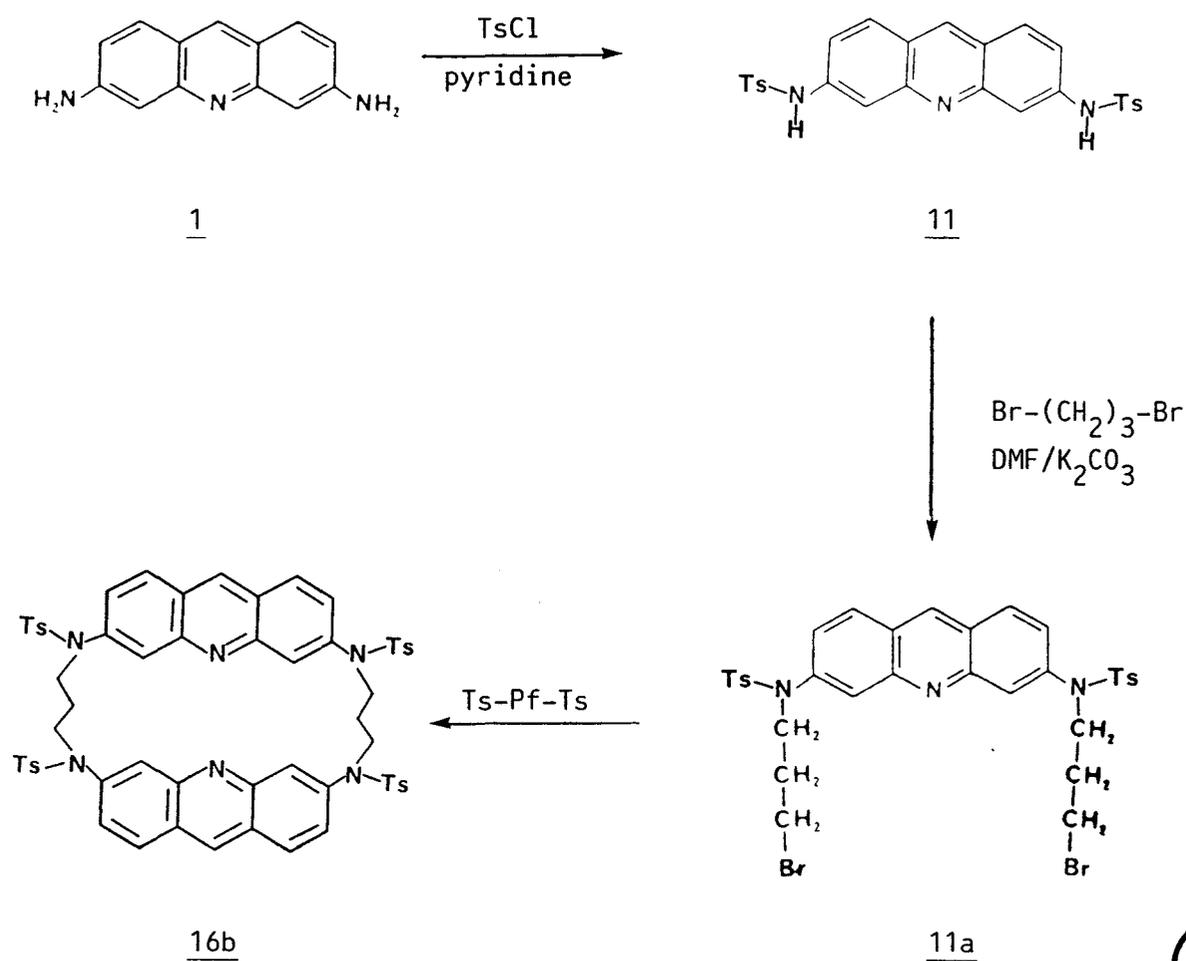


Nous avons réalisé un travail préliminaire pour voir si le système proflavine 1 pourrait être utilisé pour former des molécules cages.



Macrocycle 16b

La voie de synthèse retenue pour obtenir le macrocycle 16b est la suivante : la proflavine 1 préalablement activée par sulfonation 11 est alkylée sur les deux fonctions amines par le dibromo-1,3 propane.

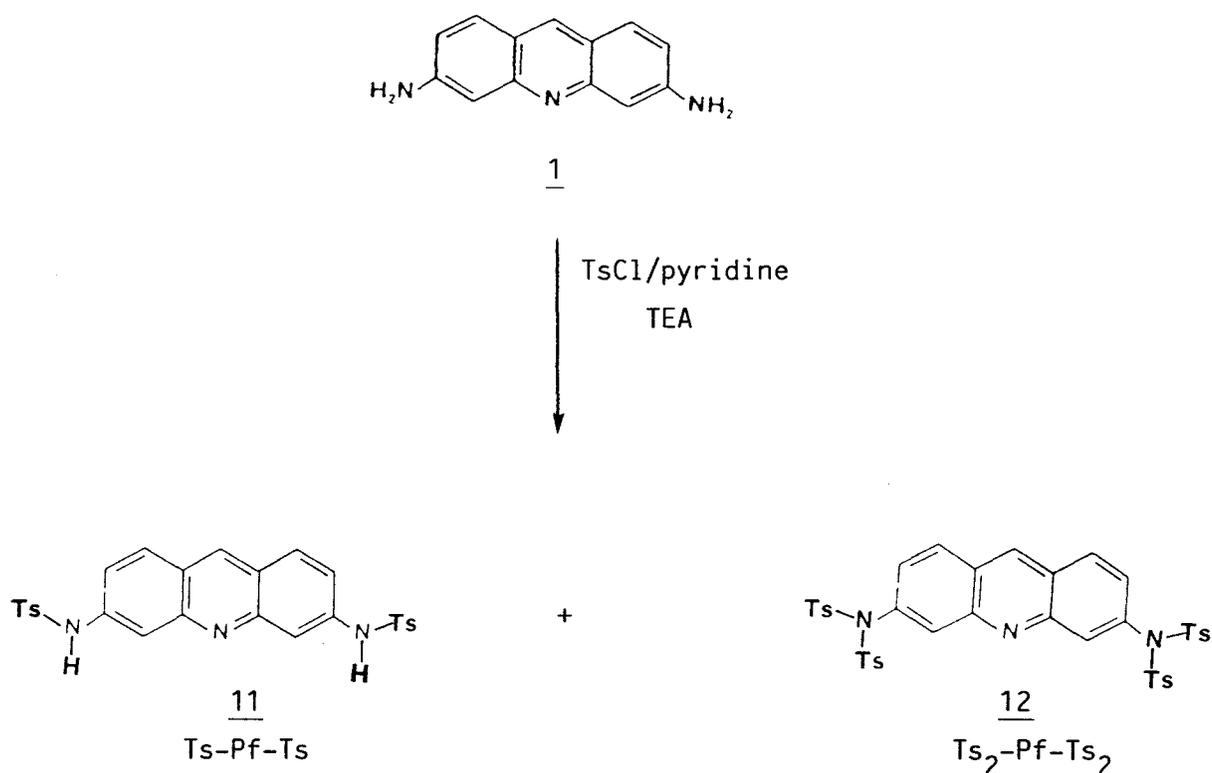


Nous avons directement substitué les bromes de 11a par attaque nucléophile par la proflavine ditosylée 11.

1. TOSYLATION DE LA PROFLAVINE :

Nous avons réalisé un certain nombre d'essais de tosylation pour tenter de préparer le produit monofonctionnalisé 10 (p.36). Ces tentatives n'avaient pas abouti, mais elles nous ont permis de mieux connaître la réaction et de mettre au point une méthode d'obtention du dérivé ditosylé 11.

Lorsque l'on traite la proflavine 1 avec un excès de chlorure de tosylo dans la pyridine, après une nuit à la température de 4°C, la réaction n'est pas complète à cause de la précipitation du sel d'acridinium. L'addition de triéthylamine solubilise le milieu et permet une transformation totale de la proflavine 1. Après une nuit à température ambiante, on a formation de deux produits : la proflavine ditosylée 11 (60 %) et tétratosylée 12 (30 %).

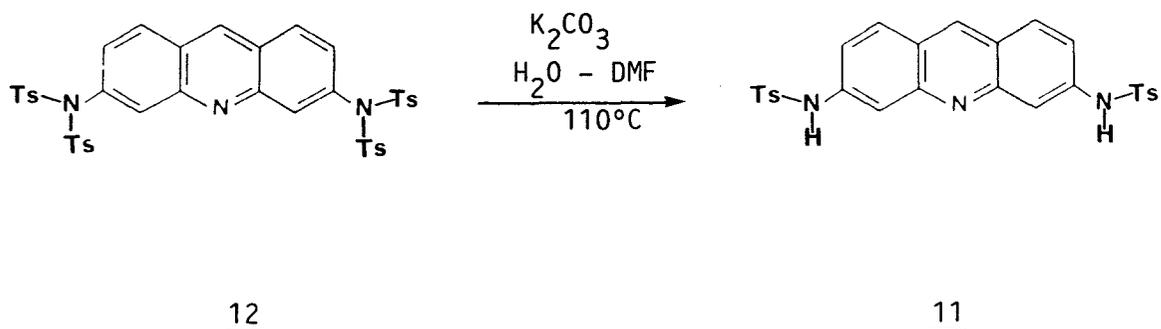


Dans le spectre de RMN ¹H du dérivé 11, on ne remarque la présence d'un multiplet centré à 7,70 ppm et d'un singulet intégrant pour six protons à 2,32 ppm attribués respectivement aux protons aromatiques et aux 2 groupes méthyles du radical tosylo.

Dans le spectre de RMN ^1H du produit tétratosylé 12, on observe la présence d'un singulet à 2,41 ppm intégrant pour 12 protons attribuables aux 4 groupes méthyles du radical tosylo. Les déplacements chimiques des autres protons sont en accord avec la structure 12.

Le spectre infrarouge montre deux bandes d'absorption caractéristiques des sulfamides vers 1160 et 1080 cm^{-1} pour les deux produits 11 et 12.

Comme dans le cas du composé monoacétylé, ditosylé 33 (p.66), le dérivé tétratosylé 12 est hydrolysé par le carbonate de potassium dans un mélange diméthylformamide - eau (6/1) avec un très bon rendement. La proflavine ditosylée 11 est obtenue avec un rendement de 96 %.

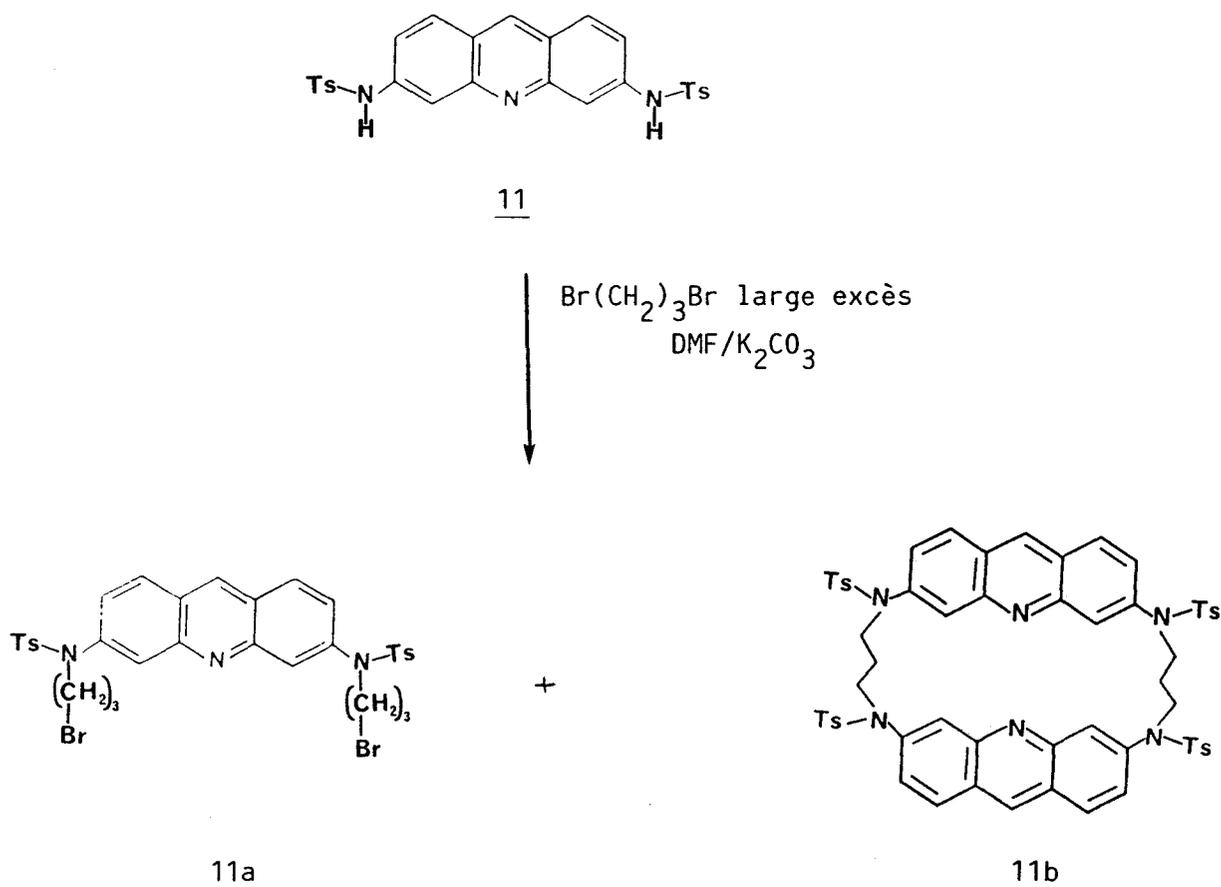


Les propriétés spectrales du produit obtenu de cette manière sont tout à fait identiques à celles du produit 11 préparé directement à partir de la proflavine 1 (p. 127).

2. ALKYLATION DE LA PROFLAVINE DITOSYLEE 11, OBTENTION DU (N,N'-DI(BROMO-3 PROPYL), N,N'-DITOSYL) DIAMINO-3,6 ACRIDINE 11a :

En présence de dibromo-1,3 propane et de carbonate de potassium dans la diméthylformamide à température ambiante, le composé Ts-Pf-Ts 11 donne, avec un rendement de l'ordre de 50 %, le dérivé 11a. Un autre dérivé a été

isolé, résultant de la condensation entre la proflavine ditosylée 11 et la proflavine ditosylée, dialkylée 11a formée au cours de la réaction. Le macrocycle 11b est obtenu avec un rendement de 3 % (la structure de ce dérivé sera discutée plus tard p. 130).

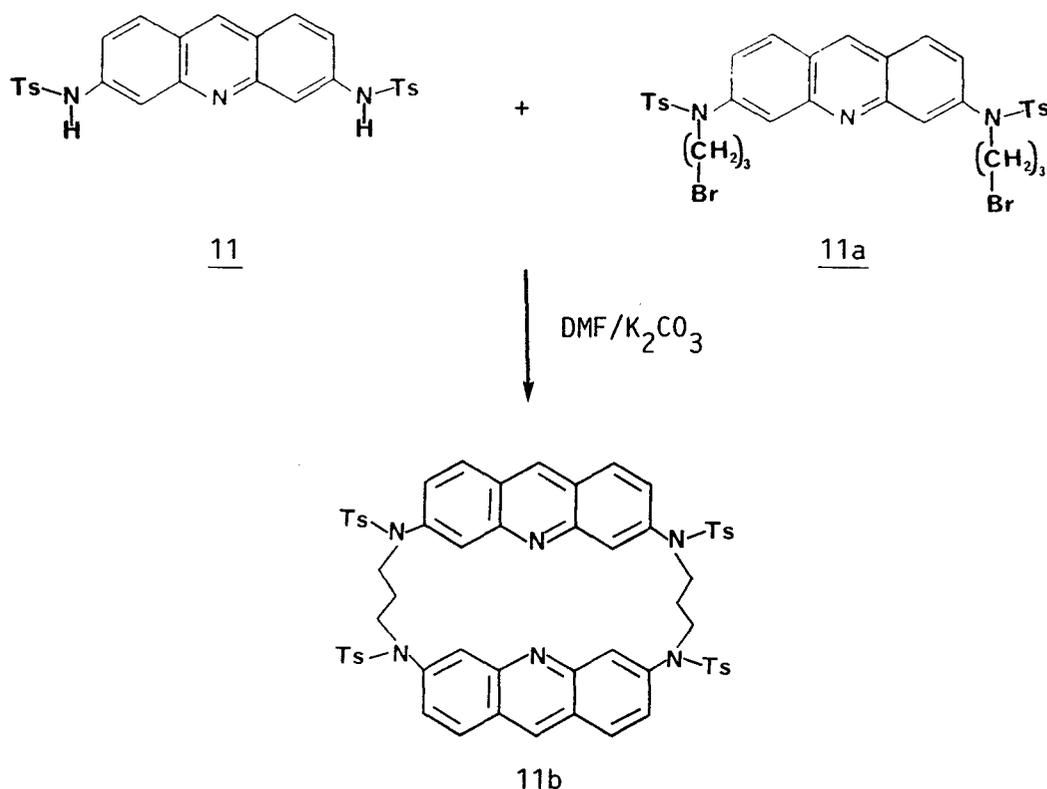


On remarque dans le spectre de RMN ¹H de 11a deux triplets à 3,50 et 3,82 ppm, correspondant respectivement aux protons N-CH₂ et CH₂-Br. A cause de la symétrie dans la molécule, certains protons résonnent au même endroit, notamment C₁-H et C₈-H à 8,13 ppm et C₄-H et C₅-H à 7,12 ppm. Les autres protons aromatiques apparaissent autour de 7,40 ppm.

3. SYNTHESE DU MACROCYCLE 11b :

La condensation entre les dérivés : Ts-Pf-Ts 11 et Br-C₃-Ts-Pf-Ts-C₃-Br 11a se fait à 60°C pendant 6 heures dans un grand volume de diméthylformamide. Le macrocycle est obtenu avec un rendement de 54 %.

La condensation entre les dérivés 11 et 11a peut également se faire à température ambiante. Dans ce cas le macrocyle 11b est obtenu après 30 heures de réaction avec un rendement d'environ 49 %.



Le spectre de RMN ¹H du macrocyle 11b est très voisin de celui du composé Br-C₃-Ts-Pf-Ts-C₃-Br 11a. L'empilement a pour effet de déplacer l'ensemble des signaux correspondant aux protons aromatiques vers les champs forts.

Le spectre ultra-violet dans le chloroforme présente l'allure caractéristique de la proflavine ditosylée, dialkylée sur les deux atomes d'azote : 11a, avec cependant un léger déplacement des maxima vers les petites longueurs d'onde et une augmentation des coefficients d'extinction molaire.

La structure du macrocyle 11b est confirmée par analyse élémentaire : on remarque dans cette analyse que chaque mole de macrocyle cristallise avec une mole d'eau.

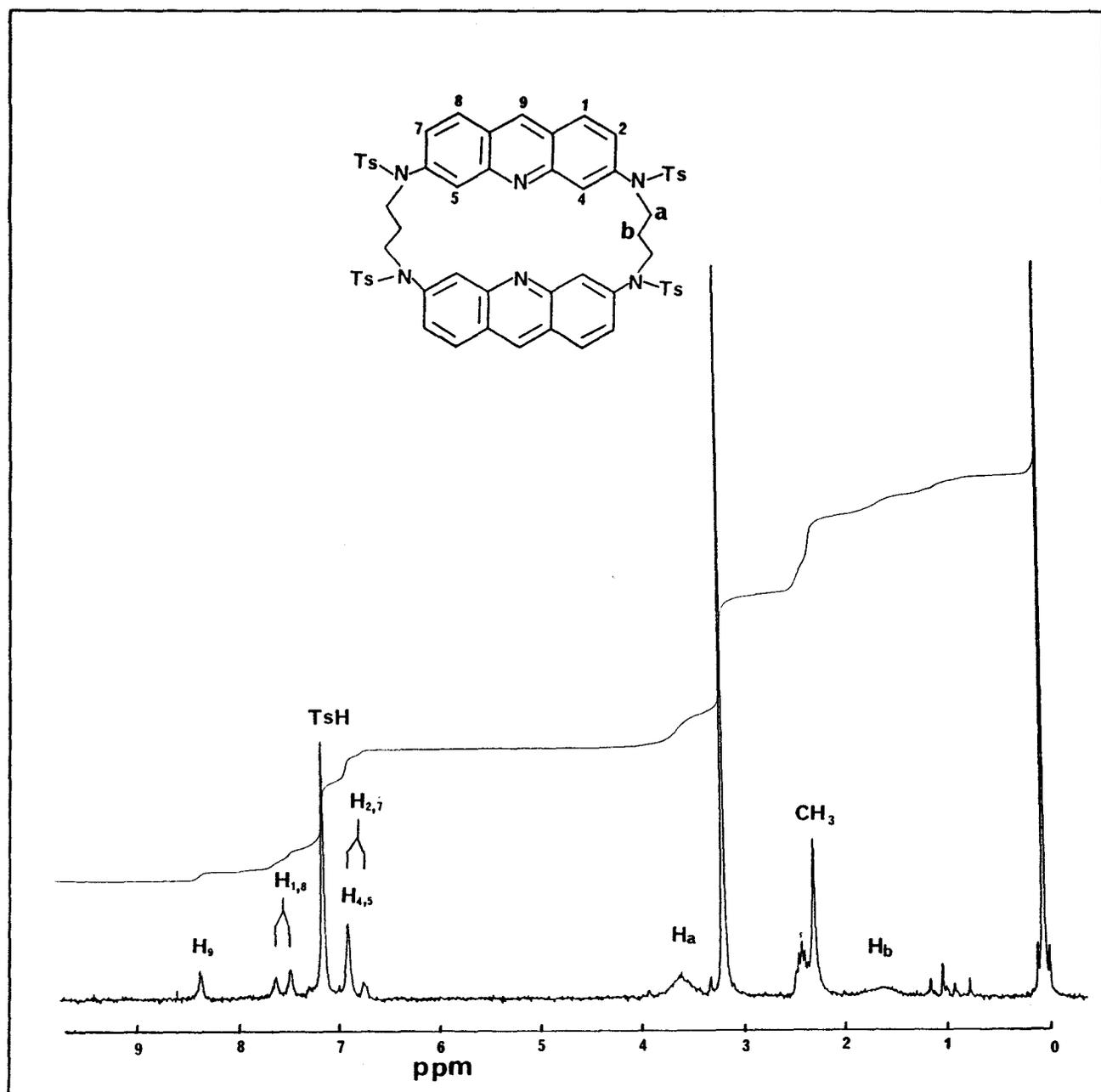


Figure 22 : Spectre RMN ^1H de 11b (enregistré dans le DMSO-d_6).



Le macrocycle obtenu, contrairement aux autres dérivés de la proflavine est insoluble dans les solvants polaires (eau, méthanol, éthanol....), par contre, il est très soluble dans des solvants non miscibles à l'eau (chlorure de méthylène, chloroforme).

En conclusion : Ce travail préliminaire a permis de mettre au point la synthèse d'un nouveau type de macrocycle à partir de la proflavine 1. Une extension possible serait de préparer des macrocycles possédant des chaînes de structures variables susceptibles de présenter des propriétés de complexation intéressantes.

PARTIE EXPERIMENTALE

-- 000 --

INDICATIONS GÉNÉRALES :

La purification des produits a été effectuée par chromatographie sur gel de silice KIESELGEL 60 ; 0,063-0,200 mm MERCK et sur phase inverse ; LICHROPREP RP 8 0,05-0,02 mm MERCK à l'aide d'un appareil de chromatographie liquide à hautes performances (CLHP) chromatospac prep JOBIN YVON.

Leur pureté a été vérifiée par chromatographie sur couche mince (CCM ; Gel de silice F₂₅₄ MERCK) et par chromatographie liquide à hautes performances (CLHP ; colonne de phase inverse RP 18 MERCK ; appareil WATERS).

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

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur les spectromètres BRUKER WP 60, WP 80, AM 400 à transformée de FOURIER, onde continue. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport à l'hexaméthylsiloxane pris comme référence interne. Les spectres sont décrits avec des abréviations : s = singulet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, m = multiplet.

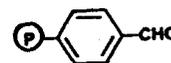
Les spectres de masse (SM) ont été réalisés sur un spectromètre RIBER MAG 10-10.

Les spectres d'absorption infra rouge (IR) ont été enregistrés sur des spectromètres PERKIN-ELMER 237 et 1320.

Les spectres d'absorption électronique (UV) ont été relevés sur un spectrophotomètre BECKMAN ACTA M 5270 et PERKIN-ELMER LAMBDA 5.

Les analyses élémentaires ont été effectuées par le Service Central de Microanalyse du CNRS.

OXYDATION DU GROUPE CHLOROMETHYLE DE LA RESINE EN GROUPE FORMYLE :

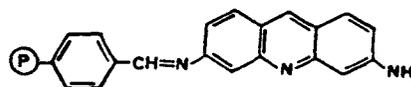


3,30 g de résine chlorométhylée sont mélangés avec 60 cm³ de DMSO et un excès de NaHCO₃.

Le mélange réactionnel est chauffé pendant 14 heures à 110°C. On filtre la résine, on la lave avec de l'eau puis de l'acétone.

Le spectre infrarouge montre la disparition de la bande caractéristique du groupe chlorométhyle (CH₂Cl) à 1270 cm⁻¹, et l'apparition d'une bande intense à 1700 cm⁻¹ attribuée au groupe carbonyle aldéhydique.

ANCORAGE DE LA PROFLAVINE 1 SUR LA RESINE FORMYLEE :

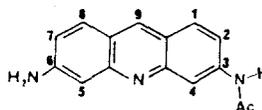


Au mélange réactionnel contenant la proflavine (base libre) (0,138 g, 0,7 mmol) et l'acide acétique (10 cm³), on ajoute la résine formylée (0,2 g, 1 m.e.q.).

Le mélange est chauffé à 100°C pendant 3 heures, on filtre la résine puis on la lave abondamment avec du méthanol puis de l'éther.

Le spectre infrarouge montre une bande de faible intensité qui montre la présence de quelques groupes carbonyle aldéhydique vers 1700 cm⁻¹.

N-ACETYL,DIAMINO-3,6 ACRIDINE : Ac-Pf 14 :



1) Dans l'acide acétique :

L'anhydride acétique (1,1 cm³, 11,17 mmol) et l'acide acétique (10 cm³) sont additionnés graduellement à une solution de proflavine (2,1 g, 10 mmol) sous forme de base libre 1 dans l'acide acétique (50 cm³) à 100°C.

Après une heure de réaction, la solution est concentrée sous pression réduite, puis le produit sous forme de sel est précipité par de l'éther (200 cm³).

On le dissout dans 150 cm³ d'eau distillée, puis la proflavine acétylée est précipitée sous forme de base libre par de l'ammoniaque.

Le produit est filtré puis lavé avec de l'éther, une chromatographie sur couche mince montre que la proflavine monoacétylé 14 obtenue et contaminée par de la proflavine diacétylée 15 et de la proflavine 1 qui n'a pas réagi.

Le rendement en produit monoacétylé 14 après chromatographie sur colonne de silice (éluant : éthanol absolu) est de 53 % (1,3 g).

F = 285-282°C ; Litt. (73) F = 283°C.

IR (KBr) : 1640, 1600, 1530, 1490, 1450, 1270, 1200, 1130, 1000, 950, 900, 880 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,18 (1H, s, NHCOCH₃) ; 8,49 (1H, s, C₉H) ; 8,28 (1H, d, J=1,7Hz, C₄H) ; 7,85 (1H, d, J= 9,16Hz, C₁H) ; 7,70 (1H, d, J=8,8Hz, C₈H) ; 7,41 (1H, dd, J=9,16Hz, J=1,7Hz, C₂H) , 6,95 (1H, dd, J=8Hz, J=1,83Hz, C₇H) ; 6,87 (1H, d, J=1,83, C₅H) ; 5,99 (2H, s, NH₂) ; 2,15 (3H, s, COCH₃).

SM (impact électronique) : M = 251 ; m/e : 251 (1,4, M⁺), 236 (1,5, M⁺-CH₃).

UV (éthanol) : λ_{\max} (ϵ) : 452,8 (13300) ; 389,8 (10750) ; 289,6 (29150) ; 270 (38350) nm.

2) Dans l'acide propanoïque :

A une solution de proflavine 1 (0,877 g ; 4,2 mmol) dans l'acide propanoïque (60 cm³) maintenue à -20°C sous agitation, on ajoute l'anhydride acétique (5 cm³ ; 37,6 mmol). La réaction est laissée 11 heures sous agitation.

La solution est versée dans un mélange d'éther éthylique et d'éther de pétrole dans des proportions 8/2 (200 cm³). Il se forme un précipité brun orangé (Ac-Pf 14 sous forme de sel), qui est filtré et lavé avec de l'éther, puis séché sous vide. Le sel est dissous dans 200 cm³ d'eau distillée, puis la

proflavine acétylée 14 est précipitée sous forme de base libre par l'ammoniaque (l'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM)).

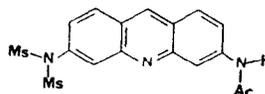
La chromatographie sur couche mince montre que le produit obtenu ne contient aucune trace de proflavine de départ.

Le rendement en proflavine monoacétylée 14 sous forme base libre est de 83 % (0,874 g).

Les propriétés spectrales de la Ac-Pf 14 sont décrite page 135 .

(N-ACETYL, N,N'-DIMESYL) DIAMINO-3,6 ACRIDINE :

Ac-Pf- Ms_2 : 19 :



Une solution de chlorure de mésyle (8 cm^3 , 100 mmol) dans la pyridine (20 cm^3) est additionnée graduellement à une solution refroidie ($0-5^\circ$) de proflavine monoacétylée 14 (4,56 g, 18,16 mmol) dans la pyridine (100 cm^3). Il se forme un précipité que l'on solubilise en ajoutant de la triéthylamine (15 cm^3 , 106 mmol).

Après 20 heures de réaction à température ambiante, on évapore la pyridine, puis le solide résiduel est alors mis en suspension dans de l'acétate d'éthyle. On laisse une nuit à 0°C . On filtre ensuite le chlorhydrate de triéthylamine qui a cristallisé. Le filtrat est concentré sous pression réduite puis on ajoute de l'éther éthylique. Le précipité formé est filtré, lavé successivement avec de l'eau et de l'éther, puis séché sous vide.

Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice, il est élué par de l'acétate d'éthyle.

Le rendement en produit 19 est de 86 % (6,35 g).

F = 240°C (décomp.).

IR (KBr) = 3550, 3500, 3290, 3000, 1670, 1610, 1590, 1540, 1480, 1450, 1365, 1325, 1300, 1250, 1160, 990, 970, 935, 865, 820, 760, 640, 610 cm^{-1} .

RMN¹H (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,42 (1H, s, NHCOCH₃) ; 9,04 (1H, s, C₉H), 8,59 (1H, J=2,02Hz, C₄H) ; 8,27 (1H, d, J=2,2Hz, C₅H) ; 8,19 (1H, d, J=9,16Hz, C₈H) ; 8,12 (1H, d, J=9,16Hz, C₁H) ; 7,54 (1H, dd, J=9,16Hz, J=2,2Hz, C₇H) ; 7,69 (1H, dd, J=9,16Hz, J=2,02Hz, C₂H) ; 3,60 (6H, s, Ms CH₃) ; 2,12 (3H, s, COCH₃).

RMN¹³C (20 MHz, ATFA) δ ppm = 178,5 (CO) ; 158,6 - 151,3 - 150 - 145,5 - 143,6 - 141,8 - 134,6 - 134,4 - 132,5 - 128,1 - 127,9 - 126,6 - 105,8 - 45,1 (Ms CH₃).

Analyse : C₁₇H₁₇N₃O₅S₂

calc. % : C : 50,11 H : 4,21 N : 10,31 S : 15,74

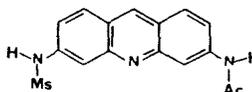
tr. % : 50,3 4,2 10,5 15,2

SM (impact électronique) M = 407 ; m/e : 407 (3,7, M⁺), 328 (3,9, M⁺-Ms).

UV (éthanol) : λ_{\max} (ϵ) : 357,8 (8500) ; 271,6 (75800) ; 237 (32500) nm.

(N-ACETYL, N'-MESYL) DIAMINO-3,6 ACRIDINE :

Ac-Pf-Ms : 20 :



On dissout la proflavine monoacétylée 14 (5,1 g, 20,3 mmol) dans la pyridine (100 cm³). On place le tout dans un bain à 4°C. On ajoute alors lentement le chlorure de mésyle (6 cm³, 74 mmol) dans la pyridine (10 cm³). Il se forme un précipité que l'on solubilise en ajoutant de la triéthylamine (15 cm³, 106 mmol).

Après une nuit à 4°C, on évapore la pyridine, puis on ajoute 150 cm³ d'un mélange de DMF-eau 6/1 et on porte la solution à 80°C pendant une heure. On ajoute ensuite graduellement du K₂CO₃ (10 g, 72,3 mmol). On évapore ensuite la solution. Le solide résiduel est alors mis en suspension dans de l'acétone (200 cm³), le K₂CO₃ insoluble est éliminé par filtration. Le filtrat est ensuite concentré sous pression réduite. Par addition de l'éther, on fait précipiter le dérivé qui est filtré, lavé avec de l'éther et séché.

Le rendement est de 86 % (5,74 g).

F = 260°C.

IR (KBr) : 3490, 3040, 1700, 1630, 1460, 1360, 1320, 1270, 1150, 1000, 940, 820 cm^{-1} .

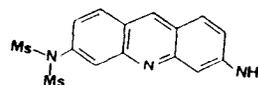
RMN (60 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm = 10,41 (1H, s, NHCOCH_3) ; 8,81 (1H, s, C_9H) ; 8,45 (1H, d, $J=2,02$ Hz, C_4H) ; 8,01 (2H, d, $J=9,16$ Hz, C_1H et C_8H) ; 7,72 (1H, s large, C_5H) ; 7,35 (1H, dd, $J=9,16$ Hz, $J=2,02$ Hz, C_7H) ; 7,60 (1H, dd, $J=9,16$ Hz, $J=2,02$ Hz, C_2H) ; 3,11 (3H, s, Ms CH_3) ; 2,11 (1H, s, COCH_3).

SM (impact électronique) M = 329 ; m/e = 329 (58,3, M^+), 287 (55,5, $\text{M}^+-\text{CH}_2\text{CO}$), 250 (13,8, M^+-Ms).

UV (éthanol) : λ_{max} (ϵ) : 465,5 (3500) ; 381 (17150) ; 270,6 (68200) nm.

HYDROLYSE DE LA PROFLAVINE MONOACÉTYLÉE DIMÉSYLÉE 19 :

En milieu acide : obtention du N,N-dimésyl,
diamino-3,6 acridine : Pf- Ms_2 : 19b :



La proflavine monoacétylée dimésylée 19 (0,5 g, 1,2 mmol) est chauffée à 100°C pendant 2 heures dans une solution d'acide chlorhydrique 6N (15 cm^3). Après neutralisation par l'ammoniaque et élimination du chlorure d'ammonium formé, le produit de désacétylation 20 est obtenu sous forme de base libre avec un rendement de 69 % (0,309 g).

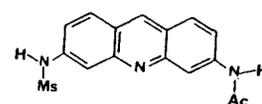
F = 260°C.

IR (KBr) : 3460, 3340, 3220, 1650, 1620, 1500, 1470, 1420, 1360, 1340, 1160, 1000, 945, 775 cm^{-1} .

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 8,72 (1H, s, C₉-H) ; 8,02-7,76 (2H, m, C₁H et C₈H) ; 7,94 (1H, s large, C₅H) ; 7,35 (1H, dd, J=8,6Hz, J=1,8Hz, C₇H) ; 7,09 (1H, dd, J=9Hz, J=1,8Hz, C₂H) ; 6,92 (1H, d, J=1,8, C₄H) ; 6,22 (2H, s large, NH₂) ; 3,57 (6H, s, Ms CH₃).

UV (éthanol) : λ_{\max} (ϵ) : 448,2 (5650) ; 354 (4450) ; 336,9 (2800) ; 275,9 (49100) ; 241,3 (35400) nm.

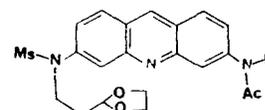
En milieu basique : obtention du (N-acétyl, N-mésyl) diamino-3,6 acridine : Ac-Pf-Ms : 20 :



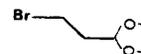
La proflavine monoacétylée dimésylée 19 (1 g ; 2,4mmol) est chauffée dans un mélange de DMF-eau 6/1 en présence de K₂CO₃ (2g ; 14,5 mmol) pendant 45 minutes. On évapore le solvant sous pression réduite ; le produit obtenu est mélangé avec de l'acétone (50 cm³), et on laisse le mélange à 0°C pendant une nuit. On filtre le K₂CO₃ qui a précipité, le filtrat est concentré sous vide, puis le produit monoacétylé monomésylé 20 est précipité par un grand volume d'éther éthylique. Le rendement est de 98 % (0,79 g).

Caractéristiques spectrales : voir page 138 .

(N-ACÉTYL, N'-(PROPIOANALDEHYDE ETHYLENE - ACÉTAL), N'-MESYL) DIAMINO-3,6 ACRIDINE : 22 :



1. Synthèse du bromo-3 propionaldéhyde éthylène-acétal : 35 :



A une solution d'éthylène glycol (20g, 322 mmol) et d'acide bromhydrique gazeux (20 g, 247 mmol) refroidie à 4°C, on ajoute l'acroléïne (10g, 178 mmol). Après agitation pendant 2 heures à la température ambiante, le mélange est extrait 3 fois avec du pentane. La phase organique est lavée plusieurs fois avec 5 % de NaHCO₃, séchée avec Na₂SO₄ pendant une nuit, puis le pentane est évaporé.

La distillation du résidu sous pression réduite donne un rendement de 58 % (18,7 g).

$Eb_{2\text{ mmHg}} = 49^{\circ}\text{C}$.

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm = 4,91 (1H, t, $J=4,5\text{Hz}$; $\text{CH}(\text{OCH}_2)_2$) ; 3,84 (4H, s large, $\text{CH}(\text{OCH}_2)_2$) ; 3,40 (2H, t, $J=7\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-Br}$) ; 2,12 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}$).

2. Réaction de condensation entre
la profalvine monoacétylée,
monomésylée 20 et le bromoacétal 35 :

La proflavine monoacétylée, monomésylée 20 (5,2 g, 16 mmol) est dissoute dans la DMF anhydre (50 cm^3) et agitée en présence du bromo-3 propionaldéhyde éthylène-acétal 35 (6,2 g, 34 mmol) et d'un excès de K_2CO_3 à la température de 80°C .

Après 3 heures, on filtre puis on évapore le filtrat sous pression réduite. On obtient un résidu qui est mis en suspension dans un mélange éthanol absolu - acétate d'éthyle 1/10. Le K_2CO_3 insoluble est filtré et le filtrat est concentré sous pression réduite. Une purification grossière du produit 22 qui permet d'éliminer les impuretés les plus polaires, est effectuée par chromatographie sur colonne de silice, le produit est élué par l'acétate d'éthyle.

On obtient après purification un rendement de 72 % (4,9 g).

$F = 221\text{-}222^{\circ}\text{C}$.

IR (KBr) : 3380, 2900, 1690, 1620, 1570, 1540, 1500, 1450, 1420, 1370, 1320, 1250, 1145, 1110, 1035, 970, 920, 880, 810, 780, 660 cm^{-1} .

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm = 10,37 (1H, s, NHCOCH_3) ; 8,95 (1H, s, C_9H) ; 8,53 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$, C_4H) ; 8,20 - 8,00 (2H, m, C_1H , C_8H) ; 8,04 (1H, m, C_5H) ; 7,61 (1H, dd, $J=8,98\text{Hz}$, $J=2,2\text{Hz}$, C_2H) ; 7,49 (1H, dd, $J=9,16\text{Hz}$, $J=1,86\text{Hz}$, C_7H) ; 4,85 (1H, t, $J=4,4\text{Hz}$, $\text{CH}(\text{OCH}_2)_2$) ; 3,87 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-N}$) ; 3,33

(4H,s,CH(OCH₂)₂);3,04 (3H, s, MsCH₃) ; 2,13 (3H, s, COCH₃) ; 1,51 (2H, m, CH₂-CH₂-CH).

SM (impact électronique) M = 429 , m/e : 350 (6,7, M⁺-Ms), 264 (100, M⁺-(Ms + CH-CH(OCH₂)₂)).

UV (éthanol) : λ_{max} (ε) : 369,6 (10600) ; 272,2 (71600) ; 237 (26300) nm.

ESSAIS DE CYCLISATION DU(N-ACETYL, N'-MESYL, N'-(PROPIONALDEHYDE ETHYLENE-ACETAL) DIAMINO-3,6 ACRIDINE : 22 :

1. Dans le toluène en présence du tétrachlorure de titane :

Une solution de l'acétal 22 (0,2 g, 0,4 mmol) dans 20 cm³ de toluène anhydre est chauffée à reflux jusqu'à dissolution complète du produit 22. On refroidit la solution à 4°C, puis on ajoute goutte à goutte pendant 10 minutes le TiCl₄ (60 µl, 0,5 mmol) dissous dans 5 cm³ de toluène anhydre. Après 14 heures à reflux, la solution est concentrée, puis le produit de la réaction est précipité par l'éther éthylique. Les propriétés spectrales du produit obtenu sont identiques à celles du produit 20 (page 138).

2. Dans l'acide sulfurique concentré :

L'acétal 22 (0,2 g, 0,46 mmol) en solution dans l'acide sulfurique (3 cm³, 54 mmol) est chauffée à 100°C pendant 2 heures.

La solution est alcalinisée par l'ammoniaque et extraite plusieurs fois par le chlorure de méthylène. Les extraits chlorométhyléniques sont rassemblés, séchés et évaporés. La chromatographie sur plaque de silice montre la présence de quatre produits nouveaux (deux produits polaires, et deux autres non polaires).

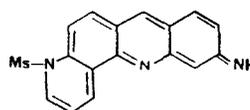
La chromatographie sur colonne de silice en utilisant comme éluant de l'acétate d'éthyle, puis sur plaque préparative de silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{EtOH}$ absolu 8/2/0,6) a permis d'isoler le produit 31 pur mais avec un rendement très faible (environ 5 %).

Analyses spectroscopiques : voir page 159.

3. Dans l'acide acétique :

Une solution de l'acétal 22 (0,1 g, 0,23 mmol) et d'acide acétique (20 cm^3) est chauffée à reflux pendant 5 jours. Une extraction par le chlorure de méthylène, suivie d'une séparation par chromatographie sur colonne de silice, en utilisant comme éluant le mélange $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{AcOEt}/\text{EtOH}$ absolu dans un rapport 2/8/0,6, a permis l'isolement et la caractérisation de 3 produits.

a) Le produit de cyclisation 29



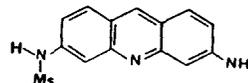
Ce produit est obtenu avec un rendement de 16 % (0,012 g).

RMN (60 MHz, DMSO-d_6) : δ ppm = 9,57 (1H, dd, $J=8,24\text{Hz}$, $J=1,83\text{Hz}$, C_1H) ; 9,02 (1H, dd, $J=4,58\text{Hz}$, $J=1,83\text{Hz}$, C_3H) ; 9,00 (1H, s, C_7H) ; 8,17 (2H, d, $J=9,34\text{Hz}$, C_5H et C_6H) ; 8,01 (1H, d, $J=2,38\text{Hz}$, C_{11}H) ; 7,83 (1H, d, $J=9,16\text{Hz}$, C_8H) ; 7,73 (1H, dd, $J=8,24\text{Hz}$, $J=4,58\text{Hz}$, C_2H) ; 7,51 (1H, dd, $J=9,16\text{Hz}$, $J=2,38\text{Hz}$, C_9H) ; 3,15 (3H, s, MsCH_3).

SM (impact électronique) $M = 323$, m/e : 323 (41,5, M^+), 244 (100, M^+-Ms), 217 (88, $\text{M}^+-\text{(Ms+HCN)}$), 190 (29,3, $\text{M}^+-\text{(Ms+2HCN)}$), 163 (4,8, $\text{M}^+-\text{(Ms+3HCN)}$).

UV (éthanol) : λ_{\max} (ϵ) : 309 (38000) ; 297 (32450) ; 260 (61400) nm.

b) Proflavine monomesylée : Pf-Ms 30 :



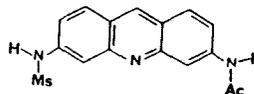
Ce produit est obtenu avec un rendement de 15 % (0,01 g).

IR (KBr) : 3450, 3365, 3250, 1650, 1610, 1470, 1390, 1290, 1260, 1180, 1150, 1110, 970 cm^{-1} .

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm = 8,61 (1H, s, C₉H) ; 7,81 (1H, d, J=9,16Hz, C₈H) ; 7,75 (1H, d, J=9,16Hz, C₁H) ; 7,43 (1H, d, J=2,01Hz, C₅H) ; 7,02 (1H, dd, J=9Hz, J=2,01Hz, C₇H) ; 6,96 (1H, dd, J=9Hz, J=2,01Hz, C₂H) ; 6,74 (1H, d, J=2,01Hz, C₄H) ; 6,63 (2H, s large, NH₂) ; 2,96 (3H, s, Ms CH₃).

SM (impact électronique) M = 287 ; m/e : 287 (17,5, M⁺) ; 208 (18,4, M⁺-Ms).

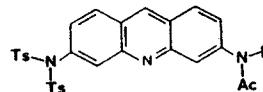
c) Proflavine monoacétylée,
monomésylée : Ac-Pf-Ms : 20 :



Ce produit résultant d'une désalkylation du dérivé 22 est identifié par comparaison avec celui obtenu par hydrolyse basique de la proflavine acétylée dimésylée 19 (page 138).

Le rendement est de 43 % (0,033 g).

(N-ACETYL, N',N'-DITOSYL) DIAMINO-3,6 ACRIDINE :



Ac-Pf-Ts₂ : 33 :

Une solution de chlorure de tosylo (26,1 g, 137 mmol) dans la pyridine (20 cm³) est additionnée graduellement à une solution refroidie (0-5°) de proflavine monoacétylée 14 (7,2 g, 28,7 mmol) dans la pyridine (100 cm³). Il se forme un précipité que l'on solubilise en ajoutant de la triéthylamine (25 cm³, 178 mmol). Après 20 heures de réaction à température ambiante, on évapore la pyridine, puis le solide résiduel est alors mis en suspension dans de l'acétate d'éthyle. On laisse une nuit à 0°C. On filtre ensuite le chlorhydrate de triéthylamine qui a cristallisé. Le filtrat est concentré sous pression réduite puis on ajoute de l'éther éthylique. Le précipité formé est filtré, lavé successivement avec de l'eau et de l'éther, puis séché sous vide.

Le produit obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de silice, il est élué par de l'acétate d'éthyle.

Le rendement en produit 33 est de 91 % (14,6 g).

F = 180°C (décomp.).

IR (KBr) : 3550, 3290, 3140, 1670, 1615, 1590, 1570, 1540, 1500, 1450, 1410, 1370, 1290, 1270, 1250, 1160, 1080, 930, 860, 810, 710, 660, 620 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,41 (1H, s, NHCOCH₃) ; 9,02 (1H, s, C₉H) ; 8,56 (1H, s large, C₄H) ; 8,12 (2H, d, J=9,21Hz, C₁H et C₈H) ; 7,81-7,39 (11H, m, C₅H, C₂H, C₇H et TsH) ; 2,41 (6H, s, TsCH₃) ; 2,13 (3H, s, COCH₃).

Analyse : C₂₉H₂₅N₃O₅S₂

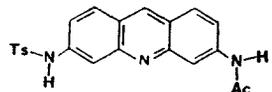
calc. % : C : 62,24 H : 4,5 N : 7,51

tr. % : 62,2 4,6 7,2

UV (éthanol) : λ_{\max} (ϵ) : 359 (9600) ; 275,2 (82750) ; 237, 8 (55500)nm.

(N-ACÉTYL, N-TOSYL) DIAMINO-3,6 ACRIDINE :

Ac-Pf-Ts : 32 :



Sous agitation mécanique, à température ambiante, le dérivé Ac-Pf 14 (3,11 g, 12,4 mmol) est dissous dans la pyridine (100 cm³). La solution est alors refroidie à 4°C et on ajoute goutte à goutte une solution de chlorure de tosylo (7,09 g, 37,2 mmol) dans la pyridine (15 cm³). Il se forme un précipité que l'on solubilise en ajoutant de la triéthylamine (20 cm³, 142,3 mmol). Après 2 heures de réaction, on ajoute une deuxième fraction de chlorure de tosylo (15,2 g, 79,5 mmol) en solution dans la pyridine (10 cm³). On laisse alors agiter le mélange pendant 18 heures à 4°C. Après évaporation, le brut réactionnel est solubilisé dans de l'éthanol absolu (10 cm³) auquel on ajoute de l'acétate d'éthyle (200 cm³). La solution est laissée une nuit à 0°C. On filtre ensuite le chlorhydrate de triéthylamine qui a cristallisé. Le filtrat est concentré sous pression réduite puis on ajoute de l'éther éthylique. Le précipité formé est filtré, séché et solubilisé dans un mélange DMF-eau (6/1) auquel on ajoute du K₂CO₃ (2,5 g, 18 mmol). La solution est chauffée à 100°C pendant 14 heures puis évaporée à sec. Le solide résiduel est alors mis en suspension dans de l'acétone. Le K₂CO₃ insoluble est éliminé par filtration. Le filtrat est ensuite concentré sous pression réduite. Par addition d'éther, on fait précipiter le dérivé Ac-Pf-Ts 32 qui est filtré, lavé avec de l'éther et séché.

Le rendement obtenu en Ac-Pf-Ts 32 est de 75 % (3,75 g).

F = 180°C (décomp.).

IR (KBr) : 3550, 3300, 1710, 1650, 1540, 1450, 1400, 1360, 1240, 1150, 1090, 1010, 910, 810, 750, 650 cm⁻¹.

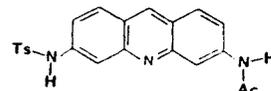
RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,36 (1H, s large, NHCOCH₃) ; 8,76 (1H, s, C₉H) ; 8,44 (1H, s large, C₄H) ; 8,05-7,23 (9H, m, C₁H - C₂H - C₅H - C₇H - C₈H et TsH) ; 2,11 (3H, s, COCH₃) ; 2,23 (3H, s, TsCH₃).

SM (impact électronique) M = 405 ; m/e : 405 (5,1, M⁺), 250 (33,4, M⁺ - Ts).

UV (éthanol) : λ_{\max} (ϵ) : 492,6 (4400) ; 392,2 (17800) ; 272,2 (62050) nm.

HYDROLYSE DU DERIVE MONOACETYLE DITOSYLE 33 :

OBTENTION DE LA PROFLAVINE MONOACETYLE : Ac-Pf-Ts : 32 :



La proflavine monoacétylé, ditosylée 33 (0,5 g, 0,9 mmol) est chauffée à 100°C dans 15 cm³ d'un mélange de DMF - eau (6/1) en présence de K₂CO₃ (0,8 g, 5,8 mmol) pendant 14 heures. On évapore le solvant sous pression réduite ; le produit obtenu est mélangé avec de l'acétone (30 cm³), et on laisse le mélange à 0°C pendant une nuit. On filtre le K₂CO₃ qui a précipité, le filtrat est concentré sous vide, puis le produit monoacétylé monotosylé 32 est précipité par un grand volume d'éther éthylique.

Le rendement est de 82 % (0,3 g).

Caractéristiques spectrales : voir page 145 .

TOSYLATION DE LA PROFLAVINE : OBTENTION DE

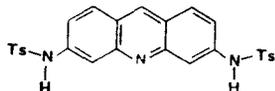
Ts-Pf-Ts 11 et Ts₂-Pf-Ts₂ 12 :

On dissout la proflavine 1 sous forme de base libre (10g, 48 mmol) dans la pyridine (200 cm³). On place le tout dans un bain à 4°C. On ajoute alors lentement le chlorure de tosyle (50 g, 262 mmol) ; après 6 heures de réaction, la proflavine précipite sous forme de sel. On ajoute goutte à goutte de la triéthylamine (15 cm³, 106 mmol), le milieu devient homogène et on laisse sous agitation à température ambiante pendant une nuit. On évapore, puis on ajoute de l'acétate d'éthyle, et on laisse à 0°C pendant une nuit. On filtre ensuite le chlorhydrate de triéthylamine qui a cristallisé.

Les deux produits Ts-Pf-Ts 11 et Ts₂-Pf-Ts₂ 12 sont séparés par chromatographie sur colonne de silice en utilisant le mélange éluant AcOEt/CH₂Cl₂ dans un rapport 2/8.

Rendement : produit ditosylé 11 60 %
produit tétratosylé 12 30 %.

Ts-Pf-Ts 11 :



Ce produit cristallise dans l'AcOEt sous forme de cristaux rouges.

F = 162-153°C.

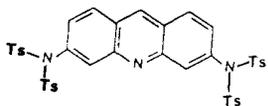
IR (KBr) : 1640, 1595, 1460, 1150, 1120, 1075, 990, 910, 810 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 8,77 (1H, s, C₉H) ; 8,02-7,27 (14H, m, C₁H, C₂H, C₄H, C₅H, C₇H, C₈H et TsH), 2,32 (6H, s, TsCH₃).

Analyse : C₂₇H₂₃N₃O₄S₂, 1,5 H₂O, AcOEt
calc. % : C : 58,84 H : 5,42 N : 6,64
tr. % : 59,1 5,4 7,1

UV (éthanol) : λ_{max} (ε) : 480,4 (11550) ; 380,4 (14150) ; 268,8 (57250) ; 224,6 (35250) nm.

Ts₂-Pf-Ts₂ 12 :



Ce composé 12 cristallise dans l'acétate d'éthyle sous forme de cristaux jaunes.

F = 182-183°C.

IR (KBr) : 1640, 1620, 1595, 1490, 1450, 1380, 1160, 1120, 1080, 990, 930, 850, 810 cm^{-1} .

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm = 9,27 (1H, s, C₉H) ; 8,24 (2H, d, J=9,16 Hz, C₁H et C₈H) ; 8-7,14 (20H, m, C₂H, C₄H, C₅H, C₇H et TsH) ; 2,41 (12H, s, TsCH₃).

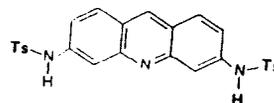
Analyse : C₄₁H₃₅N₃O₈S₄

calc. % : C : 59,62 H : 4,27 N : 5,09 S : 15,53

tr. % : 59,7 4,1 5,3 15,3

UV (éthanol) : λ_{max} (ϵ) : 356,6 (9950) ; 268,2 (81350) ; 237,6 (65250) nm.

HYDROLYSE BASIQUE DE LA PROFLAVINE TERATOSYLÉE :
OBTENTION DE Ts-Pf-Ts : 11 :



La proflavine tétratosylée 12 (0,9 g, 1,1 mmol) est chauffée à 110°C pendant 14 heures dans un mélange de DMF-eau 6/1 en présence de K₂CO₃ (1,5 g, 10,8 mmol). Après évaporation du solvant et précipitation du K₂CO₃ par l'acétone, on obtient le produit ditosylé 11 avec un rendement de 96 % (0,543 g).

Les propriétés spectrales sont identiques à celles du produit obtenu directement par tosylation de la proflavine 1 (voir page 147).

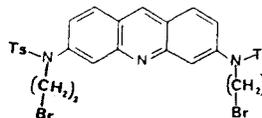
ALKYLATION DE LA PROFLAVINE DITOSYLÉE 11 PAR LE
DIBROMO-1,3 PROPANE : OBTENTION DES DERIVES :
11a ET 11b :

On dissout la proflavine ditosylée 11 (4,02 g, 7,8 mmol) dans la DMF (20 cm³) en présence de K₂CO₃ (6,7 g, 48,5 mmol). On ajoute du dibromo-1,3 propane en large excès (10 cm³, 72,7 mmol), de façon à éviter la formation de dimères de proflavine.

On laisse sous agitation pendant 20 heures, à la température ambiante. On filtre la solution pour éliminer le K₂CO₃ et on évapore le solvant. La chromatographie sur couche mince, montre la présence de plusieurs produits, deux d'entre eux ont été isolés, séparés par chromatographie sur colonne de silice puis caractérisés par spectroscopie. Le produit le moins polaire, ayant une fluorescence bleue à 365 nm est élué par un mélange AcOEt/CH₂Cl₂ 1/10; on l'obtient avec un rendement de 50 % : il correspond au composé Br-C₃-Ts₁-Pf-Ts₁-C₃-Br 11a. Ce produit cristallise dans le mélange AcOEt/éther éthylique sous forme de cristaux jaunes.

Le second composé le plus polaire (élué avec le mélange AcOEt/CH₂Cl₂ 1/8) est obtenu avec un rendement de 3 %. Ce produit est le résultat de la condensation entre la proflavine ditosylée 11 et la proflavine ditosylée, dialkylée 11a formée au cours de la réaction.

(N,N'-DI(BROMO-3 PROPYL), N,N'-DITOSYL)DIAMINO-3,6
ACRIDINE : Br-C₃-Ts-Pf-Ts-C₃-Br : 11a :



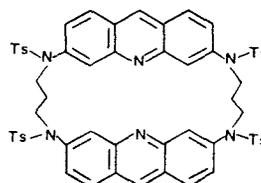
F : 92-93°C.

IR (KBr) : 1610, 1450, 1350, 1235, 1160, 1090, 950, 820, 670 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) δ ppm = 9,09 (1H, s, C₉H) ; 8,13 (2H, d, J=9,16Hz, C₁H et C₈H) ; 7,72 (2H, s, C₄H et C₅H) ; 7,39 (10H, m, C₂H, C₇H et TsH) ; 3,82 (4H, t, J=7Hz, CH₂-Br) ; 3,50 (4H, t, J=7Hz, CH₂-N) ; 2,33 (6H, s, TsCH₃) ; 1,89 (4H, m, J=7Hz, CH₂-CH₂-CH₂).

UV (CHCl₃) : λ_{\max} (ϵ) : 369,7 (13000) ; 158 (60100) nm.

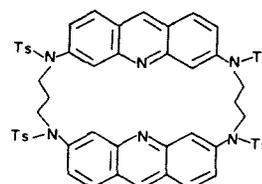
LE MACROCYCLE : $(\text{Pf}(\text{Ts})_2(\text{CH}_2)_2)_2$: 11b :



Ce composé contrairement aux dérivés de la proflavine précipite dans le méthanol, il cristallise dans le mélange méthanol/AcOEt/éther éthylique 5/10/5.

Ces propriétés spectrales sont décrite page 151 .

Réaction de condensation entre la Ts-Pf-Ts 11
et Br-C₃-Ts-Pf-Ts-C₃-Br 11a :
Obtention du macrocycle 11b :



On dissout la proflavine ditosylée 11 (0,14 g, 0,3 mmol) et la proflavine ditosylée dialkylée 11a (0,2 g, 0,27 mmol) dans la DMF (30 cm³) en présence de K₂CO₃ (0,2 g, 1,4 mmol), et on laisse sous agitation à la température de 60°C pendant 6 heures. On filtre la solution et on évapore le solvant.

Le composé $(\text{Pf}(\text{Ts})_2(\text{CH}_2)_3)_2$ 11b est purifié par chromatographie sur colonne de silice, il est élué par un mélange AcOEt/CH₂Cl₂ 1/10.

Le rendement est de 54 % (0,16 g).

A la température ambiante, et après 30 h de réaction entre les dérivés 11 (0,21 g, 0,4 mmol) et 11a (0,25 g, 0,33 mmol) dans la DMF (30 cm³) en présence de K₂CO₃ (0,22 g, 1,6 mmol), le même macrocycle 11b est obtenu avec un rendement de 49 % (0,14 g).

F > 260°C.

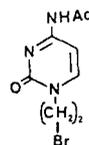
IR (KBr) : 1615, 1600, 1550, 1480, 1450, 1350, 1160, 1090, 810 cm^{-1} .

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) δ ppm = 8,61 (2H, s, C₉H) ; 7,75 (4H, d, J=9Hz, C₁H et C₈H) ; 7,34 (16H, s large, TsH) ; 7,08 (4H, s large, C₄H et C₅H) ; 7,00 (4H, d, J=8,98Hz, C₂H et C₇H) ; 3,69 (8H, m, CH₂-N) ; 2,32 (12H, s, TsCH₃) ; 1,63 (4H, m, CH₂-CH₂-CH₂).

Analyse : C₆₀H₅₄N₆O₈S₄ · H₂O
calc. % : C : 63,58 H : 4,98 N : 7,41
tr. % : 63,3 5,0 7,4

UV (CHCl₃) : λ_{max} (ϵ) : 367,1 (22400) ; 251 (143600) nm.

(N-ACETYL, (BROMO-3 PROPYL)-1) CYTOSINE 40 :



La N-acétylcytosine 38 (3 g, 19,6 mmol) et le 1,1,1,3,3,3-héxaméthyl disilazane (HMDS) (10 cm^3) en présence d'une quantité catalytique de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sont chauffés à reflux pendant une heure. On évapore l'HMDS sous pression réduite, puis on ajoute directement (sans isoler le produit) le dibromo-1,3 propane (20 cm^3) et on laisse sous agitation à température ambiante pendant 7 jours.

Le produit de la réaction est mélangé avec 200 cm^3 d'eau dans une ampoule à brome, puis on sépare la phase organique. La N-acétyl cytosine-C₃-Br 40 est extraite de la phase aqueuse par le chloroforme (6 fois), puis les fractions chloroformiques sont évaporées, et le produit 40 est précipité par l'éther éthylique.

Le rendement est de 30 % (1,608 g).

F = 139-140°C ; Litt (70) = 139-142°C.

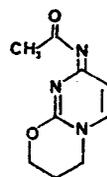
IR (KBr) : 3340, 3160, 3000, 2960, 1710, 1650, 1550, 1500, 1430, 1420, 1370, 1310, 1280, 1240, 1000, 850, 800, 790, 760, 670, 605 cm^{-1} .

SM (impact électronique) $M = 274$; m/e : 275 (24,6, $(M^+ + 1) Br^{81}$) ; 273 (24,1, $(M^+ - 1) Br^{79}$) ; 260 (54,2, $(M^+ + 1) - CH_3$) ; 258 (55,5, $(M^+ - 1) - CH_3$) ; 194 (42,1, $M^+ - Br$) ; 180 (16,1, $M^+ - CH_2 - Br$).

UV (éthanol) : λ_{max} (ϵ) : 299,8 (6650) ; 246 (14450) nm.

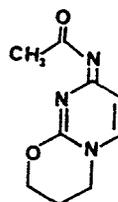
ESSAIS DE CONDENSATION ENTRE LA PROFLAVINE MONOACÉTYLÉE,
MONOTOSYLÉE 32 ET LA (N-ACÉTYL, (BROMO-3 PROPYL)-1)
CYTOSINE 40 :

1. Dans la DMF en présence de K_2CO_3 :



La (N-acétyl, (bromo-3 propyl)-1)cytosine 40 (0,05 g, 0,2 mmol) et l'Ac-Pf-Ts 32 (0,08 g, 0,2 mmol) sont agités à froid dans la DMF (5 cm³) en présence de K_2CO_3 (0,05 g, 0,4 mmol). La réaction ne donne aucun produit de condensation. Par chromatographie sur plaque de silice on observe : la disparition du produit 40 et formation d'un produit plus polaire ; le produit 32 reste inchangé. Le même traitement a été fait à 60°C, ces conditions ont abouti à une cyclisation intramoléculaire plus rapide du produit 40.

SM (impact électronique) $M = 193$; m/e : 193 (1,9, M^+), 178 (0,4, $M^+ - CH_3$) ; 151 (1,2, $M^+ - CH_2CO$).



2. Dans le mélange DMSO/ K_2CO_3 :

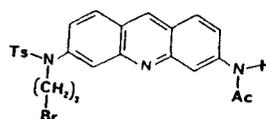
L'agitation à froid des composés 40 (0,05 g, 0,2 mmol) et 32 (0,08 g, 0,2 mmol) dans le DMSO en présence de K_2CO_3 à la température ambiante conduit également à une cyclisation intramoléculaire comme le montre le spectre de masse par l'apparition de l'ion moléculaire à $m/e = 193$.

3. Dans l'acétone en présence de K_2CO_3 :

Dans ce cas aussi la cyclisation intramoléculaire se produit, et cela quel que soit la température utilisée.

(N-ACETYL, N'-(BROMO-3 PROPYL), N-TOSYL)

DIAMINO-3,6 ACRIDINE : Ac-Pf-Ts-C₃-Br: 32a :



A un mélange du dérivé 32 (0,86 g ; 2,1 mmol) et de dibromo-1,3 propane (1,5 g, 7,4 mmol) dans la DMF anhydre (40 cm³), on ajoute du K_2CO_3 (1,53 g, 11,1 mmol). La suspension est agitée pendant 10 heures à température ambiante sous atmosphère d'azote. Après filtration et évaporation sous pression réduite, on obtient un résidu jaune qui est mis en suspension dans un mélange éthanol absolu - acétate d'éthyle 1/10. Le K_2CO_3 insoluble est filtré et le filtrat est concentré sous pression réduite puis versé dans un grand volume d'éther. Le produit Ac-Pf-Ts-C₃-Br 32a précipite. On réalise une purification grossière de façon à retenir les impuretés les plus polaires : par chromatographie sur colonne de silice, le dérivé 32a est élué par l'acétate d'éthyle. Après évaporation et précipitation par une solution d'éther éthylique - éther de pétrole 2/8, le produit 32a est recueilli sous forme d'une poudre jaune avec un rendement de 70 % (0,78 g).

F = 193-194°C.

IR (KBr) : 3380, 3295, 1680, 1620, 1560, 1535, 1445, 1335, 1285, 1245, 1220, 1150, 1080, 940, 895, 860, 800, 770, 705, 660 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,38 (1H, s, NHCOCH₃) ; 8,95 (1H, s, C₉H) ; 8,53 (1H, s large, C₄H) ; 8,50-7,30 (9H, m, TsH, C₁H, C₂H, C₅H, C₇H et C₈H) ; 4,25-3,00 (4H, m, NCH₂ et CH₂Br) ; 2,35 (3H, s, TsCH₃) ; 2,20 (3H, s, COCH₃) ; 2,00 (2H, m, CH₂-CH₂-CH₂).

Analyse : $C_{25}H_{24}N_3O_3SBr$

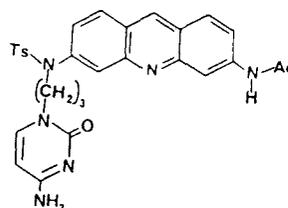
calc. % : C : 57,04 H : 4,59 N : 7,98 Br : 15,18

tr. % : 57,0 4,6 8,0 15,2

UV (éthanol) : λ_{max} (ϵ) : 371,2 (11200) ; 274,2 (68000) ; 237,8 (33400) nm.

(N-ACETYL, N'-(CYTOSYL-1)-3 PROPYL), N'-TOSYL)

DIAMINO-3,6 ACRIDINE : 42 :



Une suspension de cytosine (0,58 g, 5,2 mmol) dans de l'hexaméthyl disilazane (HMDS, 10 cm³) est chauffée à reflux en présence d'une quantité catalytique de sulfate d'ammonium (0,05 g). Au bout d'une heure, la cytosine est entièrement solubilisée. On refroidit la solution à température ambiante et on évapore sous pression réduite. On obtient un résidu blanc huileux auquel on ajoute du sulfolane anhydre (8 cm³) puis le dérivé 32a (1,5 g, 2,9 mmol). La solution est chauffée à 80°C sous atmosphère d'azote en présence de tamis moléculaire (4Å). Après 48 heures, le mélange réactionnel est refroidi, dilué avec de l'éthanol (5 cm³) puis versé sous forte agitation dans un grand volume d'eau distillée. La suspension est placée une nuit à 4°C. Après filtration, lavage à l'eau puis séchage, on obtient 1,5 g de solide jaune qui est chromatographié sur colonne de silice et élué par un mélange éthanol absolu - acétate d'éthyle 1/1. Le rendement en produit pur est de 61 % (0,98 g).

F = 138-142°C (décomposition).

IR (KBr) : 1645, 1570, 1485, 1450, 1335, 1190, 1160, 1085, 955, 785, 705 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,40 (1H, s, PfnHCOCH₃) ; 9,0 (1H, s, Pfc₉H) ; 8,50-7,20 (11H, m, Pfc₁H, C₂H, C₄H, C₅H, C₇H, C₈H, TsH et CytC₅H ou CytC₆H) ; 6,95 (2H, s large, CytNH₂) ; 5,55 (1H, d, J=7Hz, CytC₅H ou CytC₆H) ; 2,35 (3H, s, TsCH₃) ; 2,10 (3H, s, COCH₃).

Analyse : $C_{29}H_{29}N_6O_4S, 3H_2O$

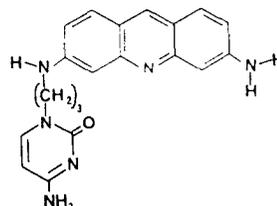
calc. % : C : 56,94 H : 5,76 S : 5,24

tr. % : 56,9 5,3 5,5

UV (éthanol) : λ_{max} (ϵ) : 370 (11350) ; 275 (75500) ; 243 (37800) nm.

N-((CYTOSYL-1)-3 PROPYL) DIAMINO-3,6 ACRIDINE :

Pf-C₃-Cyt : 43 :



On dissout le produit 42 (0,1 g, 0,2 mmol) dans l'acide sulfurique concentré (0,5 cm³). La solution brun rouge obtenue est chauffée à 80°C pendant 3 heures, puis refroidie à température ambiante. Le brut réactionnel est alors versé dans du méthanol (4 cm³) puis précipité avec de l'éther éthylique. La suspension est placée une nuit à -10°C, le précipité jaune orangé est filtré et lavé abondamment avec du méthanol puis de l'éther éthylique. L'analyse surcouche mince de silice (éluant : méthanol - ammoniacque 95/5) et par chromatographie liquide haute performance sur phase inverse (RP 8) révèle l'existence d'un produit unique. Le rendement est de 73 % (0,08 g).

F = 255-259°C.

IR (KBr) : 3205, 1735, 1645, 1600, 1545, 1465, 1415, 1370, 1175, 1075, 805 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 8,75 (1H, s, PfC₉H) ; 8,35-7,70 (5H, m, PfC₈H, C₁H, CytNH₂ et CytC₅H ou CytC₆H) ; 7,05-6,65 (4H, m, PfC₇H, C₅H, C₄H, C₂H) ; 6,00 (1H, d, J=7Hz, CytC₅H ou CytC₆H) ; 3,90 (2H, m, PfCH₂ ou CytCH₂) ; 3,25 (2H, m, PfCH₂ ou CytCH₂) ; 2,00 (2H, m, CH₂).

Analyse : $C_{20}H_{21}N_6O, 2H_2SO_4, 2H_2O$

calc. % : C : 40,46 H : 4,92 N : 14,15

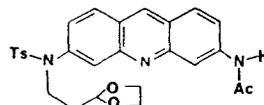
tr. % : 41,0 4,5 13,7

SM (impact électronique) M = 361 ; m/e : 209 (3, M⁺-Cyt(CH₂)₃) ; 111 (7, M⁺-Pf(CH₂)₃).

(ionisation chimique) ; ammoniac ; M = 361 ; m/e : 361 (6, M⁺).

UV (eau pH = 5,5) λ_{max} (ε) : 455 (41200) ; 282 (30100) ; 259 (57300) nm.

(N-ACETYL, N'-(PROPIONALDEHYDE ETHYLENE-ACETAL)
N'-TOSYL)DIAMINO-3,6 ACRIDINE 36 :



La proflavine monoacétylée monotosylée 32 (10 g, 24,6 mmol) est dissoute dans la DMF anhydre (100 cm³) et agitée en présence du bromo-3 propionaldéhyde éthylène-acétal 35 (10 g, 55 mmol) et d'un excès de K₂CO₃ à la température de 80°C.

Après 3 heures, on filtre puis on évapore le filtrat sous pression réduite, on obtient un résidu rouge orange qui est mis en suspension dans un mélange éthanol absolu - acétate d'éthyle 1/10. Le K₂CO₃ insoluble est filtré et le filtrat est concentré sous pression réduite. Une purification grossière du produit 36 qui permet d'éliminer les impuretés les plus polaires, est effectuée par chromatographie sur colonne de silice ; le produit est élué par l'acétate d'éthyle.

On obtient après purification un rendement de 75 % (9,35 g).

F = 149-150°C.

IR (KBr) : 3380, 3280, 3180, 2940, 2880, 1690, 1620, 1570, 1540, 1500, 1450, 1415, 1335, 1290, 1260, 1160, 1110, 1050, 910, 870, 810, 710 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,39 (1H, s, NHCOCH₃) ; 8,94 (1H, s, C₉H) ; 8,53 (1H, s large, C₄H) ; 8,07 (2H, d, J=9,16Hz, C₁H et C₈H) ; 7,69 (1H, s large, C₅H) ; 7,63 (1H, d, large, C₂H) ; 7,42-7,22 (5H, m, C₇H et TsH) ; 4,83 (1H, t, J=4,5 Hz, CH₂-CH(OCH₂)₂) ; 3,75 (2H, m, N-CH₂) ; 3,35 (4H, s, CH(OCH₂)₂) ; 2,34 (3H, s, TsCH₃) ; 2,13 (3H, s, CO-CH₃) ; 1,75 (2H, m, CH₂-CH₂-CH).

Analyse : C₂₇H₂₇N₃O₅, H₂O

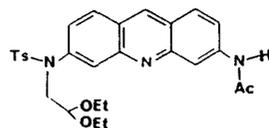
calc. % : C : 61,93 H : 5,58 N : 8,02

tr. % : 61,8 5,6 7,9

SM (impact électronique) M = 505 ; m/e : 350 (3,8, M⁺-Ts) ; 264 (100, M⁺-(Ts+CH-CH(OCH₂)₂)).

UV (éthanol) : λ_{max} (ε) : 371,6 (11600) ; 274 (67600) ; 237,8 (32850)nm.

(N-ACETYL, N'-(ACETALDEHYDE DIETHYL-ACÉTAL), N'-TOSYL)
DIAMINO-3,6 ACRIDINE : 37 :



Une solution de proflavine monoacétylée, monotosylée 32 (4,5 g, 11 mmol) et de bromoacétaldéhyde diéthyl-acétal 35 (6 cm³, 39,8 mmol) dans 20 ml de DMF en présence de K₂CO₃ (4 g, 28,9 mmol) est chauffée à 80°C pendant 4 jours. Après filtration du K₂CO₃, évaporation de la DMF et précipitation par le mélange éther éthylique / éther de pétrole 2/8 on obtient 5,5 g (96 %) d'un mélange que l'on sépare sur colonne de silice ; par élution avec de l'acétate d'éthyle, on obtient 3,3 g (57 %) de produit pur 37.

F = 115°C (décomp.).

IR (KBr) : 3460, 3320, 2980, 2890, 1685, 1700, 1680, 1620, 1570, 1540, 1450, 1340, 1290, 1250, 1155, 1090, 1050, 885, 810, 730, 660 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,37 (1H, s, NHCOCH₃) ; 8,92 (1H, s, C₉H) ; 8,5 (1H, s, large, C₄H) ; 8,05 (2H, d large, C₁H et C₈H) ; 7,70-7,23 (3H, m, C₂H, C₅H et C₇H) ; 4,53 (1H, t, CH(OEt)₂) ; 3,78 (2H, m, CH₂-N) ; 3,41 (4H, m, O-CH₂-CH₃) ; 2,33 (3H, s, TsCH₃) ; 2,12 (3H, s, COCH₃) ; 0,92 (6H, t, CH₂-CH₃).

Analyse : C₂₈H₃₁N₃O₅S, H₂O

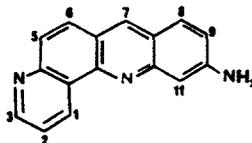
calc. % : C : 62,32 H : 6,16 N : 7,79

tr. % : 62,0 5,9 7,3

SM (impact électronique) M = 521 ; m/e : 476 (0,7, M⁺-3CH₃), 366 (3,4, M⁺-Ts), 292 (7,2, M⁺-(Ts+CH₃CH₂O + CH₃-CH₂)).

UV (éthanol) λ_{max} (ε) : 371,8 (11100) ; 273,8 (66150) ; 237,8 (32600) nm.

FORMATION DE L'AMINO-10 BENZO (b)
PHENANTHROLINE-1,7 : 31 :



1. Dans l'acide trifluoroacétique en présence d'anhydride trifluoroacétique :

A 5 cm³ d'une solution de 30 % (v/v) d'anhydride trifluoroacétique dans l'acide trifluoroacétique, on ajoute l'acétal 36 (0,1 g, 0,2 mmol). La solution est chauffée à 50°C pendant 10 heures. On ajoute ensuite 3 cm³ d'acide sulfurique concentré et on continue de chauffer à 50°C pendant 2 heures. Une extraction par le chlorure de méthylène suivie d'une purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant : acétate d'éthyle) fournit l' amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 31 avec un rendement de 30 % en produit pur.

(Caractérisation voir page 159).

2. Dans l'acide sulfurique concentré :

Une solution d'acétal 36 (0,95 g, 3,87 mmol) et d'acide sulfurique concentré (10 cm³) est agitée à 5°C jusqu'à dissolution complète, puis elle est portée à 75°C pendant 1 heure 30. La réaction est suivie par chromatographie sur plaque de silice. La solution est alcalinisée avec l'ammoniaque et extraite plusieurs fois avec du chlorure de méthylène. La phase organique est lavée à l'eau, séchée et évaporée.

Le résidu est chromatographié sur colonne de silice et le produit est élué avec de l'acétate d'éthyle.

Après évaporation et précipitation par un mélange d'éther éthylique / éther de pétrole 2/8. Ce produit 31 est obtenu sous forme pure avec un rendement de 39 % (0,18 g).

F = 240°C (décomp.).

IR (KBr) : 3440, 3320, 3180, 1640, 1600, 1500, 1450, 1420, 1370, 1300, 1250, 1160, 1010, 940, 880, 810, 740, 650 cm^{-1} .

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm = 9,49 (1H, dd, $J=8,25\text{Hz}$, $J=1,83\text{Hz}$, C_{1H}) ; 8,95 (1H, dd, $J=4,4\text{Hz}$, $J=1,83\text{Hz}$, C_{3H}) ; 8,69 (1H, s, C_{7H}) ; 8,04 (1H, d, $J=9,34\text{Hz}$, C_{5H}) ; 7,85 (1H, d, $J=8,8\text{Hz}$, C_{8H}) ; 7,68 (1H, dd, $J=8,25\text{Hz}$ et $J=4,4\text{Hz}$, C_{2H}) ; 7,68 (1H, d, $J=9,34\text{Hz}$, C_{6H}) ; 7,14 (1H, dd, $J=8,8\text{Hz}$, $J=2,2\text{Hz}$, C_{9H}) ; 7,12 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$, C_{11H}) ; 6,15 (2H, s, NH_2).

analyse : $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{N}_3$

calc. % : C : 78,35 H : 4,52 N : 17,13

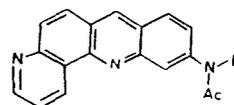
tr. % : 77,7 4,5 16,5

SM (impact électronique) $M = 245$, m/e : 245 (100, M^+) ; 218 (13,3, $M^+ - \text{HCN}$) ; 191 (3,4, $M^+ - 2\text{HCN}$) ; 164 (0,8, $M^+ - 3\text{HCN}$).

UV (éthanol) : λ_{max} (ϵ) : 422,6 (6500) ; 362 (7500) ; 317,2 (25850) ; 270 (44200) ; 242 (24350) nm.

3. Par réaction entre la AcPf 14 et le diacétal de l'aldéhyde malonique, suivie d'une hydrolyse de l'acétamide obtenu : 14b :

a) Synthèse du N-acétylamino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 14b :



Une solution de proflavine monoacétylée 14 (1 g, 4 mmol) et d'acide acétique (40 cm^3) est portée à reflux. On ajoute goutte à goutte le tétraméthoxy-1,1,3,3 propane (10 cm^3) et on laisse à reflux pendant 2 heures. On ajoute ensuite 5 cm^3 de tétraméthoxy-1,1,3,3 propane. La solution est laissée à reflux pendant 14 heures. Elle est concentrée sous pression réduite, puis alcalinisée par une solution saturée de K_2CO_3 et évaporée.

Le N-acétylamino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 14b est séparée par chromatographie du résidu sur alumine avec de l'acétalite d'éthyle.

Le meilleur rendement obtenu est de 10 % (0,120 g).

F = 230°C (décomp.).

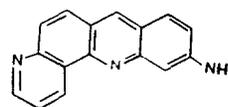
IR (KBr) : 3440, 3260, 3060, 1670, 1590, 1490, 1465, 1430, 1370, 1300, 1280, 1150, 1010, 900, 880, 820, 800, 780 cm^{-1} .

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm = 10,42 (1H, s, NHCO) ; 9,56 (1H, d large, $J=8,24$ Hz, C_1H) ; 8,97 (1H, m, C_3H) ; 8,94 (1H, s, C_7H) ; 8,74 (1H, s large, C_{11}H) ; 8,14 (1H, d, $J=9$ Hz, C_5H) ; 7,89-7,63 (4H, m, C_2H , C_6H , C_8H , et C_9H) ; 2,15 (3H, s, COCH_3).

SM (impact électronique) M = 287 ; m/e : 287 (43,2, M^+) ; 245 (100, $\text{M}^+-(\text{CH}_3 + \text{HCN})$) ; 218 (22,4 - $\text{M}^+ - (\text{CH}_3+2\text{HCN})$), 191 (7,7, $\text{M}^+-(\text{CH}_3+3\text{HCN})$), 163 (2,8, $\text{M}^+-(\text{CH}_3+3\text{HCN}+\text{CO})$).

UV (étanol) : λ_{max} (ϵ) : 393 (6600) ; 373 (6900) ; 311,6 (41850) ; 299,4 (33850) ; 268 (53300) nm.

b) Hydrolyse acide du dérivé 14b :
Obtention de l' amino-10 benzo (b)
phénanthroline-1,7 : 31 :



La N-acétylamino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 14b (0,3 g, 1 mmol) est dissoute dans 10 cm^3 d'acide chlorhydrique 2N. On chauffe la solution sous agitation pendant 3 heures à 80°C.

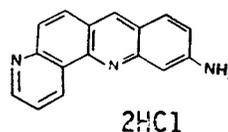
La solution est alcalinisée avec de l'ammoniaque, puis extraite 3 fois avec du chlorure de méthylène. La phase organique est lavée plusieurs fois à l'eau, séchée et concentrée.

L' amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 est précipitée par un mélange d'éther éthylique - éther de pétrole 2/8.

Le rendement obtenu est de 82 % (0,21 g).

(Propriétés spectrales voir page 159).

FORMATION DU CHLORHYDRATE D'AMINO-10 BENZO (b)
PHENANTHROLINE-1,7 31a :



L' amino-10 benzo (b) phénanthroline (0,4 g, 1,6 mmol) est dissoute dans 100 cm³ d'un mélange de méthanol - acétone 10/5. On ajoute ensuite un large excès d'acide chlorhydrique gazeux, et on laisse sous agitation pendant 30 minutes. Le sel est précipité par un grand volume d'éther éthylique. Il est filtré, lavé abondamment avec de l'acétone puis de l'éther éthylique, puis séché et pesé. On isole 0,498 g (1,56 mmol) de sel d' amino-10 benzo(b) phénanthroline-1,7 31a ce qui correspond à la neutralisation des deux atomes d'azote intracyclique : ceci a été confirmé aussi par spectroscopie UV.

Le chlorhydrate d' amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 cristallise dans l'eau sous forme de cristaux rouges.

F = 228-230°C.

RMN (60 M z, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,17 (1H, d large, J=8,06 Hz , C₁H) ; 9,16 (1H, s, C₇H) ; 9,13 (1H, d large, C₃H) ; 8,23 (1H, d, J=9,16Hz, C₅H) ; 8,09-7,74 (3H, m, C₂H, C₆H et C₈H) ; 7,61 (1H, d, J=2,02Hz, C₁₁H) ; 7,28 (1H, dd, J=8,98Hz, J=2,02Hz, C₉H).

Analyse : C₁₆H₁₁N₃, 2HCl, 1,5 H₂O

calc. % : C : 55,67 H : 4,67 N : 12,17 Cl : 20,54

tr. % : 55,9 4,6 11,8 20,7

UV (éthanol) : λ_{\max} (ϵ) : 467,4 (7950) ; 318,6 (27650) ; 272,6 (29700) ; 244,6 (24750) nm.

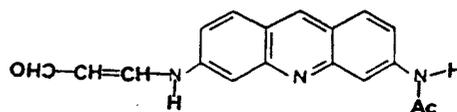
DETERMINATION DE pKa DE L'AMINO-10 BENZO (b)

PHENANTHROLINE-1,7 31 par pH METRIE :

Le chlorhydrate de l'amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 (0,02 g) est dissous dans le mélange éthanol-eau (50/50), puis titré par pH métrie avec de la soude 0,01N. Nous avons choisi le solvant mixte éthanol-eau (50/50) car le monochlorhydrate et la base libre du dérivé 31 sont peu soluble en milieu aqueux pur.

(pH mètre Tacussel Ts 70/N, électrode de verre et électrode au chlorure mercurique).

ISOLEMENT DE L'INTERMEDIAIRE : (N-ACETYL, N-(FORMYL-2 VINYL))DIAMINO-3,6 ACRIDINE 14a :



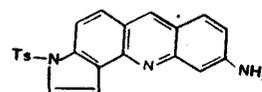
La proflavine monoacétylée 14 (0,5 g, 2 mmol) et l'acide acétique (20 cm³) sont portés à reflux. On ajoute goutte à goutte du tétraméthoxy-1,1,3,3 propane (5 cm³) et on laisse à reflux pendant 1 heure.

La solution est alcalinisée avec le Na₂CO₃ et extraite plusieurs fois par le chlorure de méthylène. La phase organique est lavée à l'eau, séchée et évaporée. Le résidu est chromatographié sur colonne d'alumine : 14a est élué par un mélange d'éthanol absolu - acétate d'éthyle 2/8.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 10,44 (1H, m, NH-CH_a) ; 10,33 (1H, s, NHCO) ; 9,32 (1H, d, J=8,98Hz, H_c) ; 9,24 (1H, s, C₉H) ; 8,41 (1H, s, C₄H) ; 8,30 (1H, m, H_a) ; 7,58 (1H, d, J=9,34Hz, C₈H) ; 7,50 (1H, d, J=9,16Hz, C₁H) ; 7,64-7,35 (3H, m, C₂H, C₅H et C₇H) ; 5,67 (1H, dd, J=8,98Hz, J=12,46Hz, H_b) ; 2,13 (3H, s, COCH₃).

SM (impact électronique) M = 305 ; m/e : 305 (1,7, M⁺) ; 276 (2, M⁺-CHO) ; 262 (1, M⁺-COCH₃).

CYCLISATION DE L'ACÉTAL 37, OBTENTION DU TOSYL-3
PYRROLO (2,3-c)AMINO-9 ACRIDINE : 37a :



1. Dans le mélange acide trifluoroacétique - anhydride trifluoroacétique :

A 5 cm³ d'une solution de 30 % (v/v) d'anhydride trifluoroacétique dans l'acide trifluoroacétique, on ajoute l'acétal 37 (0,2 g, 0,38 mmol) et on porte à reflux pendant 24 heures. On évapore le solvant, puis on ajoute 10 cm³ de méthanol saturé en acide chlorhydrique gazeux et on chauffe à 60°C pendant 2 heures. La solution est concentrée et le résidu dissous dans l'eau est extrait par du chlorure de méthylène, on alcalinise par l'ammoniaque. Le produit attendu 37a est obtenu avec un rendement de 30 % (0,044 g) après purification par chromatographie sur colonne de silice en utilisant comme éluant le mélange : acétate d'éthyle - chlorure de méthylène - éthanol absolu 8/2/0,6.

F = 257-260°C.

IR (KBr) : 3450, 1640, 1610, 1520, 1480, 1440, 1380, 1275, 1210, 1190, 1160, 1130, 1090, 910 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 8,67 (1H, s, C₆H) ; 7,95-7,70 (7H, m, C₄H, C₅H, C₇H et TsH) ; 7,46-7,27 (2H, m, C₁H et C₂H) ; 7,04 (1H, d large, C₈H) ; 6,97 (1H, s large, C₁₀H) ; 6,07 (2H, s, NH₂) ; 2,24 (3H, s, TsCH₃).

SM (impact électronique) M = 387, m/e : 387 (17,2, M⁺) ; 232 (100, M⁺, Ts) ; 205 (12,2 - (Ts-25)).

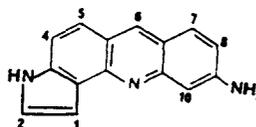
UV (éthanol) : λ_{max} (ε) : 423 (10650) ; 363,6 (8450) ; 278,4 (72800) ; 227,6 (29250) nm.

2. Dans le mélange : chlorure de méthylène - acide méthane sulfonique :

A une solution de l'acétal 37 (1,035 g, 1,98 mmol) dans 10 cm³ de chlorure de méthylène, on ajoute 20 cm³ d'un mélange d'acide méthane sulfonique - chlorure de méthylène 1/10. La solution est chauffée à 55°C pendant 4 jours. La solution est alcalinisée avec de l'ammoniac et extraite plusieurs fois par le chlorure de méthylène.

Après purification par passage sur une colonne de silice (éluant : mélange AcOEt - CH₂Cl₂ - EtOH absolu (2/8/0,6) le produit 37a est obtenu avec un rendement de 39 % (0,304 g) constantes spectroscopiques : voir page 163.

HYDROLYSE DU GROUPE TOSYLE : OBTENTION DU
3H-PYRROLO (2,3-c) AMINO-9 ACRIDINE : 37b :



On dissout le dérivé 37a (0,125 g, 0,3 mmol) dans la DMF (15 cm³) contenant KOH (0,5 g, 8,9 mmol) et de l'eau (3 cm³). La solution est laissée sous agitation pendant 5 heures à la température de 70°C. On évapore le solvant sous pression réduite, on extrait par du chlorure de méthylène ; la phase organique est lavée à l'eau, séchée et évaporée. Après passage sur une colonne d'alumine (élution : acétate d'éthyle - éthanol absolu 8/2), le produit détosylé 37b est obtenu avec un rendement de 73 % (0,055 g).

F = 200°C (décomp.).

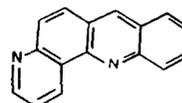
IR (KBr) : 3400, 3240, 1650, 1610, 1370, 1170, 1040, 1010, 900, 740 cm⁻¹.

RMN (400 MHz, DMSO-d₆) : ppm 12,23 (1H, s large, NH) ; 9,05 (1H, s, C₆H) ; 7,94 (1H, d, J=9,4Hz, C₇H) ; 7,70 (1H, d, J=8,9Hz, C₄H ou C₅H) ; 7,63 (1H, d, J=8,9Hz, C₄H ou C₅H) ; 7,51 (1H, d, J=3,1Hz, C₁H ou C₂H) ; 7,44 (1H, d, J=3,1Hz, C₁H ou C₂H) ; 7,12 (1H, dd, J=9,4Hz, J=1,9Hz, C₈H) ; 7,10 (1H, s, C₁₀H) ; 7,31-7,22 (2H, m, NH₂).

SM (impact électronique) M = 233, m/e : 233 (54,1, M⁺) ; 206 (4,1, M⁺-27) ; 205 (4,1, M⁺-28).

UV (éthanol) : λ_{\max} (ϵ) : 449,6 (1010) ; 403,2 (11500) ; 196,4 (37700) ; 234,6 (32100) nm.

DESAMINATION DU DERIVE 31, OBTENTION DE LA
BENZO (b) PHENANTHROLINE-1,7 : 34 :



1. Par le nitrite de sodium en présence d'acide chlorhydrique aqueux :

L' amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 31 (0,144 g, 0,58 mmol) est dissoute dans 15 cm³ d'acide chlorhydrique 1N, la solution est laissée sous agitation dans un bain de glace pendant 15 minutes. On ajoute ensuite goutte à goutte une solution de NaNO₂ (0,05 g, 0,72 mmol) dans l'acide chlorhydrique 1N (5 cm³). Après 10 minutes de réaction, on ajoute l'acide hypophosphoreux (0,5 cm³, 6 mmol) et on laisse sous agitation pendant 20 heures à la température ambiante. La solution est alcalinisée avec de l'ammoniaque, puis extraite trois fois avec du chlorure de méthylène. La phase organique est lavée plusieurs fois à l'eau, puis séchée.

Après purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant acétate d'éthyle), la benzo (b) phénanthroline-1,7 34 est précipitée par le mélange éther éthylique - éther de pétrole.

Le rendement obtenu est de 40 % (0,055 g).

F = 128-130°C.

IR (KBr) : 1700, 1570, 1480, 1290, 1100, 1020, 920, 830, 790, 750 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 9,58 (1H, dd, J=8Hz, J=1,65, C₁H) ; 9,07 (1H, s, C₇H) ; 9,03 (1H, dd, J=4,6Hz, J=1,65Hz, C₃H) ; 8,35-4,65 (7H, m, C₂H, C₅H, C₆H, C₈H, C₉H, C₁₀H et C₁₀H).

SM (impact électronique) M = 230, m/e : 230 (100, M⁺) ; 203 (31,5, M⁺-27) ; 177 (5,9, M⁺-53) ; 150 (3,9, M⁺-80).

UV (éthanol) : λ_{\max} (ϵ) : 374,6 (1700), 300 (35100) ; 248,7 (40900) nm.

2. Par le nitrite de n-pentyle dans le tétrahydrofurane :

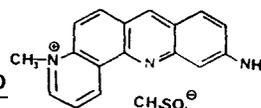
On dissout l' amino-10-benzo (b) phénanthroline-1,7 31 (0,1 g, 0,4 mmol) dans le tétrahydrofurane (15 cm³). On ajoute ensuite goutte à goutte le nitrite de n-pentyle (1 cm³, 7,4 mmol) dans 5 cm³ de tétrahydrofurane. On laisse à reflux pendant 5 heures, on évapore ensuite le solvant, puis on purifie par chromatographie sur colonne de silice en utilisant l'acétate d'éthyle comme éluant.

Le rendement de la réaction est très faible (inférieur à 10 %).

(Propriétés spectrales : voir page 165).

QUATERNISATION DU DERIVE 31 : OBTENTION DU METHYL

SULFATE DE METHYL-4 AMINO-10 BENZO(b)PHENANTHROLINIUM-1,7 : 31b



1. Par le sulfate de méthyle dans le benzène :

Le dérivé 31 (0,2 g, 0,8 mmol) est dissout à chaud dans le benzène (100 cm³), on laisse la solution revenir à température ambiante puis on ajoute un excès de (CH₃)₂SO₄ (0,5 cm³, 5,2 mmol). Après 30 heures de réaction à la température ambiante ; on filtre le précipité obtenu. La purification est réalisée par chromatographie sur colonne d'alumine, le produit désiré 31b est élué avec du méthanol. On obtient 85 % de rendement avant cristallisation, et 56 % (0,175 g) après plusieurs cristallisations dans le méthanol.

F = 250°C (décomp.).

IR (KBr) : 3420, 3340, 3220, 1620, 1580, 1480, 1405, 1325, 1300, 1240, 1220, 1050, 1000, 910, 840, 810, 775, 750 cm^{-1} .

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm = 9,88 (1H, d large, $J=8,06\text{Hz}$, $\text{C}_{1\text{H}}$); 9,30 (1H, d large, $\text{C}_{3\text{H}}$); 8,64 (1H, s, $\text{C}_{7\text{H}}$); 8,35 (1H, d, $J=9,34\text{Hz}$, $\text{C}_{5\text{H}}$); 8,21-7,73 (3H, m, $\text{C}_{8\text{H}}$, $\text{C}_{2\text{H}}$ et $\text{C}_{6\text{H}}$); 7,14 (1H, dd, $J=8,8\text{Hz}$, $J=2\text{Hz}$, $\text{C}_{9\text{H}}$); 6,81 (1H, d, $J=2\text{Hz}$, $\text{C}_{11\text{H}}$); 6,50 (2H, s, NH_2); 4,54 (3H, s, NCH_3); 3,39 (3H, s, SO_4CH_3).

Analyse : $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{SO}_4$

calc. % : C : 58,21 H : 4,61 N : 11,31

tr. % : 57,8 4,7 10,8

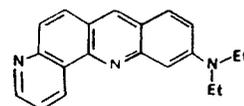
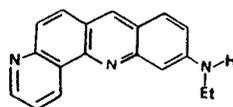
SM (impact électronique) $M = 260$; m/e : 245 (100, M^+-15) ; 218 (19,1, M^+-42) ; 191 (6,5, M^+-69) ; 164 (1,6, M^+-96).

UV (éthanol) : λ_{max} (ϵ) : 450,6 (14700) ; 331,2 (16050) ; 278,2 (51400) ; 225,6 (31050) nm.

2. Par l'iodure de méthyle dans la diméthyle formamide :

Le traitement de l'amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 31 par un léger excès de CH_3I dans la DMF pendant 18 heures à la température ambiante montre en CLHP la formation de plusieurs produits difficilement séparables.

ESSAIS D'ALKYLATION DE L'AMINO-10 BENZO (b)
PHENANTHROLINE-1,7 31 PAR LE BROMURE D'ETHYLE :



On dissout l'amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 31 (0,13 g, 0,5 mmol) dans la DMF (5 cm^3). On ajoute un excès de bromure d'éthyle. On chauffe

à 80°C pendant 24 h en suivant la réaction par chromatographie sur couche mince, prenant avantage de l'intense fluorescence en lumière UV et de la polarité des dérivés de l'amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7. On observe la formation de plusieurs produits :

a) Un produit très polaire de fluorescence rouge à 365 nm caractéristique de la quaternisation des amino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 31.

b) Deux autres produits beaucoup moins polaires difficilement séparables : l'éthylamino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 45a (fluorescence verte à 365 nm) et le diéthylamino-10 benzo (b) phénanthroline-1,7 45b (fluorescence jaune à 365 nm). On les caractérise par la spectrométrie de masse dans le mélange.

SM (impact électronique) M_1 (45b) = 301 et M_2 (45a) 273 ; m/e : 301 (28,8, M_1^+) ; 286 (48,5, $M_1^+-CH_3$) ; m/e : 273 (59,4, M_1^+) ; 258 (100, $M_2^+-CH_3$).

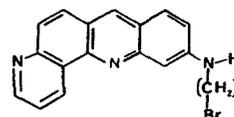
Par chromatographie sur plaque préparative de silice (éluant : AcOEt-CH₂Cl₂-EtOH absolu 8/2/0,6), une petite quantité du produit monoéthylé a été isolée et caractérisée.

IR (KBr) : 3170, 2940, 1660, 1600, 1460, 1380, 1250, 1090, 900, 800 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 9,52 (1H, dd, J=8,06Hz, J=1,83Hz, C₁H) ; 8,96 (1H, dd, J=4,58Hz, J=1,83Hz, C₃H) ; 8,67 (1H, s, C₇H) ; 8,04 (1H, d, J=9,16Hz, C₅H) ; 7,92-7,57 (3H, m, C₂H, C₆H et C₈H) ; 7,15 (1H, dd, J=8,98Hz, J=2,2Hz, C₉H) ; 6,92 (1H, d, J=2,2Hz, C₁₁H) ; 6,65 (1H, m, NH-CH₂) ; 3,27 (2H, m, CH₂-NH) ; 1,25 (3H, t, J=7Hz, CH₃-CH₂).

SM (impact électronique) M = 273 ; m/e : 273 (74,8, M⁺) ; 258 (100, M⁺-CH₃).

(BROMO-3 PROPYL)AMINO-10 BENZO (b) PHENANTHROLINE-1,7 : 44 :



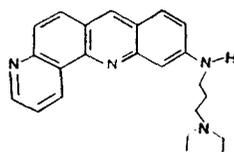
On chauffe pendant 1 heure à 80°C de l'Ac-Pf-Ts-C₃-Br 32a (0,3 g, 0,6 mmol), du glycérol (0,2 g, 2,2 mmol), et de l'acide sulfurique concentré (2 cm³, 36 mmol).

Après alcalinisation par l'ammoniaque, on extrait plusieurs fois avec le chlorure de méthylène. Les extraits chlorométhyléniques sont rassemblés, séchés et évaporés. Le produit désiré 44 est obtenu avec un rendement de 27 % (0,056 g) après purification par chromatographie sur colonne de silice en utilisant l'acétate d'éthyle comme éluant (le produit est isolé sous forme semi-solide, qui n'a pu être cristallisé). Il est caractérisé par son spectre IR et RMN.

IR (KBr) : 3200, 1640, 1600, 1440, 1390, 1260, 1100, 1020, 800, 700 cm⁻¹.

RMN (60 MHz, DMSO-d₆) : δ ppm = 9,57 (1H, dd, J=8,06Hz, J=1,83Hz, C₁H) ; 8,95 (1H, dd, J=4,58Hz, J=1,83, C₃H) ; 8,62 (1H, s, C₇H) ; 8,03 (1H, d, J=9,16Hz, C₅H) ; 7,91-7,61 (3H, m, C₂H, C₆H et C₈H) ; 7,15 (1H, dd, J=8,98Hz, J=2,2Hz, C₉H) ; 6,96 (1H, d, J=2Hz, C₁₁H) ; 6,73 (1H, m, NH-CH₂) ; 3,90-3,50 (4H, m, CH₂-Br et CH₂-N) ; 2,01 (2H, m, CH₂-CH₂-CH₂).

((DIETHYLAMINO)-3 PROPYL)AMINO-10
BENZO (b) PHENANTHROLINE-1,7 : 46 :



Le dérivé 44 (0,1 g, 0,3 mmol) est agité dans la DMF (10 cm³) en présence d'un excès de triéthylamine (0,2 cm³, 1,4 mmol) pendant 8 heures à la température de 60°C.

Après évaporation du solvant sous pression réduite, puis purification par chromatographie sur colonne d'alumine en utilisant comme éluant le mélange acétate d'éthyle - méthanol 8/2, le produit attendu 46 est obtenu avec un rendement de 73 % (0,071 g).

IR (KBr) : 3200, 2960, 1630, 1600, 1259, 1020, 800, 700 cm^{-1} .

RMN (60 MHz, DMSO- d_6) : δ ppm = 9,54 (1H, dd, $J=8,06$, $J=1,83\text{Hz}$, $C_1\text{H}$) ; 8,97 (1H, dd, $J=4,58\text{Hz}$, $J=1,83\text{Hz}$, $C_3\text{H}$) ; 8,64 (1H, s, $C_7\text{H}$) ; 8,03 (1H, d, $J=9,16\text{Hz}$, $C_5\text{H}$) ; 7,91-7,57 (3H, m, $C_2\text{H}$, $C_6\text{H}$ et $C_8\text{H}$) ; 7,16 (1H, dd, $J=8,98\text{Hz}$, $J=2,2\text{Hz}$, $C_9\text{H}$) ; 6,95 (1H, d, $J=2\text{Hz}$, $C_{11}\text{H}$) ; 6,73 (1H, m, NH-CH_2) ; 3,42-3,00 (4H, m, $\text{CH}_2\text{-N}$ et $\text{CH}_2\text{-Br}$) ; 2,41 (4H, q, $J=7\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$) ; 1,76 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 0,91 (6H, t, $J=7\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$).

SM (impact électronique) $M = 358$, $m/e : 272$ ($0,2 M^+-(\text{Et})_2\text{N-CH}_2$).

UV (éthanol) : λ_{max} (ϵ) : 429,6 (4900) ; 362,4 (5600) ; 319,6 (15000) ; 175,8 (27400) ; 244,2 (15700) nm.

Tableau 5: Déplacements chimiques RMN ¹H, multiplicité et constantes de couplage des dérivés de la proflavine 1. (spectres enregistrés dans le DMSO-d₆).

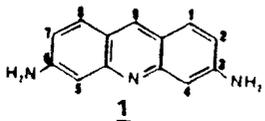
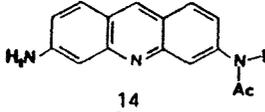
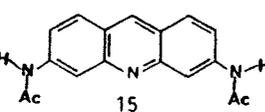
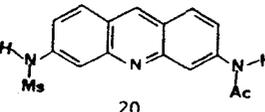
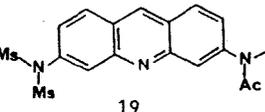
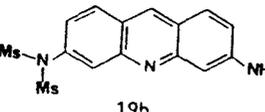
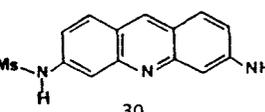
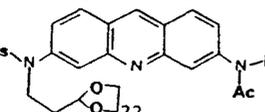
	H ₁	H ₂	H ₄	H ₅	H ₇	H ₈	H ₉
 1	7,63 d 8,3	6,88 dd 8,3/2	6,83 d 2	6,83 d 2	6,88 dd 8,3/2	7,63 d 8,3	8,30 s
 14	7,85 d 9,16	7,41 dd 9,16/1,7	8,28 d 1,7	6,87 d 1,83	6,95 dd 8,8/1,83	7,7 d 8,8	8,49 s
 15	8,05 d 9	7,61 dd 9/1,83	8,50 d 1,83	8,5 d 1,83	7,61 dd 9/1,83	8,05 d 9	8,85 s
 20	8,01 d 9,16	7,60 dd 9,16/2,02	8,45 d 2,02	7,72 m	7,35 dd 9,16/2,02	8,01 d 9,16	8,81 s
 19	8,12 d 9,16	7,69 dd 9,16/2,02	8,59 d 2,02	8,27 d 2,2	7,54 dd 9,16/2,2	8,19 d 9,16	9,04 s
 19b	8,02-7,76 m	7,09 dd 9/1,8	6,92 d 1,8	7,94 s large	7,35 dd 8,61/1,8	8,02-7,76 m	8,72 s
 30	7,75 d 9,16	6,96 dd 9/2,01	6,74 d 2,01	7,43 d 2,01	7,02 dd 9/2,01	7,81 d 9,16	8,61 s
 22	8,20-8,0 m	7,61 dd 8,98/2,2	8,53 d 2,2	8,04 m	7,49 dd 9,16/1,86	8,20-8,0 m	8,95 s

Tableau 5 : (suite)

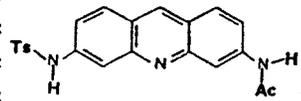
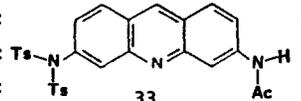
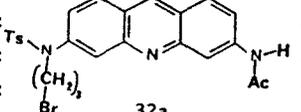
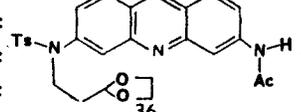
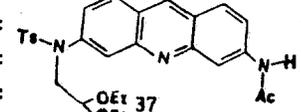
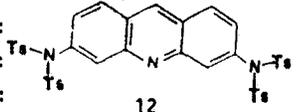
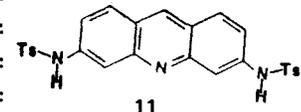
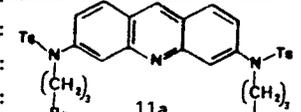
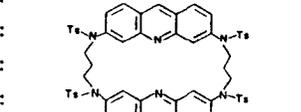
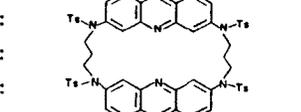
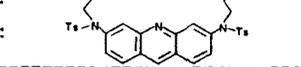
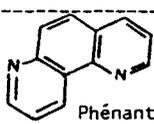
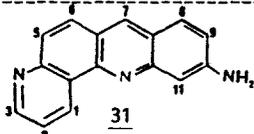
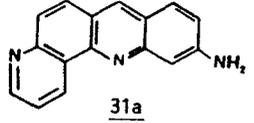
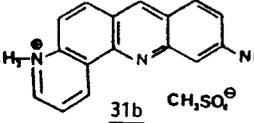
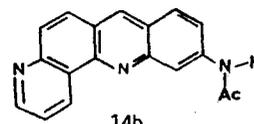
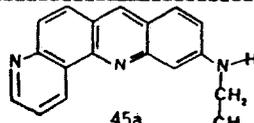
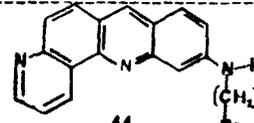
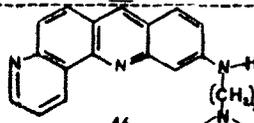
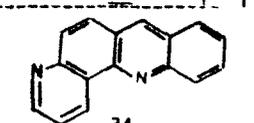
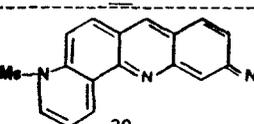
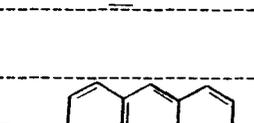
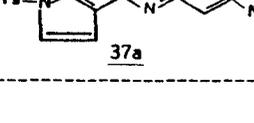
	H ₁	H ₂	H ₄	H ₅	H ₇	H ₈	H ₉
 32	8,05-7,23 m	8,05-7,23 m	8,44 s large	8,05-7,23 m	8,05-7,23 m	8,05-7,23 m	8,76 s
 33	8,12 d	7,81-7,39 m	8,56 s large	7,81-7,39 m	7,81-7,39 m	8,12 d	9,02 s
 32a	8,50-7,30 m	8,50-7,30 m	8,53 s large	8,50-7,30 m	8,50-7,30 m	8,50-7,30 m	8,95 s
 36	8,07 d	7,63 d large	8,53 s large	7,69 s large	7,42-7,22 m	8,07 d	8,94 s
 37	8,05 d large	7,70-7,23 m	8,5 s large	7,70-7,23 m	7,70-7,23 m	8,05 d large	8,92 s
 12	8,24 d	8,0-7,14 m	8,0-7,14 m	8,0-7,14 m	8,0-7,14 m	8,24 d	9,27 s
 11	8,02-7,27 m	8,02-7,27 m	8,02-7,27 m	8,02-7,27 m	8,02-7,27 m	8,02-7,27 m	8,77 s
 11a	8,13 d	7,39 m	7,72 s large	7,72 s large	7,39 m	8,13 d	9,09 s
	9,16					9,16	
	7,75 d	7,04 d	7,08 s large	7,00 d	7,75 d	8,61 s	
	9	8,98		8,98	9		



Tableau 6 : Déplacements chimiques en RMN¹H, multiplicité et constantes de couplage des dérivés de 31 et 37a. (spectres enregistrés dans le DMSO-d₆).

	H ₁	H ₂	H ₃	H ₅	H ₆	H ₇	H ₈	H ₉	H ₁₁
 Phénanthroline-1,7:	9,40	7,51	8,88	7,95	7,73	8,03	7,37	8,88	
	dd	dd	dd	d	d	dd	dd	dd	
	8/2	8/4,5	4,5/2	9	9	8/2	8/4,5	4,4/2	
 31	9,49	7,68	8,95	8,04	7,68	8,69	7,85	7,14	7,12
	dd	dd	dd	d	d	s	d	dd	d
	8,25/1,83	8,25/4,4	4,4/1,83	9,34	9,34		8,8	8,8/2,2	2,2
 31a	10,17	8,09-7,74	9,13	8,23	8,09-7,74	9,16	8,09-7,74	7,28	7,61
	d large	m	d large	d	m	s	m	dd	d
	8,06			9,16				8,98/2,02	2,02
 31b	9,88	8,21-7,73	9,30	8,35	8,21-7,73	8,64	8,21-7,73	7,14	6,81
	d large	m	d large	d	m	s	m	dd	d
	8,06			9,34				8,8/2	2
 14b	9,56	7,87-7,63	8,97	8,14	7,89-7,63	8,94	7,89-7,63	7,89-7,63	8,74
	d large	m	m	d	m	s	m	m	s large
	8,24			9					
 45a	9,52	7,92-7,57	8,96	8,04	7,92-7,57	8,67	7,92-7,57	7,15	6,92
	dd	m	dd	d	m	s	m	dd	d
	8,06/1,83		4,58/1,83	9,16				8,98/2,2	2,2
 44	9,57	7,91-7,61	8,95	8,03	7,91-7,61	8,62	7,91-7,61	7,15	6,96
	dd	m	dd	d	m	s	m	dd	d
	8,06/1,83		4,58/1,83	9,16				8,98/2,2	2
 46	9,54	7,91-7,57	8,97	8,03	7,91-7,57	8,64	7,91-7,57	7,16	6,95
	dd	m	dd	d	m	s	m	dd	d
	8,06/1,83		4,58/1,83	9,16				8,98/2,2	2
 34	9,58	8,35-4,65	9,03	8,35-4,65	8,35-4,65	9,07	8,35-4,65	8,35-4,65	8,35-4,65
	dd	m	dd	m	m	s	m	m	m
	8/1,65		4,6/1,65						
 29	9,57	7,73	9,02	8,17	8,17	9,0	7,83	7,51	8,01
	dd	dd	dd	d	d	s	d	dd	d
	8,24/1,83	8,24/4,58	4,58/1,83	9,34	9,34		9,16	9,16/2,38	2,38
	H ₁	H ₂		H ₄	H ₅	H ₆	7	8	10
 37a	7,46-7,27	7,46-7,27		7,95-7,70	7,95-7,70	8,67	7,95-7,70	7,04	6,97
	m	m		m	m	s	m	d large	s large
	H ₁ ou H ₂	H ₁ ou H ₂		H ₄ ou H ₅	H ₄ ou H ₅	6	7	8	10
 37b	7,51	7,44		7,70	7,63	9,05	7,94	7,12	7,10
	d	d		d	d	s	d	dd	s
	3,1	3,1		8,9	8,9		9,4	9,4/1,9	

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

- - o o o 0 o o o - -

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

1. C.H. BROWING, J. Pathol. Chem., 18, 144 (1913).
2. A. NAZIN et T. BRYCHEY, Mutation Research, 65, 261 (1979).
3. S. CHOLTISSEK et ROTT, Nature, 204, 39 (1964).
4. J.A. Mc CARTER, N. KADOHAMA et C. TSIAPOLIS, Canad. J. Biochem., 47, 391 (1969).
5. A. ALBERT, "Drug Design", (E.J. Ariens, ed.), Academic Press, New York, 1970, Chap. 5.
6. W. MULLER et D.M. CROTHERS, J. Mol. Biol., 35, 251 (1968).
7. F. DALL'ACQUA, M. TERBOJEVICH, S. MARCIANI, B. SCARPINATO et L. VALENTINI, Biochim. Biophys. Acta., 103, 25 (1965).
8. J.B. LE PECQ, N. XUONG et C. PAOLETTI, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 71, 5078 (1974).
9. D. PELAPRAT, R. OBERLIN, I. LE GUEN, B.P. ROQUES et J.B. LE PECQ, J. Medicin. Chem., 23, 1330 (1980).
10. B.F. CAIN, G.J. ALWELL et W.A. DENNY, J. Medicin. Chem., 20, 987 (1977).
11. S.C. JAIN, K.K. BHANDARG et H.M. SOBELL, J. Mol. Biol., 135, 813 (1979).
12. T.R. KRUGH et J.W. NEELY, Biochemistry., 12, 1775 (1973).
13. O. AVERY, C. Mc LEOD et M. Mc CARTY, J. Exp. Medicin., 79, 137 (1944).
14. J.D. WATSON et F.H.C. CRICK, Nature., 171, 737 (1953).
15. L.F. CAVALIER et J. ANGELOS, J. Amer. Chem. Soc., 72, 4686 (1950).
16. A.R. PEACOCKE et J.N.H. SKERRETT, Trans. Faraday Soc., 52, 261 (1956).

17. L.S. LERMAN, J. Mol. Biol., 10, 65 (1961).
18. V. KLEINWACHTER, Studia Biophysica, 6, 65 (1968).
19. J.B. LE PECQ et C. PAOLETTI, J. Mol. Biol., 27, 87 (1967).
20. J.B. LE PECQ, P. YOT et C. PAOLETTI, Compt. rend., 259, 1786 (1964).
21. M.J. WARING, J. Mol. Biol., 13, 269 (1965).
22. C.C. TSAI, S.L. JAIN et H.M. SOBELL, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 72, 628 (1975).
23. G. WEILL, M. CALVIN, Biopolymer., 1, 401 (1963).
24. A.R. PEACOCKE, "Heterocyclic compounds : Acridine", vol. 9, Acheson, Wiley-Interscience, 1973, p. 743.
25. G. LOBER, Photochem. and Photobiol., 8, 23 (1968).
26. R.K. TUBBS, W.E. DITTMARS et Q. VAN WINKEL, J. Mol. Biol., 9, 545 (1964).
27. S. GEORGHIOU, Photochem and Photobiol., 26, 59 (1977).
28. A. ALBERT, "Selective toxicity", Chapman and Hall, London, 1979, p. 337.
29. J. BOLTE, C. DEMUYNCK, M.F. LHOMME, J. LHOMME, J. BARBET et B.P. ROQUES, J. Amer. Chem. Soc., 104, 760 (1982).
30. J.B. LE PECQ, "Chimiothérapie anticancéreuse", Hermann, 1978.
31. P.S. SONG et K.J. TAPLEY, Photochem. and Photobiol., 29, 1177 (1979).
32. P.E. THOMPSON et L.M. WERBEL, "Medicinal Chemistry", Vol. 12 : Antimalarial Agents", (G. Destevens), Academic Press. New York, London., 1972.
33. M.S. WHITTINGHAM et A.J. JOCOBSON, "Intercalation Chemistry", (A.S. Nowick et C.G. Libowitz), Academic Press, New York, 1982, chap. 14.

34. W.A. REMERS, "Antinéoplastic Agents", J. Wiley, Wiley-Interscience, New York, 1984, chap. 3 ; W.B. PRATT et R.W. RUDDON, "the anticancer drugs", Oxford Universty Press, 1979, chap. 7.
35. L. MUSAJO et G. RODIGHIERO, *Photophysiology.*, 7, 115 (1972).
36. D. PELAPRAT, R. OBERLIN, I. LE GUEN et B.P.ROQUES, *J. Medecin. Chem.*, 23, 1330 (1980) ; P. LEON, G. GARBAY-JAUREGUIBERRY, J.B. LE PECQ et B.P. ROQUES, *Tetrahedron Letters*, 26, 4929 (1985) ; W.A. DENNY, G.J. ATWELL, B.C. BAGULEY et L.P.G. WAKELIN, *J. Medicin. Chem.*, 28, 1568 (1985).
37. G.J. ATWELL, W. LEUPIN, S.J. TWIGDEN et W.A. DENNY, *J. Am. Chem. Soc.*, 105, 2913 (1983) ; J.B. HANSEN, T. THOMSEN et O. BUCHARDT, *Chem. Comm.*, 1015 (1983).
38. P. LAUGAA, J. MARKOVITS, A. DELBARRE, J.B. LE PECQ et B.P. ROQUES, *Biochemistry.*, 24, 5567 (1985).
39. J.B. LE PECQ, "Chimiothérapie anticancéreuse", Hermann, 1978, chap. 3, 67.
40. R.P. HERTZBERG et P.B. DERVAN, *Biochemistry.*, 23, 3934 (1984).
41. O. BUCHARDT, U. EHRBAR, C. LARSEN, J. MOLLER, P.E. NIELSEN, T. THOMSEN, F. WATTEN et J.B. HANSEN, *J. Org. Chem.*, 49, 4123 (1984).
42. G. LANCELOT, U. ASSELINE, N.T. THUONG et C. HELENE, *Biochemistry.*, 24, 2521 (1985).
43. J.B. LE PECQ, C. GOSSE, N.D. XUONG, S. CROS et C. PAOLETTI, *Cancer Research.*, 36, 3067 (1976) ; J.B. LE PECQ, M. LE BRET, C. GOSSE, C. PAOLETTI, O. CHALVET et N.D. XUONG, Pullman, D. Reidel Publ., Dordrecht, Hollande, 1974, p. 515.
44. J.B. LE PECQ, C. GOSSE, N.D. XUONG et C. PAOLETTI, *Compt. rend. (D)*, 281, 1365 (1975).
45. J.B. LE PECQ, N.D. XUONG, C. GOSSE et C. PAOLETTI, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 71, 5078 (1974).

46. J.B. LE PECQ, M. LE BRET, J. BARBET et B.P. ROQUES, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 72, 2915 (1975).
47. C. RIVALLE, F. WENDLING, P. TAMBOURIN, J.M. LHOSTE, E. BISAGNI et J.C. CHERMANN, J. Medicin. Chem., 26, 181 (1983).
48. D. PELAPRAT, A. DELBARRE, I. LE GUEN et B.P. ROQUES, J. Medicin. Chem., 23, 1336 (1980).
49. C. DUCROCQ, F. WENDLING, M.T. PERRIN, C. RIVALLE, P. TAMBOURIN, F. POCHON et E. BISAGNI, J. Medicin. Chem., 23, 1212 (1980).
50. G.J. ATWELL, B.C. BAGULEY, D. WILMANSKA et W.A. DENNY, J. Medicin. Chem., 29, 69 (1986).
51. R.F. MARTIN et D.P. KELLY, Aust. J. Chem., 32, 263 (1979).
52. A. FRAVOLINI, G. GRANDOLINI et A. MARTANI, Ann. Chim. (Italia)., 58, 533 (1968).
53. D. ALFONSE, Thèse de doctorat, 1985.
54. J. FAHY, Thèse de 3^o Cycle, Lille, 1982.
55. J. RENAULT et J. BERLOT, Bull. Soc. chim. France., 1, 211 (1971).
56. C.C. LEZNOFF et D.M. DIXIT, Canad. J. Chem., 55, 3351 (1977) ; D.M. DIXIT et C.C. LEZNOFF, Chem. Comm., 22, 798 (1977).
57. C.N. KORNBLUM et J. ANDERSON, J. Amer. Chem. Soc., 81, 4113 (1959) ; 79, 6562 (1957).
58. C.C. LEZNOFF et J.Y. WONG, Cand. J. Chem., 51, 3756 (1973).
59. R.F. MARTIN et J.H.Y. TONG, Aust. J. Chem., 22, 487 (1969).
60. R.J. SUNDBERG et J.P. LAURINO, J. Org. Chem., 49, 249 (1984).
61. G. BUCHI et H. WUEST, J. Org. Chem., 34, 1122 (1969).

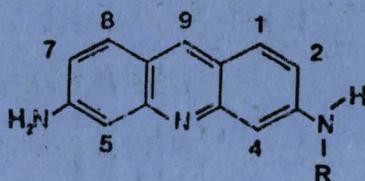
62. D.T. BROWNE, J. EISINGER et N.J. LEONARD, *J. Amer. Chem. Soc.*, 90, 7302 (1968).
63. K.K. OGILVIE et D.M. DIXIT, *Nucleosides and Nucleotides*, 2, 147 (1983).
64. M.S. WHITTINGHAM et A.J. JOCOBSON, "Intercalation chemistry", (A.S. Nowick et G.G. Libowitz), Academic Press, New York, 1982, chap. 14.
65. A. ALBERT et W.H. LINNEL, *J. Chem. Soc.*, 1614 (1936).
66. T.E. LYLE et G.H. DAUB, *J. Org. Chem.*, 44, 4933 (1979).
67. A.A. LEON, G. DAUB et I.R. SILVERMAN, *J. Org. Chem.*, 49, 4544 (1984) ; P.E. EATON, G.R. CARLSON et J.T. LEE, *J. Org. Chem.*, 38, 4071 (1973).
68. R.U. SCHOCK, *J. Amer. Chem. Soc.*, 79, 1670 (1957).
69. B. FESTY, J. POISSON et C. PAOLETTI, *FEBS Letters.*, 17, 321 (1971).
70. C. PAOLETTI, J.B. LE PECQ, N.D. XUONG, P. LESCA et P. LECOINTE, *Current Chemother.*, 1195 (1978).
71. A.J. BIRCH, A.H. JACKSON et P.V.R. SHANNON, *J.C.S. Perkin I.*, 2185 (1974).
72. H. DORN et G. HILGETAG, *Chem. Ber.*, 97, 695 (1964).
73. P.J. DE CHRISTOPHER et J.P. ADAMEK, *J. Amer. Chem. Soc.*, 91, 2384 (1969).
74. R.O. HUTCHINS, F. CISTONE, B. GOLDSMITH et P. HERMAN, *J. Org. Chem.*, 40, 2018 (1975).
75. P. MULLER et M. THI, *Helv. Chim. Acta.*, 63, 2168 (1980).
76. P. GUERRET, J.L. IMBACH et R. JACQUIER, *Bull. Soc. chim. France*, 3, 1031 (1971).
77. P. GUERRET, R. JACQUIER et G. MAURY, *Bull. Soc. chim. France*, 6, 2481 (1972).

78. B. GAUGAIN, J. BARBET, R. OBERLIN, B.P. ROQUES et J.B. LE PECQ, *Biochemistry.*, 5071 (1978).
79. N.S. ANGERMAN, S.S. DANYLUK et T.A. VICTOR, *J. Amer. Chem. Soc.*, 94, 7137 (1972).
80. J.L. JOHNSON et L.M. WEBEL, *J. Medicin. Chem.*, 26, 185 (1983).
81. J.E. NORDLANDER, D.B. CATALANE et K.D. KOTIAN, *J. Org. Chem.*, 46, 778 (1981).
82. V. NAIR et S.G. RICHARDSON, *Synthesis*, 670 (1982).
83. W.J. GENSLER, *Org. Reactions.*, 6, 191 (1951).
84. M.J. BEVIS, E.J. FORBEST, N.N. NAIK et B.C. UFF, *Tetrahedron.*, 27, 1253 (1971).
85. H. PERKAMPUS et G. KASSEBEER, *Annalen.*, 696, 1 (1969).
86. J. DABROWSKI, J. TERPINSKI et K. KAMIENSKATRELA, *Roczniki. Chem.*, 39, 769 (1965).
87. A. DONDONI, G. MODENA et P. ETODESCO, *Gazzetta.*, 91, 613 (1961).
88. R.H.F. MANSKE et M. KULKA, *Org. Reactions*, 7, 59 (1953).
89. J.J. STEZOWSKI et P. KOLLAT, *J. Amer. Chem. Soc.*, 107, 2067 (1965).
90. W.C. STALLING, J.P. GLUSKER et H.L. CARRELL, *J. Biomol. Structure and Dynamics.*, 2, 511 (1984).
91. D. ROUSSELLE, J. GILVERT et C. VIEL, *Compt. rend. (C).*, 284, 377 (1977).
92. V.K. KANSAL, R. SUNDARAMOORTHY, B.C. DAS et P. POTIER, *Tetrahedron Letters.*, 25, 4933 (1985) ; G. MEUNIER, B. MEUNIER, C. AUCLAIR, J. BERNADOU et C. PAOLETTI, *Tetrahedron Letters.*, 24, 365 (1983).
93. C. PAOLETTI, J.B. LE PECQ, N.D. XUONG, P. JURET, H. GARNIER, L.J. AMIEL et J. ROUESSE, *Rec. Results Cancer Research*, 74, 108 (1980).

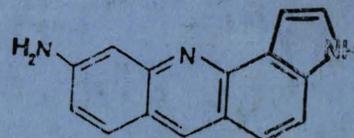
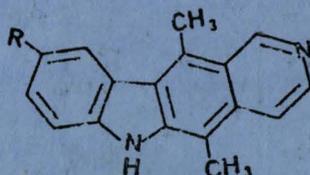
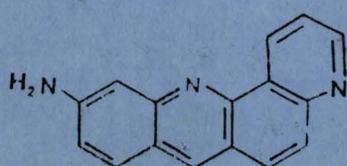
94. C. AUCLAIR et C. PAOLETTI, J. Medicin. Chem., 24, 289 (1981) ; J. BERNADOU, G. MEUNIER, G. PAOLETTI et B. MEUNIER, J. Medicin. Chem., 26, 574 (1983).
95. J.B. LE PECQ et C. PAOLETTI, J. Mol. Biol., 27, 87 (1967).
96. J.D. Mc GHEE et P.H. VON HIPPEL, J. Mol. Biol., 86, 469 (1974).
- 96a. H. BUDZIKIEWICZ, V. KRAMER et H. PERKAMPUS, Z. Naturforsch. B., 25, 178 (1970).
97. J.F. CONSTANT, Thèse d'Etat, Lille, 1986.
98. K. ODASHIMA, T. SOGA et K. KOGA, Tetrahedron Letters., 22, 5311 (1981).
99. V.T. BLUHM, H.H. PERKAMPUS et J.V. KNOP, Ber. Bunsengesellschaft Phys. Chem., 77, 116 (1973).
100. J. MLOCHOWSKI et K. KLOC, Roczniki, Chem., 47, 727 (1973).



Les études de RMN¹H de la proflavine ont montré que les dérivés monoalkylés possèdent une réactivité particulière en position 4 et 5.



Nous avons exploité cette réactivité pour synthétiser des squelettes nouveaux en utilisant comme étape-clé une cyclisation régiosélective sur le carbone C₄ d'une monoalkylproflavine correctement fonctionnalisée. Les nouveaux systèmes obtenus, présentent une analogie de structure avec des molécules "intercalantes" à activité antitumorale telles que les ellipticines.



Ellipticine (R=H)

Les tests biologiques ont montré que ces nouvelles molécules possèdent des activités antitumorales significatives in vitro.

Des modifications de structures ont été réalisées sur la molécule la plus active afin d'améliorer ses propriétés biologiques.

MOTS CLEFS : AMINO-10 BENZO(b)PHENANTHROLINE-1,7, 3H-PYRROLO(2,3-c)AMINO-9 ACRIDINE, PROFLAVINE, RMN, INTERCALANTS.