

50376
1986
65

T H E S E

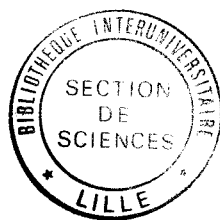
Présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE FLANDRES ARTOIS

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN CHIMIE

Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE ET MACROMOLECULAIRE



p a r

Yahya L E K C H I R I

" ETUDE DES INTERACTIONS ET DES PHOTOREACTIONS DE PSORALENES
AVEC L'ADENINE ET LA THYMIDINE "

soutenue le 22 Juillet 1986 devant la commission d'examen

Membres du Jury : MM. J.P. PETE, Président et Rapporteur

J. IGOLEN, Rapporteur

J.L. DECOUT, Examineur

J. LHOMME, Examineur

M. MORCELLET, 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 ma profonde gratitude pour la confiance qu'il m'a accordée, ses conseils et l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

Je remercie Monsieur J.L. DECOUT qui a participé activement à ce travail et m'a fait profiter de son expérience dans ce domaine.

Je suis très reconnaissant à Messieurs J.P. PETE Professeur à l'Université de Reims, J. IGOLEN Directeur de Recherches à l'Institut Pasteur de Paris, M. MORCELLET Professeur à l'Université de Lille I qui m'ont fait l'honneur d'avoir accepté de constituer le jury de cette thèse.

Je remercie chaleureusement mes amis du laboratoire pour la sympathie qu'ils m'ont témoignée tout au long de mon séjour en leur compagnie.

Mes remerciements s'adressent à Messieurs G. RICART du service de Spectrométrie de masse et B. MOUCHEL du service de RMN pour leur aide très efficace et leur grande disponibilité.

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

Mes plus vifs remerciements s'adressent à Madame L. SAINLEGER qui a assuré l'impression de cette thèse, ainsi qu'à Madame R. DRUON et Monsieur F. DUPLATEAU pour l'aide qu'ils m'ont apporté depuis mon entrée au laboratoire.

Je ne saurais oublier dans mes remerciements tous les enseignants qui ont participé de près ou de loin à ma formation.

S O M M A I R E

- - o o 0 o o - -

I N T R O D U C T I O N.....	1
I. LES FUROCOUMARINES, ORIGINES ET STRUCTURES.....	3
II. PROPRIETES PHOTOBIOLOGIQUES DES FUROCOUMARINES.....	4
III. MODE D'ACTION DES FUROCOUMARINES.....	5
IV. ETUDE DU MECANISME.....	8
V. OBJECTIFS DE CE TRAVAIL.....	20
C H A P I T R E I.....	25
A. <u>SYNTHESE</u>	28
I. SYNTHESE DU COMPOSE MODELE Ade-C ₄ -5Pso <u>10</u>	28
1. Schémas de synthèse retenus.....	28
2. Synthèse du modèle Ade-C ₄ -5Pso <u>10</u> par la voie 1.....	29
3. Synthèse du composé Ade-C ₄ -5Pso <u>10</u> par la voie 2.....	37
4. Comparaison des deux voies.....	39
II. LES COMPOSES DE REFERENCE.....	39
B. <u>ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE</u>	41
I. INTRODUCTION.....	41
II. ETUDE PAR RMN.....	42
1. Principe de la méthode.....	42
2. Etude dans l'eau.....	43
3. Etude dans le DMSO d ₆	50
III. CONCLUSION.....	51

C.	<u>ETUDE PHOTOCHEMIE</u>	53
I.	INTRODUCTION.....	53
II.	RESULTATS.....	55
	1. Irradiation dans le mélange eau-éthanol (95:5).....	55
	2. Irradiation dans les solvants organiques.....	56
III.	CONCLUSION.....	57

C H A P I T R E II : SERIE DU METHOXY-5 PSORALENE - COMPOSES ASSOCIANT THYMIDINE ET PSORALENE..... 59

A.	<u>INTRODUCTION</u>	61
B.	<u>COMPOSES ASSOCIANT LA THYMIDINE PAR SA POSITION 5' AU PSORALENE</u>	64
I.	SYNTHESE.....	64
	1. Préparation de l'intermédiaire portant la thymidine.....	64
	2. Essais de synthèse d'un dérivé associant la thymidine au psoralène par un pont carbonate.....	68
	3. Synthèse du composé <u>21</u> associant la thymidine au psoralène par un pont diester.....	74
II.	ETUDE PHOTOCHEMIE, PHOTOREACTIVITE DU COMPOSE <u>21</u>	79
	1. Essais préliminaires.....	79
	2. Isolement du photoproduit <u>29</u>	82
	3. Caractérisation et structure du photoproduit <u>29</u>	84
	4. Etude de la photoaddition.....	95

III.	HYDROLYSE DU PHOTOPRODUIT <u>29</u>	100
1.	Hydrolyse basique.....	100
2.	Hydrazinolyse.....	104
3.	Hydrolyse acide.....	105
IV.	METHYLATION, ESSAIS PRELIMINAIRES.....	106
V.	CONCLUSION.....	107

C.	<u>COMPOSES ASSOCIANT LA THYMIDINE PAR SA POSITION 3'</u> <u>AU PSORALENE</u>	108
I.	INTRODUCTION.....	108
II.	SYNTHESE.....	109
1.	Obtention de l'intermédiaire <u>23</u>	109
2.	Obtention des composés <u>24</u> et <u>25</u>	110
III.	ETUDE PHOTOCHIMIQUE PRELIMINAIRE DES COMPOSES <u>24</u> ET <u>25</u>	113
1.	Photoréactivité du composé tritylé <u>24</u>	113
2.	Photoréactivité du composé <u>25</u>	114
IV.	CONCLUSION.....	115

C H A P I T R E	III : SERIE DU METHOXY-8 PSORALENE COMPOSES ASSOCIANT THYMIDINE ET PSORALENE.....	117
A.	<u>INTRODUCTION</u>	119
B.	<u>SYNTHESE ET PHOTOREACTIVITE DU COMPOSE THYMIDINE-PSORALENE 26</u>	120
I.	OBTENTION.....	120
II.	PHOTOREACTIVITE.....	121

C.	<u>SYNTHESE ET PHOTOREACTIVITE DU COMPOSE THYMIDINE-PSORALENE 28....</u>	123
I.	SYNTHESE.....	123
1.	Synthèse de l'intermédiaire <u>27</u>	123
2.	Obtention du composé <u>28</u>	124
II.	PHOTOREACTIVITE.....	124
D.	<u>CONCLUSION</u>	125
	CONCLUSION.....	127
	PARTIE EXPERIMENTALE.....	135
	BIBLIOGRAPHIE.....	175

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

- - o o O o o - -

De nombreuses substances actives ont pour cible préférentielle l'acide désoxyribonucléique (ADN) qu'elles sont susceptibles de modifier par réaction avec les bases nucléotidiques. Les modifications qu'elles entraînent, induisent selon les cas des désordres plus ou moins graves.

Parmi ces substances, les furocoumarines se distinguent tout particulièrement en raison de leurs diverses propriétés photobiologiques : thérapeutique dans le traitement de maladies de peau (vitiligo, psoriasis), pigmentogène, mutagène et cancérigène pour certaines d'entre elles chez l'animal.

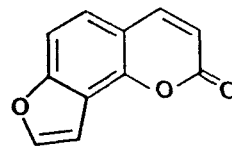
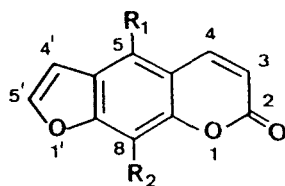
Bien que très étudié depuis une vingtaine d'années leur mode d'action n'est pas totalement élucidé.

Dans ce travail, nous présentons une contribution à l'étude de ce mécanisme.

I. LES FUROCOUMARINES, ORIGINES ET STRUCTURES :

Les furocoumarines constituent une famille de composés hétérocycliques oxygénés essentiellement d'origine végétale (familles des Ombellifères et des Rutacées (1)).

On peut les classer en deux types, les furocoumarines "linéaires" ou psoralènes (psoralène, méthoxy-5 psoralène, méthoxy-8 psoralène) et les furocoumarines "angulaires" ou angélicines (angélicine). Les composés du premier type sont les plus largement répandus. De nombreuses autres furocoumarines ont été également préparées par synthèse en raison des propriétés thérapeutiques de ces substances.



Psoralène*

: $R_1=R_2=H$

Angélicine

Méthoxy-5 psoralène (5MOP) 1 : $R_1=OCH_3$, $R_2=H$

Méthoxy-8 psoralène (8MOP) 2 : $R_1=H$, $R_2=OCH_3$

II. PROPRIETES PHOTOBIOLOGIQUES DES FUROCOUMARINES :

Certaines propriétés photobiologiques des furocoumarines étaient connues il y a plus de trente siècles des Hindous et des Egyptiens qui utilisaient des extraits de plantes contenant des furocoumarines pour soigner des leucodermies comme le vitiligo** (2).

Les premières recherches biologiques ainsi que les applications cliniques sur ces substances n'ont débuté qu'après leur isolement par H. KUSKE en 1938 (3).

L'isolement d'autres furocoumarines amena un développement considérable de leur utilisation dans le traitement du vitiligo (4, 5).

La véritable application clinique dans le traitement du vitiligo et du psoriasis*** a été mise au point par l'équipe de J.A. PARRISH en 1974, selon un procédé qu'ils ont appelé la PUVA thérapie : utilisation conjointe des dérivés du psoralène (5MOP 1, 8MOP 2 et triméthyl-4,5',8 psoralène (TMP)) en prise orale suivie d'une exposition aux rayons ultraviolets entre 320 et 400 nm (UVA) (6).

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

** Vitiligo : décoloration de la peau par absence de pigment.

*** Psoriasis : affection cutanée caractérisée par une prolifération anormale de l'épiderme.

Actuellement la PUVA thérapie reste le principal traitement du psoriasis et du vitiligo (7).

Le pouvoir mélanogène des furocoumarines est une autre propriété mise à profit en cosmétologie et en parfumerie (crèmes solaires et eaux de Cologne, contenant des essences de bergamote). Ces essences renferment essentiellement du 5MOP 1 (bergaptène). Cette propriété s'expliquerait par une stimulation de la mélanocytose par le psoralène (8).

Par ailleurs des cancers de la peau ont été observés chez des souris badigeonnées avec des furocoumarines (5MOP 1, 8MOP 2 et angélicine) et exposées aux UVA (7, 9). Chez l'homme, les observations faites sur ces effets cancérogènes et mutagènes semblent a priori contradictoires (10, 11). Cependant, on ne peut exclure que la PUVA thérapie joue un rôle dans l'apparition des cancers de la peau chez les individus ayant déjà été exposés à des agents carcinogènes (12, revue 13).

Les furocoumarines, en particulier les furocoumarines linéaires bifonctionnelles ont également été utilisées dans l'étude des structures secondaires de l'ADN circulaire et de l'acide ribonucléique (ARN) (14).

D'autres études ont montré que les furocoumarines réagissent avec les protéines, en particulier avec les acides aminés aromatiques, ce qui se traduit par des inactivations d'enzymes et même pour certains auteurs, par la formation "d'adduits" covalents. Mais jusqu'à présent, aucun "adduit" n'a été isolé (15 - 17).

III. MODE D'ACTION DES FUROCOUMARINES :

L. MUSAJO et Coll. ont proposé à la fin des années 60 un mécanisme d'action des furocoumarines au niveau de l'ADN (pour revues, voir 18 - 20).

Ce mécanisme comporte trois étapes :

1ère étape : Formation d'un complexe d'intercalation :

Les furocoumarines sont des composés aromatiques "plans", capables de s'insérer entre deux paires de bases de l'ADN. Il se

forme alors un complexe d'intercalation (figure 1). La formation de ce complexe ne nécessite pas l'action de la lumière.

La constante d'association de différentes furocoumarines avec l'ADN est de l'ordre de 10^{-4} M^{-1} . (5MOP 1 : $3,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}^{-1}$; 8MOP 2 : 10^{-4} M^{-1}) (21, revue 22).

Le nombre de sites d'intercalation varie de 2 à 10 furocoumarines pour cent nucléotides, suivant la nature de la furocoumarine, le type de l'ADN et le milieu (21, revue 22).

2ème étape : Photocycloaddition du psoralène sur les bases pyrimidiques :

L'action des UVA (320-400 nm) sur le psoralène intercalé conduit à la cycloaddition (2+2) de la double liaison 3,4 ou 4',5' du psoralène sur la double liaison 5,6 de la base pyrimidique (principalement la thymine), formant ainsi un cyclobutane (\diamond). Il y a donc formation d'un "monocycloadduit" (Base 5,6 \diamond 3,4 ou 4',5' psoralène) avec un brin de l'ADN (figure 1).

3ème étape : Réticulation de l'ADN :

La photoréaction peut aller plus loin, car les "monocycloadduits" (Base 5,6 \diamond 4',5' psoralène) sont capables d'absorber un deuxième photon. Ils réagissent ainsi par la double liaison 3,4 libre avec une base pyrimidique de l'autre brin de l'ADN (25). Ceci se traduit par une réticulation (pontage) des deux brins de l'ADN (figure 1).

Notons que les furocoumarines "angulaires" ne peuvent pas conduire à la réticulation de l'ADN en raison de leur géométrie.

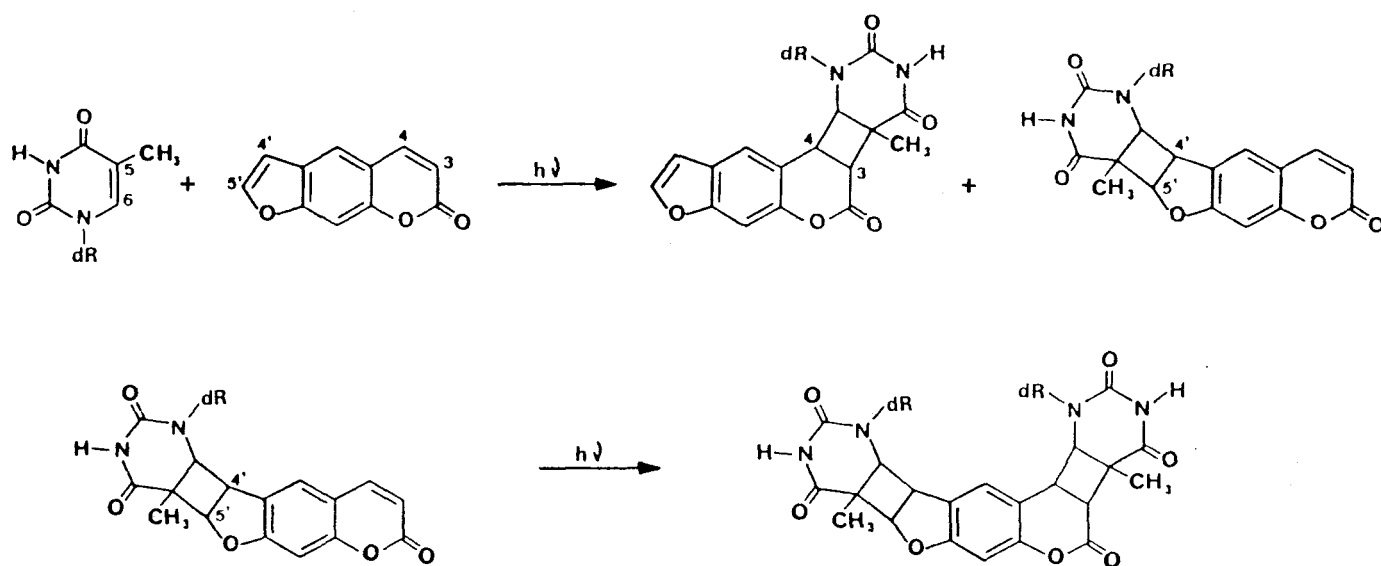
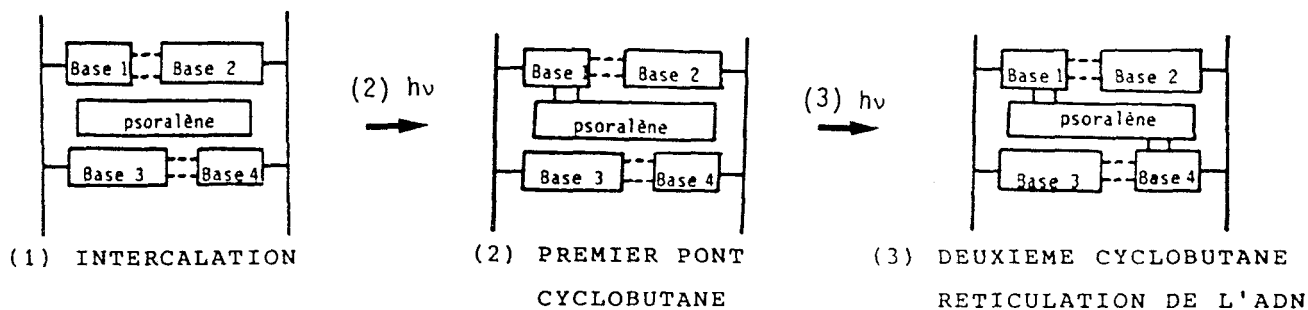


Figure 1

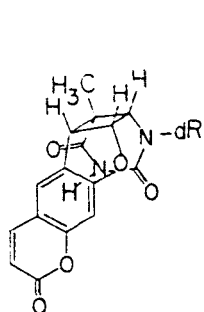
Il fallut attendre 1981 pour que ce mécanisme soit confirmé, avec l'isolement et la caractérisation d'un "monoadduit" base pyrimidique-psoralène, après réaction du psoralène dans l'ADN (23, 24). Un an plus tard un "bisadduit" a été isolé et caractérisé (25).

Cependant de nombreuses questions restent posées concernant par exemple :

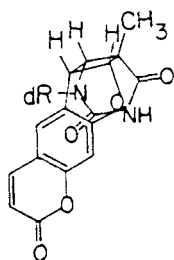
- l'influence de l'intercalation sur la photoréaction.
- l'importance des deux types de "monoadduits" 3,4 ou 4',5'.
- les facteurs orientant la réaction en 3,4 ou 4',5'.
- le rôle des différents états excités des psoralènes.

IV. ETUDE DU MECANISME :

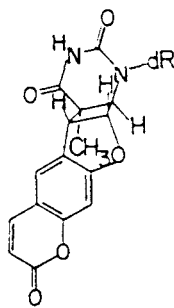
La photoaddition thymidine-psoralène est une réaction très complexe en raison, en particulier du grand nombre d'isomères pouvant se former (huit isomères ayant chacun deux diastéréoisomères, uniquement pour "les monoadduits"):



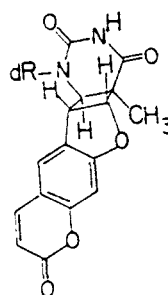
cis- syn



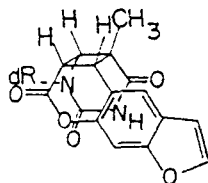
cis- anti



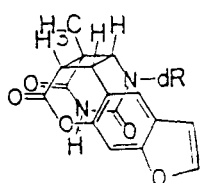
trans- syn



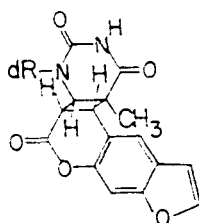
trans- anti



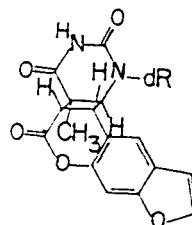
cis- syn



cis- anti



trans- syn

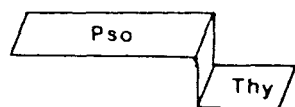


trans- anti

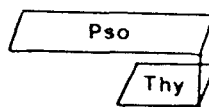
1. DEFINITIONS DES ISOMERES :

Nous énumérons ici les facteurs qui définissent la structure des différents "adduits" :

- Régiosélectivité en 4',5' ou en 3,4 :
- Stereochimie cis ou trans : position des noyaux thymine et psoralène par rapport au plan du cyclobutane (◇) :



TRANS

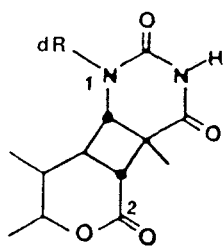


CIS

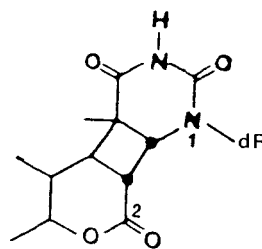
- Configurations syn et anti : H. RAPOPORT et Coll. (24, 26, 27) ont défini les termes syn et anti :

* **Cycle pyrone** :

- . Dans la configuration syn, l'atome d'azote N-1 de la thymine et l'atome de carbone C-2 du psoralène sont liés à deux atomes de carbone adjacents (•) du cyclobutane.
- . Dans la configuration anti, ces mêmes atomes sont liés à deux atomes de carbone (•) diagonalement opposés du cyclobutane.



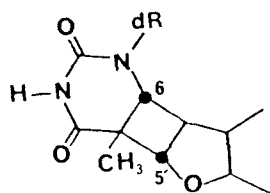
ANTI



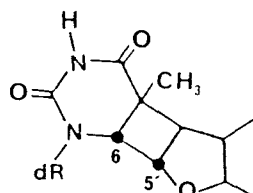
SYN

* **Cycle furane** :

- . Dans la configuration syn (tête à tête), l'atome de carbone C-6 de la thymine est lié à l'atome de carbone C-5' du psoralène.
- . Dans la configuration anti (tête à queue), ces mêmes atomes de carbone (•) sont localisés sur une diagonale du cyclobutane.



ANTI



SYN

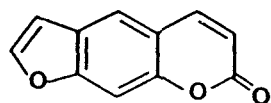
2. APPROCHES :

De façon à : 1/ isoler et caractériser les "adduits" formés, 2/ élucider le mécanisme d'action des furocoumarines, différentes approches ont été développées (pour revue, voir 28).

a. La photoaddition des psoralènes dans l'ADN :

L'étude de la photoréaction des psoralènes au niveau de l'ADN comporte plusieurs difficultés en raison de la complexité de la macromolécule cible, du taux de photoréaction très faible et de la diversité des produits formés. A cela s'ajoute la nécessité de dégrader la macromolécule pour analyser et isoler les produits formés, opération au cours de laquelle les "adduits" psoralène-nucléosides sont susceptibles de se décomposer.

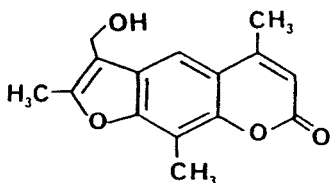
Les seuls résultats à ce niveau ont été obtenus par l'équipe de H. RAPOPORT et J.E. HEARST (23, 25, 26, 27, revue 29). Leur méthode consiste à irradier l'ADN en présence de dérivés tritiés du psoralène. Quatre furocoumarines ont été étudiées : le psoralène (Pso), le méthoxy-8 psoralène (8MOP 2), le triméthyl-4,5',8 psoralène (TMP) et l'hydroxy-4', triméthyl-4,5',8 psoralène (HMT) :



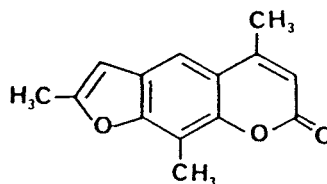
Pso



8MOP



HMT



TMP

L'ADN modifié par ces furocoumarines est ensuite isolé par précipitation dans l'éthanol puis soumis à une hydrolyse acide ou enzymatique. Différents "adduits" ont été isolés à l'échelle du microgramme. La majorité des "adduits" sont liés en 4',5'. Tous les "adduits" possèdent une structure cis-syn (RMN 360 MHz).

Dans le cas du 8MOP 2, les "adduits" isolés et caractérisés sont les suivants :

- . Thymidine (5,6 \diamond 4',5') 8MOP (44-52 %)*
- . Désoxyuridine** (5,6 \diamond 4',5') 8MOP (2 %)
- . Thymidine (5,6 \diamond 3,4) 8MOP (19 %)

* Les chiffres indiqués sont exprimés en % de la totalité des produits isolés. L'expérience est réalisée à partir de 4,05 mg de 8MOP (^3H) et 43,2 mg d'ADN du thymus de veau. Après irradiation (2h30), 23 % de la radioactivité de départ est fixée sur l'ADN. L'ADN est ensuite soumis à une hydrolyse enzymatique puis les "adduits" sont séparés en CLHP (3 essais par mesure).

** La désoxyuridine provient de la désoxycytidine (désamination des "adduits" de la désoxycytidine dans les conditions d'hydrolyse de l'ADN).

La fraction restante (26 %) correspond à la formation d'un "bis adduit" thymidine (5,6◊4',5') 8MOP (3,4◊5,6) thymidine qui a été caractérisé un peu plus tard (25).

Une étude radiocristallographique de l'"adduit" : Thd (5,6◊4',5') 8MOP a confirmé la structure cis-syn (27).

Dans le cas du psoralène, les pourcentages des différents "adduits" obtenus sont très voisins de ceux trouvés pour le 8MOP 2. Pour le TMP et le HMT, on constate principalement une grande diminution du pourcentage en "adduit" du côté pyrone (2 à 3 % seulement) accompagnée d'une légère augmentation des pourcentages d' "adduits" en 4',5' et en "bisadduits" (pour revue voir, 29).

De telles études ne permettent pas de préciser le mécanisme de photoaddition. L'échelle à laquelle doit être fait le travail et la nécessité d'hydrolyse de l'ADN, posent le problème de la mise en évidence des "adduits" mineurs ou instables. C'est pourquoi de nombreux auteurs se sont penchés sur les photoréactions intermoléculaires des psoralènes avec les bases ou nucléosides libres.

b. La photoaddition intermoléculaire entre le psoralène et les bases nucléiques et leurs nucléosides :

En solution, cette photoréaction est complètement masquée par la photodimérisation très rapide du psoralène. Afin d'éviter celle-ci les études ont été conduites en solution gelée ou en phase solide.

Les premiers "adduits" thymine (5,6◊4',5') psoralène ont été isolés par l'équipe de L. MUSAJO en 1967 (30) dans des conditions expérimentales difficiles*. La quantité très faible des "adduits" obtenue n'a pas permis la caractérisation complète (Rdt < 0,5 %).

* Irradiation d'une solution aqueuse gelée (5 litres) de psoralène (150 mg) et de thymine (10,25 g ; excès de 100 fois par rapport au psoralène). La quantité "d'adduit" isolé est de 1 mg.

C'est seulement en 1981 que l'équipe de S.Y. WANG (24) a isolé et caractérisé des "photoadduits" diméthyl-1,3 thymine (5,6 \diamond 3,4) 8MOP (cis-anti et cis-syn) ; pour chaque "adduit" le rendement est faible, inférieur à 10 %.

Peu de temps après, E.J. LAND et Coll. (31) ont isolé pour la première fois un "adduit" thymine (5,6 \diamond 4',5') 8MOP (cis-syn) qui a été caractérisé par sa structure RX. Le rendement obtenu est de l'ordre de 3 %.

Notons que dans une telle expérience, bien qu'opérant à l'état solide, les auteurs sont obligés de travailler avec des excès de thymine de l'ordre de cent fois par rapport au psoralène pour éviter la photo-dimérisation.

Récemment S.C. SHIM et Coll. (32) ont obtenu après irradiation à l'état solide d'un mélange de 8MOP 2 et de thymidine (Thd ; excès 10 fois), des "photoadduits" Thd \diamond 8MOP ; deux "monoadduits" 4',5' (cis-syn et trans-syn) et un "monoadduit" 3,4 (cis-anti) ont été caractérisés.

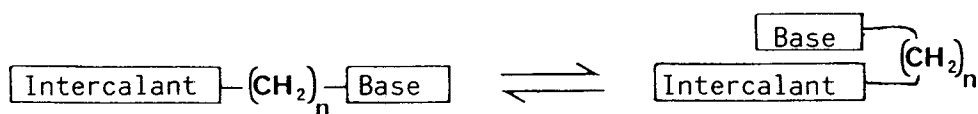
Parallèlement J.CADET et Coll. (33) ont isolé dans les mêmes conditions six diastéréoisomères Thd (5,6 \diamond 3,4) 8MOP (cis-anti, cis-syn et trans-syn). Les auteurs ont utilisé un excès de thymidine de dix fois et ont estimé le pourcentage global de photoaddition thymidine-psoralène entre 1 et 2 %. Cette même équipe a également obtenu deux diastéréoisomères d'un "adduit" cis-syn en 4',5' entre le carbéthoxy-3 psoralène et la thymidine (34).

Après ces résultats, on peut remarquer que l'approche intermoléculaire en phase solide n'est pas sélective : plusieurs isomères sont obtenus avec des rendements très faibles. Elle ne permet donc pas l'étude des mécanismes de photoaddition.

c. Approche intramoléculaire :

Cette approche a été développée au laboratoire pour l'étude des interactions entre différents intercalants et les bases nucléiques. La méthode consiste à associer l'intercalant à la base nucléique par l'intermédiaire d'une chaîne polyméthylénique souple : Base-(CH₂)_n-Intercalant.

Ces systèmes sont capables de se replier dans la mesure où existent des forces attractives entre les deux noyaux aromatiques :

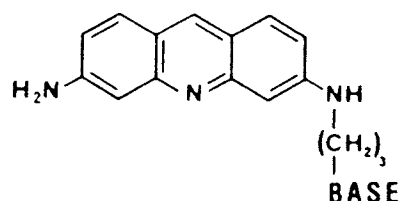
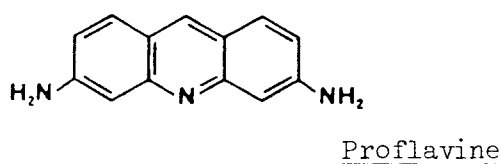
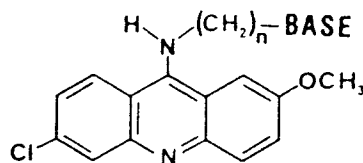
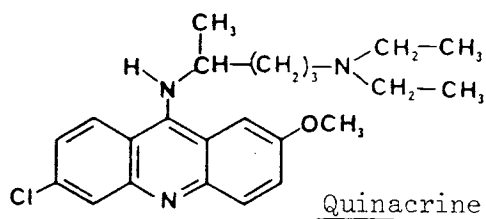
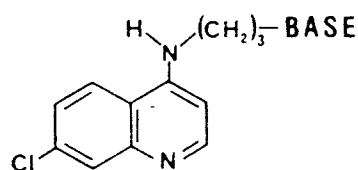
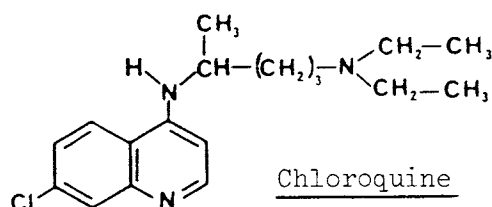


Forme ouverte

Forme repliée ou complexe
intramoléculaire

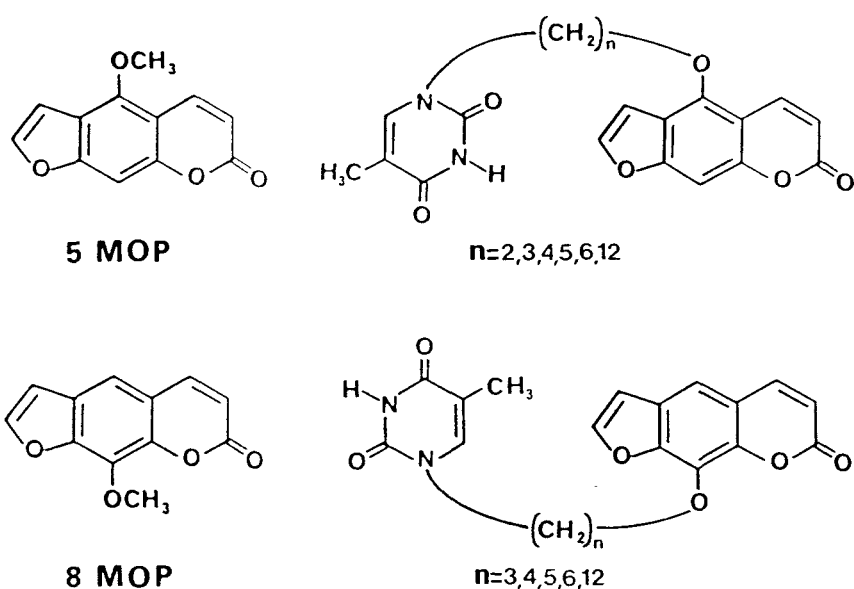
L'étude de l'équilibre forme ouverte \rightleftharpoons forme repliée par spectrophotométrie UV et/ou spectroscopie de RMN, constitue une mesure directe de l'interaction.

Les résultats antérieurs des études physico-chimiques dans les séries de la chloroquine (35) de la quinacrine (36) et de la proflavine (37) ont montré que le complexe intramoléculaire (forme repliée) formé est de même nature que le complexe d'intercalation.

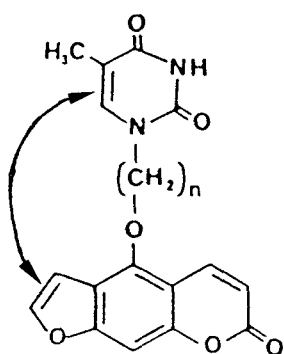


Cette approche a été étendue à la série des psoralènes dans le but d'étudier : 1/ la nature et la force des interactions base-psoralène 2/ leurs photoréactions 3/ l'influence de la complexation sur les photoréactions.

A partir des méthoxy-5 et 8 psoralènes 1 et 2, composés les plus utilisés pour leurs propriétés thérapeutiques, des modèles associant tout d'abord la thymine au psoralène par une chaîne polyméthylénique ont été préparés. Ce sont en série 5, les composés Thy-C_n-5Pso (n=2 à 6 et 12) (38) et en série 8, les composés Thy-C_n-8Pso (n=3 à 6 et 12) (39).

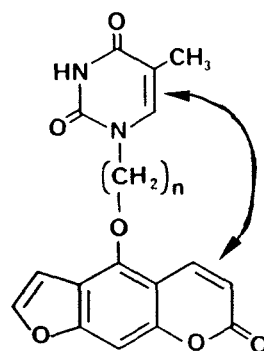


En raison de la quasi-symétrie de la double liaison 5,6 de la pyrimidine vis-à-vis des deux sites photoréactifs du psoralène, ces deux séries de modèles sont particulièrement bien adaptés pour étudier de façon compétitive la photoaddition sur les doubles liaisons 3,4 ou 4',5' du psoralène. Des modèles ayant des chaînes de longueur très variable (n=2 à 6 et 12) ont été préparés pour éliminer toute contrainte conformationnelle.

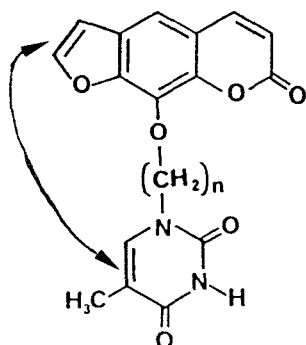


Addition anti sur furane
(cis ou trans)

ou ?

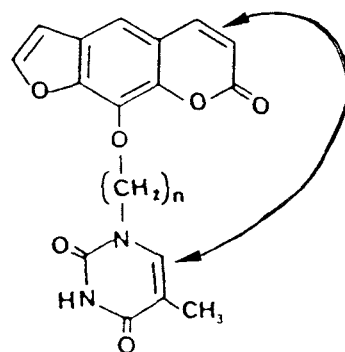


Addition anti sur pyrone
(cis ou trans)



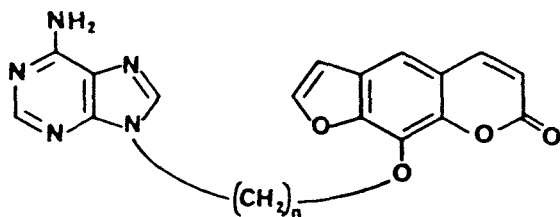
Addition syn sur furane
(cis ou trans)

ou ?



Addition syn sur pyrone
(cis ou trans)

D'autres composés associant l'adénine au psoralène lié par sa position 8 Ade-C_n-8Pso (n=3,4 et 6) (39) ont également été synthétisés en raison de l'importance de l'adénine au niveau des interactions moléculaires et au niveau d'éventuelles photoréactions adénine-psoralène.



Ade-C_n-8Pso (n=3,4 et 6)

L'étude de ces modèles a donné les résultats suivants :

* Interactions Base-Psoralène :

L'étude des interactions "d'empilement" dans divers solvants (eau, alcools, DMSO etc...) a été réalisée par spectrophotométrie UV (hypochromicité), fluorescence*, RMN et photolyse éclair*, menant aux conclusions suivantes :

- 1/ Tous les modèles présentent un fort degré de repliement dans l'eau à 20°C (voisin de 50 % pour les modèles de la thymine, supérieur à 80 % pour les modèles de l'adénine).
- 2/ Les interactions mises en jeu sont de nature "hydrophobe". L'empilement disparaît en solvant organique pour tous les modèles.
- 3/ L'état triplet du noyau psoralène complexé à la base dans les modèles (mesures dans l'eau) présente les mêmes caractéristiques que l'état triplet du psoralène isolé.

* Photoreactivité des modèles :

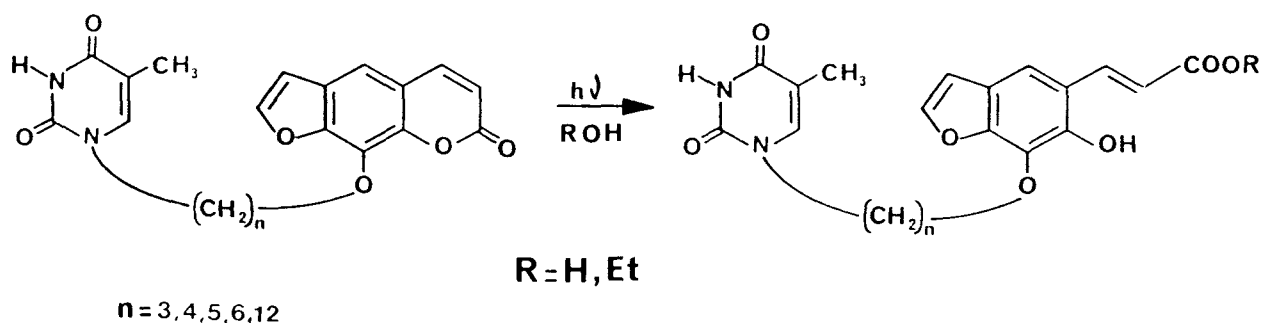
Les systèmes modèles ont été irradiés à 365 nm dans différents solvants (eau, alcools, DMF, DMSO...) à diverses concentrations.

1/ Série Thy-C_n-8Pso :

La nature de la photoréaction est tout d'abord très influencée par le type de solvant utilisé. Dans la DMF, l'acétonitrile, l'acétone, les produits formés sont instables. Dans l'eau et

* Collaboration avec le laboratoire du Dr. R. BENSASSON au Muséum National d'Histoire Naturelle.

l'éthanol les photoproduits ont été isolés : il ne se produit pas de photoaddition intramoléculaire mais une photolyse du noyau psoralène, ceci quelle que soit la longueur de la chaîne.



Cette photolyse se produit également pour le 8MOP 2 irradié dans les mêmes conditions (39, 40).

2/ Série Thy-C_n-5Pso :

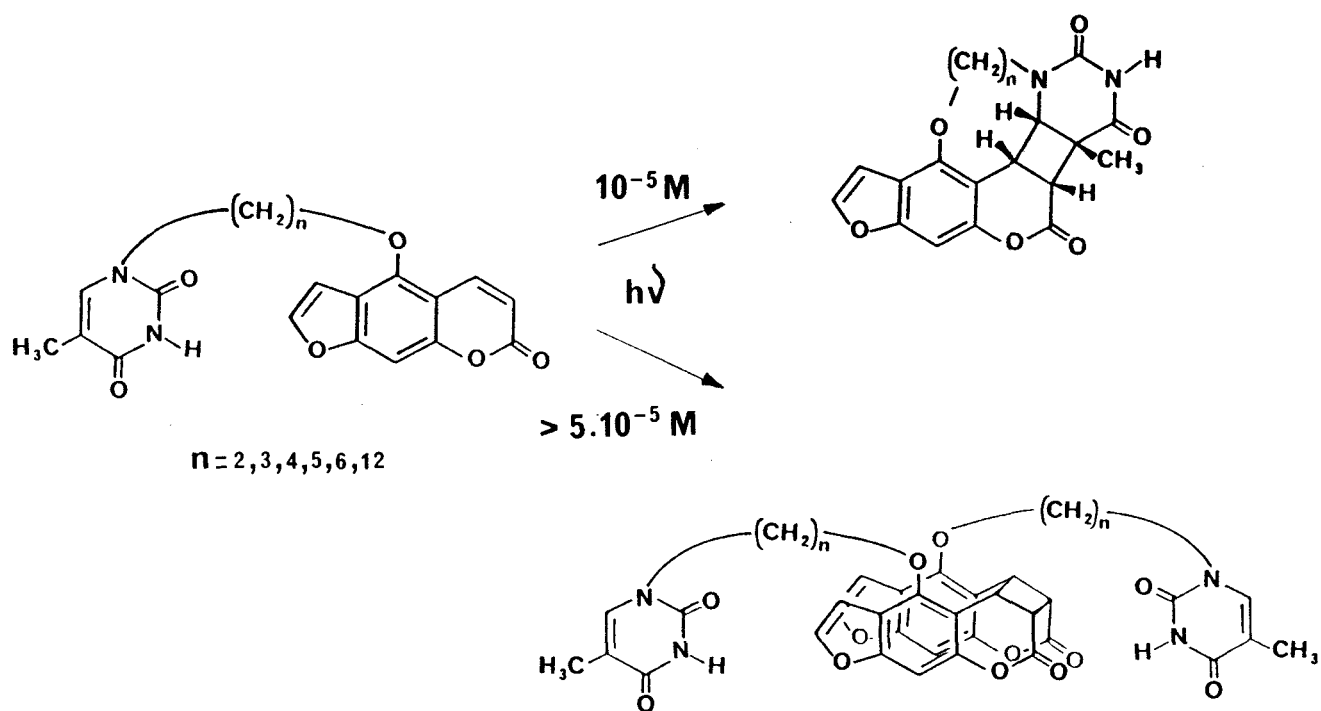
Dans cette série, la nature de la photoréaction s'est avérée indépendante de la nature du solvant d'autant que celui-ci soit polaire (DMF, H₂O, EtOH, CH₃CN...). Par contre, une grande influence de la concentration a été mise en évidence.

En solution "concentrée" ($> 5 \cdot 10^{-5} M$), la seule réaction observée est une photodimérisation des modèles par la double liaison 3,4 du psoralène.

Une dilution plus importante ($10^{-5} M$) permet d'éviter cette dimérisation. Il se produit alors une photoaddition intramoléculaire très sélective qui conduit à la formation d'un "adduit" cis-anti sur la double liaison 3,4 du psoralène.

Il s'agit du premier exemple de photoréaction en solution entre un psoralène et une thymine conduisant à un produit unique, caractérisé par sa structure RX* (pour $n=2$ et 4) (38, 41).

* Collaboration avec le laboratoire du Dr. M. HOSPITAL à Bordeaux.



Outre ces résultats, on peut souligner le fait qu'il n'existe pas de relation entre la complexation et la photoréactivité thymine-psoralène : dans l'eau, les modèles ne présentent pas un comportement photochimique particulier. Ceci est confirmé par l'étude en photolyse éclair qui montre que les interactions thymine-psoralène ne modifient pas les caractéristiques de l'état excité triplet du noyau psoralène.

L'approche intramoléculaire permet de reproduire les conditions de la photoréaction intermoléculaire thymine-psoralène en solution, en évitant tous les problèmes liés à la photodimérisation.

3/ Série Ade-C_n-8Pso :

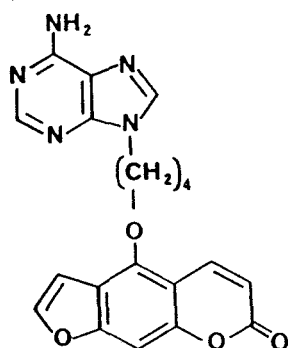
L'irradiation de ces composés à 365 nm en solution aqueuse diluée ($2 \cdot 10^{-5} M$, H₂O-EtOH (95:5)) n'a pas provoqué de photoréaction notable. Ces modèles sont photostables dans l'eau. Par contre, dans l'acétonitrile, la formation de produits instables a été mise en évidence, mais ces photoproduits n'ont pu être isolés.

A partir de ces résultats et des nombreuses questions encore posées sur le mécanisme d'action des psoralènes, nous avons défini un certain nombre de nouveaux objectifs qui ont fait l'objet du travail décrit ici.

V. OBJECTIFS DE CE TRAVAIL :

1. POURSUITE DU TRAVAIL EN SERIE ADENINE :

En premier lieu, pour compléter le travail précédent sur la connaissance des interactions moléculaires base-psoralène, il nous a semblé intéressant de préparer un nouveau modèle de la série 5 associant l'adénine au psoralène par une chaîne alcane à quatre atomes de carbone :



Ade-C₄-5Pso

Ce modèle présente également un intérêt dans l'étude de la photoréactivité adénine-psoralène.

Après la mise en évidence de la photocycloaddition de la double liaison 5,6 d'une base pyrimidique sur la double liaison 7,8 du cycle imidazole de l'adénine à l'aide de systèmes bichromophores* Thy-(CH₂)₃-Ade

* On peut aussi noter que la formation d' "adduits" entre la thymine et l'adénine a été observée par irradiation d'oligonucléotides et de l'ADN (43).

(42a,b) la question de l'existence d'une photoaddition entre les bases puriques et les furocoumarines peut être posée.

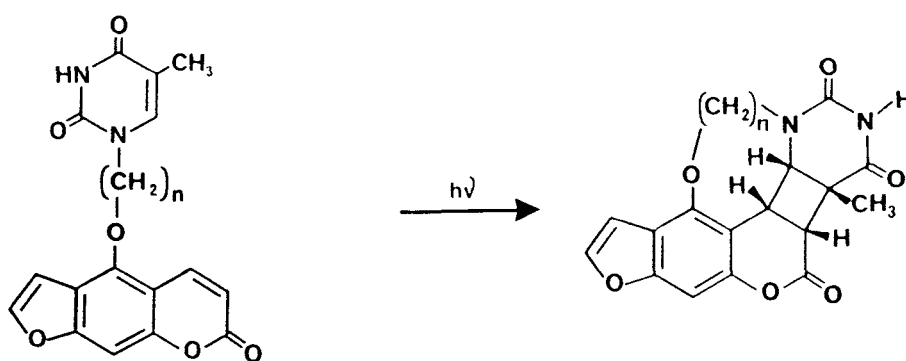
Une longueur de chaîne $n=4$ a été choisie pour ce modèle car elle permet un recouvrement maximum des deux chromophores ainsi qu'une superposition des différents sites photoréactifs.

La série 5 semble mieux adaptée que la série 8 à l'étude de la photoréactivité adénine-psoralène. Rappelons que lors de l'étude des composés de la série 8 Thy-C_n-8Pso, nous n'avons pas réussi à mettre en évidence la photoaddition thymine-psoralène alors qu'en série 5, celle-ci est observée pour tous les composés Thy-C_n-5Pso ($n=2$ à 6 et 12) dans de nombreux solvants.

Pour toutes ces raisons, le modèle Ade-C₄-5Pso a été préparé.

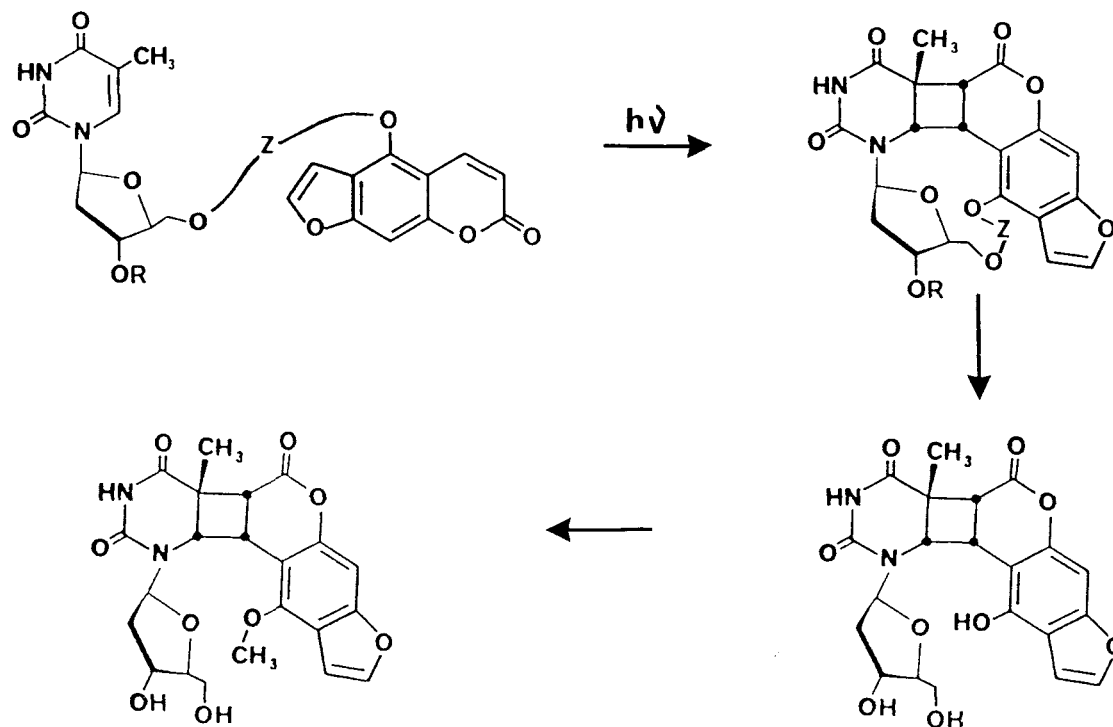
2/ EXTENSION DE L'APPROCHE INTRAMOLECULAIRE AUX NUCLEOSIDES : LA THYMIDINE :

Nous nous proposons ici d'utiliser les résultats obtenus précédemment sur la photoaddition thymine-psoralène hautement sélective observée dans la série Thy-C_n-5Pso.



Après la mise en évidence de cette réaction, il semblait intéressant de relier le psoralène non plus à la thymine mais au nucléoside correspondant la thymidine, ceci par l'intermédiaire d'une chaîne qui puisse être éliminée après la photoaddition.

Un "adduit" thymidine (5,6 \diamond 3,4) méthoxy-5 psoralène cis-anti pourrait ainsi être préparé selon le schéma suivant :



Notons que cet "adduit" n'a pas été décrit. En effet, bien que le méthoxy-5 psoralène soit un des représentants de la famille des furocoumarines le plus utilisé pour ses propriétés photobiologiques, l'étude de la structure des "adduits" de ce composé dans l'ADN n'a pas, à notre connaissance, encore été réalisée*.

Dans l'ADN, la fixation de quatre psoralènes a été étudiée (psoralène, méthoxy-8 psoralène, triméthyl-4,5',8 psoralène et hydroxyméthyl-4', triméthyl-4,5',8 psoralène). Remarquons que les "adduits" isolés présentent tous une configuration cis-syn. La formation d' "adduit" trans dans l'ADN est très peu probable mais rien n'exclut a priori la formation d' "adduits" cis-anti : ces "adduits" pouvant être moins stables à l'hydrolyse que les "adduits" cis-syn ou simplement minoritaires.

* Très récemment, une courte communication a décrit l'irradiation d'un mélange thymidine-méthoxy-5 psoralène à l'état solide ou en solution aqueuse gelée. Parmi les produits formés, deux diastéréoisomères Thd (5,6 \diamond 3,4) 5MOP cis-syn ont été isolés (44).

D'autre part, pour expliquer la formation préférentielle d' "adduits" cis-syn, les auteurs proposent une géométrie d'intercalation qui rendrait compte de ce résultat (29). Il faut noter que le passage du groupement méthoxy de la position 8 (dans le 8MOP 2 qui donne des "adduits" cis-syn dans l'ADN) à la position 5 dans le 5MOP 1 (pour lequel on n'a pas de résultats dans l'ADN) pourrait changer complètement la structure du complexe d'intercalation.

Comme nous l'avons vu précédemment, aucune voie ne permet actuellement de préparer en quantité "importante" (de l'ordre de la dizaine de mg), un "adduit" thymidine-psoralène quelle que soit sa configuration. La préparation de tels "adduits" permettrait tout d'abord d'en étudier en détail les propriétés. L'"adduit" préparé, ainsi complètement caractérisé, pourrait servir de témoin afin de détecter rapidement son éventuelle formation dans l'ADN. Des mesures précises de taux de formation pourraient également se faire.

La synthèse de quantités importantes d' "adduits" nucléoside-psoralène constituerait également une étape importante vers la connaissance du mode d'action des psoralènes : on peut penser insérer le nucléoside modifié dans la séquence d'un oligonucléotide. Le fragment d'ADN sélectivement transformé pourrait alors être étudié au niveau structural et biologique. A long terme, on pourrait ainsi établir un lien entre modifications chimiques et propriétés photobiologiques.

La réalisation de ce projet nécessite dans un premier temps la synthèse de composés associant la thymidine au noyau psoralène.

L'étude des modèles moléculaires a montré que le point d'accrochage de la chaîne le plus favorable à la photoaddition est la position 5' de la thymidine. Mais nous envisageons de préparer des composés ayant la chaîne attachée en position 3' afin d'étudier l'effet de ce changement sur la photoréaction.

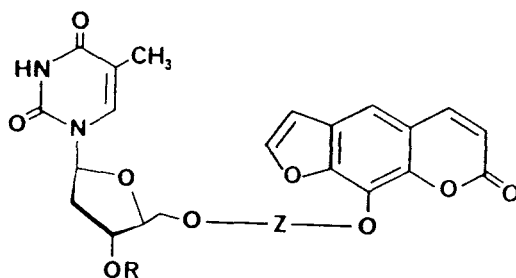
En ce qui concerne le choix de la chaîne, nous nous attendons après les résultats dans la série Thy-C_n-5Pso à ce que sa longueur ait peu d'influence.

Le choix de la nature de la chaîne devra tenir compte d'un certain nombre d'impératifs :

- facilité de synthèse
- stabilité photochimique
- facilité d'hydrolyse

Dans un premier temps, des chaînes de type carbonate (Z= $\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{C}$) ou diesters (Z= $\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-(\text{CH}_2)_n-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}$) nous ont paru convenir.

Un grand avantage de cette approche serait sa généralisation à d'autres psoralènes ou à d'autres bases (en particulier la cytosine) : c'est pourquoi, nous étudierons la photoréactivité de composés analogues en série 8 bien que les résultats donnés par les modèles à chaînes alcanes de cette série ne soient pas encourageants.



C H A P I T R E I

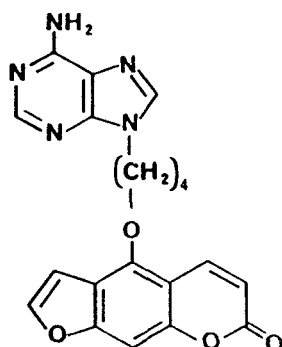
- - o o O o o - -

S E R I E D U M E T H O X Y - 5 P S O R A L E N E

C O M P O S E M O D E L E A D E N I N E - P S O R A L E N E

Dans ce chapitre, nous allons décrire la synthèse des composés retenus pour notre étude en série adénine ; ce sont le composé modèle : Ade-C₄-5Pso 10 et les composés de référence : Ade-C₃ 12 et 5Pso-C₃ 13 nécessaires à l'étude spectroscopique.

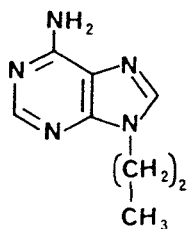
Le composé modèle :



Ade-C₄-5Pso 10

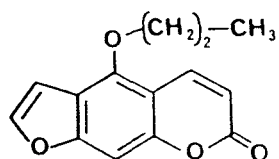
Les composés de référence :

Propyl-9 adénine



Ade-C₃ 12

Propoxy-5 Psoralène

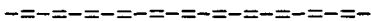


5Pso-C₃ 13



A.

S Y N T H E S E



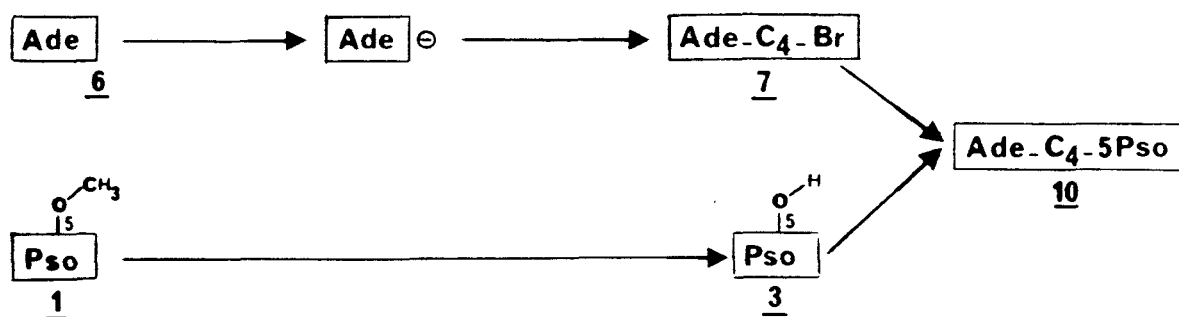
I. SYNTHÈSE DU COMPOSE MODELE Ade-C₄-5Pso 10 :

Pour relier l'adénine au noyau psoralène, nous avons choisi une chaîne méthylénique à quatre atomes de carbone, ce qui confère au système une longueur suffisante pour permettre un bon empilement des deux chromophores et une superposition des doubles liaisons pouvant photoréagir.

Deux voies sont envisageables pour accéder au modèle désiré :

1/ SCHEMAS DE SYNTHÈSE RETENUS :

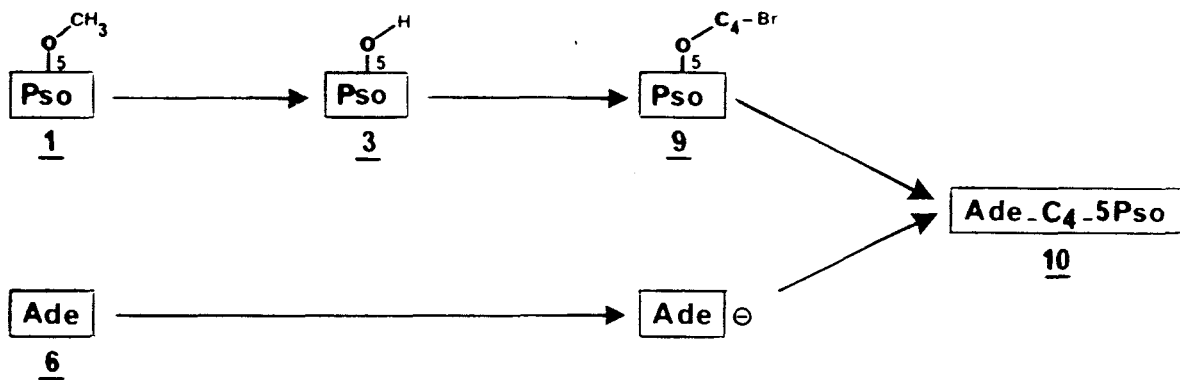
* VOIE 1 : Via la (bromo-4 butyl)-9 adénine 7 :



L'adénylate de sodium formé par action de l'hydrure de sodium sur l'adénine 6 est condensé sur le dibromo-1,4 butane (en excès) pour former la (bromo-4 butyl)-9 adénine 7.

L'intermédiaire 7 est ensuite condensé sur l'hydroxy-5 psoralène 3 obtenu par déméthylation du 5MOP 1, pour conduire au modèle attendu.

* VOIE 2 : Via le (bromo-4 butoxy)-5 psoralène 9 :



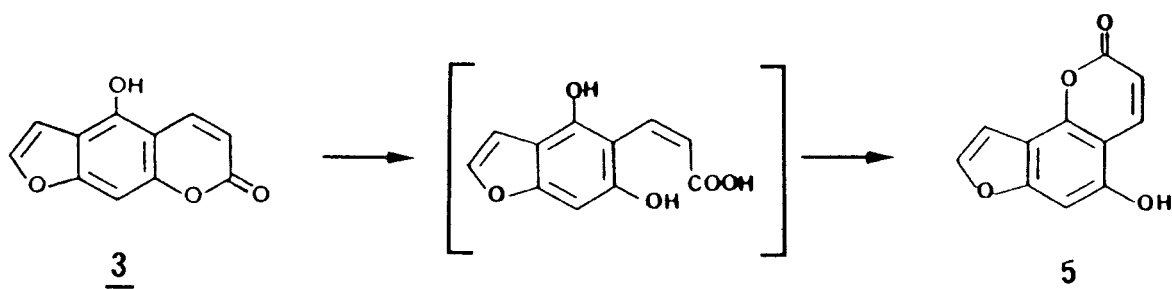
Le dérivé 9 obtenu par alkylation du 5HP 3 avec le dibromo-1,4 butane (en excès) pourra être condensé sur l'adénine 6 en milieu basique pour donner le composé recherché.

2. SYNTHÈSE DU MODÈLE Ade-C₄-5Pso 10 PAR LA VOIE 1 :

Dans un premier temps nous avons retenu la voie 1, étant donné le prix très élevé du 5MOP 1 celui-ci sera donc introduit le plus tard possible dans la synthèse.

a. Intermédiaires portant le noyau psoralène : Déméthylation du bergaptène 1 :

La réaction de désalkylation d'aryl alkyl éthers a été décrite dans la littérature (45-48) et différents réactifs ont été utilisés, mais peu d'exemples sont décrits dans le cas de la déméthylation du bergaptène 1. Les réactifs acides de type halogénures d'hydrogène ont été écartés dans notre cas, car ils conduisent à l'ouverture de la lactone. La refermeture de celle-ci conduit à l'isomérisation du bergaptol 3 en isobergaptol 5 selon le schéma suivant :



Les réactifs nucléophiles comme les hydroxydes, méthoxydes, éthoxydes etc... sont également utilisés mais ils nécessitent l'utilisation de conditions assez dures (température élevée, durée de réaction longue) et de plus ils peuvent se fixer sur la lactone.

Parmi ces réactifs nucléophiles, seuls l'iodure de magnésium dans l'éther (49, 50), le chlorhydrate de pyridine (51) et le tribromure de bore dans le dichlorométhane (52) ont été utilisés dans la déméthylation soit du 5MOP 1 (49, 51) soit du 8MOP 2 (52).

Sur le tableau 1, nous avons résumé les conditions opératoires et les rendements qui sont décrits dans la littérature :

Composé	Réactif	Solvant	Produit	Rendement %	Référence
5MOP <u>1</u>	MgI ₂	Ether	5HP <u>3</u>	40	49, 50
	PyH ⁺ , Cl ⁻	PyH ⁺ , Cl ⁻	5HP <u>3</u>	72-85	51
8MOP <u>2</u>	BBr ₃	CH ₂ Cl ₂	8HP <u>4</u>	58	52
	PyH ⁺ , Cl ⁻	PyH ⁺ , Cl ⁻	8HP <u>4</u>	75	39

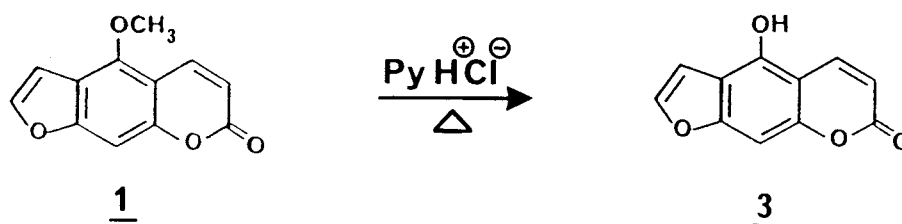
Tableau 1 : Conditions et rendements de la réaction de déméthylation du 5MOP 1 et 8MOP 2;

Avec l'iodure de magnésium, le rendement est faible, de l'ordre de 40 % (49, 50).

La méthode au chlorure de pyridinium très utilisée par l'équipe de R. ROYER (47) donne de très bons rendements.

Cette méthode a été utilisée par E. BISAGNI dans le cas du 8MOP 2 ; elle a été brevetée pour le 5MOP 1 par une équipe allemande en 1977 (51).

Nous avons choisi cette méthode pour préparer le bergaptol 3, car elle fournit un bon rendement (80-90 %).



La déméthylation du 5MOP 1 se fait dans le chlorure de pyridinium bien sec à l'état fondu (170-190°C). A côté du produit attendu 5HP 3 très majoritaire, on observe en CCM un sous-produit fluorescent qui est certainement l'isobergaptol 5.

La purification du 5HP 3 par chromatographie sur silice s'est avérée irréalisable en raison de la faible solubilité de ce composé et de la séparation difficile des deux isomères. Des essais de cristallisation dans de nombreux solvants n'ont pas permis d'éliminer l'impureté.

Dans la majorité des réactions de déméthylation réalisées sur le 5MOP 1, cette impureté n'est pas décelée dans le spectre de RMN du proton du produit obtenu. L'hydroxy-5 psoralène 3 a donc été utilisé sans aucune purification.

Les rendements sont très bons (85-90 %). Le composé 3 a été caractérisé par les méthodes physico-chimiques usuelles ; on distingue notamment sur le spectre de masse l'ion moléculaire ($M^+=202$). Le spectre de RMN du proton montre un singulet large ($\delta(\text{DMSO } d_6) = 11,25 \text{ ppm}$), correspondant au proton de la fonction phénol (échange avec D_2O). De plus, on note l'absence du signal des protons du groupe méthoxy ($\delta = 4,25 \text{ ppm}$) du produit de départ.

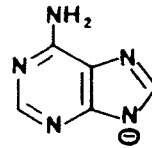
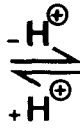
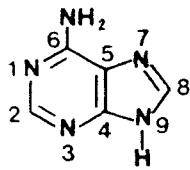
Nous avons également réalisé un essai de méthylation avec le diazométhane (dans le méthanol) du composé 3, qui a été suivi par CLHP. Le chromatogramme montre qu'on retrouve quantitativement le produit de départ 1.

Remarque :

La déméthylation du 8MOP 2 a été réalisée avec le même réactif mais à température plus élevée : 220°C (reflux du chlorure de pyridinium) au lieu de 170-190°C. Signalons que dans ce cas, aucun sous-produit n'a été observé, en raison de l'impossibilité d'isomérisation. L'hydroxy-8 psoralène 4 a été obtenu avec un rendement de 75 % (39).

b. Fonctionnalisation de l'adénine 6 :

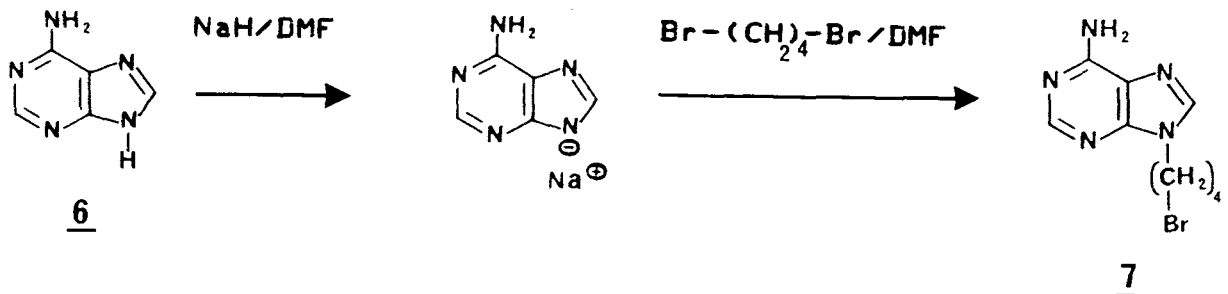
Dans l'ADN, l'adénine 6 est liée au désoxyribose par l'atome d'azote en position 9 et par analogie, l'adénine 6 sera donc fonctionnalisée sur cette position. La fonctionnalisation de l'adénine a été étudiée par N.J. LEONARD et Coll. (53, 54).



pKa=9,8

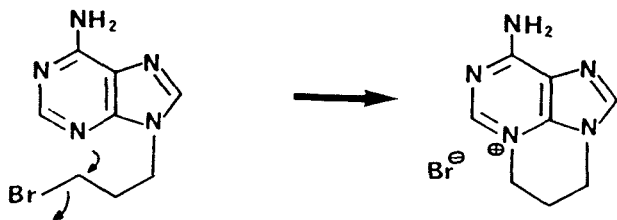
L'arrachement de l'atome d'hydrogène porté par l'atome d'azote en position 9 peut se faire par l'hydrure de sodium ou le carbonate de potassium.

c. Préparation de la (bromo-4 butyl)-9 adénine 7 :



La formation de l'adénylate de sodium par action de l'hydrure de sodium dans la DMF a été effectuée à température ambiante. L'adénylate de sodium formé a été ensuite condensé sur le dibromo-1,4 butane (en excès), toujours à température ambiante.

N.J. LEONARD et R.F. LAMBERT (54) ont obtenu par cette voie, la (bromo-3 propyl)-9 adénine avec un faible rendement (8 %), qui est expliqué par la cyclisation intramoléculaire résultant d'une attaque nucléophile de l'atome d'azote en position 3, assistée probablement par le groupement NH₂ en position 6.



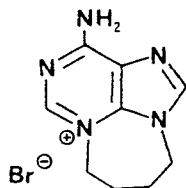
On peut penser limiter l'importance de cette réaction pour la chaîne à quatre atomes de carbone choisie : l'augmentation de la longueur de la chaîne devant conduire à la formation plus difficile d'un cycle à 7 chaînons.

Nous avons obtenu l'intermédiaire 7 avec un rendement de 30 %. Ceci confirme nos prévisions, mais cependant le sous-produit qui est sans doute issu de la cyclisation intramoléculaire reste majoritaire.

La structure du composé 7 a été confirmée par toutes ses caractéristiques spectroscopiques. Le spectre de masse montre bien l'ion moléculaire ($M^+=271$; Br^{81}) et ($M^+=269$; Br^{79}), de même que la coupure ($m/e=190$; $Ade-(CH_2)_4^+$).

Dans le spectre de RMN du proton, on trouve les protons de la fonction amine en position 6 (échange avec D_2O), les deux protons du noyau adénine H_2 et H_8 et les protons de la chaîne alcane.

* Caractérisation du composé de cyclisation intramoléculaire 8 :



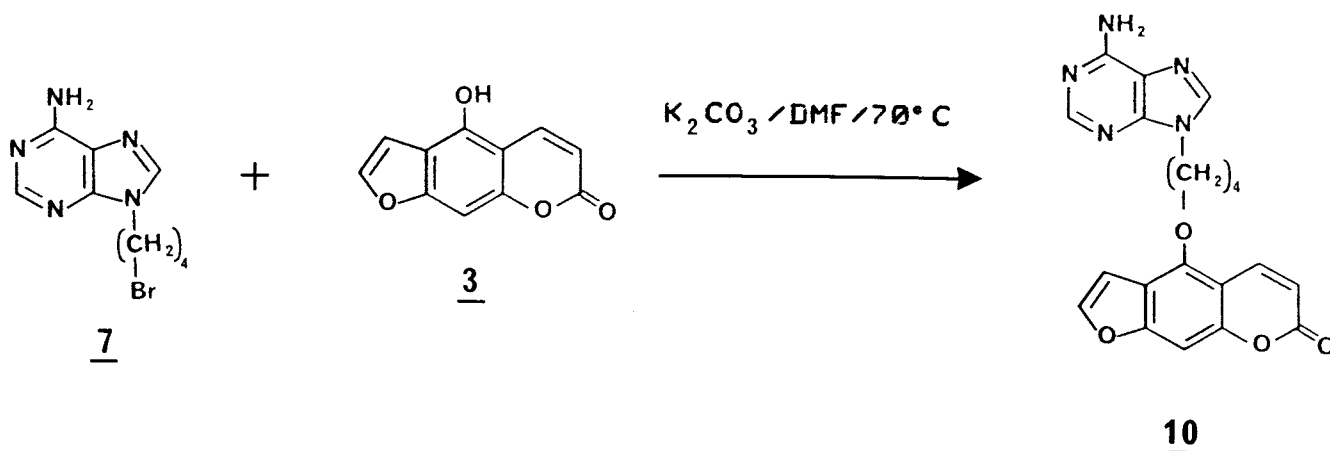
8

Le sous-produit 8 a été isolé et cristallisé dans le méthanol. Il est insoluble dans la plupart des solvants organiques. Son point de fusion (supérieur à 290°C avec décomposition) est beaucoup plus élevé que celui du dérivé 7 (140°C). La comparaison des spectres UV de ces deux composés montre un déplacement du maximum d'absorption de 6 nm vers le rouge pour le dérivé 8. Ceci révèle une modification du noyau adénine. L'analyse élémentaire et le spectre de RMN du proton confirment la structure proposée. Les protons H₂ et H₈ du noyau adénine ont été attribués par chauffage dans l'eau lourde (80°C, 3h). Dans ces conditions, le proton H₈ du cycle imidazole s'échange (55, 56) (nous constatons dans ces conditions une légère décomposition du produit).

d. Obtention du composé modèle Ade-C₄-5Pso 10 :

La condensation de l'hydroxy-5 psoralène 3 sur des composés électrophiles peut être réalisée à l'aide d'une base, comme l'hydrure de sodium (51) ou le carbonate de potassium (57), dans la N,N-diméthylformamide.

Nous avons retenu la méthode au carbonate de potassium qui a été utilisée dans la synthèse des modèles Ade-C_n-8Pso 11 (39).



La réaction de condensation de l'hydroxy-5 psoralène 3 sur la (bromo-4 butyl)-9 adénine 7 a été réalisée en présence de carbonate de potassium dans la DMF (70°C, 3 à 4 h).

La réaction a été suivie par CCM. Nous observons alors, en plus du produit attendu, la formation de sous-produits dont un en proportion importante. Ce sous-produit a été identifié comme étant le produit de cyclisation intramoléculaire du dérivé 7. Celui-ci a été mis en évidence, en plaçant dans les mêmes conditions, l'intermédiaire 7 sans le 5HP 3. Nous constatons alors qu'au bout de 3h30 de réaction tout le produit de départ 7 est converti en dérivé cyclisé 8.

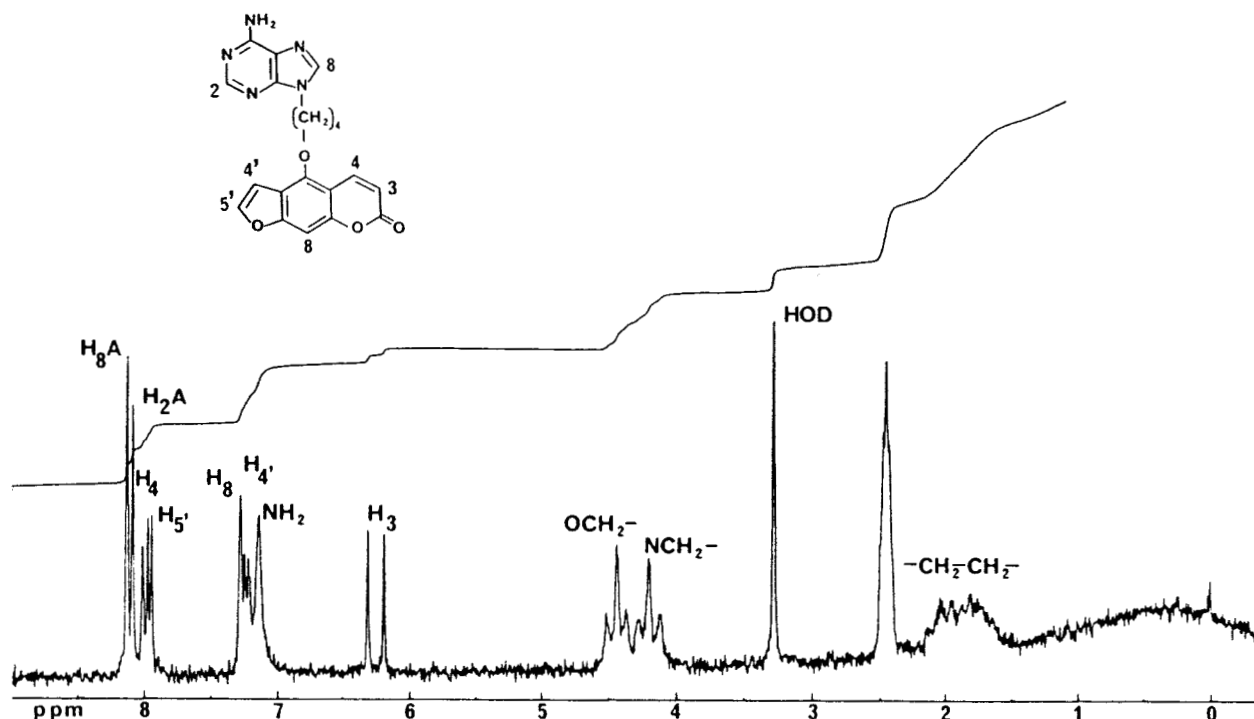
La purification par chromatographie sur silice du composé modèle Ade-C₄-5Pso 10 obtenu s'est avérée difficile en raison de sa solubilité très faible et des sous-produits formés. Nous avons obtenu le modèle désiré avec un rendement de 52 % après purification sur silice (élution à l'éthanol absolu).

Les spectres de masse en ionisation chimique (méthane) et en impact électronique montrent bien l'ion moléculaire ($M^+=391$).

Sur le spectre de RMN du proton, on retrouve à la fois les protons du noyau adénine, du noyau psoralène et de la chaîne alcane. L'attribution des protons H₂ et H₈ du noyau adénine a été réalisée par échange du proton H₈ (DMSO d₆, échange avec D₂O à 80°C pendant 3h) (55, 56).

L'analyse élémentaire obtenue confirme la structure proposée et la pureté du produit.

Spectre de RMN¹H (80MHz, DMSO d₆) du composé Ade-C₄-5Pso 10



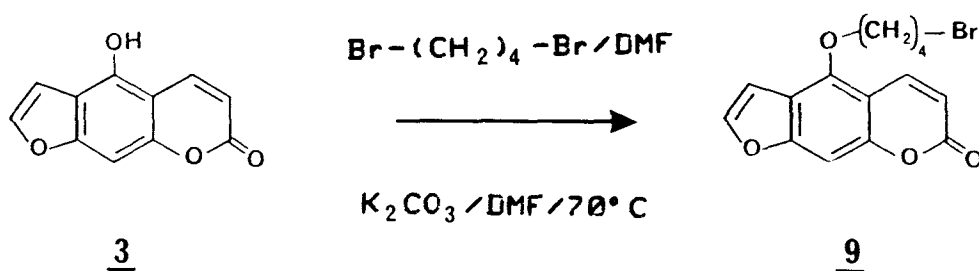
Il nous a semblé intéressant d'essayer la voie 2 afin de comparer les deux voies.

3. SYNTHÈSE DU COMPOSE Ade-C₄-5Pso 10 PAR LA VOIE 2 :

Dans cette voie, c'est l'hydroxy-5 psoralène ou bergaptol 3 qui sera d'abord fonctionnalisé puis condensé sur l'adénine 6.

a. Alkylation du bergaptol 3 :

L'alkylation du bergaptol 3 a été décrite dans la littérature (38, 51, 57). Nous avons retenu les conditions utilisées dans la synthèse des modèles Ade-C_n-8Pso 11 (39) et dans la synthèse du (bromo-2 éthoxy)-5 psoralène (38).



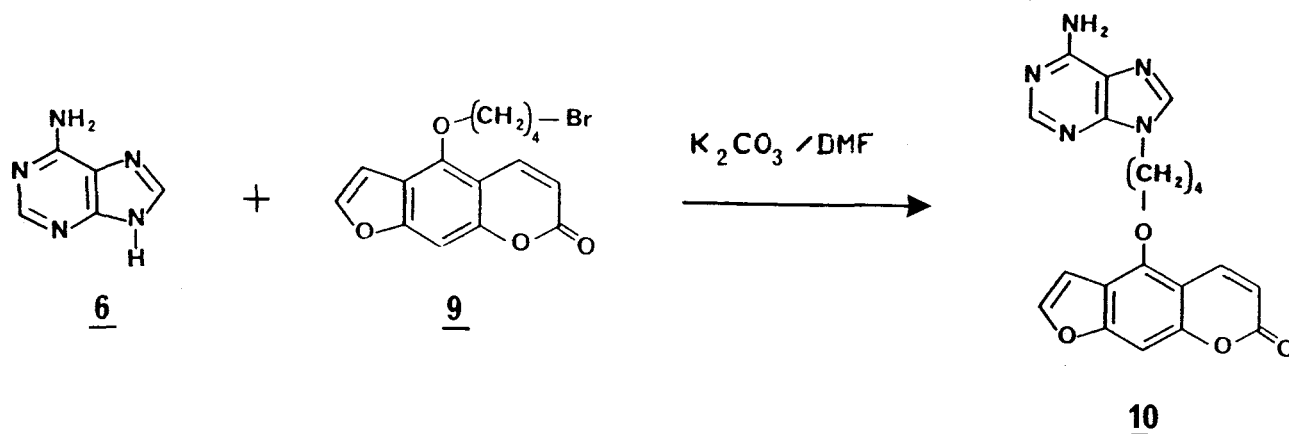
L'intermédiaire 9 est obtenu avec un rendement de 40 % après purification sur silice et cristallisation dans un mélange benzène-éther de pétrole (1:2) (57). Ce faible rendement s'explique par l'isomérisation du bergaptol dans les conditions utilisées et par les difficultés de purification qui en résultent.

On distingue sur le spectre de masse de l'intermédiaire 9 les ions moléculaires ($M^+=338$; Br⁸¹) et ($M^+=336$; Br⁷⁹).

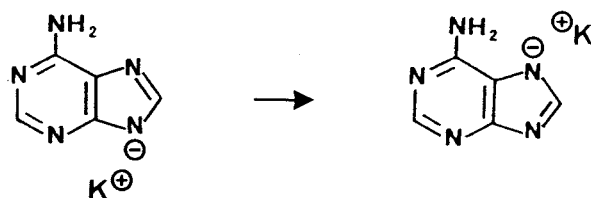
Le spectre de RMN du proton a confirmé la structure attendue.

b. Obtention du composé modèle 10 :

La condensation de l'adénine 6 sur le dérivé 9 se fait dans la DMF en présence de carbonate de potassium à température ambiante pendant 18 h.



La réaction est suivie par CCM. Contrairement à la condensation de la voie 1, nous n'observons qu'un seul sous-produit minoritaire, plus polaire que le produit attendu. On peut penser qu'il s'agit du produit d'alkylation sur l'atome d'azote N7, résultant de la délocalisation de la charge :



Le sous-produit n'a pas été isolé.

Le produit obtenu a été purifié par chromatographie sur silice (élution à l'éthanol absolu), puis cristallisé dans l'éthanol absolu. Le rendement est de 40 %. Toutes les caractéristiques physico-chimiques de ce produit sont identiques à celles du composé 10 obtenu par la voie 1. Le produit 10 obtenu par la voie 2 servira dans les études physico-chimiques et photochimiques.

4. COMPARAISON DES DEUX VOIES :

La voie 1 présente l'avantage de l'introduction du noyau psoralène dans la dernière étape de la synthèse et c'est pour cette raison qu'elle a été retenue en premier lieu.

L'inconvénient de cette voie réside dans les nombreux sous-produits formés, en particulier celui de cyclisation intramoléculaire de l'intermédiaire 7.

La différence entre les rendements des deux voies est faible :

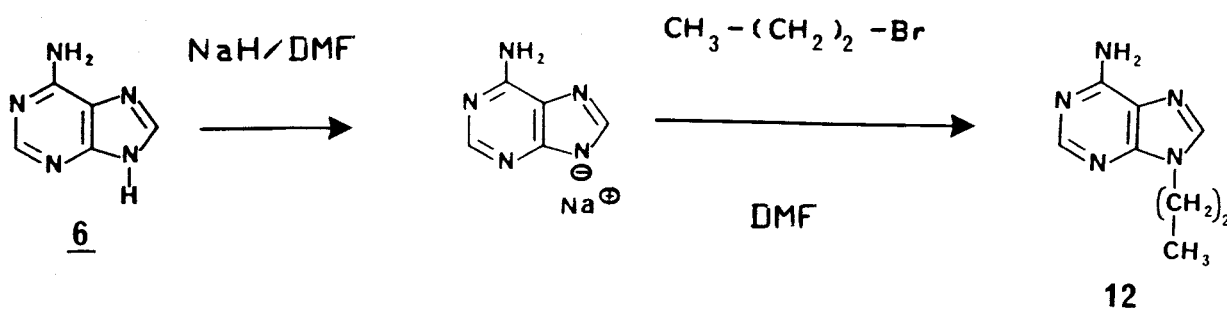
- Voie 1 : 52 % purifié sur silice mais non cristallisé
- Voie 2 : 40 % purifié sur silice et cristallisé, la purification finale par chromatographie sur silice étant l'étape limitante surtout pour des raisons de solubilité.

II. LES COMPOSES DE REFERENCE :

L'étude physico-chimique du modèle Ade-C₄-5Pso 10 nécessite la préparation de composés de référence, de façon à mesurer les propriétés spectroscopiques des deux noyaux aromatiques de la molécule en l'absence d'interaction.

Propyl-9 adénine Ade-C₃ 12

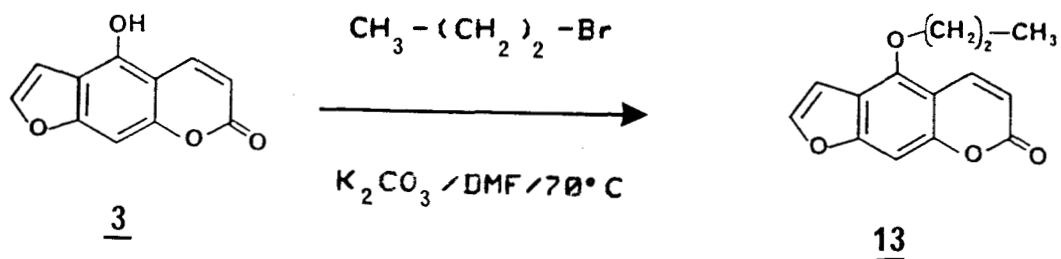
La propyl-9 adénine 12 a été préparée par J.L. DECOUT (39) selon la méthode de N.J. LEONARD et R.F. LAMBERT (54).



L'adénylate de sodium formé par action de l'hydrure de sodium, réagit avec le bromo-1 propane pour conduire au composé 12.

Propoxy-5 psoralène 5Pso-C₃ 13 :

La synthèse de ce composé a été décrite dans la littérature (58) mais avec des rendements faibles. Les conditions opératoires utilisées par G. HUART (38) donnent un rendement moyen (50 %).



L'hydroxy-5 psoralène 3 est condensé sur le bromo-1 propane, en présence de carbonate de potassium , à la température de 70°C pour conduire au composé 13.

B. ETUDE PHYSICO - CHIMIQUE

Nous avons synthétisé un composé modèle associant l'adénine au psoralène. Nous allons examiner la conformation de ce système de manière à étudier les interactions "d'empilement" intramoléculaires, base-psoralène telles qu'elles sont mises en jeu lors de l'intercalation du psoralène dans l'ADN.

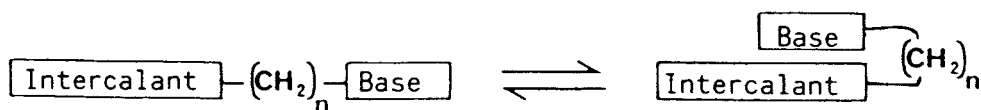
I. INTRODUCTION :

Précédemment, dans notre laboratoire, des composés analogues dans lesquels une base est associée par une chaîne polyméthylénique à un intercalant, quinoléine (35), acridine (36) ou psoralène (41, 59, 60), ont été étudiés.

Ces études avaient montré que :

1/ Ces composés adoptent dans l'eau des conformations repliées dans lesquelles les deux noyaux aromatiques sont empilés.

2/ Les interactions mises en jeu sont similaires à celles observées lors de l'intercalation des composés hétérocycliques "parents" dans l'ADN.



forme ouverte

forme repliée

L'étude physico-chimique du composé préparé Ade-C₄-5Pso 10 permettra ainsi d'étudier en solution aqueuse les interactions entre l'adénine et l'alcoxy-5 psoralène.

Cette étude pourra également apporter des renseignements sur les forces attractives, existant entre les deux chromophores. Il sera possible, en fonction de la complexation intramoléculaire, d'examiner la photoréactivité du noyau psoralène vis-à-vis de l'adénine.

Précédemment, deux techniques principales ont été utilisées pour étudier les interactions entre les bases nucléiques et les intercalants, la spectrophotométrie UV et la spectroscopie de RMN.

Dans la présente étude, nous nous sommes limités à une étude par RMN du proton.

II. ETUDE PAR RMN :

1. PRINCIPE DE LA METHODE :

La comparaison des déplacements chimiques des protons des cycles aromatiques empilés avec ceux des noyaux isolés montre un décalage des déplacements chimiques vers les champs forts. Ce phénomène est lié à l'anisotropie diamagnétique du cycle aromatique qui provoque un blindage des protons du cycle aromatique qui lui est superposé.

Cette propriété fournit des renseignements précieux pour étudier la géométrie de molécules présentant des interactions verticales. Elle a été mise à profit pour étudier les dinucléotides (61, 62), les bis-intercalants de type acridine (63, 64) et les modèles base-intercalant qui ont été préparés au laboratoire (35d, 36).

2. ETUDE DANS L'EAU :

a. Enregistrement des spectres :

Le composé Ade-C₄-5Pso 10 et les "demi-molécules" de référence Ade-C₃ 12, 5Pso-C₃ 13 sont très peu solubles dans l'eau lourde. Nous avons donc utilisé un mélange D₂O-DMSO d₆ (95:5). Les concentrations utilisées sont de 10⁻⁴ et 5.10⁻⁵M pour le composé 10, et de 5.10⁻⁵M pour la référence Ade-C₃ 12. Quand à la référence 5Pso-C₃ 13, en raison de son insolubilité à cette concentration, une solution à 2.10⁻⁵M a été étudiée.

L'attribution des protons de l'adénine a été réalisée par échange du proton H₈ dans le même mélange à la température de 80°C pendant 3h. Cet échange a été décrit dans la littérature (55, 56).

b. Résultats :

Nous constatons sur les spectres obtenus une variation des déplacements chimiques (blindage) de certains protons aromatiques du modèle, comparés à ceux des références (tableau 2).

La formation d'agrégats est à exclure car les déplacements chimiques à une concentration double (10⁻⁴M) sont identiques (tableau 2).

Il s'agit donc d'un processus intramoléculaire que l'on interprète comme reflétant une interaction d'empilement entre le noyau du psoralène et la base.

Composé	mol/l	H ₄	H ₅	H ₈	H _{4'}	H ₃	H _{8A}	H _{2A}
Ade-C ₃ <u>12</u>	5.10 ⁻⁵						8,10	8,02
5Pso-C ₃ <u>13</u>	2.10 ⁻⁵	8,32	7,67	7,22	7,06	6,26		
Ade-C ₄ -5Pso <u>10</u>	5.10 ⁻⁵	8,00	7,58	7,01	6,79	6,16	7,745	7,66
	10 ⁻⁴	7,99	7,58	7,00	6,78	6,155	7,745	7,66

Tableau 2 : Etude en RMN¹H (400MHz) du composé Ade-C₄-5Pso 10 et des composés de référence Ade-C₃ 12, 5Pso-C₃ 13. Spectres enregistrés dans un mélange D₂O-DMSO d₆ (95:5) à 25°C.

Les valeurs de blindage ($\Delta\delta$) ont été obtenues par différence entre les déplacements chimiques des protons des composés de référence et ceux du modèle :

$$\Delta\delta \text{ (ppm)} = \delta \text{ référence (ppm)} - \delta \text{ modèle (ppm)}$$

Ces valeurs ont été comparées à celles obtenues pour le modèle Ade-C₄-8Pso 11d (39). L'ensemble de ces valeurs est reporté dans le tableau 3.

Proton	H ₄	H ₅	H ₈	H ₅	H _{4'}	H ₃	H _{8A}	H _{2A}
Ade-C ₄ -5Pso <u>10</u>	0,32	0,09	0,21	-	0,27	0,10	0,37	0,34
Ade-C ₄ -8Pso <u>11d</u>	0,10	0,10	-	0,23	0,10	0,06	0,37	0,34

Tableau 3 : Valeurs de blindage $\Delta\delta$ en ppm obtenues pour les complexes intramoléculaires formés lors du repliement dans le mélange D₂O-DMSO d₆ (95:5) des composés Ade-C₄-5Pso 10 et Ade-C₄-8Pso 11d à 25°C.

c. Discussion :

* **Rappel des résultats antérieurs :**

Une étude plus fine avait été menée sur le composé analogue de la série 8 Ade-C₄-8Pso 11d. La conclusion majeure en était que ce modèle adopte dans l'eau à 25°C des conformations privilégiées dans lesquelles les deux noyaux aromatiques sont empilés. Le degré de repliement avait été estimé à 70-80% dans l'eau contenant 5 % d'un solvant organique.

Ces conclusions étaient étayées par les observations suivantes :

- En spectrophotométrie UV, un effet hypochrome* %H avait été observé (60). Cet effet est caractéristique de l'empilement de deux chromophores. Il est également observé lors de l'intercalation des psoralènes dans l'ADN (18). Sa valeur reflète le pourcentage de forme repliée. Une étude de l'effet hypochrome en fonction de la température avait également été menée (figure 3).

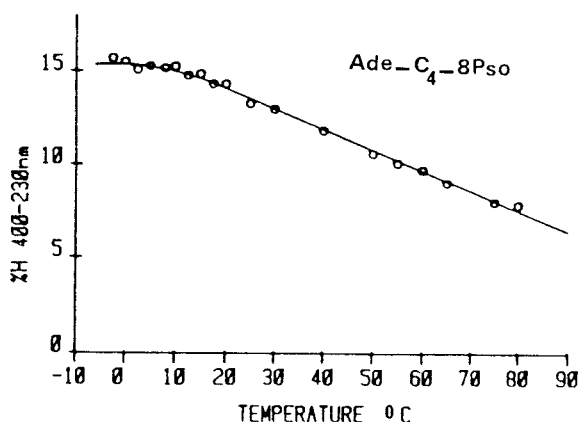


Figure 3 : Variation de l'effet hypochrome %H (mesuré entre 400 et 230 nm) avec la température pour le composé Ade-C₄-8Pso 11d en solution dans le mélange eau-éthanol (95:5).

* Diminution de l'intensité du spectre d'absorption du modèle par rapport à l'intensité de la somme des spectres des composés de référence. Cet effet peut être mesuré de façon précise dans un domaine d'absorption par intégration des différents spectres.

La diminution de %H avec l'augmentation de température révèle une ouverture progressive du système. L'obtention d'un palier aux basses températures correspondant à une valeur maximale de l'effet hypochrome %H max, peut être interprétée comme significative d'un repliement total du système à ces températures.

La connaissance de cette valeur maximale avait permis d'estimer entre 70 et 80 % le degré de repliement du modèle Ade-C₄-8Pso 11d dans le mélange eau-éthanol (95:5) à 25°C.

- L'étude de la fluorescence* du composé Ade-C₄-8Pso 11d avait confirmé ces conclusions.

Le noyau alcoxy-8 psoralène est le seul chromophore du système Ade-C₄-8Pso émettant une fluorescence décelable.

En l'absence d'interactions entre l'adénine et le psoralène, le spectre d'excitation de fluorescence du modèle doit donc être superposable au spectre d'absorption de la partie psoralène du système. Ce spectre d'absorption peut être obtenu facilement à partir du composé de référence, le propoxy-8 psoralène 8Pso-C₃ placé dans les mêmes conditions. Dans l'eau, il n'en est rien, le spectre d'excitation de fluorescence du modèle se superpose à son propre spectre d'absorption. Il y a donc transfert d'énergie entre les états excités singulet des deux chromophores :



Un tel transfert implique une grande proximité des deux chromophores et confirme l'empilement des deux noyaux. L'efficacité de ce transfert peut être déterminée en comparant les différents spectres. Cette efficacité reflète le degré de repliement du système. Sa valeur voisine de 100 % à 20°C dans l'eau pure confirme les résultats de l'étude UV.

* Collaboration avec le laboratoire du Dr. R. BENSASSON au Muséum National d'Histoire Naturelle.

- Comme pour le composé Ade-C₄-5Pso 10 étudié ici, une étude en RMN du proton du modèle Ade-C₄-8Pso 11d dans le mélange D₂O-DMSO d₆ (95:5) avait montré des blindages importants des protons aromatiques par rapport à ceux des composés de référence (tableau 3).

A partir de la valeur du degré de repliement à 25°C obtenue lors de l'étude UV, une extrapolation avait conduit aux valeurs de blindage attendues pour le complexe intramoléculaire. Le courant de cycle de l'adénine et les courbes d'iso-écran (figure 4) qui en découlent ayant été calculées (65), il a été possible de proposer deux géométries pour le complexe formé lors du repliement du modèle Ade-C₄-8Pso (figure 5).

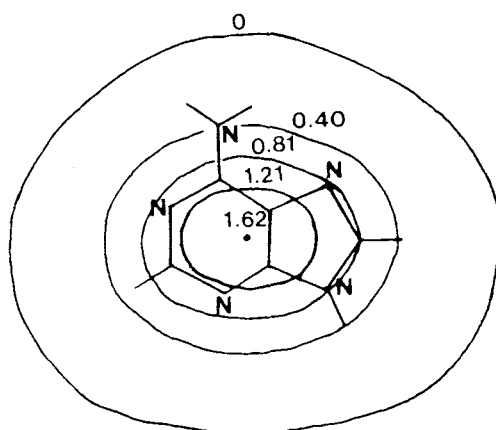


Figure 4 : Courbes d'iso-écran calculées pour l'adénine (valeurs en ppm).



Figure 5 : Structures proposées pour le complexe intramoléculaire formé lors du repliement du composé Ade-C₄-8Pso 11d.

* Discussion :

Pour le modèle en série 5, nous nous sommes limités à une étude en RMN. La détermination du degré de repliement du composé Ade-C₄-5Pso 10 par spectrophotométrie UV nous a semblé très délicate. En effet, pour ce faire, il faut mesurer l'effet hypochrome dans l'eau à des températures situées entre 0 et 5°C de façon à déterminer la valeur de %H max correspondant à un repliement total. Cependant, une étude précédente (38, 41) réalisée sur un composé modèle de la thymine en série 5, Thy-C₄-5Pso, avait montré que la mesure de l'effet hypochrome présenté par ce modèle, n'était pas possible dans la gamme de température 0-7,5°C en raison de l'insolubilité du composé de référence 5Pso-C₃ 13 dans ces conditions. Le 5MOP 1 avait d'ailleurs été essayé comme référence pour sa meilleure solubilité dans l'eau mais sans succès.

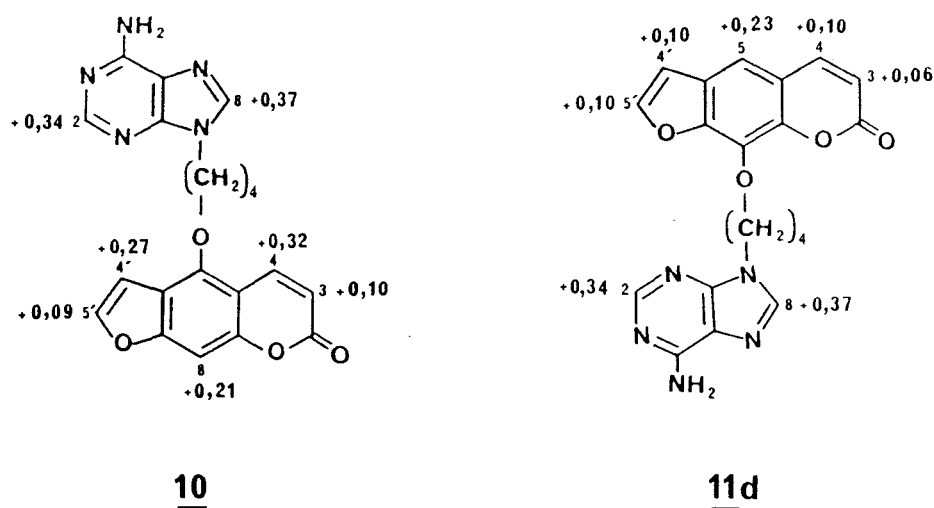


Figure 6 : Comparaison des valeurs de blindage $\Delta\delta$ en ppm obtenues lors de l'étude des composés Ade-C₄-5Pso 10 et Ade-C₄-8Pso 11d dans le mélange D₂O-DMSO d₆ (95:5) à 25°C.

Malgré l'impossibilité d'une étude UV fine, un certain nombre de remarques intéressantes peuvent être formulées à partir des valeurs de blindage obtenues par RMN dans les deux séries (figure 6).

1/ Les valeurs de blindage des deux protons H_2 , H_8 de l'adénine sont très importantes et sont identiques dans les deux séries (respectivement 0,34 et 0,37 ppm). Bien qu'à notre connaissance les courbes d'iso-écran des méthoxy-5 et 8 psoralènes n'aient pas été calculées, on peut penser que ces valeurs sont significatives de degrés de repliement très élevés et tout à fait comparables pour les deux composés Ade- C_4 -5Pso 10 et Ade- C_4 -8Pso 11d.

2/ Des valeurs très voisines des degrés de repliement rendent également compte des différences de blindage observées sur les protons des deux noyaux psoralènes (figure 6) :

En effet, si on examine la géométrie proposée pour le complexe de repliement du composé Ade- C_4 -8Pso 11d (figure 5), on constate un recouvrement des noyaux très important avec des effets de blindage qui s'exercent surtout sur le proton H_5 du noyau psoralène. Les effets du courant de cycle de l'adénine les plus marqués se situent dans une région du psoralène ne comportant pas de protons.

Par contre, si on examine la géométrie permise pour un repliement analogue du composé Ade- C_4 -5Pso 10, on s'aperçoit qu'en raison de l'accrochage de la chaîne sur une position opposée du noyau psoralène (c'est à dire en 5), les protons H_4 , $H_{4'}$ et H_8 devraient être les plus affectés par le recouvrement.

Ceci est bien le cas (figure 7) ; on trouve des valeurs de blindage de 0,32 ppm pour H_4 (0,10 ppm pour H_3), 0,27 ppm pour $H_{4'}$ (0,09 ppm pour H_5 .) et 0,23 ppm pour H_8 .

3/ En attribuant des degrés de repliement très proches (de 70 à 80 %) aux composés Ade- C_4 -5Pso 10 et Ade- C_4 -8Pso 11d, et à partir des valeurs de blindage expérimentales, nous pouvons proposer deux géométries pour le complexe du composé Ade- C_4 -5Pso 10, géométries qui sont en accord avec les courbes d'iso-écran calculées pour l'adénine.



Figure 7 : Structures proposées pour le complexe intramoléculaire formé lors du repliement du composé Ade-C₄-5Pso 10.

4/ Précédemment, les composés modèles de la thymine Thy-C₄-8Pso et Thy-C₄-5Pso ont été étudiés. Une étude UV avait montré que les deux composés présentent dans le mélange eau-éthanol (95:5) des degrés de repliement voisins de 50 % environ (effets hypochromes entre 400 et 230 nm très proches Thy-C₄-8Pso : 9 %, Thy-C₄-5Pso : 8,5 % ; les droites %H en fonction de la température sont proches, l'écart à une même température est toujours inférieur à 10 %). Une étude RMN avait également confirmé ces conclusions.

Tous ces résultats sont en faveur de comportements très voisins des modèles des séries 5 et 8.

3. ETUDE DANS LE DMSO d₆ :

Les spectres du composé Ade-C₄-5Pso 10 et ceux des composés de référence Ade-C₃ 12 et 5Pso-C₃ 13, ont également été enregistrés dans le DMSO d₆ à des concentrations d'environ 10⁻³M. Les valeurs des déplacements chimiques mesurés sont indiquées dans le tableau 4.

Composé	H ₄	H ₅	H ₈	H _{4'}	H ₃	H _{8A}	H _{2A}	NH _{2A}
Ade-C ₃ <u>12</u>						8,07	8,07	7,10
5Pso-C ₃ <u>13</u>	8,15	7,97	7,30	7,25	6,26			
Ade-C ₄ -5Pso <u>10</u>	8,11	7,99	7,30	7,25	6,27	8,12	8,09	7,14

Tableau 4 : Etude en RMN¹H (80 MHz) du composé modèle Ade-C₄-5Pso 10 et des composés de référence Ade-C₃ 12, 5Pso-C₃ 13 ; C=10⁻³M (spectres enregistrés dans le DMSO d₆ à 25°C).

On ne constate pas de variations significatives des déplacements chimiques des protons aromatiques lorsque l'on passe des composés de référence au modèle. Il n'y a donc pas de repliement dans le DMSO d₆.

Des résultats analogues avaient été obtenus pour les composés Ade-C_n-8Pso, Thy-C_n-8Pso et Thy-C_n-5Pso :

- En UV, on n'observe pas (ou très peu) de repliement dans l'éthanol et le dichlorométhane (%H très proche de zéro).
- En RMN, on constate l'absence totale de repliement dans le CDCl₃ et le DMSO d₆ (spectres des modèles et des composés de référence superposables).

III. CONCLUSION :

Les résultats de l'étude en RMN du composé Ade-C₄-5Pso 10 permettent de conclure que le système est le siège d'interactions intramoléculaires fortes dans l'eau. Par comparaison de ces résultats avec ceux déjà obtenus, le degré de repliement de ce composé a été évalué à 70-80 %.

En accord avec les courbes d'iso-écrans calculées pour l'adénine, deux géométries peuvent être proposées pour le complexe formé.

Le repliement disparaît complètement dans le DMSO d_6 , ce qui confirme la nature hydrophobe des interactions psoralène-base nucléique.

Enfin, ces résultats ne montrent pas de différences notables entre alcoxy-5 et alcoxy-8 psoralènes dans leurs affinités pour l'adénine d'une part et la thymine d'autre part (leurs affinités pour l'adénine étant nettement plus importantes que pour la thymine).

C. ETUDE PHOTOCHEMIQUE

I. INTRODUCTION :

L'étude physico-chimique du composé Ade-C₄-5Pso 10 a permis de mettre en évidence les interactions "d'empilement" entre le noyau psoralène et le noyau adénine dans l'eau, alors qu'aucune interaction ne se produit en milieu organique. L'étude de sa photoréactivité était donc à mener en tenant compte de ce résultat : selon la nature du solvant, on peut étudier le comportement photochimique du système ouvert (solvants organiques) ou de la forme repliée (dans l'eau, complexe de même nature que celui formé lors de l'intercalation du psoralène dans l'ADN).

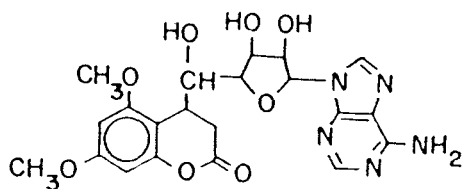
Rappelons tout d'abord, les principaux résultats de la littérature concernant la photoréactivité adénosine-psoralène.

En 1967, l'équipe de C.H. KRAUCH (66) a remarqué une photoréaction du psoralène (¹⁴C₄) avec l'acide polyadénylique (par mesure de la radioactivité fixée sur le polymère).

Quelques années plus tard, C.N. OU et P.S. SONG (67) mirent en évidence la fixation photochimique du 8MOP 2 marqué au tritium (³H) sur l'adénosine d'un ARN de transfert (après irradiation du 8MOP 2 (³H) en présence d'un ARN de transfert, hydrolyse de l'ARN de transfert modifié (³H), séparation des nucléosides et mesure de la radioactivité).

Tout récemment J. CADET et Coll. (68, 69) ont mis en évidence une fixation photochimique du 8MOP 2 et du carbéthoxy-3 psoralène sur la désoxy-2' adénosine, après irradiation du mélange à l'état solide. Dans le cas du 8MOP 2, deux "adduits" principaux ont été identifiés. Ils rendent compte d'une fixation de l'atome de carbone en position 3 ou 4 du 8MOP 2 sur l'atome de carbone en position 5' de la désoxy-2' adénosine.

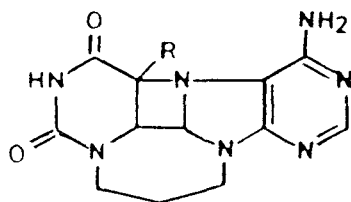
Le même type de composé a été obtenu par S.C. SHIM et Coll. (70) lors de l'irradiation d'un mélange d'adénosine et de diméthoxy-5,7 coumarine à l'état solide :



Photoproduit de la photoréaction
adénosine-diméthoxy-5,7 coumarine

Dans tous ces résultats, on ne trouve aucune évidence de la fixation du psoralène sur le noyau adénine.

Cependant il a été montré à l'aide de systèmes bichromophores que les doubles liaisons 7,8 de l'adénine et 4,5 de l'oxo-6 purine peuvent s'additionner photochimiquement sur la double liaison 5,6 des bases pyrimidiques (42).



La formation d' "adduits" entre la thymine et l'adénine a ensuite été observée dans des oligonucléotides et dans l'ADN (43).

Après ces travaux, la question de l'existence d'une photoaddition entre l'adénine et le psoralène reste posée. Les systèmes bichromophores adénine-psoralène semblent bien adaptés pour répondre à cette question.

II. RESULTATS :

Nous présentons ici quelques résultats concernant l'irradiation du composé Ade-C₄-5Pso 10 dans l'eau et dans les solvants organiques.

1. IRRADIATION DANS LE MELANGE EAU-ETHANOL (95:5) :

En raison de l'insolubilité du composé Ade-C₄-5Pso 10 dans l'eau, nous avons utilisé un mélange eau-éthanol (95:5).

Le composé modèle Ade-C₄-5Pso 10 est irradié à 365 nm en solution désoxygénée dans le mélange eau-éthanol (95:5) à une concentration de $3 \cdot 10^{-5}$ M. On constate que quelle que soit la durée d'irradiation (1 à 14h), le modèle de départ ne subit pas de modifications significatives (dans les mêmes conditions le modèle Thy-C₄-5Pso se cyclise pour donner l' "adduit" intramoléculaire thymine-psoralène en 3,4).

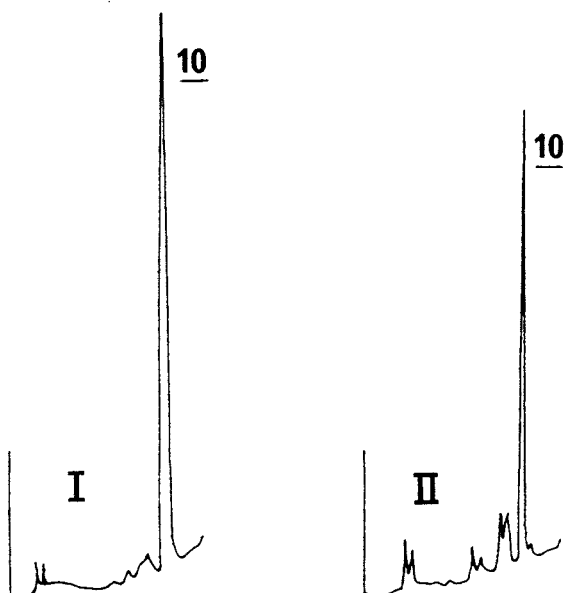


Figure 8 : Chromatogrammes CLHP de solutions du composé Ade-C₄-5Pso 10 irradiées à 365 nm ; H₂O-EtOH (95:5) : C = $3 \cdot 10^{-5}$ mol/l. I : 1h d'irradiation ; II : 14h d'irradiation.

2. IRRADIATION DANS LES SOLVANTS ORGANIQUES :

Nous avons irradié à 365 nm le composé Ade-C₄-5Pso 10 en solution désoxygénée dans trois solvants, l'acétonitrile, la N,N-diméthylformamide et l'éthanol absolu.

En solution "concentrée" ($6.10^{-4}M$) dans ces trois solvants, on constate par CLHP la formation d'un seul et même photoproduit avec un taux de conversion d'environ 50 %.

Cependant, des résultats antérieurs dans la série des composés Thy-C_n-5Pso, avaient montré que l'irradiation dans ces solvants à des concentrations supérieures à $5.10^{-5}M$ conduit uniquement à la formation de dimères (photoaddition des doubles liaisons 3,4 de deux noyaux psoralènes).

Le composé Ade-C₄-5Pso a été irradié dans l'acétonitrile, la DMF et l'éthanol absolu à une concentration beaucoup plus faible ($3.10^{-5}M$) afin d'éviter une éventuelle et probable dimérisation. Dans ces conditions, on observe en CLHP, un mélange de photoproduits très complexe dans lequel on détecte la présence du photoproduit formé à concentration plus élevée.

Nous n'avons pas cherché à isoler ces photoproduits en raison de leurs très faibles concentrations et de la complexité du mélange.

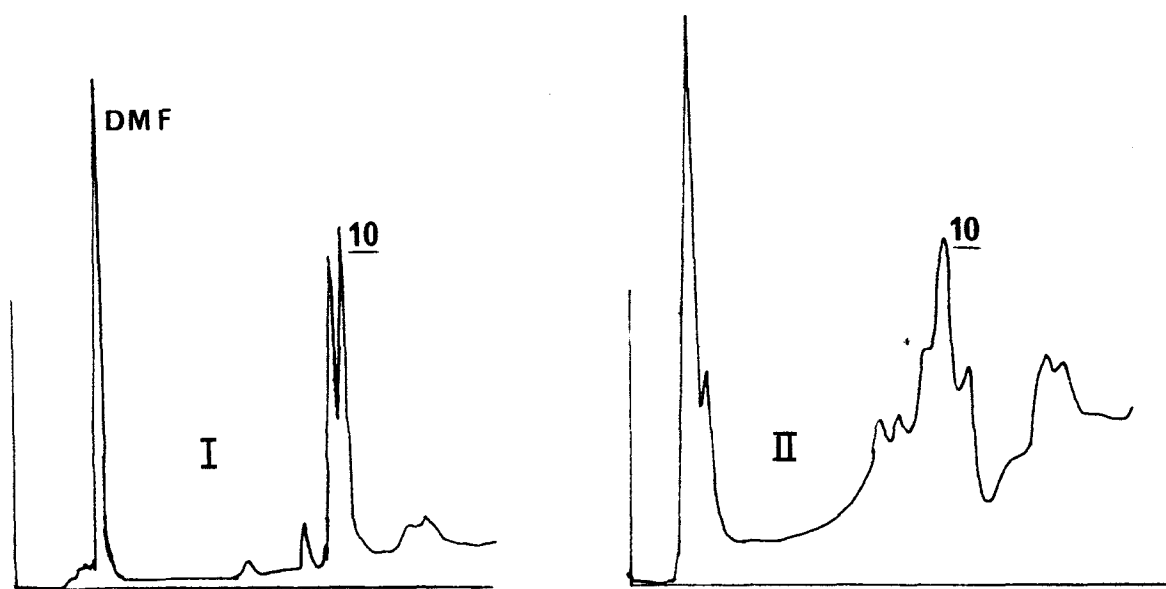


Figure 9 : Chromatogrammes CLHP de solutions du composé Ade-C₄-5Pso 10 irradiées à 365 nm. I : DMF ; C= 6.10^{-4} mol/l ; 3h d'irradiation. II : CH₃CN ; C= 3.10^{-5} mol/l ; 1h d'irradiation.

III. CONCLUSION :

La photoréactivité du composé Ade-C₄-5Pso 10 s'est révélée fortement influencée par la nature du solvant utilisé. Ce comportement peut être relié aux résultats de l'étude physico-chimique.

Dans les solvants organiques, ce composé se trouve uniquement sous la forme ouverte et dans ces conditions, il présente une certaine photoréactivité. Cependant en raison de la complexité des réactions observées en milieu très dilué, les photoproduits n'ont pas été isolés. Une réaction prépondérante se produit en solution "plus concentrée" ($6.10^{-4}M$), ceci quel que soit le solvant (CH₃CN, DMF, EtOH). Dans ces conditions la probabilité d'une dimérisation est grande ; et c'est pourquoi pour l'instant nous n'avons pas essayé d'isoler le produit formé.

Le résultat important de cette étude s'avère être la grande stabilité photochimique du composé 10 dans l'eau. Dans ces conditions, ce composé existe essentiellement sous une forme repliée. L'irradiation de ce complexe n'induit pas de photoréaction.

D'autre part, nous pouvons souligner l'absence de photodimérisation dans ces conditions. Celle-ci est observée lors de l'irradiation des composés de la série Thy-C_n-5Pso dans des conditions similaires. Une explication à ce résultat pourrait se trouver dans l'inhibition du peuplement de l'état excité triplet du psoralène par l'adénine complexée, inhibition qui ne se produirait que dans l'eau.

Un comportement photochimique très proche avait été observé pour le composé Ade-C₄-8Pso 11d, une grande stabilité photochimique dans l'eau et la formation de photoproduits instables en milieu organique avaient été mis en évidence.

Cette étude révèle une grande similitude de comportements des alcoxy-5 et 8 psoralènes vis-à-vis de l'adénine au niveau des interactions moléculaires et également au niveau photochimique.

La question de la photoréactivité adénine-psoralène reste posée. L'isolement et la caractérisation des photoproduits observés en milieu organique semblent difficiles (instabilité, problèmes de séparation). En raison du temps nécessaire à un tel travail et de l'incertitude des résultats, nous avons préféré avancer vers notre second objectif.

C H A P I T R E I I

- - o o O o o - -

S E R I E D U M E T H O X Y - 5 P S O R A L E N E

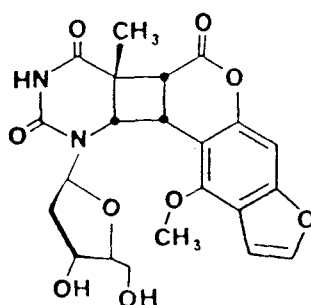
C O M P O S E S A S S O C I A N T

T H Y M I D I N E E T P S O R A L E N E

A.

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

Le deuxième objectif que nous nous sommes fixés est la mise au point d'une voie d'accès préparative aux "adduits" thymidine-psoralène et en particulier à l'adduit thymidine (5,6 \diamond 3,4) méthoxy-5 psoralène cis-anti :



Thd (5,6 \diamond 3,4) 5MOP

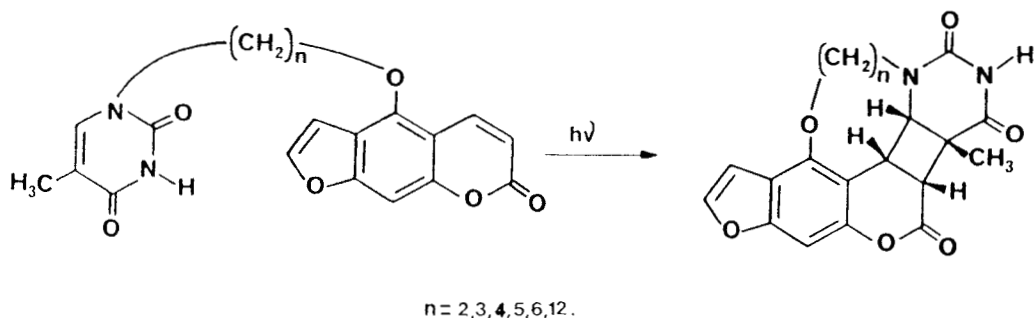
Actuellement, de tels "adduits" ne peuvent pas être préparés en quantité importante. La photodimérisation très rapide des psoralènes empêche toute étude de la réaction intermoléculaire thymidine-psoralène en solution. Comme nous l'avons vu dans notre introduction (p. 10) c'est seulement à partir de 1981 (23, 24) que les "adduits" thymine ou thymidine-psoralène ont été isolés et complètement caractérisés (pour revue, voir 28). C'est la réalisation de la photoréaction dans des systèmes figés, tels des solutions gelées ou des mélanges solides qui permet de limiter la dimérisation du psoralène. Mais cette approche n'est pas sélective : de nombreux isomères difficiles à séparer sont obtenus avec des rendements en produits transformés très faibles (1 à 2 %).

Cette méthode est encore limitée par l'utilisation d'excès de thymidine (10 fois pour limiter la dimérisation) et par la grande surface* de

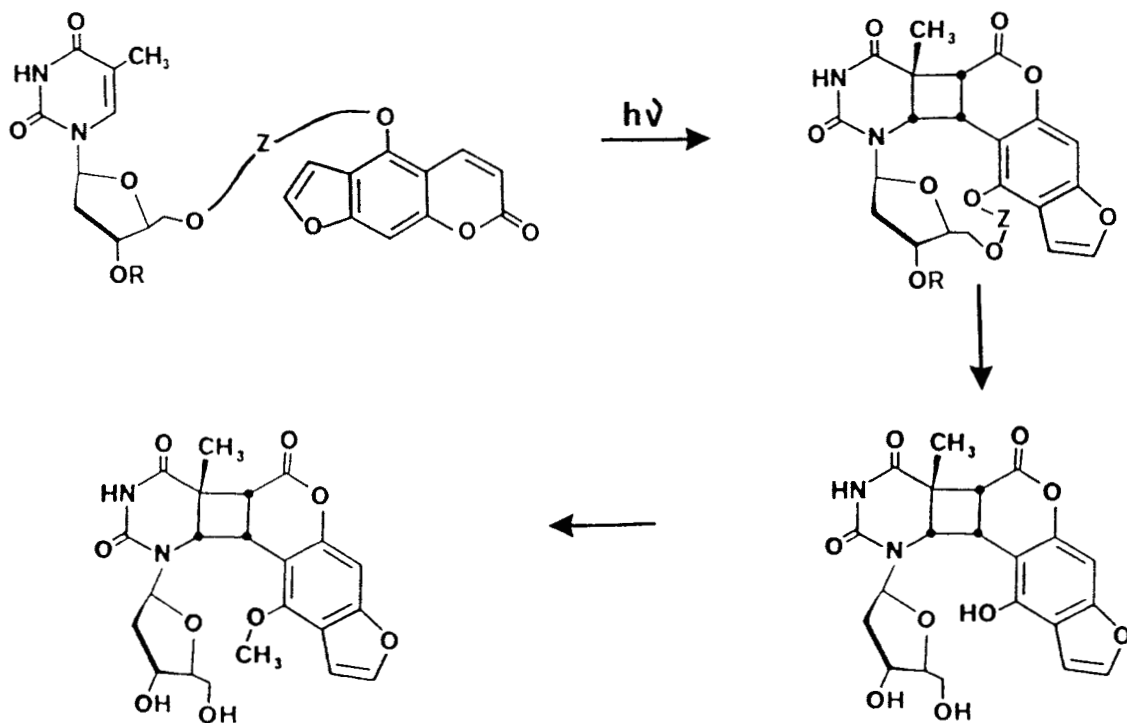
* ou nombre d'irradiations successives nécessaires à la transformation de quantités importantes de produit.

films à irradier compte-tenu de la très faible pénétration de la lumière dans les solides. Il n'est donc pas envisageable d'utiliser cette méthode à des fins préparatives.

L'idée de départ de ce travail est la mise à profit de la photoaddition intramolécule thymine-psoralène mis en évidence au cours de travaux antérieurs :



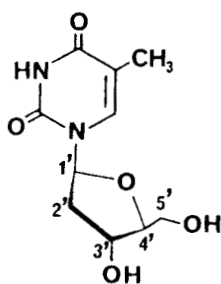
En remplaçant la thymine par la thymidine et la chaîne alcane par une chaîne pouvant être éliminée, on peut penser utiliser l'approche intramolécule pour préparer un "adduit" thymidine (5,6 \diamond 3,4) psoralène cis-anti :



BU
LILLE

La première partie de ce travail consistera en la synthèse de composés associant la thymidine au psoralène par une chaîne hydrolysable et si possible stable photochimiquement (dans nos conditions d'irradiation, à 365 nm).

Les modèles moléculaires semblent montrer que le point d'accrochage de la chaîne sur la thymidine, le plus favorable à la photoaddition est la fonction hydroxyle 5' du désoxyribose (plutôt que la fonction hydroxyle 3').

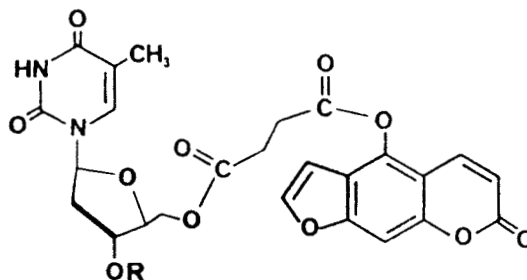
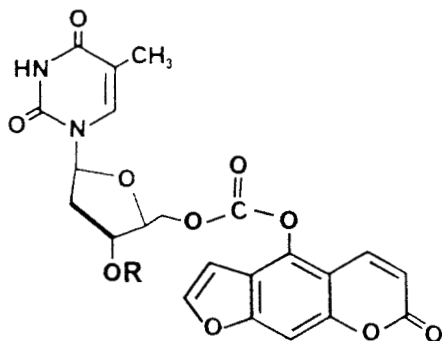


Thymidine **14**

Les résultats antérieurs, dans la série des chaînes alcanes, n'ont pas montré d'influence de la longueur de la chaîne (de 2 à 12 atomes de carbone), sur la nature de la photoaddition.

Nous avons retenu deux types de chaîne hydrolysable : carbonate avec $Z = \text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{--}$ et diester de l'acide succinique avec $Z = \text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{--}(\text{CH}_2)_2\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{--}$.

Les composés à synthétiser sont les suivants :



B. COMPOSES ASSOCIANT LA THYMIDINE
PAR SA POSITION 5' AU PSORALENE :

I. SYNTHESE :

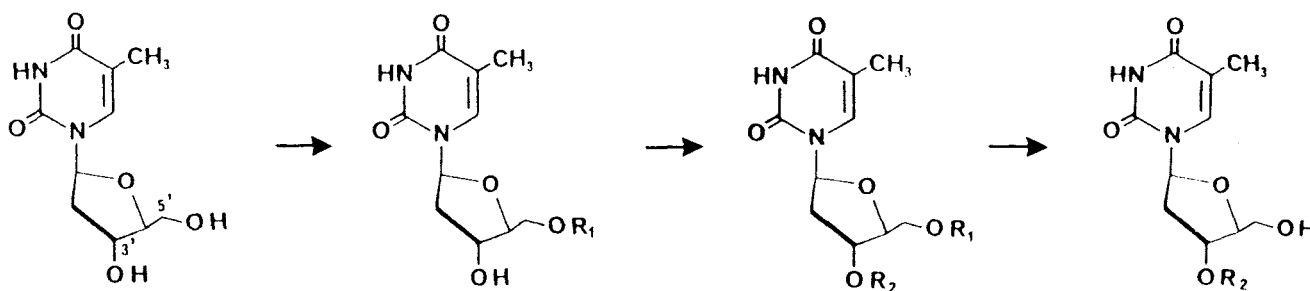
La thymidine 14 et l'hydroxy-5 psoralène 3 dont nous avons vu la préparation dans le chapitre précédent, seront les produits de départ de nos synthèses. Leur couplage se fera donc par l'intermédiaire de dérivés acylés sous forme de carbonate ou d'ester.

1/ PREPARATION DE L'INTERMEDIAIRE PORTANT LA THYMIDINE :

a. Choix de l'intermédiaire :

L'acylation sélective de la fonction hydroxyle 5' de la thymidine n'est pas possible. Il faut donc d'abord protéger la fonction hydroxyle 3'. Cette protection ne peut pas se faire sélectivement. Par contre, on sait protéger sélectivement la fonction alcool en 5' par des groupements encombrés. Ce sont par exemple des groupements silyle (tel le tertio-butyldiphénylsilyle) (71) ou triphényl méthyle (trityle, monométhoxy-4 trityle ou MMT, diméthoxy-4,4' trityle ou DMT) (72-75).

On réalisera donc d'abord une première protection en 5' puis on protégera la fonction alcool 3' et ensuite on libérera sélectivement la fonction alcool 5' :



Pour la première protection en 5' nous avons retenu le groupement trityle pour sa facilité et sa sélectivité d'introduction et également sa facilité d'élimination dans des conditions acides (72, 73).

Compte-tenu de ce premier choix, il fallait ensuite choisir un groupement protecteur en 3' qui réponde aux exigences suivantes :

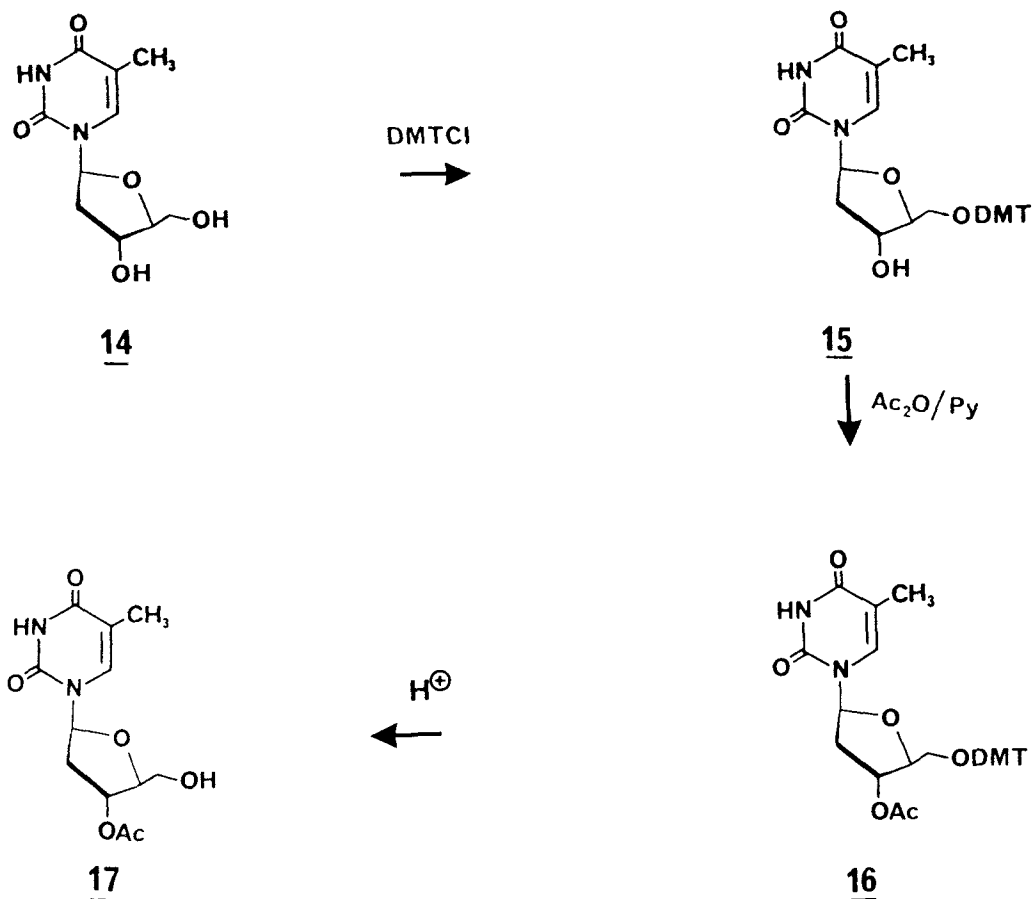
- stabilité aux conditions d'hydrolyse du groupement trityle.
- stabilité aux cours des étapes ultérieures de synthèse (acylation en 5' pour introduire la chaîne sous forme de carbonate ou de succinate).
- stabilité photochimique (à 365 nm) : il serait intéressant de conserver ce groupement pendant l'irradiation, car on pourrait ainsi économiser une étape de synthèse.

Le groupement acétyle répond bien à ces exigences. Nous préparerons donc la 0-acétyl-3' thymidine 17 comme intermédiaire de tous les composés associant la thymidine par sa position 5' au psoralène.

b. Schéma de synthèse de la 0-acétyl-3' thymidine 17 :

La préparation de la 0-acétyl-3' thymidine 17 est décrite dans la littérature en trois étapes (72, 73) : 1/ Tritylation 2/ Acétylation 3/ Détritylation en milieu acide.

Nous avons remplacé le groupement trityle du procédé initial par son dérivé, le diméthoxy-4,4' trityle (DMT). Ces groupements sont introduits à partir des chlorures correspondants. Le groupement DMT a été choisi tout d'abord car son chlorure est plus réactif que le chlorure de trityle tout en étant aussi sélectif. D'autre part, il s'élimine dans des conditions acides plus douces que le trityle (76).



c. Préparation de la 0-acétyl-3' thymidine 17 :

1ère étape, la tritylation :

La réaction de tritylation de la thymidine 14 par le chlorure de diméthoxy-4,4' trityle se fait dans la pyridine anhydre à froid (0 à 4°C, 16h).

L'intermédiaire 15^{*} est obtenu pur avec un rendement de 90% après une purification simple : dissolution dans du benzène chaud et précipitation de la solution obtenue par le n-hexane (75).

* Le dérivé 15 sera un intermédiaire clef dans la synthèse des modèles dans lesquels la thymidine est reliée par sa position 3' au psoralène en position 5.

Le spectre de RMN (CDCl_3) du composé obtenu montre un singulet caractéristique du groupe méthoxy phényle ($\delta = 3,70$ ppm).

Le point de fusion ($F=116-117^\circ\text{C}$) est tout à fait comparable à celui décrit dans la littérature ($F=115-118^\circ\text{C}$) (75).

2ème étape, l'acétylation :

La réaction d'acétylation de la thymidine protégée en 5', a été décrite dans la littérature (72, 73).

Les conditions opératoires classiques utilisent l'anhydride acétique dans la pyridine anhydre à température ambiante pendant 15 à 24 h.

Nous avons utilisé ces conditions qui donnent de bons rendements. L'utilisation de la N,N-diméthylamino-4 pyridine a permis de ramener le temps de réaction à une ou deux heures.

La O-acétyl-3', (diméthoxy-4,4' trityl)-5' thymidine 16 a été préparée de deux manières différentes.

La première consiste en une acétylation directe du dérivé 15 isolé. La deuxième consiste à prendre la thymidine 14 de départ qui est d'abord tritylée puis acétylée sans isolement de l'intermédiaire 15. C'est cette deuxième méthode qui s'est avérée la plus intéressante pour des raisons de rapidité et de meilleur rendement.

L'intermédiaire 16 a été utilisé sans purification préalable ; cependant il a été caractérisé. Notamment en spectroscopie infra-rouge, on observe une nouvelle bande à 1720 cm^{-1} qui est caractéristique de la vibration de valence du $\text{C}=\text{O}$ de l'ester carboxylique ; on note aussi la disparition de la bande à 3500 cm^{-1} (vibration de valence de la fonction OH).

Le spectre de masse (ionisation chimique par le méthane) montre l'ion moléculaire ($M^+=586$). Sur le spectre de RMN¹H (CDCl_3) on observe le signal du méthyle du groupe acétyle (singulet ; $\delta = 2,05$ ppm) et toujours le singulet du méthoxy du groupement DMT ($\delta = 3,70$ ppm).

3ème étape, la détritylation :

Le groupement trityle et ses dérivés méthoxylés (MMT, DMT) sont très labiles en milieu acide. Les conditions opératoires classiques décrites dans la littérature utilisent l'acide acétique à 80 % dans l'eau et à chaud (100°C ou à reflux) (72, 73). De nombreux autres réactifs ont été également utilisés (76).

Pour éliminer le groupement DMT qui est le plus labile des trois, nous avons d'abord utilisé l'acide acétique à 80 % dans l'eau à chaud. Ensuite, l'utilisation de l'acide benzène sulfonique à froid (76) nous a donné de meilleurs rendements.

Le dérivé 17 a été purifié par chromatographie sur silice. Il a ainsi été obtenu après cristallisation dans le benzène avec un rendement de 76 % à partir de la thymidine 14 sans isolement de l'intermédiaire 15.

Le composé 17 a été caractérisé par les méthodes spectroscopiques classiques. Le spectre de masse montre bien l'ion moléculaire ($M^+ = 284$), de même que les coupures caractéristiques de la thymidine.

En spectroscopie infra-rouge, on observe la réapparition de la bande de vibration de valence de la fonction OH (3500 cm^{-1}) libérée.

Le spectre de RMN du proton ($\text{DMSO } d_6$) est tout à fait comparable à celui de la littérature (77).

Le composé 17 constitue l'intermédiaire clé dans la synthèse des composés dans lesquels la thymidine est reliée par sa position 5' au psoralène.

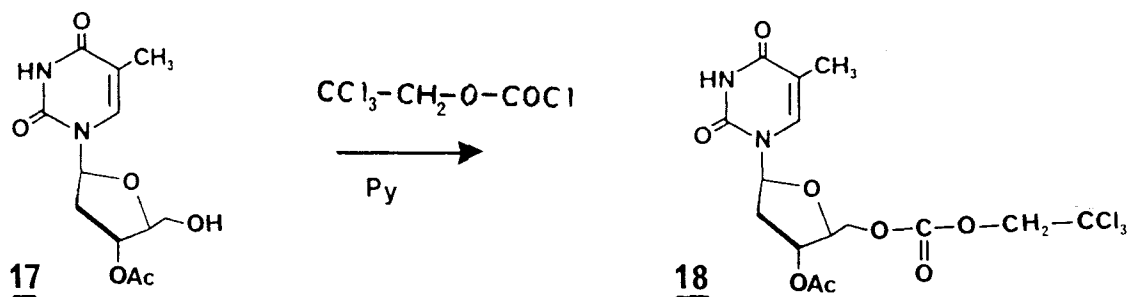
2/ ESSAIS DE SYNTHÈSE D'UN DÉRIVÉ ASSOCIANT LA THYMININE AU PSORALÈNE PAR UN PONT CARBONATE :

Le groupement carbonate a été utilisé dans la synthèse d'analogues d'oligonucléotides dans lesquels le phosphate est remplacé par un carbonate. Les réactifs qui ont été utilisés pour introduire ce groupement sont le phosgène (78) et son dérivé, le chlorure de l'acide trichloro-2,2,2 éthylcarbonique (79). Ce dernier a été choisi car il est d'utilisation plus facile et moins dangereuse que le phosgène.

Pour préparer le composé désiré associant la thymidine et le psoralène, deux intermédiaires qui portent le groupement trichloro-2,2,2 éthylcarbonate sont envisageables, l'un sur la thymidine et l'autre sur le psoralène. Ils seront couplés respectivement avec l'hydroxy-5 psoralène 3 et la 0-acétyl-3' thymidine 17 pour donner le composé recherché.

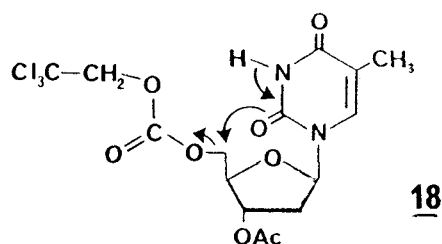
Nous commencerons par préparer le carbonate sur la thymidine de façon à introduire le psoralène très coûteux le plus tard possible dans la synthèse.

a. Synthèse de l'intermédiaire 18 portant la thymidine :



La 0-acétyl-3' thymidine 17 est estérifiée sur sa fonction alcool 5' OH par le chlorure de l'acide trichloro-2,2,2 éthylcarbonique. La réaction se fait dans la pyridine anhydre à température ambiante.

La 0-(trichloro-2,2,2 éthoxycarbonyl)-5', 0-acétyl-3' thymidine 18 a été obtenue après purification sur silice avec un rendement faible (10 %). Ce faible rendement peut s'expliquer par la décomposition due probablement à une cyclisation intramoléculaire du composé recherché (attaque nucléophile par l'oxygène en position 2 assistée par l'azote en position 3). Cette cyclisation est d'autant plus favorisée que l'ester en position 5' se trouve activé. Le produit de décomposition n'a pas été isolé.



Le composé 18 a été caractérisé par différentes méthodes spectroscopiques. Le spectre de masse (ionisation chimique par le méthane) montre bien l'ion moléculaire ($M^+=460$), de même que les coupures ($m/e=267$; $(M-C_3H_2O_3Cl_3)^+$) et celles de la thymidine ($m/e=242$; 207 ; 126 ; 117).

En spectroscopie infra-rouge, en plus de la vibration de valence du C=O de l'ester carboxylique (1720 cm^{-1}), on observe la bande de vibration du carbonate ($1745-1770\text{ cm}^{-1}$).

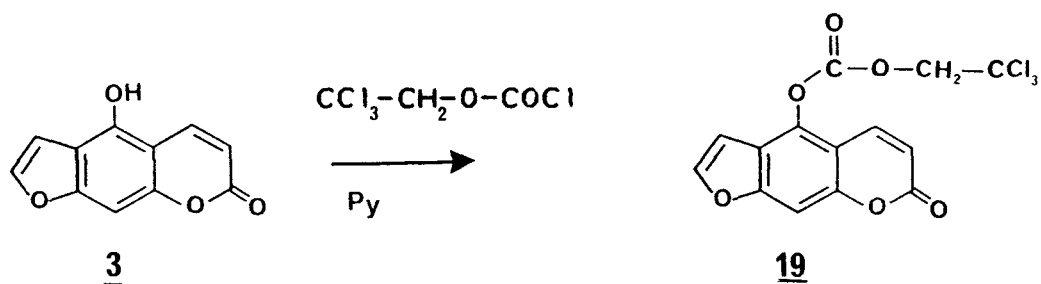
Sur le spectre de RMN¹H (DMSO d₆), on trouve le singulet correspondant au méthylène du groupement trichloroéthoxy ($\delta = 4,90\text{ ppm}$) ainsi que les signaux correspondant aux différents protons du résidu 0-acétyl-3' thymidinyle.

Devant le faible rendement de formation de l'intermédiaire portant la thymidine, la synthèse du trichloro-2,2,2 éthoxycarboxylate de furo(3,2-g)coumarinyle-5 19 s'est imposée.

b. Synthèse de l'intermédiaire 19 portant le psoralène :

La synthèse de l'intermédiaire 19 a été réalisée dans les mêmes conditions que celles qui ont permis la synthèse du dérivé 18.

Le trichloro-2,2,2 éthoxycarboxylate de (furo(3,2-g)coumarinyle)-5 19 a été obtenu avec un rendement de 60 % après purification sur silice et cristallisation dans l'éther éthylique.



Toutes les caractérisations physico-chimiques réalisées sur ce composé confirment la structure proposée. Le spectre de masse montre l'ion moléculaire ($M^+=378$), de même que les coupures caractéristiques du noyau psoralène ($m/e=202$; $(\text{PsoOH})^+$) ; ($m/e=174$; $(\text{PsoOH-CO})^+$).

En spectroscopie infra-rouge on observe une bande large ($1710\text{-}1790\text{ cm}^{-1}$) qui correspond à la vibration de valence de C=O du carbonate.

Le spectre de RMN¹H (DMSO d_6) montre bien le singulet du méthylène du groupement trichloro-2,2,2 éthoxy ($\delta =5,10\text{ ppm}$).

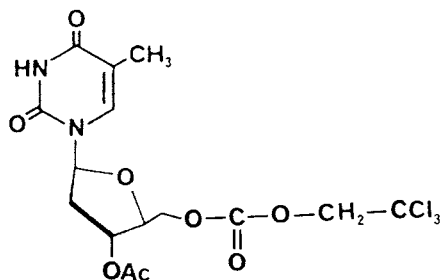
Ces résultats sont confirmés par l'analyse élémentaire.

c. Essais de couplage :

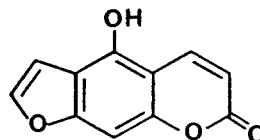
Ayant préparé les deux intermédiaires carbonatés 18 et 19 possibles, nous pouvons à présent tester leur couplage respectivement avec l'hydroxy-5 psoralène 3 et la 0-acétyl-3' thymidine 17.

La condensation du 5HP 3 sur des composés analogues au composé 18 n'a pas, à notre connaissance, été décrite. Par contre, dans le cas des nucléosides, la condensation de la 0-trityl-5' thymidine sur l'uridine protégée en 2',3' et fonctionnalisée en 5' par le groupement trichloro-2,2,2 éthylcarbonate a été réalisée dans la N,N-diméthylformamide en présence d'hydrure de sodium (79).

* Essais de couplage du composé 18 et du 5HP 3 :



18



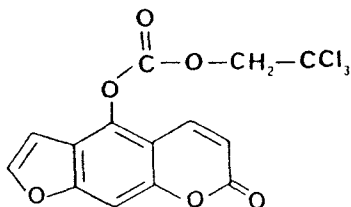
3

Les intermédiaires 3 et 18 ont été mis en réaction dans la DMF à 70°C en présence de carbonate de potassium. Au bout de plusieurs heures de chauffage, aucun produit de couplage n'est visible en CCM. En effet, le produit de couplage doit se révéler à la cystéine sulfurique (réactif spécifique des désoxyribonucléosides) et il doit également absorber la lumière à 365 nm en raison de la présence du noyau psoralène.

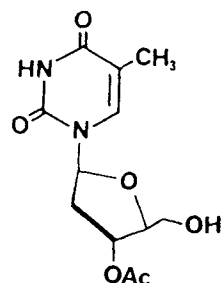
Par contre, une décomposition du composé 18 est constatée. Dans les conditions basiques utilisées, on doit couper la fonction acétyle en 3' et également provoquer la cyclisation intramoléculaire du composé 18, cyclisation que nous avons discutée lors de la synthèse de ce composé.

Après cet échec, la condensation a été tentée à nouveau dans la DMF à température ambiante en remplaçant le carbonate de potassium par l'hydrure de sodium en proportion stoechiométrique. Là encore, on n'observe pas la formation de produit de couplage bien qu'il ne se produise pas dans ces conditions de décomposition des produits de départ.

* Essais de couplage du composé 19 et de la 0-acétyl-3'
thymidine 17 :



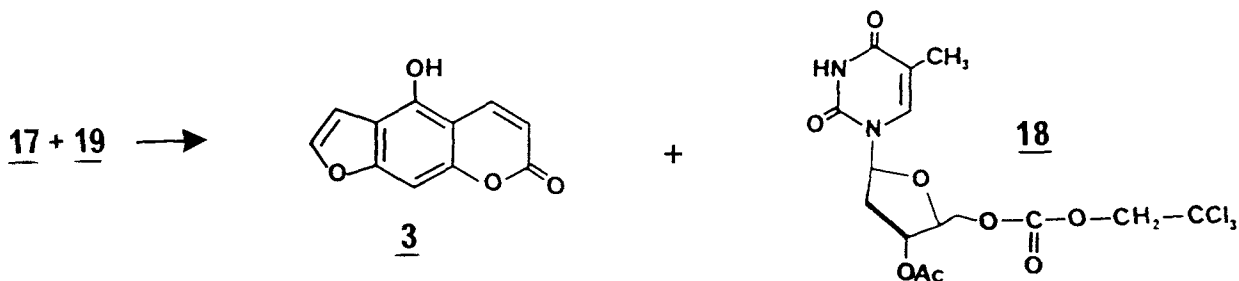
19



17

Les composés 17 et 19 ont été mis en réaction dans la DMF à température ambiante en présence d'hydrure de sodium. La réaction a été suivie par CCM. Aucun produit de condensation n'est apparu. Par contre la formation du 5HP 3 et du composé 18 a été mise en évidence par comparaison en CCM avec des échantillons témoins.

Il se produit donc la réaction suivante :



On peut donc conclure que l'hydroxy-5 psoralène est meilleur groupe partant que le groupe trichloro-2,2,2 éthoxy et que le couplage n'est pas possible en utilisant les intermédiaires 17 et 19.

Après ces échecs, on peut envisager la synthèse en utilisant le phosgène. Cette utilisation posera sans doute le problème de la formation de dimère. Avant de continuer plus avant dans cette direction, nous avons préféré explorer la synthèse du composé 21 associant thymidine et psoralène par un pont diester de l'acide succinique.

3. SYNTHÈSE DU COMPOSE 21 ASSOCIANT LA THYMIDINE AU PSORALENE PAR UN PONT DIESTER :

Dans cette synthèse, il faut préparer un intermédiaire qui est un monoester de l'acide succinique et qui porte l'un des deux motifs à coupler. Entre les deux intermédiaires possibles, nous avons choisi de préparer d'abord celui qui porte le résidu thymidine, ceci toujours en raison du coût élevé du psoralène de départ.

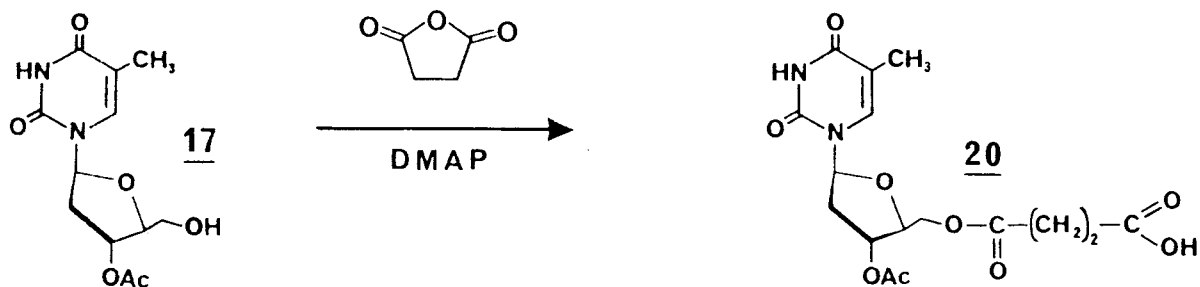
a. Synthèse de la o-acétyl-3', 0-(carboxy-3 propanoyl)-5' thymidine 20 :

Le groupement succinyle est très employé dans la synthèse d'oligonucléotides sur supports solides (76, 80). En général, on part de la 0-(carboxy-3 propanoyl)-3', 0-trityl (MMT ou DMT)-5' thymidine qui est fixée sur le support par sa fonction acide (80). On peut aussi coupler la 0-trityl (MMT ou DMT)-5' thymidine à un support solide préalablement fonctionnalisé par l'anhydride succinique (76).

La chaîne de l'oligonucléotide est construite par détritylations et couplages successifs.

Lors de la synthèse du nucléoside de départ, pour réaliser une monoestérification de l'acide succinique, les auteurs font réagir le nucléoside protégé en 5' par un trityle (MMT ou DMT) avec l'anhydride succinique en présence de N,N-diméthylamino-4 pyridine (DMAP) (80).

Nous avons utilisé ces conditions pour préparer l'intermédiaire 20.



L'estérification de la 0-acétyl-3' thymidine 17 par l'anhydride succinique a été réalisée en présence de N,N-diméthylamino-4 pyridine dans le dichlorométhane à température ambiante.

La 0-acétyl-3', 0-(carboxy-3 propanoyl)-5' thymidine 20 est obtenue avec un rendement supérieur à 90 % après purification par chromatographie sur silice. Elle peut être cristallisée dans le mélange chlorure de méthylène - éther de pétrole.

Les caractérisations physico-chimiques confirment la structure proposée. Le spectre de RMN¹H (DMSO d₆) montre un massif large ($\delta = 12,3$ ppm) qui correspond au proton de la fonction acide carboxylique (échange avec D₂O). En plus des signaux du résidu 0-acétyl-3' thymidinyle, on observe le multiplet correspondant aux protons de la chaîne succinyle ($\delta = 2,40$ ppm).

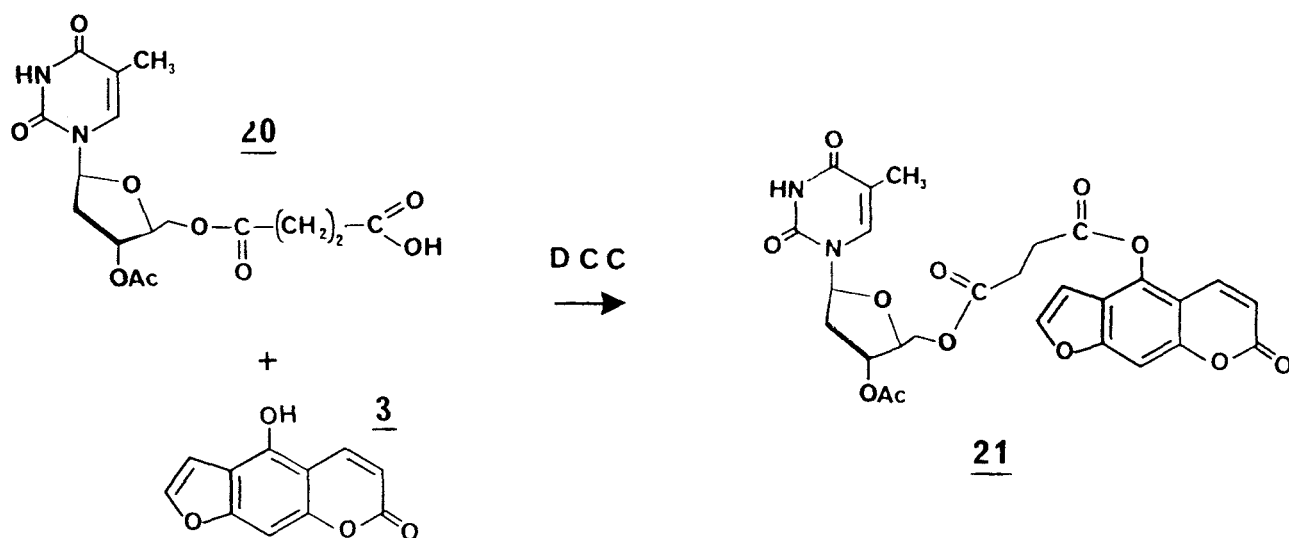
Dans le spectre de masse (ionisation chimique par le méthane), on trouve l'ion moléculaire ($m/e=385$; $(M+1)^+$).

En spectroscopie infra-rouge on constate que la bande de vibration de valence de la fonction alcool (3500 cm^{-1}) disparaît, ce qui témoigne de l'estérification de celle-ci. Par contre, on observe une bande très large ($2650\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$) qui correspond à la vibration de la fonction acide.

Tous ces résultats sont confirmés par l'analyse élémentaire.

Le composé 20 constitue l'intermédiaire clé fonctionnalisé qui permettra d'accéder aux composés associant la thymidine par sa position 5' au psoralène en position 5 ou 8.

b. Couplage du dérivé 20 avec le 5HP 3 : obtention du composé 21 :



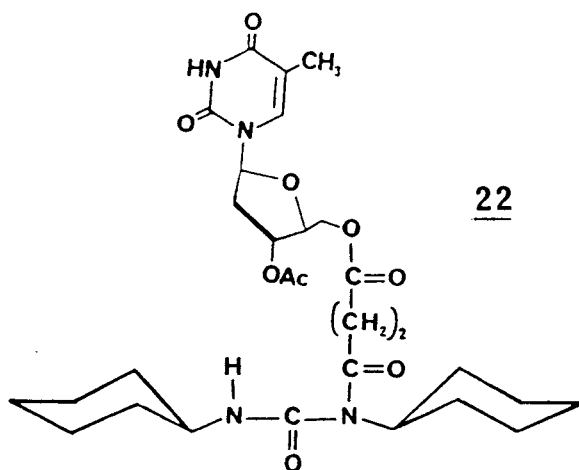
Le couplage du composé 3 avec l'intermédiaire 20 consiste en l'estérification d'un phénol.

L'estérification du 5HP 3 par le composé 20 est possible en utilisant des réactifs de couplage comme le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC).

Le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide est couramment utilisé en synthèse peptidique. Son inconvénient réside dans la formation de N-acyl urée qui dans certains cas peut limiter le rendement en produit désiré. Les couplages sont généralement réalisés dans le dichlorométhane, le chloroforme et l'acétonitrile à température ambiante.

Nous avons donc essayé le couplage du 5HP 3 et du composé 20 avec le DCC à température ambiante dans le mélange dichlorométhane-acétonitrile (50:50). Après une à deux heures, on constate en CCM la présence du produit de couplage qui se révèle à la cystéine sulfurique (présence de thymidine) et de plus absorbe la lumière à 365 nm (présence de psoralène). A côté de ce produit on constate la présence d'une impureté en proportion importante (20-30 % en CCM). Cette impureté se révèle à la cystéine sulfurique mais elle n'absorbe pas la lumière à 365 nm.

Il s'agit donc probablement de la N-acylurée. Sa structure a été confirmée par RMN du proton et par spectrométrie de masse haute résolution.



La quantité de N-acylurée 22 formée a pu être diminuée (proportion inférieure à 10 % en CCM) en ajoutant le nucléoside 20 en tout dernier et par fractions successives.

IL faut noter que dans le solvant utilisé ($\text{CH}_3\text{CN}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 50:50), le 5HP 3 n'est pas complètement soluble. La dissolution se produit progressivement au fur et à mesure de l'avancement de la réaction (et pendant que la N,N-dicyclohexylurée formée précipite). Dans ces conditions le couplage est fortement ralenti.

Pour remédier à ce problème, nous avons utilisé la DMF comme solvant. Mais dans ces conditions la proportion de N-acylurée 22 augmente considérablement.

Dans le but de limiter la proportion de N-acylurée lors des couplages par le DCC, plusieurs auteurs notamment dans la synthèse peptidique ont utilisé la N,N-diméthylamino-4 pyridine (DMAP ; 10 % en mole) (81). Le couple DMAP - chlorhydrate de DMAP a également été utilisé (82).

Dans notre cas l'addition de ces réactifs n'a pas permis de diminuer de façon importante la formation de N-acylurée 22.

Par contre, l'utilisation du méthyl-1 imidazole (à 10 % en mole) a permis de limiter encore la proportion de N-acylurée 22, toujours dans le mélange dichlorométhane-acétonitrile (traces en CCM).

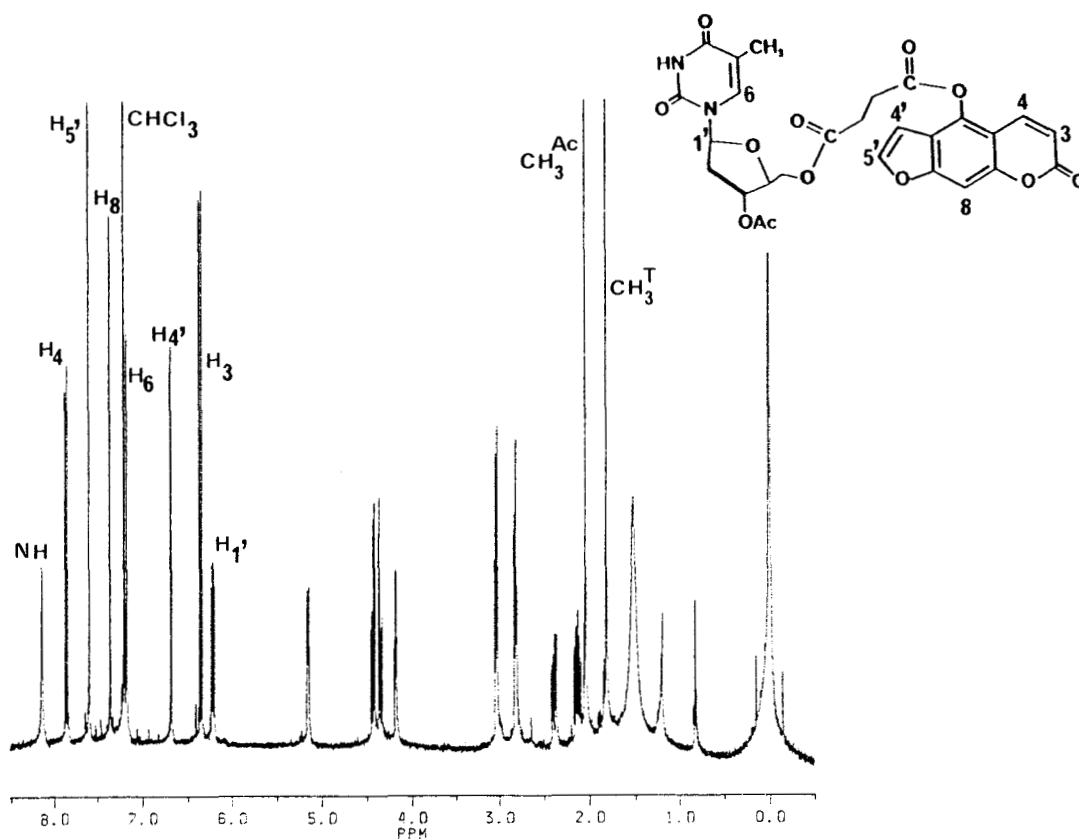
Le produit de couplage 21 a été isolé après chromatographie sur silice avec un rendement de 80 %. Il a été caractérisé par les différentes méthodes spectroscopiques. Le spectre RMN¹H à 400MHz confirme la structure proposée. Sur ce spectre, on trouve les signaux des différents protons du noyau psoralène, de la thymidine et de la chaîne succinyle.

Dans le spectre de masse en ionisation chimique (méthane), on distingue l'ion moléculaire ($(M+1)^+=569$), de même que les coupures correspondant à la thymidine ($m/e=243$, $(\text{Thd}+1)^+$; 127, $(\text{Thy}+1)^+$) et au psoralène ($m/e=202$, $(\text{PsoOH})^+$). Le spectre de masse haute résolution a permis l'analyse des coupures observées.

L'analyse CLHP montre la présence d'un produit unique.

Enfin l'analyse élémentaire a confirmé la structure et la pureté du produit obtenu.

Spectre de RMN¹H (400MHz ; CDCl₃) du composé 21



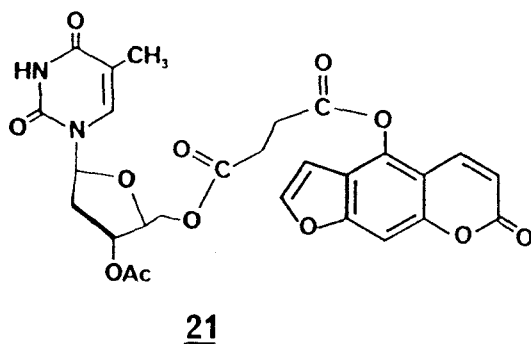
Remarque :

L'équipe de B. CASTRO (83) a mis au point un réactif de couplage ; le benzotriazoloxyltris (diméthylamino) phosphonium hexafluorophosphate (BOP) permettant l'estérification des phénols et utilisé en synthèse peptidique.

Nous avons essayé ce réactif dans les conditions décrites en présence de triéthylamine dans le dichlorométhane. Dans ces conditions on obtient le composé 21 avec un rendement de 80 %. Cependant l'isolement s'est avéré difficile. Notons que le BOP est un agent de couplage coûteux. Nous n'avons donc pas retenu cette méthode qui n'améliore pas les rendements précédemment obtenus.

II. ETUDE PHOTOCHEMIQUE PHOTOREACTIVITE DU COMPOSE 21 :

Nous avons synthétisé le composé 21 dans lequel la thymidine est associée par sa position 5' au psoralène en position 5, à l'aide d'une chaîne succinyle.



Nous allons à présent étudier la photoréactivité de ce composé.

1/ ESSAIS PRELIMINAIRES :

Pour mettre en évidence et suivre la photoréaction, nous avons utilisé deux méthodes. La première est une mise en évidence des photoproduits formés par chromatographie liquide hautes performances (CLHP). La deuxième consiste à suivre par RMN du proton l'évolution du produit de départ lors de son irradiation dans le tube de RMN.

a. Etude CLHP, Influence du solvant et de la concentration :

Dans un premier temps, nous avons irradié à 365 nm des solutions désoxygénées du composé 21 dans différents solvants : le diméthylsulfoxyde, l'acétonitrile et dans des mélanges d'eau et d'un solvant organique (10 à 50 % ; éthanol, acétonitrile et N,N-diméthylformamide).

Dans tous les cas et quelle que soit la concentration de 10^{-5} à 10^{-3} M, on observe :

- la disparition complète du composé de départ
- la formation d'un même produit très majoritaire ($\sim 90\%$ en CLHP). Ce photoproduit n'absorbe plus la radiation 365 nm (CLHP), ce qui d'après les résultats de la littérature, indiquerait une photoaddition du côté pyrone. En effet, il est connu que les "adduits" en 4',5' absorbent la lumière à 365 nm et pas les "adduits" en 3,4 (pour revue, voir 18).

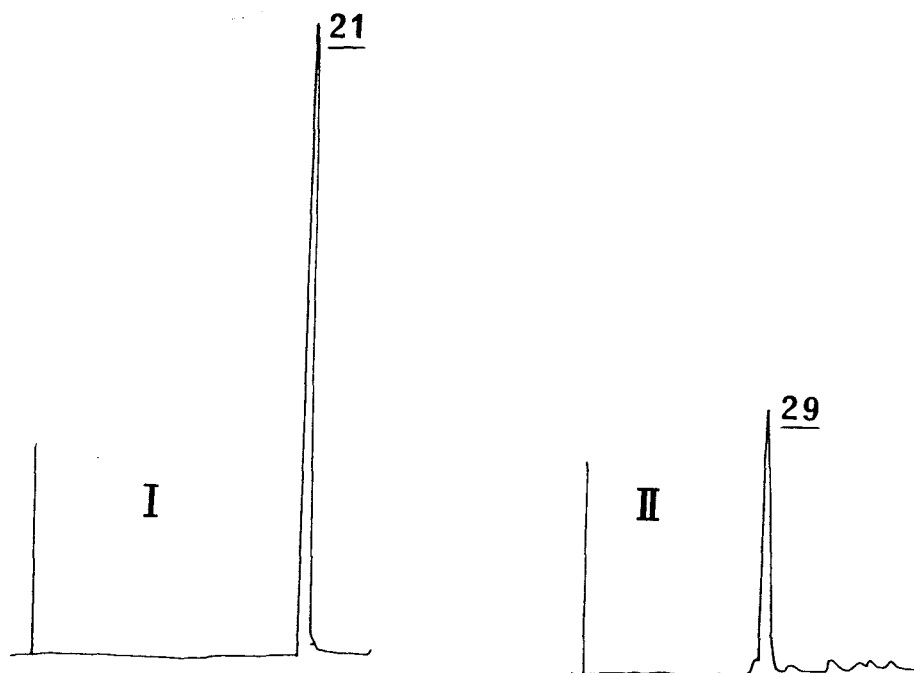


Figure 10 : Chromatogrammes CLHP d'une solution du composé 21 dans le mélange $H_2O-EtOH$ 50:50 ($C=10^{-3}$ M), avant (I) et après 1h30 d'irradiation à 365 nm (II).

Les solutions du photoproduit finalement obtenues ont été réirradiées à 254 nm. Il est en effet connu que l'irradiation à 254 nm "d'adduits" (2+2) conduit à la coupure du cyclobutane et à la formation des produits de départ (30, revue 84).

L'analyse CLHP montre la formation d'un mélange complexe de produits, parmi lesquels on peut identifier le composé de départ 21.

Ces résultats montrent que probablement l'irradiation du composé 21 à 365 nm conduit à une photoaddition (2+2). La "photoréversion" à 254 nm n'est pas très sélective et il est probable que cette radiation provoque de nombreuses coupures dans la molécule.

Après ces résultats et avant d'isoler le photoproduit, il nous reste à déterminer sa nature : "photoadduit" thymidine-psoralène ou dimère du composé 21 formé entre les doubles liaisons 3,4 de deux noyaux psoralènes ?

b. Mise en évidence de la photoréaction par RMN ^1H (60 MHz) :

Dans cette étude, nous avons utilisé une solution du composé 21 dans le DMSO d_6 ($C=3,5 \cdot 10^{-3} \text{M}$) qui a été placée dans un tube de RMN. La solution a été ensuite désoxygénée par barbotage d'argon puis irradiée à 365 nm.

L'évolution de la photoréaction est suivie par RMN du proton (60 MHz). Le spectre obtenu a été comparé à celui du composé 21.

Le spectre enregistré après deux heures d'irradiation montre un dédoublement de tous les protons, en particulier des protons aromatiques à l'exception des protons 3 et 4 du noyau psoralène et du proton 6 du noyau thymine.

On assiste à une disparition de ces protons de la région aromatique au fur et à mesure que le temps d'irradiation augmente (figure 11). Ceci montre que les doubles liaisons 3,4 du psoralène et 5,6 de la thymine sont saturées.

Les blindages subis par les protons 3,4 du psoralène et 6 de la thymine sont importants ($> 2,5$ ppm). Le blindage du méthyle en position 5 de la thymine est de 0,2 ppm.

Après conversion totale, la composition du mélange est vérifiée par CLHP. Il s'est avéré que le mélange contient un seul photoproduit qui est identique à celui mis en évidence dans les solvants étudiés précédemment.

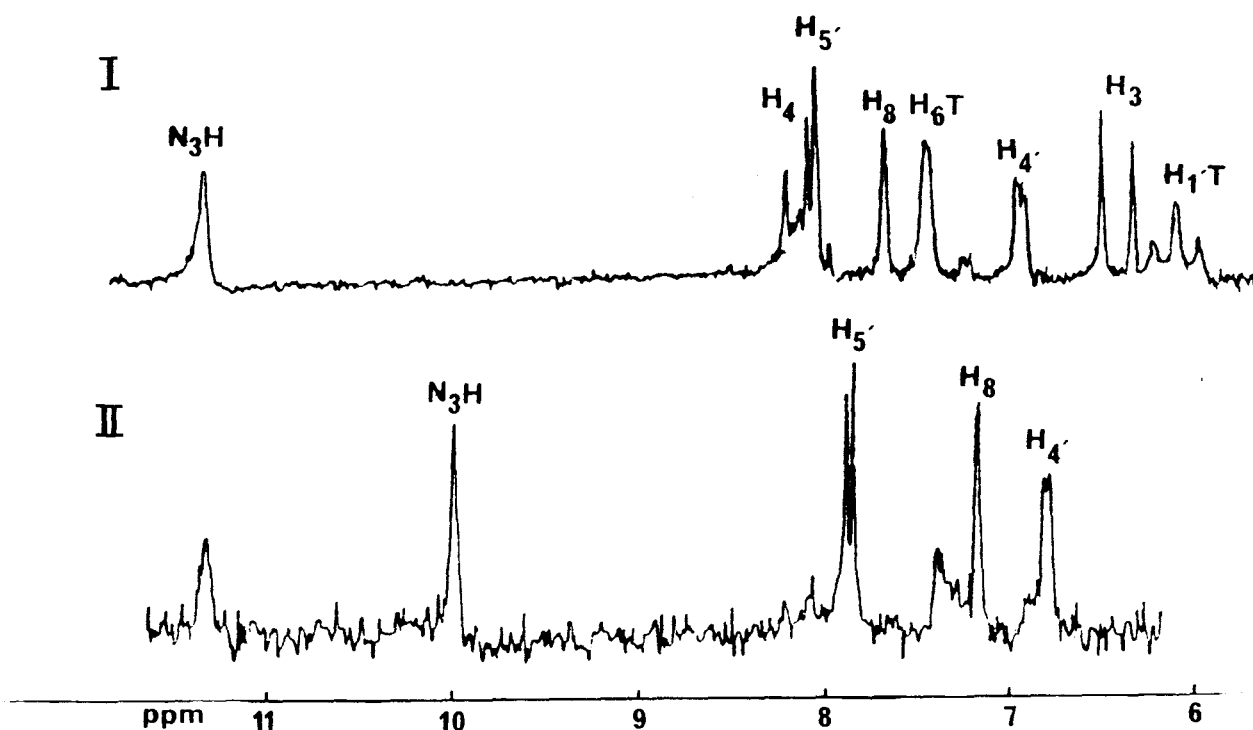


Figure 11 : Comparaison des régions aromatiques des spectres de RMN du proton (60 MHz, DMSO d_6) du composé 21 avant (I) et après 8h d'irradiation à 365 nm (II) ; ($C=5 \cdot 10^{-3} M$).

Toutes les observations faites en CLHP et en RMN sont en faveur d'une photoaddition intramoléculaire thymidine-psoralène en 3,4. Nous pouvons donc chercher à mettre au point l'isolement du photoproduit.

2/ ISOLEMENT DU PHOTOPRODUIT 29 :

Notre objectif étant l'utilisation de la photoréaction à des fins préparatives, nous avons cherché à nous placer à une concentration la plus élevée possible. Il fallait donc utiliser un solvant organique polaire pour solubiliser le composé de départ. D'autres impératifs ont également déterminé le choix du solvant utilisé : notamment sa facilité d'élimination et son influence sur la vitesse de la photoréaction.

a. Influence du solvant sur la vitesse de photoréaction :

L'irradiation à 365 nm du composé 21 à une concentration de 10^{-3} M a été menée simultanément dans différents solvants polaires. L'analyse CLHP a montré une nette influence du solvant sur la vitesse de photoréaction. Les vitesses observées ont été classées par ordre décroissant :

Eau-DMF (50:50) > Eau-CH₃CN (50:50) >> DMSO > CH₃CN
Eau-EtOH (50:50)

La présence d'eau augmente la vitesse de la photoréaction de façon importante mais la présence d'un solvant organique est nécessaire pour opérer à 10^{-3} M.

b. Préparation du photoproduit 29 :

Deux mélanges de solvants ont été finalement, retenus : les mélanges eau-acétonitrile (50:50) et eau-éthanol (50:50). Le composé 21 a été irradié à une concentration de 10^{-3} M.

Après irradiation, une décomposition du photoproduit a été observée lorsque celui-ci est laissé quelques heures dans la solution à température ambiante. On observe également une décomposition du photoproduit lors de l'évaporation du solvant organique bien que celle-ci soit réalisée sous pression réduite à température ambiante. Cette décomposition est plus importante lorsqu'on utilise le système solvant eau-acétonitrile.

Pour la préparation du photoproduit 29, le mélange eau-éthanol (50:50) a donc été utilisé. Après irradiation le pourcentage de conversion en photoproduit recherché est de 98 à 100 % (CLHP). Pour éviter les problèmes de décomposition liés à l'évaporation de l'éthanol en présence d'eau, la solution irradiée a été extraite directement et tout de suite après irradiation par du dichlorométhane. Après plusieurs extractions, la totalité du photoproduit

passé dans la phase organique. Cette phase a été ensuite évaporée sous pression réduite à température ambiante. Ce mode opératoire limite très fortement la décomposition du photoproduit.

Cependant une chromatographie sur silice a été nécessaire pour une purification complète. Là encore, une décomposition se produit lors du passage sur silice. En CCM, on voit d'ailleurs apparaître lors d'élutions successives du photoproduit, un nouveau composé très polaire. L'utilisation de la chromatographie sur silice sous faible pression a permis de limiter cette décomposition. Le rendement en photoproduit ainsi isolé pur est de 60 à 70 %.

3/ CARACTERISATION ET STRUCTURE DU PHOTOPRODUIT 29 :

a. Caractérisation du photoproduit 29 :

En CCM, le test de révélation à la cystéine sulfurique est positif, ce qui indique la présence d'un désoxynucléoside dans la molécule.

L'analyse CLHP du composé dans différentes conditions d'élution (isocratiques) montre toujours un seul pic.

Le spectre de RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) confirme la présence d'un seul produit (figure 12). On constate sur ce spectre la disparition des doubles liaisons 5,6 de la thymidine et 3,4 du psoralène de la région aromatique. Les autres protons aromatiques, c'est à dire les protons 8, 4' et 5' du psoralène subissent des déplacements faibles. Ceci indique clairement la formation d'un "photoadduit" thymidine-psoralène mettant en jeu la double liaison pyrone.

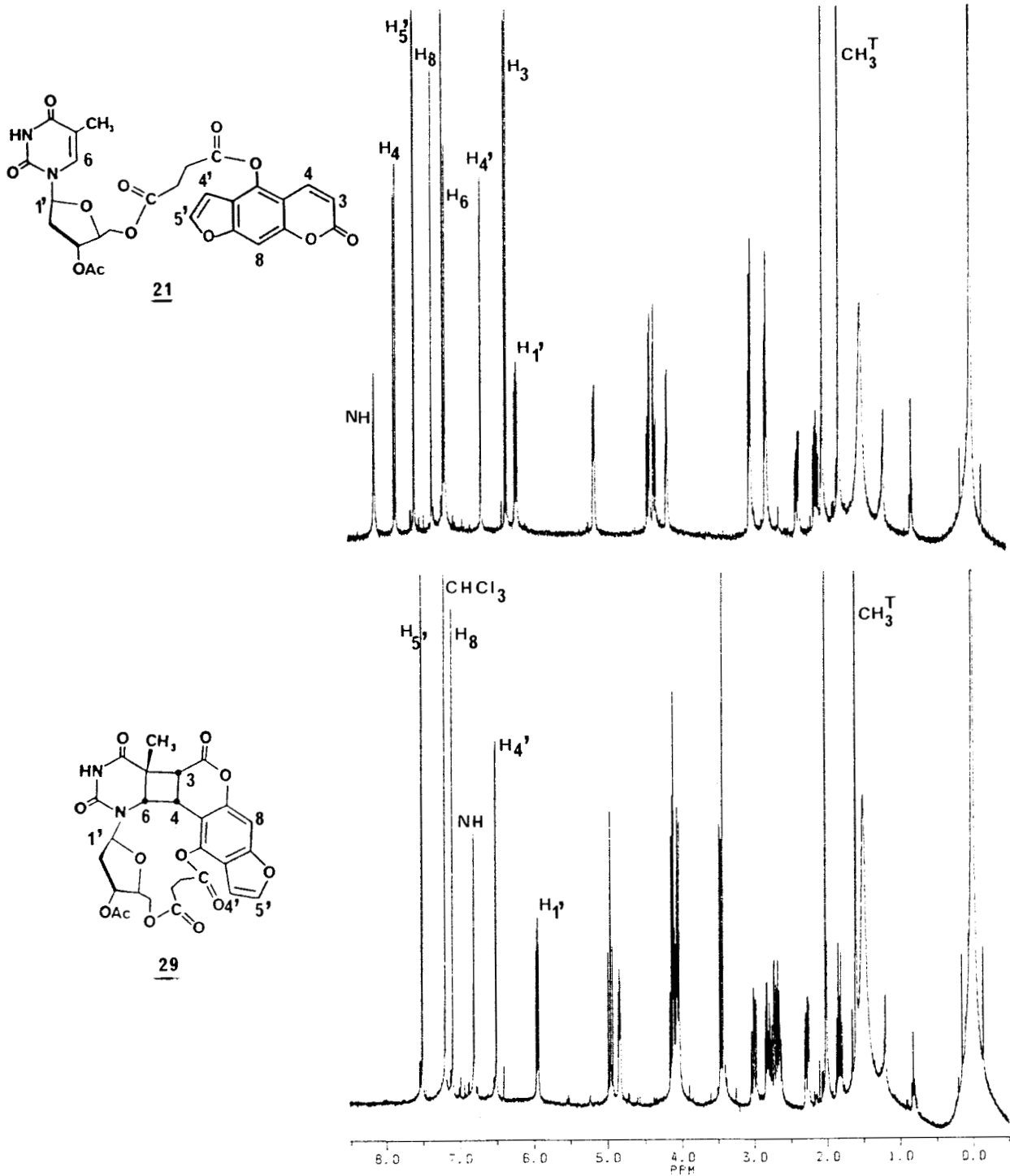


Figure 12 : Comparaison des spectres de RMN¹H du composé **21** Et du photoproduit **29**.



Le spectre de masse obtenu par ionisation chimique (méthane) montre l'ion moléculaire ($M^+=568$) (figure 13), ce qui correspond à la masse du composé de départ 21. Cette observation est également en faveur d'une structure de type "adduit" intramoléculaire (2+2).

On trouve également dans le spectre haute résolution, les coupures caractéristiques du noyau psoralène ($m/e=202$, $PsoOH^+$; 174 , $(PsoOH-CO)^+$), de la thymine ($m/e=127$, $(Thy+1)^+$) ainsi que les coupures ($m/e=367$, $(M-C_{11}H_5O_4)^+$; 267 , $(M-C_{15}H_9O_7)^+$).

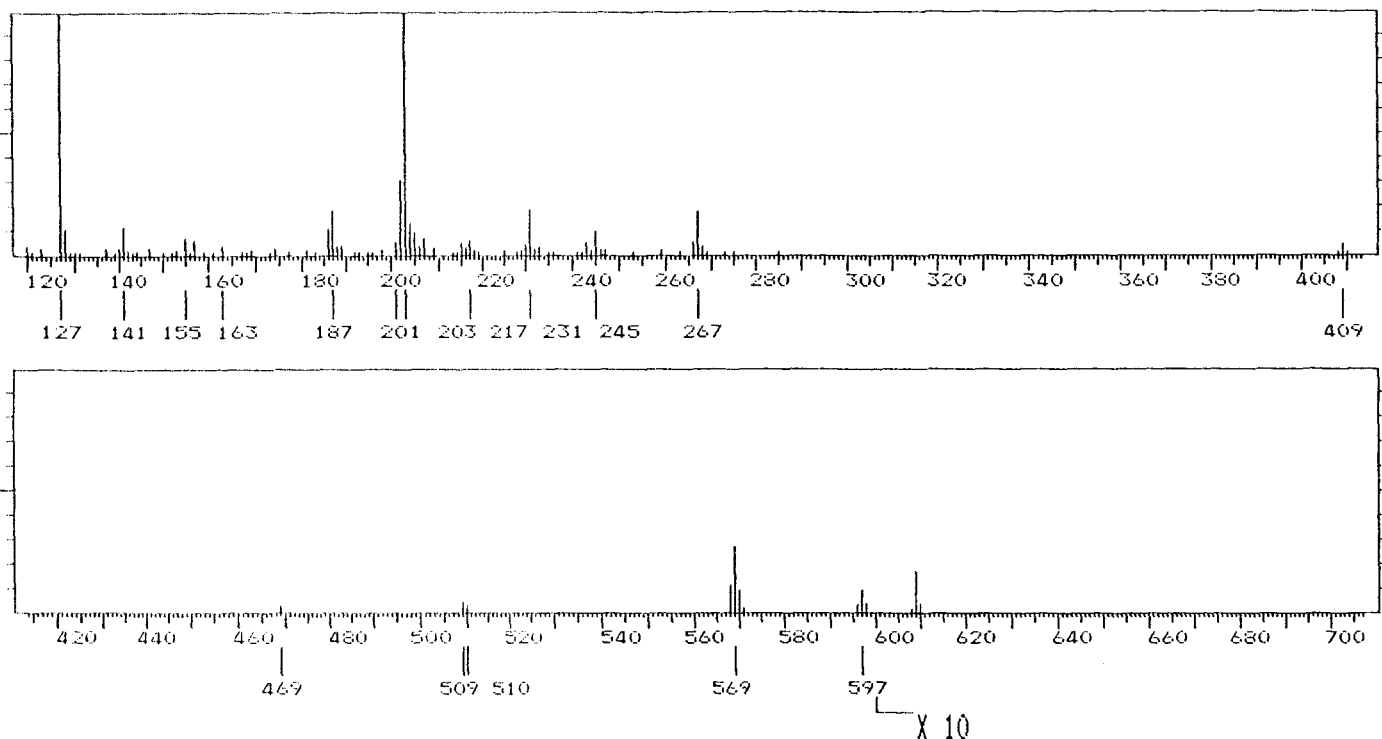


Figure 13 : Spectre de masse (ionisation chimique par le méthane) du photoproduit 29.

Dans le spectre d'absorption UV, on note l'absence d'absorption au-dessus de 320 nm, ce qui confirme la saturation de la double liaison pyrone. Il est en effet connu que les "adduits" thymine-psoralène du côté furane absorbent fortement dans l'UV proche (pour revue, voir 18).

Enfin, l'irradiation à 254 nm du composé formé en solution dans différents solvants a été suivie par CLHP. Lorsque les temps d'irradiation sont courts, la formation du composé de départ 21 a été observée de façon assez sélective. Cette irradiation à 254 nm a également été étudiée dans l'éthanol par spectrophotométrie UV. Sur la figure 14, nous remarquons deux

points isobestiques caractéristiques de la présence de seulement deux composés en solution. Après 5 mn d'irradiation, le spectre obtenu est tout à fait superposable à celui du composé 21 (figure 15) (λ_{\max} (figure 14 après 5 mn d'irradiation) = 248 nm ; λ_{\max} (figure 15) = 247,5 nm.

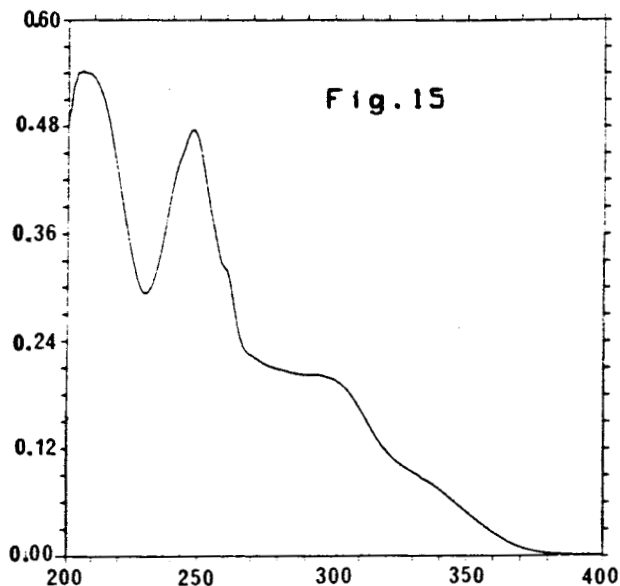
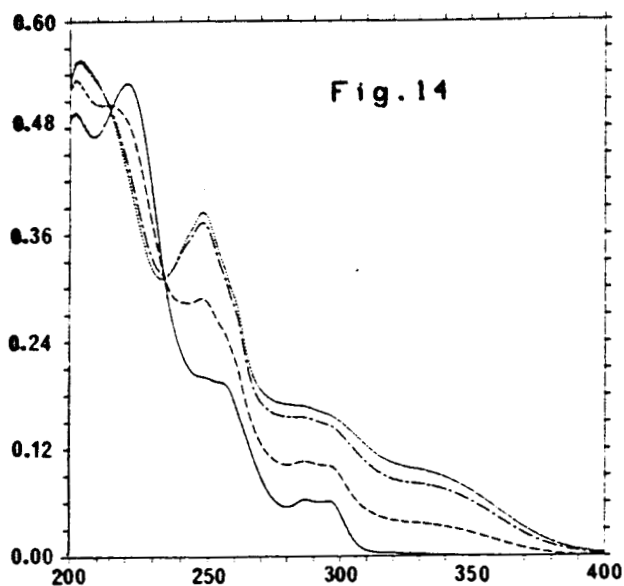


Figure 14 : Etude par spectrophotométrie UV de l'irradiation à 254 nm du photoproduit 29 dans l'éthanol ($C=2.10^{-5}M$). Temps d'irradiation : 0 (—) 1mn (---), 3 mn (-.-) et 5mn (.....).

Figure 15 : Spectre UV du composé 21 (éthanol, $C=2.10^{-5}M$).

Tous ces résultats ainsi que l'analyse élémentaire montrent sans ambiguïté que le photoproduit 29 résulte d'une photocycloaddition (2+2) intramoléculaire entre les doubles liaisons 5,6 de la thymidine et 3,4 du psoralène.

b. Détermination par RMN de la stéréochimie du cyclobutane :

Il faut d'abord noter, que compte-tenu de la longueur de la chaîne liant la thymidine au psoralène, la structure syn est quasiment impossible à obtenir.

α) Attribution des signaux :

En raison de la complexité du spectre de RMN ^1H à 400 MHz (CDCl_3), une étude par RMN à deux dimensions (COSY 45) a été nécessaire pour attribuer les signaux observés.

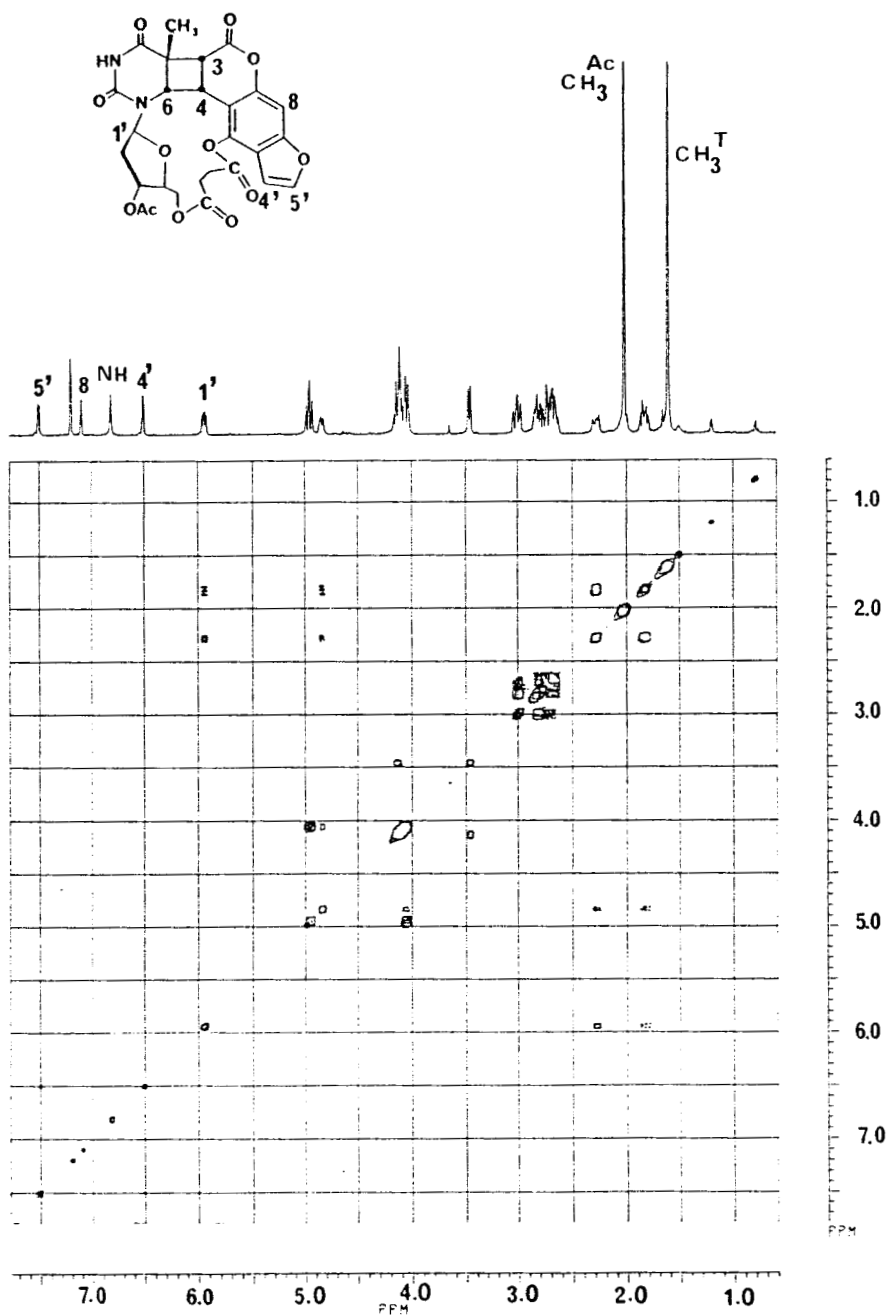


Figure 16a : Diagramme de corrélation en RMN ^1H 2D (400 MHz, COSY 45) obtenu pour le composé 29 dans CDCl_3 .

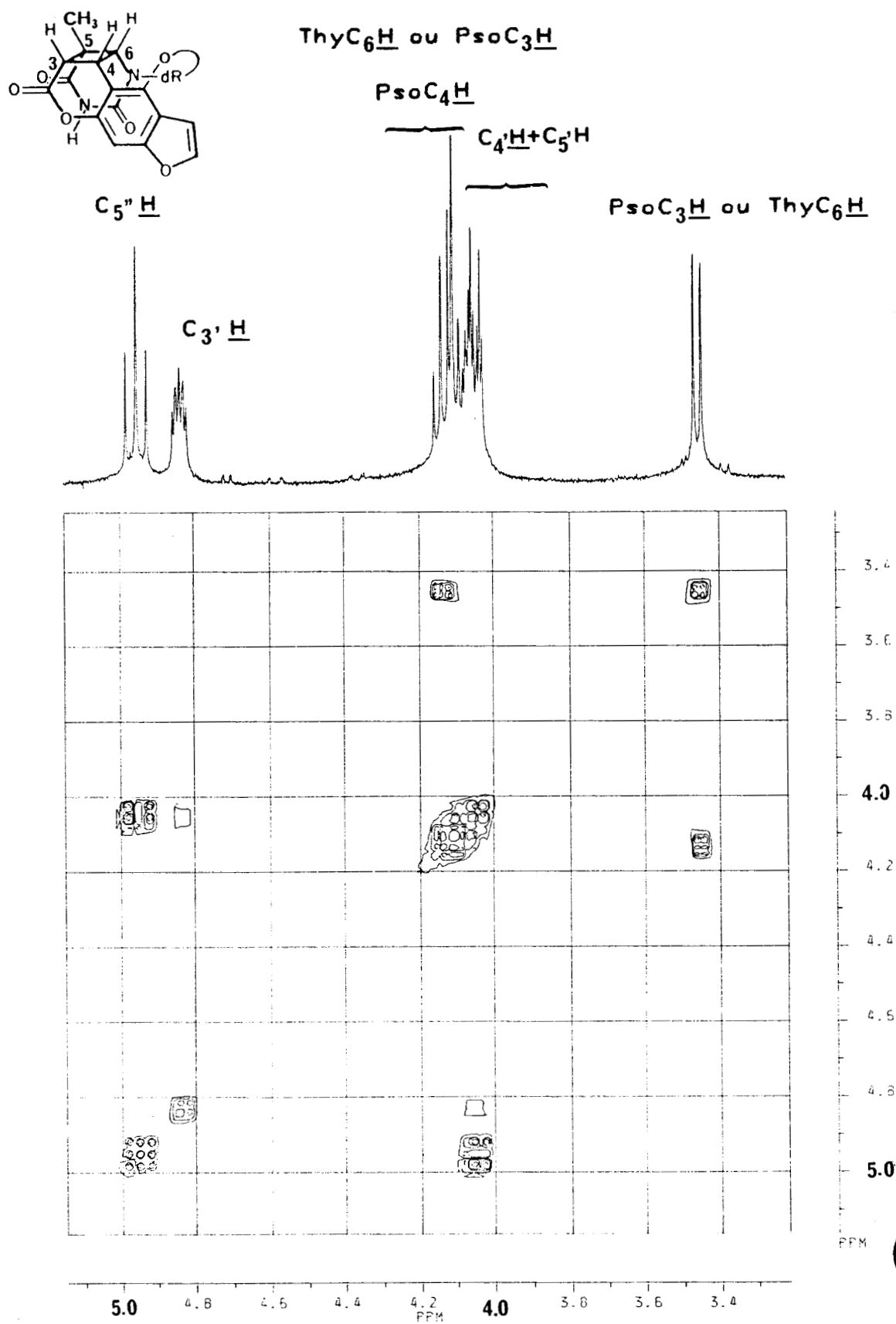


Figure 16b : Diagramme de corrélation en RMN ^1H 2D (400 MHz, COSY 45) obtenu pour les protons du cyclobutane du composé 29.

L'interprétation du spectre à partir des corrélations en deux dimensions a ensuite été confirmée par une série d'homodécouplages.

Enfin, pour les massifs complexes des simulations ont été réalisées (programme BRUKER PANIC).

Ces simulations ont confirmé les attributions faites et ont permis d'affiner les valeurs de δ et de J. Pour exemple, la figure 17 reproduit les signaux expérimentaux et simulés obtenus pour les protons $H_{4'}$, $H_{5'}^*$, $H_{5''}^*$ du désoxyribose.

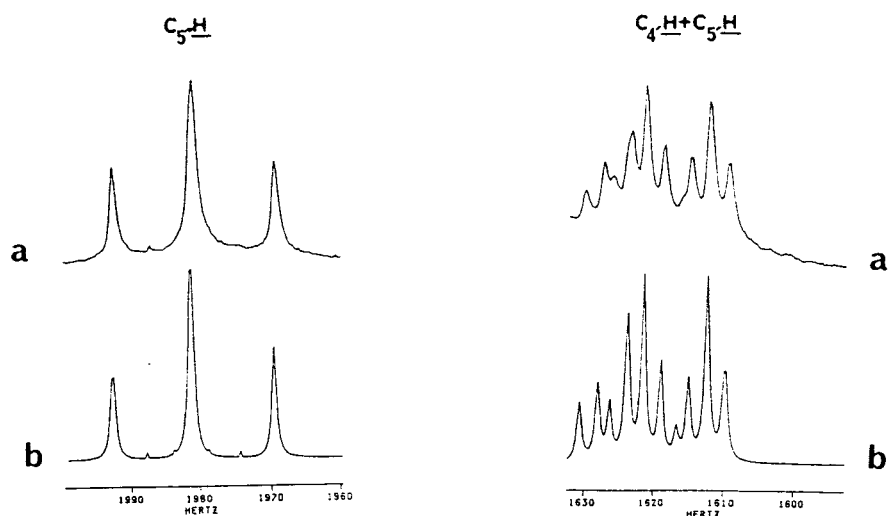


Figure 17 : Etude RMN¹H (400 MHz, CDCl₃, LAOCOON III) du composé 29 ; signaux expérimentaux (a) et simulés (b) des protons $H_{4'}$, $H_{5'}$, $H_{5''}$ du désoxyribose.

* Les protons $H_{5'}$ et $H_{5''}$ étant gémés, la simulation a été faite en introduisant des constantes de couplage négatives pour ces protons.

La même étude a été réalisée pour les signaux du cyclobutane (figure 18).

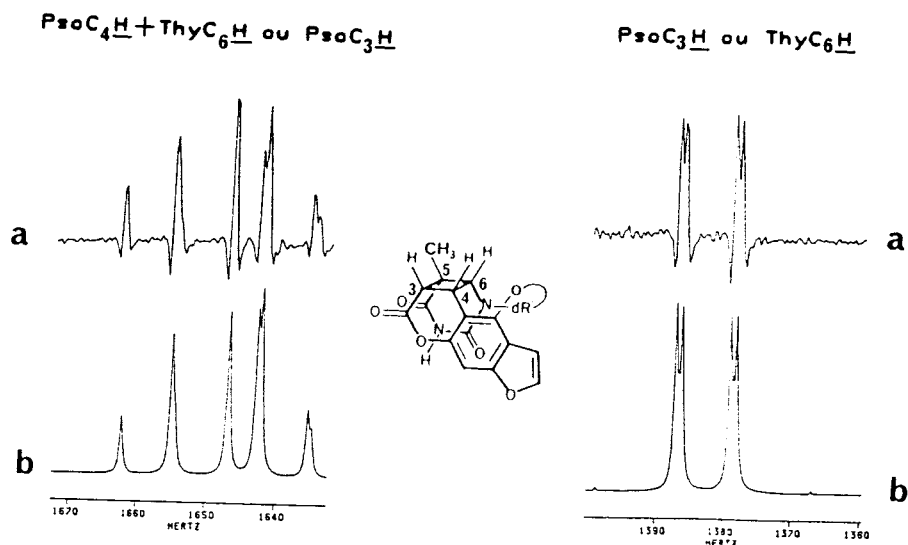


Figure 18 : Etude RMN¹H (400 MHz, CDCl₃, LAOCOON III) du composé 29 : signaux expérimentaux (a) et simulés (b) des protons du cyclobutane.

A partir de cette analyse, tous les signaux du spectre ont pu être attribués.

Les protons du cyclobutane apparaissent sous la forme (figure 18) :

- d'un doublet à environ 3,4 ppm qui intègre pour un proton. Ce doublet se révèle être un "doublet de doublet" en effectuant une amélioration de résolution.
- d'un massif présentant cinq raies à environ 4,1 ppm qui intègre pour deux protons.

En irradiant à 3,4 ppm, le massif à 4,1 ppm se simplifie en quatre raies analysables comme un système AB. Les valeurs des déplacements chimiques et des constantes de couplage des protons du cyclobutane ont été déterminées après un affinement par simulation (tableau 5). A partir de cette étude, il n'est pas possible d'attribuer sans ambiguïté les signaux à 4,10 et à 3,46 ppm à l'un plutôt qu'à l'autre proton PsoC₃H et ThyC₆H.

β) Comparaison avec les résultats antérieurs :

La détermination de la stéréochimie du cyclobutane, peut se faire par comparaison avec les résultats obtenus dans la série des composés Thy-C_n-5Pso à chaîne alcane.

Dans cette série, l'étude radiocristallographique (réalisée dans le laboratoire du Dr. H. HOSPITAL à Bordeaux) des "adduits" formés avec n=2 et n=4 a permis de leur attribuer une stéréochimie cis-anti (rappelons que la stéréochimie syn n'est pas possible en raison de la position d'accrochage de la chaîne en 5 sur le psoralène).

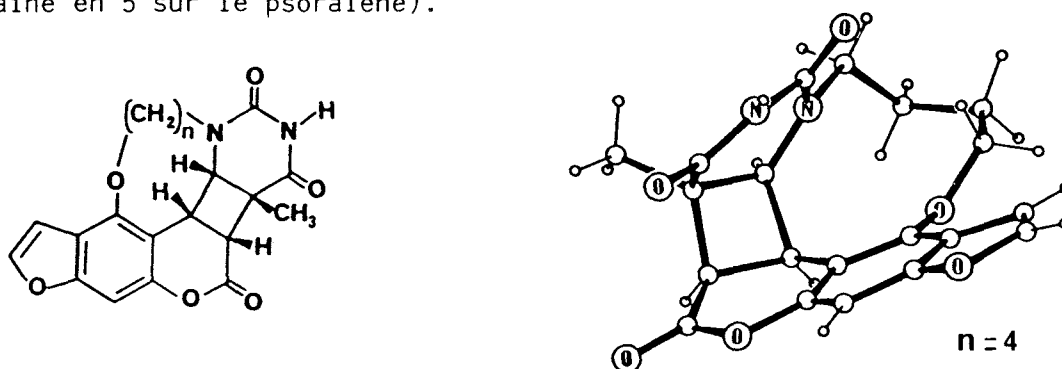
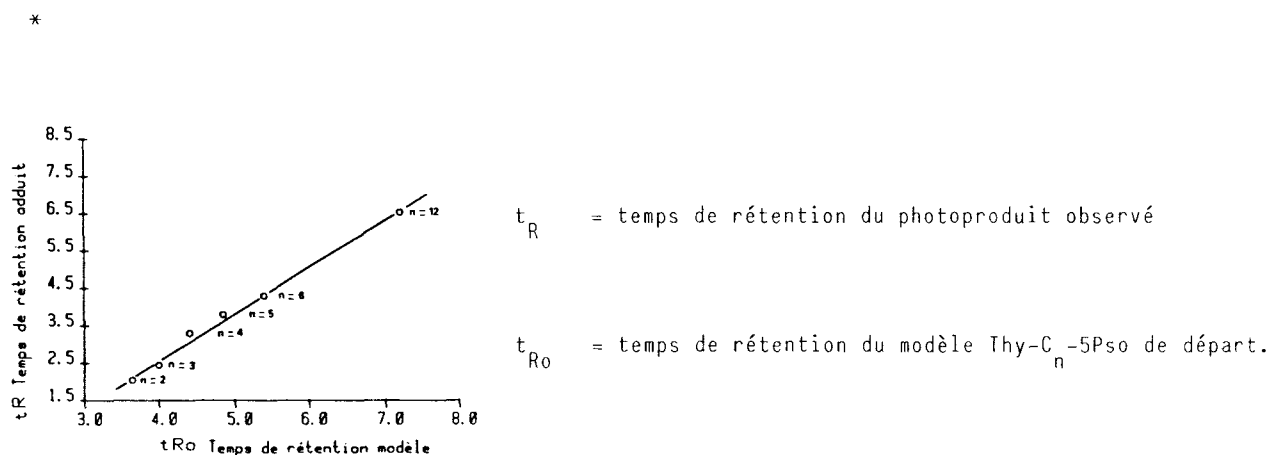


Figure 19 : Structure et vue en perspective des "photoadduits" de la série Thy-C_n-5Pso (n=2 et 4).

Une étude CLHP* a montré que cette stéréochimie est la même quelle que soit la longueur de la chaîne (n=2 à 6 et 12).



L'alignement de tous les points constitue un indice très fort en faveur d'une structure équivalente pour tous les photoproduits. Les valeurs proches des rapports d'absorption A₂₅₄/280 de ces photoproduits confortent également cette conclusion.

Les "photoadduits" isolés pour n=2, 4 et 12 ont été étudiés par RMN¹H (400MHz, CDCl₃). Les valeurs des déplacements chimiques et les constantes de couplage trouvées pour les protons des différents cyclobutanes sont comparées à celles obtenues pour le composé 29 dans le tableau 5.

: Photoproduit:	PsoC ₄ H			ThyC ₆ H			ou : PsoC ₃ H			ou : ThyC ₅ -CH ₃		
:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	

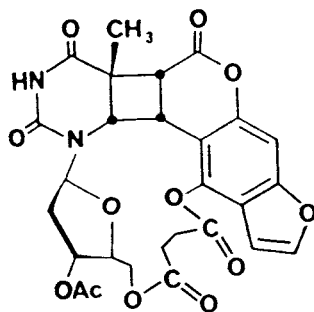
:	: δ ppm	: J ₁ Hz	: J ₂ Hz	: δ ppm	: J ₁ Hz	: δ ppm	: J ₂ Hz	: δ ppm	:			

:	<u>29</u>	: 4,13	: 8,60	: 7,50	: 4,10	: 7,50	: 3,46	: 8,60	: 1,60	:		
:	n=2	: 4,07	: 8,40	: 7,35	: 4,17	: 7,35	: 3,46	: 8,40	: 1,68	:		
:	n=4	: 4,22	: 8,20	: 7,05	: 3,95	: 7,05	: 3,35	: 8,20	: 1,57	:		
:	n=12	: 4,10	: 8,65	: 7,35	: 3,98	: 7,35	: 3,37	: 8,65	: 1,60	:		

Tableau 5 : Etude comparée par RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) des déplacements chimiques et constantes de couplage des protons du cyclobutane du composé 29 et des "photoadduits" obtenus à partir des modèles Thy-C_n-5Pso (n=2, 4 et 12)

Dans le tableau 5, on peut voir tout d'abord que les déplacements chimiques des protons portés par les différents cyclobutanes sont voisins pour tous les composés (l'écart maximum pour un même proton est de 0,22 ppm). Il en est de même pour le déplacement chimique des protons du méthyle (l'écart maximum est de 0,11 ppm). En ce qui concerne les constantes de couplage, elles sont toutes très proches : 8,45 ± 0,25 Hz et 7,30 ± 0,20 Hz.

Nous pouvons conclure à une même stéréochimie pour tous ces cyclobutanes. Le composé 29 présente donc une stéréochimie cis-anti.



29

γ) Comparaison avec les données de la littérature :

Rappelons que ces résultats sont en accord avec les valeurs données dans la littérature :

- Pour les "adduits" thymidine (5,6 \diamond 3,4) 8MOP isolés par J. CADET et Coll. (33), on note des différences importantes pour le déplacement chimique des protons du groupement méthyle (D_2O) : 1,68 ppm pour les dérivés cis et 1ppm pour les "adduits" trans (blindage du méthyle en position trans dû à sa proximité du noyau benzénique du psoralène). La valeur trouvée pour nos composés ($CDCl_3$) se situe à $1,61 \pm 0,07$ ppm (le déplacement chimique des protons du groupement méthyle du composé de départ 21 est de 1,81 ppm).

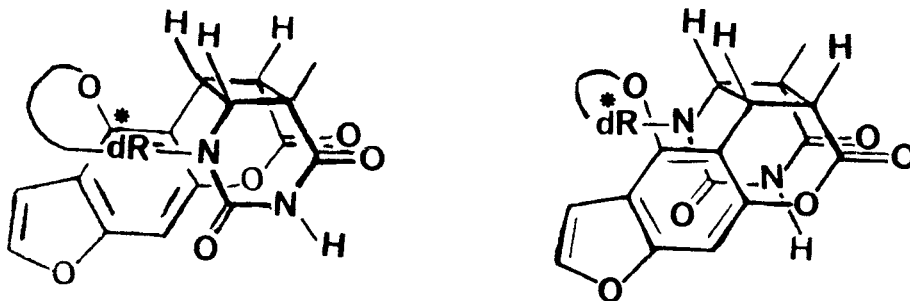
Les valeurs obtenues pour les constantes des protons du cyclobutane ($8,45 \pm 0,25$ Hz et $7,30 \pm 0,20$ Hz) sont voisines de celles observées pour des "adduits" cis :

- "adduit" thymidine (5,6 \diamond 3,4) 8MOP cis-syn (D_2O) : $J=7,6$ et 10 Hz (33).
- "adduit" diméthyl-1,3 thymine (5,6 \diamond 3,4) 8MOP ($CDCl_3$) : cis-anti : $J=7,3$ et $8,1$ Hz, cis-syn : $J=8,3$ et $9,5$ Hz (24).

δ) Conclusion de l'étude par RMN :

La comparaison des résultats de l'étude par RMN^1H du composé 29 avec ceux obtenus précédemment dans la série Thy- C_n -5Pso et ceux décrits dans la littérature indique clairement une configuration cis-anti pour le photoproduit isolé.

Un tel "adduit" admet deux formes diastéréoisomères en raison de la chiralité au niveau du désoxyribose. Suivant la face de la thymidine (définie par rapport au sucre) sur laquelle s'additionne la double liaison du psoralène, on peut former les deux diastéréoisomères suivants :



Le spectre de RMN¹H à 400 MHz et l'analyse CLHP montrent que la photoaddition conduit très sélectivement (> 95 %) à un seul diastéréoisomère.

Notons en effet, que de tels diastéréoisomères doivent présenter des différences dans leur spectre de RMN :

J. CADET et Coll. (33) ont isolé et séparé trois couples de diastéréoisomères "d'adduits" Thd (5,6 \diamond 3,4) 8MOP (cis-anti, cis-syn et trans-syn). Les caractéristiques de RMN¹H (D₂O) des deux diastéréoisomères du couple cis-syn ont été décrites. On constate des différences des déplacements chimiques notables pour pratiquement tous les protons (jusqu'à 0,3 ppm pour le proton H₂ du désoxyribose et jusqu'à 0,1 ppm pour l'un des protons du cyclobutane).

Il en est de même pour les différents "adduits" thymidine-psoralène isolés à partir de l'ADN (revue 29). Pour un même type d'"adduit" 3,4 ou 4',5' (cis-syn), les spectres de RMN¹H (360 MHz) révèlent la présence de deux diastéréoisomères : les différences sont surtout visibles au niveau du proton anomérique du désoxyribose.

Nous n'avons pas cherché à déterminer la structure du diastéréoisomère isolé, ceci pouvant se faire à la fin de la synthèse lors de l'étude radiocristallographique de l'"adduit" recherché Thd (5,6 \diamond 3,4) 5MOP.

4. ETUDE DE LA PHOTOADDITION :

a. Effet de l'oxygène sur la formation du photoproduit 29 :

Deux solutions (10⁻³M) du composé 21 ont été préparées, l'une dans le diméthylsulfoxyde et l'autre dans le mélange eau-éthanol (50:50).

Ces deux solutions ont été irradiées simultanément à 365 nm :

- sous atmosphère d'argon (après désoxygénation par barbotage d'argon).
- sous atmosphère d'oxygène et agitation magnétique (après saturation par barbotage d'oxygène).

L'évolution de la photoréaction a été suivie par CLHP (voir dans la partie expérimentale, tableau 9 p. 167). Dans tous les cas, on observe uniquement la formation du "photoadduit" 29. On constate une inhibition de la photoaddition par l'oxygène. Celle-ci a pu être évaluée par CLHP. Elle est de 50 % environ dans le mélange eau-éthanol et de 60 % environ dans le diméthylsulfoxyde.

Ce résultat indique l'intervention très probable de l'état triplet du psoralène dans la photoréaction conduisant à l'"adduit" intramoléculaire 29.

b. Influence des photosensibilisateurs des états excités triplet :

Dans cette étude nous avons utilisé différents photosensibilisateurs dont l'énergie de l'état excité triplet est comprise entre 255 et 290 KJ/mol : ce sont le naphthalène, la cétone de Michler, la thioxanthone, le fluorène et la benzophénone.

Le composé 21 a été irradié à 365 nm à environ 10^{-3} M en solution désoxygénée dans le mélange eau-éthanol (50:50) en présence de ces différents photosensibilisateurs (10 % en masse du composé 21).

Dans tous les cas, on observe par CLHP uniquement la formation du composé 29. Le taux de conversion ainsi que le pourcentage de lumière absorbée à 365 nm par le photosensibilisateur ont été estimés par CLHP et reportés dans le tableau 6.

:Photosensibilisateur:	Temps	TC %	A_{sens}^*	(365nm)	E_T^{**}
:	: d'irradiation :	:	:	%	: KJ/mol :
:	: en mn :	:	:	:	:
: composé <u>21</u>	: 10	: 90	:	:	:
: (témoin)	: 18	: 98	:	:	:
: benzophénone	: 10	: 83	:	<1	: 290 :
:	: 18	: 99	:	:	:
: fluorène	: 10	: 77	:	<1	: 285 :
: thioxanthone	: 18	: 74	:	58	: 275 :
: cétone de Michler	: 18	: 5	:	95	: 265 :
: naphthalène	: 10	: 42	:	<1	: 255 :

Tableau 6 : Irradiation à 365 nm du composé 21 dans le mélange eau-éthanol (50 : 50), C = 10^{-3} M. Influence de l'addition de photosensibilisateurs sur le taux de conversion mesuré en CLHP.

$$* \quad A_{sens} (365 \text{ nm}) = \frac{hs}{hs+ho} \times 100$$

hs = hauteur (cm) signal du photosensibilisateur à 365 nm.

ho = hauteur (cm) signal du composé 21 à 365 nm.

** E_T : énergie de l'état excité triplet du photosensibilisateur en KJ/mol.

On constate dans ce tableau :

- qu'aucun effet de photosensibilisation ne se produit même avec la benzophénone dont l'énergie de l'état excité triplet est la plus élevée parmi celles des photosensibilisateurs utilisés (290 KJ/mol). Le taux de conversion observé après 10 ou 18 minutes d'irradiation en présence du photosensibilisateur est toujours inférieur ou égal à celui mesuré pour le composé seul en solution.
- des effets importants d'inhibition de la réaction se produisent pour :
 - . les photosensibilisateurs qui absorbent beaucoup la radiation incidente telle la thioxanthone et surtout la cétone de Michler.
 - . le naphthalène qui conduit à une diminution du taux de conversion d'un facteur 2 pour un temps d'irradiation de 10 minutes.

En conclusion de ces essais, nous pouvons dire :

- que nous n'avons pas réussi à photosensibiliser la photoréaction.
- que l'état excité triplet du psoralène est très probablement impliqué dans la photoaddition.
- que l'énergie de l'état excité triplet du noyau carboxy-5 psoralène est probablement supérieure à 290 KJ/mol.

Il faut noter que l'on trouve dans la littérature des valeurs de l'énergie de l'état excité triplet des furocoumarines (5MOP 1 et 8MOP 2 dans l'éthanol) inférieure à 260 KJ/mol (85).

c. Influence de la longueur d'onde d'irradiation :

Cette étude nous paraît très intéressante à réaliser. La photoaddition en 4',5' est prépondérante dans l'ADN et n'est pas du tout observée dans notre cas. La nature des paramètres qui peuvent orienter la photoaddition en 3,4 ou 4',5' est encore à déterminer.

Nous n'avons réalisé ici qu'un essai préliminaire d'irradiation à 254 nm du composé 21, en solution non désoxygénée ($5.10^{-3}M$) dans le mélange eau-éthanol (50:50). Lorsque la durée d'irradiation est courte, on observe uniquement la formation du photoproduit 29 identifié par ses caractéristiques CLHP. Après un temps d'irradiation plus long, un mélange complexe de photoproduits est observé.

Cette observation montre que même par irradiation dans l'UV lointain (254 nm), on peut induire la photoaddition thymidine-psoralène en 3,4.

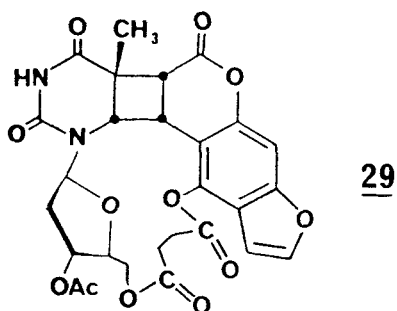


III. HYDROLYSE DU PHOTOPRODUIT 29 :

Le photoproduit 29 peut être préparé en quantités importantes (de l'ordre du gramme) avec un excellent rendement (60 à 70 %).

Nous allons maintenant chercher des conditions d'hydrolyse de la chaîne succinyle et du groupement acétyle.

Différentes conditions peuvent être utilisées pour hydrolyser les fonctions esters de l'acide succinique et de l'acide acétique : les hydrolyses basique et acide et l'hydrazinolyse.



1. HYDROLYSE BASIQUE :

a. Essai d'hydrolyse basique à pH = 10,5 :

Dans un premier temps, nous avons essayé de faire une hydrolyse douce avec de la soude à pH=10,5 dans le mélange eau-acétonitrile (50:50). Dans ces conditions, nous voulions hydrolyser l'ester succinique du côté phénol.

En CLHP il apparaît immédiatement après addition de soude, un seul produit (figure 20) que nous avons tenté d'isoler. Nous avons constaté après isolement que ce produit est instable et redonne le produit de départ (CLHP, RMN¹H dans CDCl₃).

Il s'agit très probablement du produit 30 résultant de l'ouverture de la lactone qui est devenue beaucoup plus labile en raison de la saturation de la double liaison 3,4 :

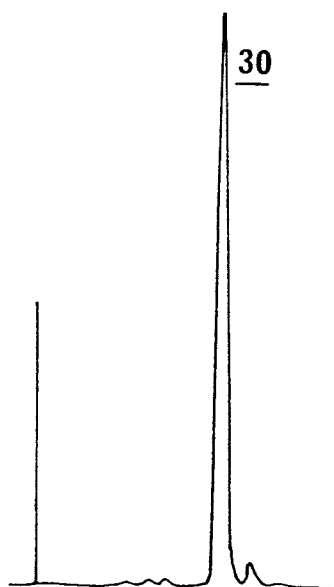
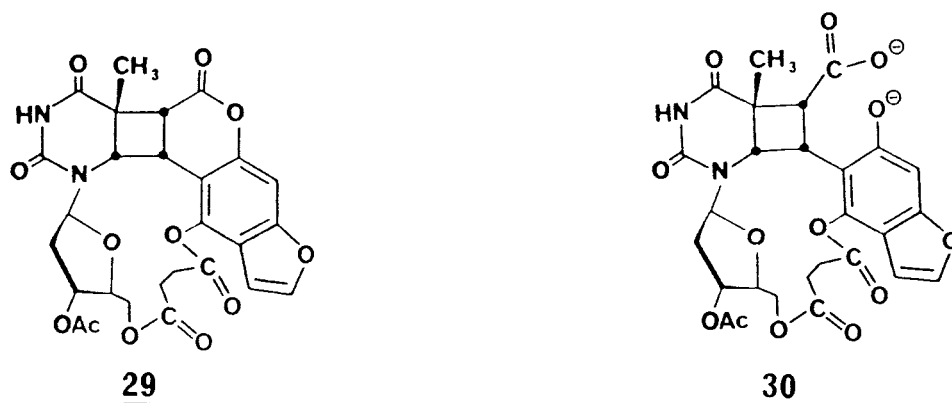


Figure 20 : Chromatogramme CLHP de l'hydrolyse basique à pH = 10,5 du photoproduit 29, ouverture de la lactone.

En effet, une telle ouverture du cycle lactonique a été observée lors de l'isolement des "adduits" diméthyl-1,3 thymine (5,6 \diamond 3,4) 8MOP cis (24), thymidine (5,6 \diamond 3,4) psoralène cis-syn formés dans l'ADN (29) et thymidine (5,6 \diamond 3,4) 8MOP cis-syn obtenu après irradiation à l'état solide (33).

b. Essai d'hydrolyse basique à pH = 12,5 :

De façon à poursuivre l'hydrolyse, le composé 29 a été traité par la soude à pH=12,5. Une solution à 10^{-2} M dans le mélange eau-dioxanne (50:50) a été amenée à ce pH avec une solution aqueuse de soude 0,5N. L'évolution de l'hydrolyse à température ambiante a été suivie par CLHP. EN début d'hydrolyse, le pH a été réajusté à plusieurs reprises et on observe la formation de plusieurs produits parmi lesquels on trouve le produit d'ouverture de la lactone 30. Après quelques heures, un produit majoritaire a été détecté, mais il est accompagné de sous-produits.

Après neutralisation, la solution a été réirradiée quelques minutes à 254 nm et analysée par CLHP. Dans ces conditions, le produit majoritaire d'hydrolyse disparaît complètement pour former l'hydroxy-5 psoralène 3 et la thymidine 14 identifiés par leur temps de rétention et leur rapport d'absorption 254/280 mn.

Le produit majoritaire observé est donc probablement le composé d'hydrolyse complète du photoproduit 29 (élimination de la chaîne, hydrolyse de la fonction acétate).

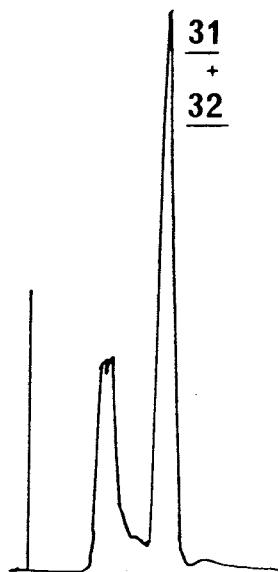


Figure 21 : Chromatogramme CLHP de l'hydrolyse basique à pH=12,5 du photoproduit 29 (eau-dioxanne 50:50 ; 10^{-2} M).

c. Isolement du produit majoritaire d'hydrolyse basique :

Après ces essais préliminaires, nous avons tenté d'isoler le produit majoritaire observé.

L'hydrolyse a été réalisée sur 50 puis 100 mg de photoproduit 29 dans le mélange eau-dioxanne (50:50) porté à pH=12,5.

Le pH a été réajusté de nombreuses fois au cours de la réaction.

Au bout de 8 à 12 heures, l'hydrolyse est terminée mais on observe la formation de sous-produits en quantité importante (impuretés de temps de rétention inférieurs à celui du produit majoritaire d'hydrolyse).

Après neutralisation et évaporation du solvant, la purification a été réalisée par CLHP sur phase inverse en raison de la très forte polarité sur silice du produit recherché.

Le rendement en produit isolé est très faible, de l'ordre 15 à 20 %.

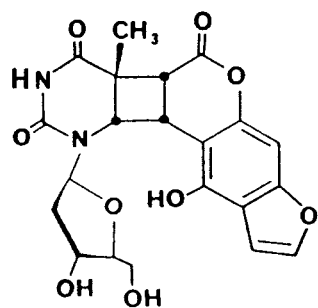
Le composé obtenu a été caractérisé par spectrométrie de masse et par RMN¹H.

Le spectre de masse en ionisation chimique (méthane) montre bien l'ion moléculaire attendu ((M+1)⁺=445) de même que les coupures de la thymidine (m/e=243, (Thd+1)⁺ ; 126, Thy⁺ ; 117, désoxyribose) et du psoralène (m/e=202, PsoOH⁺).

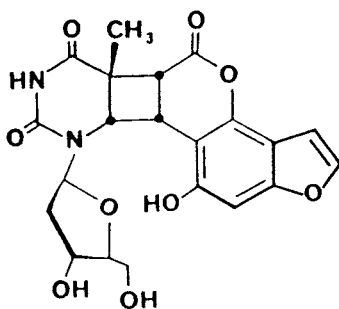
Le spectre de RMN¹H (400MHz, DMSO d₆) révèle un dédoublement de tous les signaux indiquant la présence de deux isomères dans une proportion 50:50. On constate sur le spectre, la disparition des signaux de la chaîne succinyle et du groupement acétyle. Tous les signaux des protons aromatiques et ceux des protons du sucre sont présents mais dédoublés. On trouve également sur le spectre, les signaux de 2 fois 3 protons échangeables sous la forme d'un singulet large à 9,94 ppm (4H) et deux singulets à 5,18 et 5,13 ppm (2H), ceci indiquant bien une hydrolyse avec libération des fonctions hydroxyle et phénolique portés par les deux isomères.

Une étude CLHP en élution isocratique dans différentes conditions a été réalisée pour rendre compte de la présence de ces deux isomères. Finalement, ils ont pu être séparés. L'analyse CLHP indique d'ailleurs des absorptions comparables de ces composés à 254 et 280 nm.

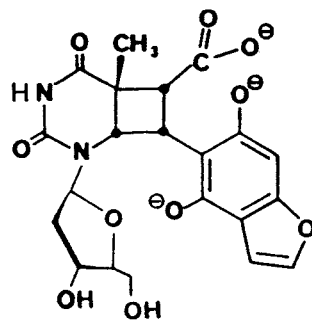
Ces résultats permettent d'avancer les structures 31 et 32 pour ces deux isomères :



31



32



37

L'ouverture de la lactone étant la réaction la plus rapide en milieu basique, on peut penser qu'il se forme l'intermédiaire 37 qui se referme en milieu neutre pour donner 31 et 32 en mélange équimoléculaire.

Cette réaction d'hydrolyse se fait avec isomérisation et avec un rendement global très faible (20 %). Des produits de décomposition colorés sont observés.

Il en est de même si on utilise une solution méthanolique d'ammoniac à la place de la soude. Il nous a donc fallu rechercher des conditions d'hydrolyse plus sélectives.

2. HYDRAZINOLYSE :

L'hydrazine est très employée dans la chimie des nucléosides pour hydrolyser les groupes protecteurs tel qu'un lévulinate ($\text{ROCO}-(\text{CH}_2)_2-\text{COCH}_3$) (86). Les conditions classiques utilisent l'hydrazine 0,5M dans le mélange pyridine-acide acétique (4:1).

Nous avons utilisé ces conditions et l'hydrazinolyse a été suivie par CLHP. On observe la formation d'un produit majoritaire différent des produits isolés lors de l'hydrolyse basique et présentant un temps de rétention plus grand. Les tentatives d'isolement de ce produit ont échoué, ce produit se décomposant au cours de l'évaporation du solvant.

Après cet essai négatif, nous nous sommes tournés vers l'hydrolyse acide.

3. HYDROLYSE ACIDE :

Le photoproduit 29 a été traité par le mélange acide chlorhydrique concentré-éthanol (50:50). L'évolution de l'hydrolyse à température ambiante a été suivie par CLHP. Au début de la réaction, on observe de nombreux intermédiaires. Puis la réaction évolue avec obtention (après 5 jours) d'un pic très majoritaire qui a été identifié comme correspondant au mélange (50:50) des isomères 31 et 32 obtenus par hydrolyse basique (identification CLHP, tableau 10 p. 174).

De façon à diminuer le temps de réaction, l'hydrolyse a été menée dans le mélange HCl concentré-méthanol (50:50) à 50°C. Dans ces conditions, la réaction est totale en deux heures tout en étant aussi propre.

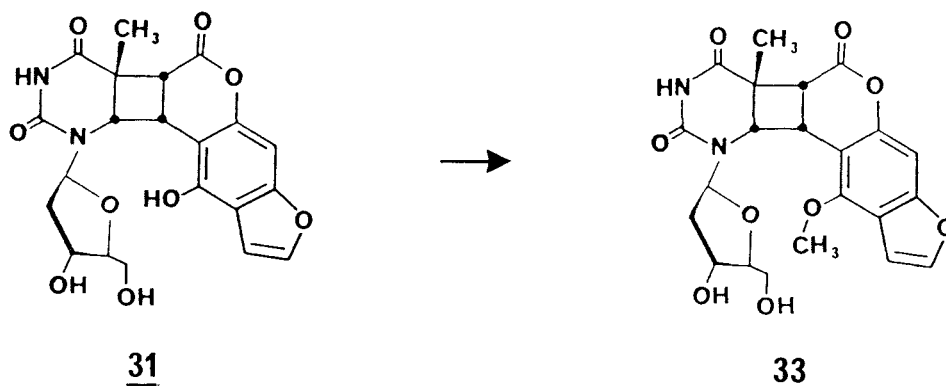
Finalement, pour faciliter la récupération des produits, l'hydrolyse a été réalisée par barbotage d'acide chlorhydrique dans une solution méthanolique du photoproduit 29 (100 mg, 10^{-2} M) portée à 50°C. La réaction est totale après 8 heures et fournit le mélange d'isomères avec un rendement supérieur à 90 % (analyse CLHP).

Notons que nous sommes, très proches des conditions de déglycosilation de la thymidine qui, si elle se produisait, devrait être détectée dans nos conditions d'analyse.

En conséquence, l'hydrolyse du produit 29 a pu être réalisée en évitant à la fois la destruction du cyclobutane et la déglycosilation. Toutefois l'isomérisation bien connue dans la série (cf. p. 30) n'a pu être évitée. Avant de tester d'autres méthodes, nous avons réalisé des essais préliminaires de méthylation.

IV. METHYLATION, ESSAIS PRELIMINAIRES :

Après avoir hydrolysé la chaîne succinyle et le groupement acétyle, il faut méthyler sélectivement la fonction phénol pour obtenir l'"adduit" Thd (5,6 \diamond 3,4) 5MOP 33 recherché :

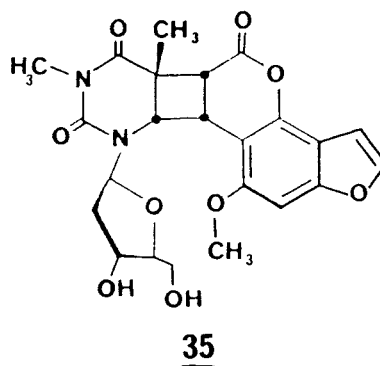
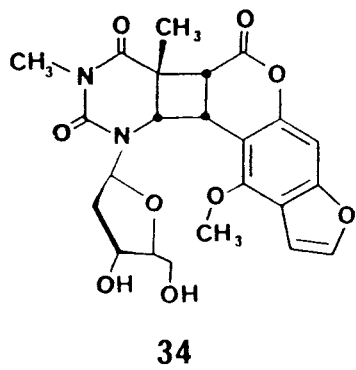


De façon à tester rapidement cette réaction, nous avons opéré sur le mélange d'isomères obtenus après hydrolyse.

Le diazométhane semble bien adapté, pour réaliser une telle réaction bien que la méthylation de l'azote N-3 de la thymidine ait été décrite (87).

La méthylation a été réalisée en solution méthanolique. Pour analyser rapidement le mélange réactionnel, nous disposons d'une technique intéressante : la "photoréversion des "adduits" à 254 nm suivie par CLHP qui évite d'isoler les produits. Après irradiation du mélange réactionnel, l'observation des pics correspondant à l'hydroxy-5 psoralène et à son isomère méthylés (5MOP et isobergaptène) et de thymidine méthylée ou non indiquera si "l'adduit" recherché a été formé.

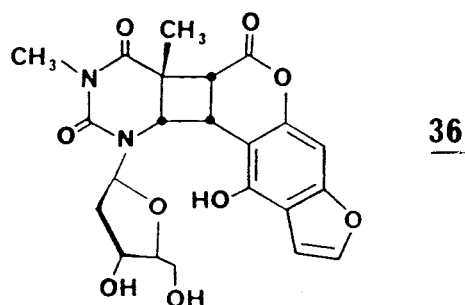
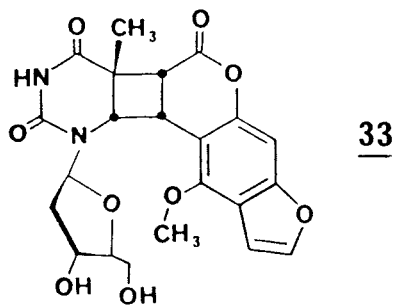
La méthylation a tout d'abord été réalisée avec un excès de diazométhane. Après plusieurs heures de réaction on observe une réaction totale conduisant à seulement deux produits. "La photoréversion" indique une bis-méthylation sur la fonction phénol et également, sur l'azote N-3 de l'hétérocycle azoté (composés 34 et 35) : on met en évidence la formation du mélange 5MOP, isobergaptène et de méthyl-3 thymidine (comparaison avec un témoin).



La méthylation a donc été réalisée de façon contrôlée en ajoutant le diazométhane par fractions successives.

Cette fois, on met en évidence la formation de trois nouveaux produits : après "photoréversion", on observe bien la formation de thymidine, de méthyl-3 thymidine et du mélange 5MOP-isobergaptène.

Dans ces conditions, il se forme bien le composé recherché 33 mais sans sélectivité. On obtient le mélange des composés 33 et 36 accompagnés de leurs isomères angulaires.



Quelques essais ont été menés de façon à rendre la réaction plus sélective (à -40°C et en milieu acide) mais sans succès.

V. CONCLUSION :

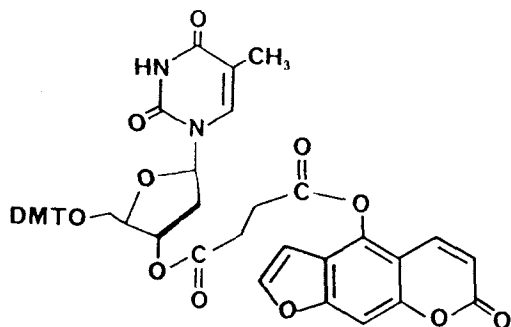
En conséquence, il apparait qu'il sera possible d'obtenir le produit désiré. Il nous reste à mettre au point les conditions de méthylation sélective.

C. COMPOSES ASSOCIANT LA THYMIDINE
PAR SA POSITION 3' AU PSORALENE

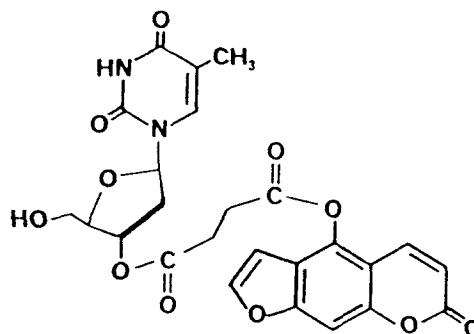
I. INTRODUCTION :

Après la mise en évidence de la photocyclisation intramoléculaire hautement sélective du composé 21, il semblait intéressant de tester l'influence de la position d'accrochage de la chaîne succinyle sur la nature et la sélectivité de la photoréaction.

Pour le composé 21 la chaîne succinyle se trouve fixée sur l'hydroxyle en 5' de la thymidine, nous nous proposons d'étudier les composés ayant la même chaîne mais accrochée sur l'hydroxyle en 3'.



24



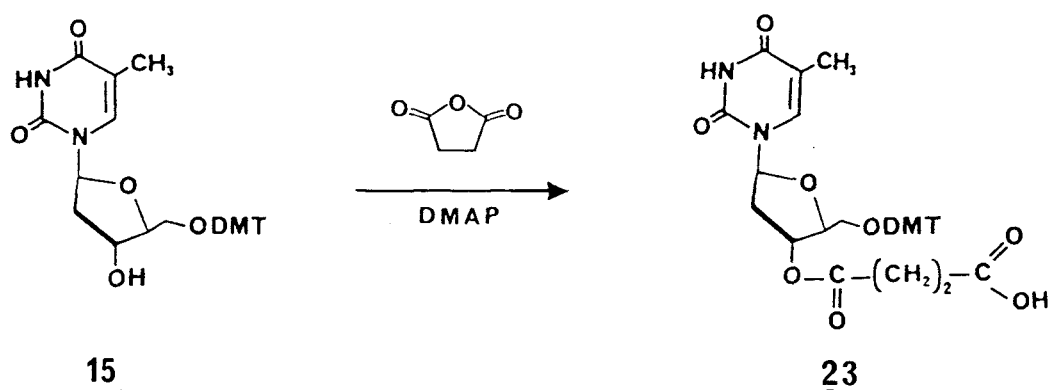
25

Pour préparer ce type de composés, nous pouvons partir d'un intermédiaire déjà préparé : la 0-(diméthoxy-4,4' trityl)-5' thymidine 15 et utiliser les méthodes développées dans la série précédente.

Le composé 24 sera ainsi obtenu. Il pourra être détritilé facilement en milieu acide pour donner le dérivé 25. La photoréactivité de ces deux composés sera ensuite étudiée.

II. SYNTHESE :

1. OBTENTION DE L'INTERMEDIAIRE 23, LA O-(CARBOXY-3 PROPANOYL)-3', O-(DIMETHOXY-4,4' TRITYL)-5' THYMIDINE :



Cet intermédiaire a été préparé dans les mêmes conditions que celles utilisées lors de la préparation du composé 20.

La préparation de 23 dans ces conditions est d'ailleurs décrite dans la littérature (80).

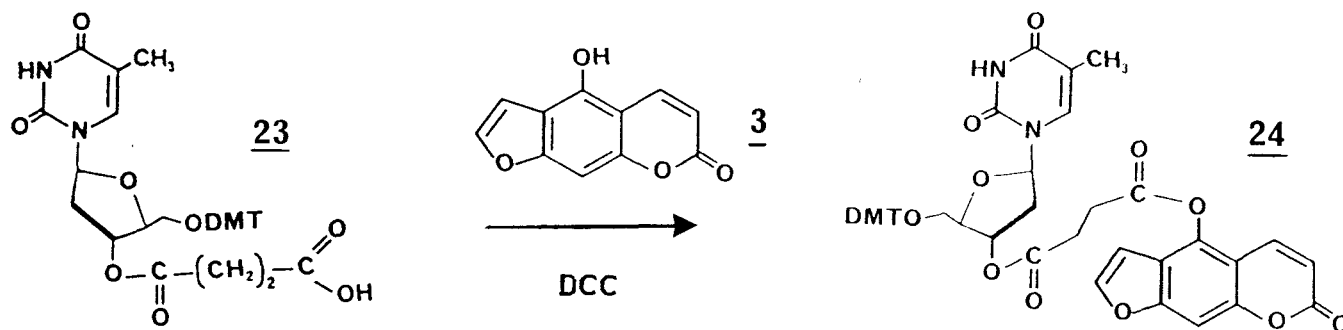
La O-(diméthoxy-4,4' trityl)-5' thymidine 15 a été estérifiée en position 3' par l'anhydride succinique en présence de N,N-diméthylamino-4 pyridine dans le dichlorométhane pour conduire au dérivé 23.

Le composé 23 a été purifié par chromatographie sur silice en utilisant dans le solvant d'éluion la pyridine (0,5 %) afin d'éviter la détritylation qui peut être causée par l'acidité de la silice. Il a ainsi été obtenu avec un rendement quantitatif (97 %).

Toutes les caractéristiques physico-chimiques de ce composé correspondent à la structure attendue.

2/ OBTENTION DES COMPOSES 24 et 25 :

a. Couplage de l'intermédiaire 23 avec l'hydroxy-5 psoralène 3 :
Obtention du composé 24 :



Le composé **24** a été préparé par couplage du dérivé **23** et de l'hydroxy-5 psoralène **3** en présence de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide dans le mélange acétonitrile-dichlorométhane (50:50).

La purification par chromatographie sur silice de ce composé a été réalisée en utilisant la pyridine (0,5 %) dans l'éluant pour éviter une éventuelle détritulation. Il a ainsi été obtenu avec un rendement de 65 %.

Les caractéristiques physico-chimiques ont confirmé la structure attendue.

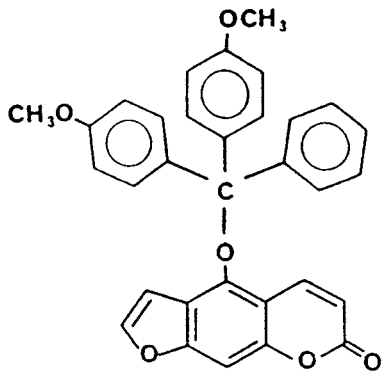
Sur le spectre de RMN du proton (400 MHz, DMSO d₆), on trouve tous les signaux des protons du noyau psoralène, du groupement thymidinyle du diméthoxy-4,4' trityle et de chaîne succinyle.

Le spectre UV indique une absorption au delà de 320 nm, ce qui montre la présence du noyau psoralène.

En CCM, ce composé se révèle à la cystéine sulfurique, ce qui prouve la présence de thymidine.

Sur le spectre de masse haute résolution, on n'observe pas l'ion moléculaire ($M^+ = 829$), par contre on distingue les coupures caractéristiques du psoralène ($m/e = 202$; 174), du groupement diméthoxy-4,4' trityle ($m/e = 303$) et de la thymine ($m/e = 126$).

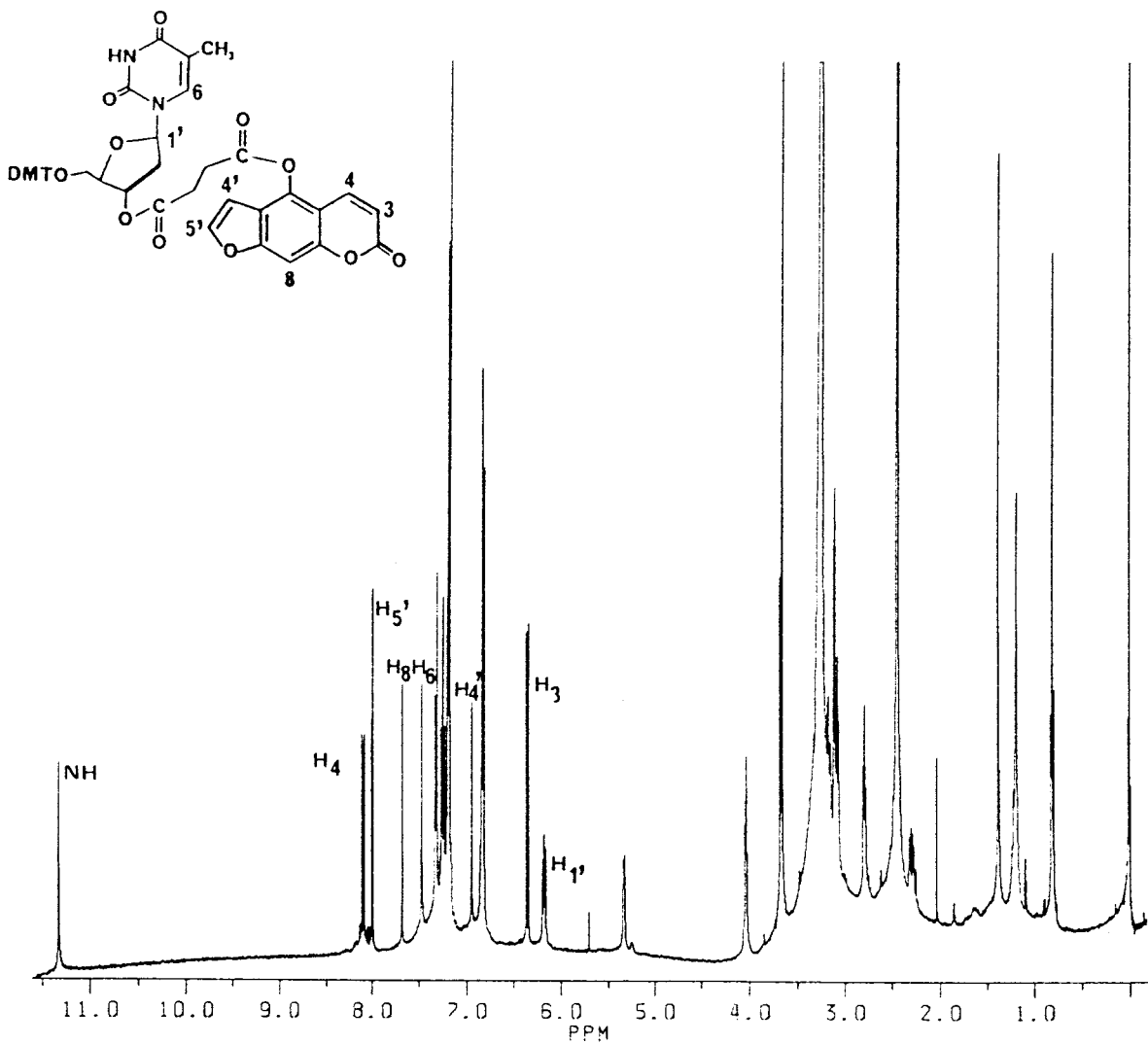
D'autre part, on note la présence de l'ion fragment ($m/e = 504$) pour lequel on peut proposer la structure suivante :



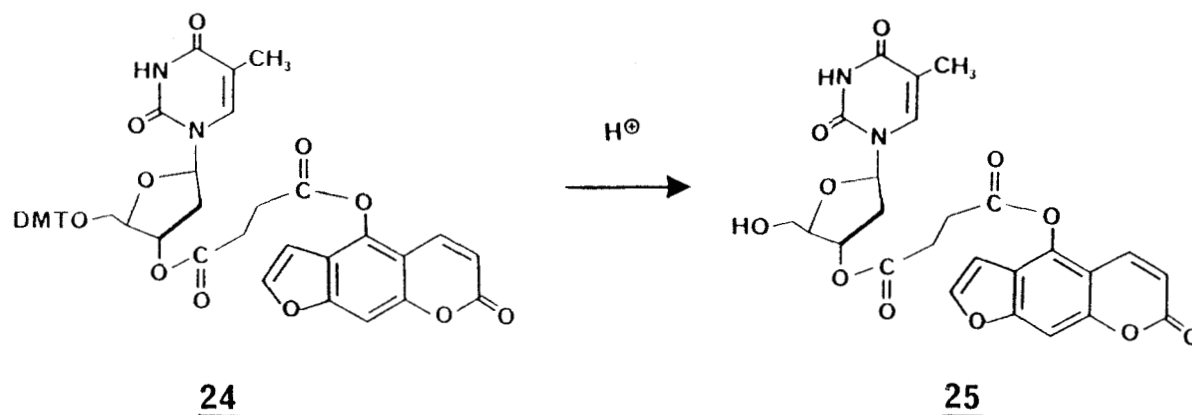
M. trouvée = 504,1551
M. théorique = 504,15728

La formation de ce dérivé, peut s'expliquer par un réarrangement thermique du composé 24.

Spectre de RMN¹H (400MHz, DMSO d₆) du composé 24 :



b. Détritulation, obtention du composé 25 :



Le composé 25 a été préparé par détritulation du composé 24 par l'acide benzène sulfonique (BSA).

Il est obtenu avec un rendement de 84 % après purification par chromatographie sur silice.

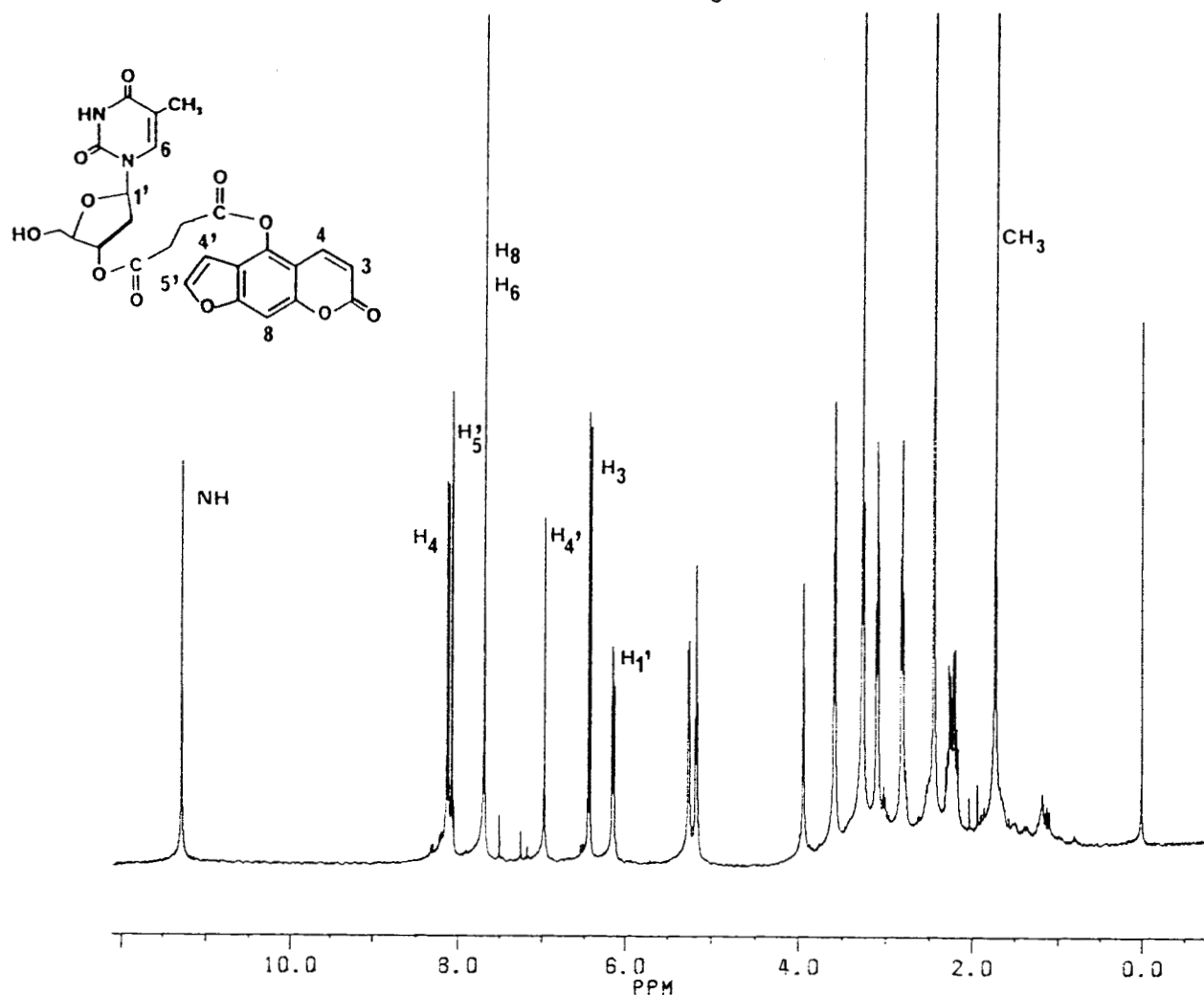
Ce composé a été caractérisé par les méthodes physico-chimiques usuelles. Le spectre de RMN du proton (400 MHz, DMSO d_6) confirme la structure attendue.

En spectroscopie infra-rouge, on observe bien la bande de vibration de valence de la fonction alcool libérée (3500 cm^{-1}).

Le spectre de masse révèle bien l'ion moléculaire ($(M+1)^+ = 527$), de même que les coupures caractéristiques du noyau psoralène et de la thymidine.

L'absorption UV, au delà de 320 nm témoigne de la présence du noyau psoralène. Le test de révélation à la cystéine sulfurique, ce qui démontre la présence de thymidine.

Spectre de RMN¹H (400MHz, DMSO d₆) du composé 25 :



III. ETUDE PHOTOCHEMIQUE PRELIMINAIRE DES COMPOSES 24 ET 25 :

1. PHOTOREACTIVITE DU COMPOSE TRITYLE 24 :

Le composé 24 a été irradié à 365 nm dans l'acétonitrile et l'éthanol à la concentration de 10⁻³M en solution désoxygénée. L'évolution de la solution a été suivie par CLHP. Au bout de 30 mn d'irradiation, on n'observe pas de photoréaction notable (figure 23) alors que dans les mêmes conditions, le composé 21 (à chaîne succinyle fixée en 5') se photocyclise totalement. Une irradiation plus longue (quelques heures) ne provoque pas la formation de produits détectables par CLHP bien que l'on constate une faible disparition du produit de départ.

Cette étude n'a pas pu être réalisée à la concentration de 10^{-3} M dans les mélanges de solvant utilisés pour le composé 21 (H_2O-CH_3CN , $H_2O-EtOH...$ (50:50)), ceci en raison de l'insolubilité du composé 24 dans l'eau.

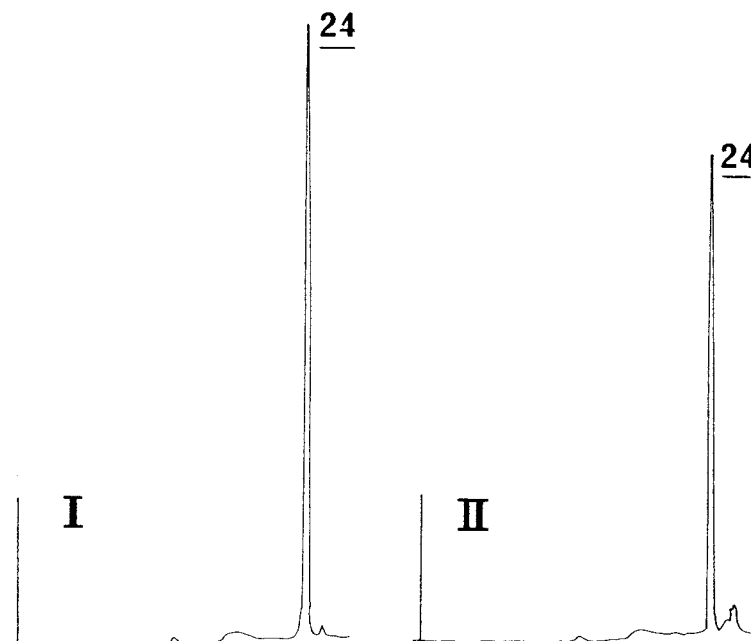


Figure 23 : Chromatogrammes CLHP d'une solution du composé 24 dans l'éthanol ($C=10^{-3}$ M), avant (I) et après 30 mn d'irradiation à 365 nm (II).

Ces résultats préliminaires indiquent une faible photoréactivité du dérivé 24.

2. PHOTOREACTIVITE DU COMPOSE 25 :

Le composé 25 a été irradié à 365 nm en solution désoxygénée dans deux mélanges de solvants eau-éthanol (50:50) et eau-acétonitrile (50:50).

Dans les deux cas, l'irradiation de solutions de concentration 10^{-3} M conduit à un mélange complexe de photoproduits, le composé 25 réagissant presque complètement.

L'irradiation de solutions beaucoup plus diluées ($5 \cdot 10^{-5}$ M) dans ces deux solvants, provoque la formation de deux produits principaux (figure 24).

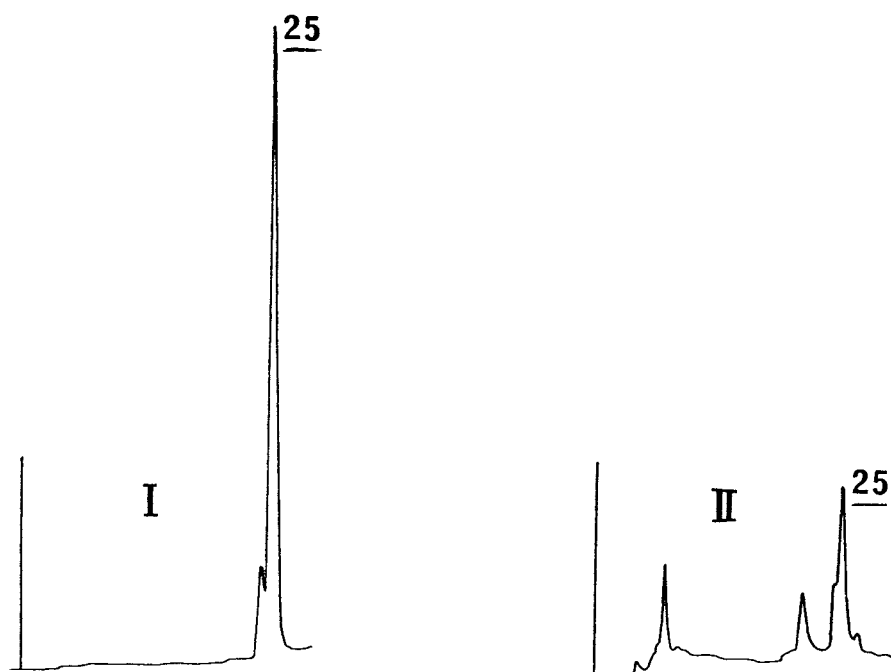


Figure 24 : Chromatogrammes CLHP d'une solution du composé 25 dans le mélange H_2O-CH_3CN (50:50 ; $C=5.10^{-5}M$) avant (I) et après 30 mn d'irradiation à 365 nm (II).

La photoréaction ne semblant pas sélective et devant se faire en solution très diluée, nous n'avons pas pour le moment tenté d'isoler ces deux photoproduits.

IV. CONCLUSION :

Les essais préliminaires d'irradiation des composés 24 et 25 montrent que ceux-ci présentent des comportements photochimiques différents de celui du composé 21.

Pour ce dernier dans lequel la thymidine en position 5' au psoralène, il se produit une photocyclisation très sélective. Par contre, le composé 24 est peu réactif et le composé 25 photoréagit en donnant des mélanges de produits.

Pour l'instant, nous n'avons pas approfondi cette étude car ces premiers résultats sont, vis-à-vis de notre objectif, beaucoup moins intéressants que ceux obtenus avec le composé 21.

C H A P I T R E I I I

- - o o O o o - -

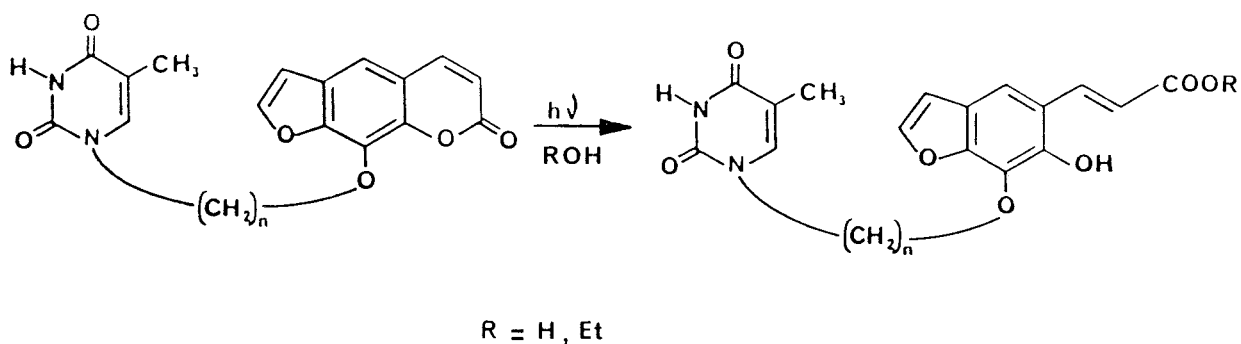
S E R I E D U M E T H O X Y - 8 P S O R A L E N E
C O M P O S E S A S S O C I A N T T H Y M I D I N E
E T P S O R A L E N E

A.

INTRODUCTION

Les résultats photochimiques obtenus antérieurement dans la série Thy-C_n-5Pso portant une chaîne alcane ont pu être transposés à la série thymidine. La photocyclisation hautement sélective du composé 21 nous a permis d'atteindre pratiquement notre objectif : la synthèse d'un "adduit" thymidine-psoralène.

Dans la série 8, les résultats obtenus pour les composés Thy-C_n-8Pso, à chaîne alcane n'étaient pas encourageants pour tenter une telle approche. Une photolyse du noyau psoralène dans l'eau et l'éthanol était observée quelle que soit la longueur de la chaîne alcane :



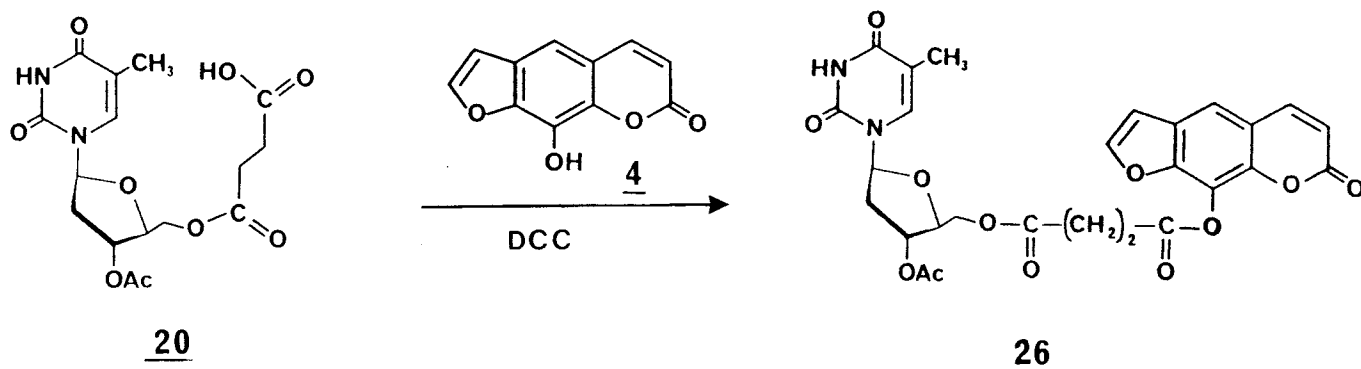
On peut cependant noter que dans la série 5, le passage de la thymine à la thymidine et en même temps de l'alcoxy-5 au carboxy-5 psoralène, a conduit à un accroissement considérable de la photoréactivité thymidine-psoralène. La photodimérisation est prépondérante à $5 \cdot 10^{-5} \text{M}$ pour les modèles Thy-C_n-5Pso, alors qu'elle n'est pas observée pour le composé 21 à 10^{-3}M .

Cette différence de photoréactivité nous a tout de même poussé à entreprendre l'étude photochimique des composés de la série 8. D'autant plus, que la 0-acétyl-3' thymidine 17 et son dérivé 20 préparés lors de la synthèse du dérivé 21 de la série 5, peuvent conduire rapidement aux composés analogues de la série 8.

Nous avons donc préparé le composé 26 suivant les méthodes précédemment utilisées.

B. SYNTHÈSE ET PHOTOREACTIVITÉ
DU COMPOSÉ THYMIDINE - PSORALÈNE 26

1. OBTENTION DU COMPOSÉ 26 :



Le composé 26 a été préparé par couplage de l'intermédiaire 20 (p. 74) avec l'hydroxy-8 psoralène 4 dans les conditions utilisées pour la synthèse du composé 21, l'agent de couplage étant le DCC.

Le composé 26 a été obtenu avec un rendement de 58 % après purification par chromatographie sur silice.

La structure de ce composé a été confirmée par toutes les caractéristiques spectroscopiques usuelles. Notamment, le spectre de masse haute résolution révèle bien l'ion moléculaire ($M^+ = 568$), ainsi que les ions fragments ($m/e = 368$; 267 ; 202 ; 174 et 126).

Sur le spectre de RMN du proton, on retrouve tous les signaux des protons du noyau psoralène, du résidu thymidinyle et de la chaîne succinyle.

L'absorption UV au-delà de 320 nm indique la présence du noyau psoralène. La révélation à la cystéine sulfurique est positive.

II. PHOTOREACTIVITE DU COMPOSE 26 :

Nous avons irradié à 365 nm des solutions désoxygénées du composé 26 à la concentration de 10^{-3} M, dans l'acétonitrile et dans un mélange eau-acétonitrile (50:50).

Dans tous ces solvants, nous constatons qu'aucun produit n'apparaît, après une heure d'irradiation. Lorsque l'irradiation est poursuivie (8 h), aucun produit ne se forme dans l'acétonitrile. Par contre en présence d'eau, on obtient un mélange très complexe dû probablement à une photolyse de la lactone (comme dans le cas des composés Thy-C_n-8Pso (p.119).

Dans ces conditions, nous avons vu que le composé analogue de la série 5 21 photoréagit en quelques minutes pour donner le photoproduit 29.

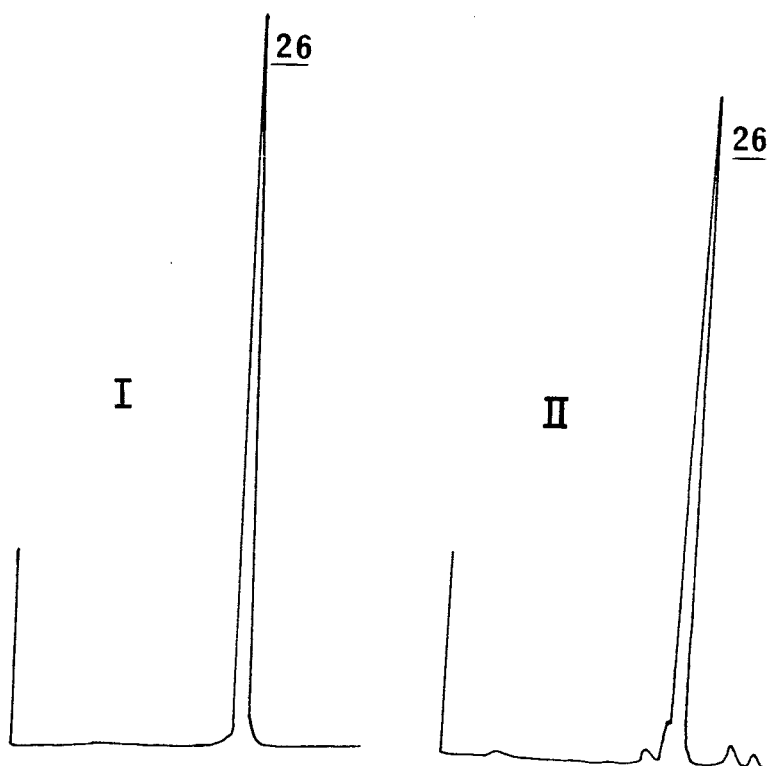
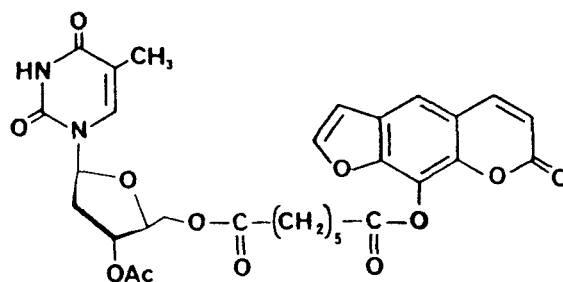


Figure 25 : Chromatogrammes CLHP d'une solution du composé 26 dans CH₃CN (C= 10^{-3} M) avant (I) et après 8 h d'irradiation à 365 nm (II).

Les modèles moléculaires mettent en évidence une certaine gêne stérique au recouvrement des doubles liaisons photoréactives. Nous avons donc poursuivi ce travail en allongeant la chaîne de façon à exclure tout effet dû à la longueur de celle-ci.

Le composé 28 a donc été préparé :

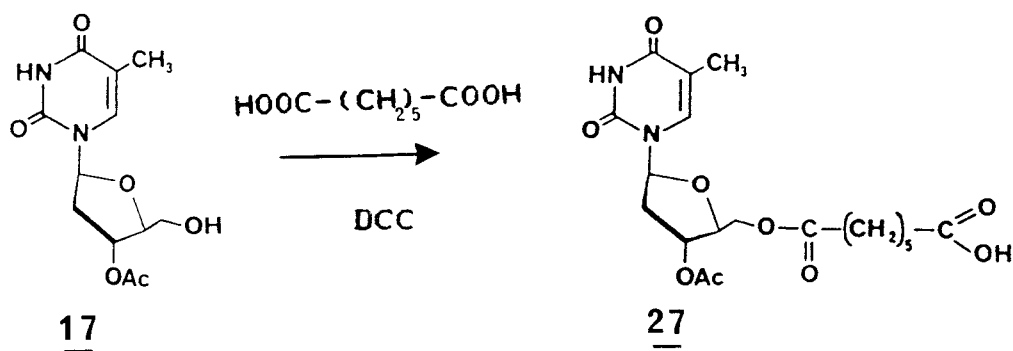


28

C. SYNTHÈSE ET PHOTOREACTIVITÉ DU
COMPOSÉ THYMIDINE - PSORALENE 28

I. SYNTHÈSE :

1. SYNTHÈSE DE L'INTERMÉDIAIRE 27, O-ACÉTYL-3', O-(CARBOXY-6
HEXANOYL)-5' THYMIDINE :



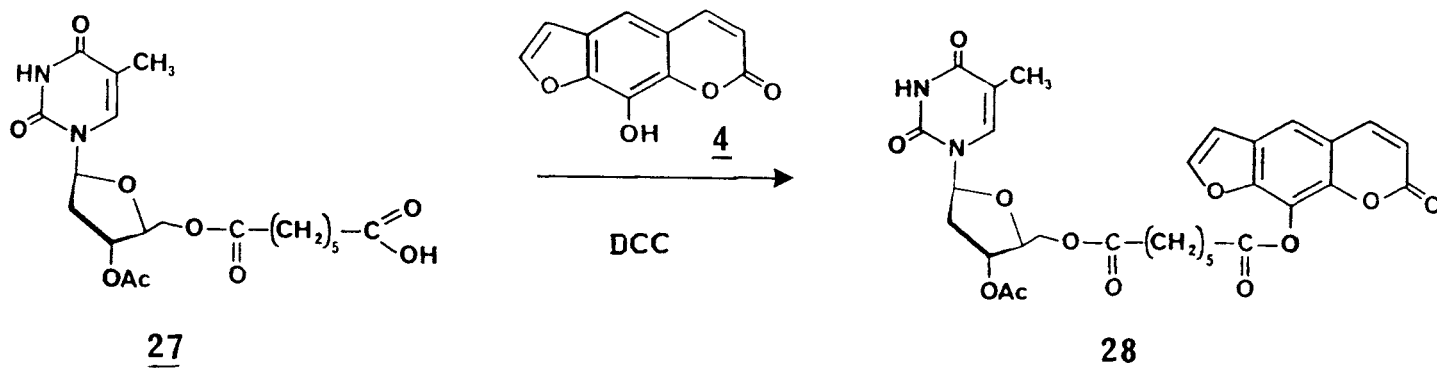
Lors des synthèses précédentes, l'introduction du groupement succinyle sur la thymidine a été faite en estérifiant la 0-acétyl-3' thymidine 17 par l'anhydride succinique. On évite ainsi la formation de diester. Ici, il nous faut préparer un monoester de l'acide pimélique. L'anhydride n'est pas commercialisé, nous l'avons préparé in situ par action du N,N'-dicyclohexylcarbodiimide sur l'acide. Après formation, il a été mis en réaction avec la 0-acétyl-3' thymidine 17 préparée précédemment pour conduire à l'intermédiaire 27.

En plus du produit 27, nous observons par CCM, un sous-produit moins polaire. Il a été identifié comme étant le composé de bis-estérification de l'acide pimélique (RMN¹H, 60MHz). Le rendement en produit désiré est faible (26%)* en raison de la proportion importante de sous-produit formé et de difficultés rencontrées pour séparer ces produits sur silice.

* En raison de l'incertitude des résultats de l'étude photochimique, cette préparation n'a pas été optimisée.

L'intermédiaire 27 a été caractérisé par les méthodes physico-chimiques classiques.

2. COUPLAGE, OBTENTION DU COMPOSE THYMIDINE-PSORALENE 28 :



Le composé 28 a été obtenu par couplage de l'intermédiaire 27 avec l'hydroxy-8 psoralène 4 dans le mélange acétonitrile-dichlorométhane (50:50) en présence de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide. Il a été obtenu avec un rendement de 70 %. Le composé 28 a été caractérisé par les méthodes physico-chimiques habituelles. Sur le spectre de RMN on retrouve tous les signaux des protons du noyau psoralène, du résidu thymidinyle et de la chaîne qui les associent.

On n'observe pas dans le spectre de masse haute résolution l'ion moléculaire ($M^+ = 610$) mais on y trouve les ions fragments des noyaux psoralène ($m/e = 202$; 174) et thymine ($m/e = 126$).

II. PHOTOREACTIVITE DU COMPOSE 28 :

Ce composé a été irradié à 365 nm en solution désoxygénée de concentration $10^{-3}M$ dans différents solvants : la DMF, l'acétonitrile et les mélanges eau-DMF et eau-acétonitrile (50:50).

Dans la DMF et l'acétonitrile, après quatre heures d'irradiation, on n'observe pas de photoréaction notable.

Par contre, dans les mélanges contenant de l'eau, il se forme de nombreux produits.

D.

C O N C L U S I O N

Les deux composés 26 et 28 dans lesquels la thymidine est associée au psoralène lié par sa position 8, présentent des comportements photochimiques très voisins :

- ils sont stables dans les solvants organiques tels l'acétonitrile et la DMF.
- dans les mélanges eau-solvant organique (DMF, acétonitrile), il se produit de nombreuses photoréactions.

Ces résultats vont dans le même sens que les résultats obtenus avec les modèles Thy-C_n-8Pso à chaîne alcane. Ils montrent que dans la série 8, l'approche intramoléculaire est difficilement utilisable pour préparer les "adduits" thymine ou thymidine-psoralène et étudier la photoréaction.

C O N C L U S I O N

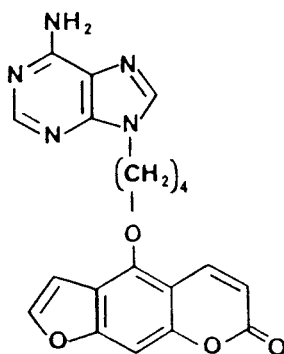
- - o o O o o - -

Au départ de ce travail, nous avons deux objectifs :

- l'étude des interactions et des photoréactions adénine alcoxy-5 psoralène à l'aide d'un modèle.
- la mise au point d'une voie d'accès préparative à un "adduit" thymidine (5,6 \diamond 3,4) méthoxy-5 psoralène via une approche intramoléculaire.

Pour atteindre le premier objectif, le composé Ade-C₄-5Pso 10 associant l'adénine à l'alcoxy-5 Psoralène par un pont butyle, a été préparé. Son étude par RMN a montré l'existence d'interactions intramoléculaires fortes entre l'adénine et le psoralène : dans l'eau à 25°C, ce modèle présente un degré de repliement de 70 à 80 %. En solvant organique, les interactions disparaissent.

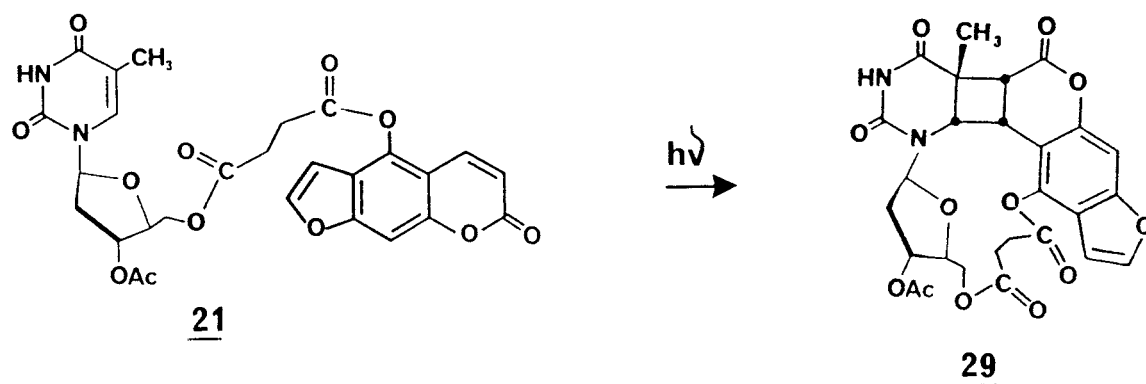
L'étude photochimique a été menée en liaison avec ces résultats. Il n'a pas été possible de mettre en évidence une photoréaction adénine-psoralène. Dans l'eau (forme essentiellement complexée), le modèle est très stable photochimiquement alors qu'en solution très diluée dans les solvants organiques (forme ouverte), il se forme un mélange complexe de photoproduits qui n'ont pas été isolés.



10

Notre second objectif a également été pratiquement atteint.

Le composé 21 associant thymidine et psoralène par une chaîne succinyle a été préparé. Son irradiation conduit très sélectivement à la formation d'un seul diastéréoisomère d'un "cycloadduit" cis-anti :



Rappelons que la photoaddition intermoléculaire thymidine-psoralène peut conduire à la formation de huit couples de diastéréoisomères*. Au niveau préparatif, cette sélectivité est fort utile : le "photoadduit" formé est isolé avec un rendement de 65 à 70 %.

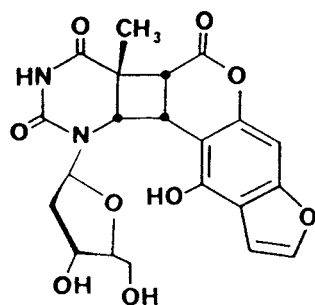
Dans cette optique, un autre résultat important est l'absence de dimérisation rencontrée à la concentration de $10^{-3}M$ alors qu'elle est prépondérante à partir de $5 \cdot 10^{-5}M$ dans la série Thy-C_n-5Pso (n=3 à 6 et 12). Notons que pour le composé Thy-C₂-5Pso, nous n'avions pas observé de dimérisation.

Ces résultats peuvent s'interpréter de différentes manières :

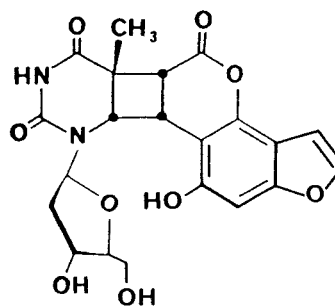
- soit par une géométrie du composé 21 très favorable à la photocyclisation ou très défavorable à la dimérisation.
- soit par une photoréactivité vis-à-vis de la thymidine plus grande du carboxy-5 psoralène comparé à l'alcoxy-5 psoralène.

L'hydrolyse du photoproduit 29 conduit au composé recherché 31, mais aussi en raison de l'ouverture de la lactone à l'isomère angulaire 32.

* addition du côté pyrone ou du côté furane, cis ou trans et syn ou anti (en excluant la possibilité de la formation d'un cyclobutane à jonction de cycle trans (voir p. 8)).



31



32

Cet isomère angulaire n'est pas sans intérêt, c'est un "adduit" de la famille des angélicines, furocoumarines très utilisées pour leurs propriétés photobiologiques. Dans l'ADN, il est admis que ces composés réagissent surtout par leur double liaison 4',5' (88). Mais, il a été montré récemment, par irradiation d'un mélange thymine-diméthyl-4,5'angélicine en solution aqueuse gelée que des "adduits" du côté pyrone peuvent se former (89).

Par ailleurs, on peut espérer accroître le rendement en produit désiré 31 :

- Pour éviter l'isomérisation au cours de l'hydrolyse, on peut envisager l'utilisation d'enzymes ou de chaînes pouvant être éliminées dans des conditions différentes.

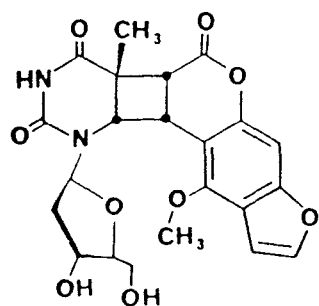
- Après séparation des deux isomères 31 et 32, on peut "réisomériser" le composé 32 en composé 31.

En raison de cette "réisomérisation" possible et de l'excellent rendement global de l'hydrolyse acide (en mélange d'isomères), cette étape de la synthèse conserve un caractère préparatif.

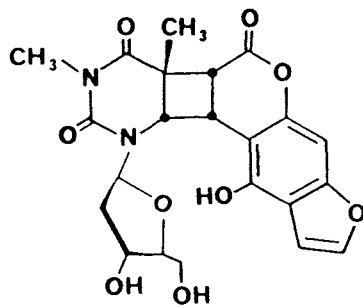
Quelques essais préliminaires de méthylation du mélange de composés 31 et 32 par le diazométhane ont été réalisés.

Ils ont montré que l'on peut obtenir le nucléoside modifié recherché 33.

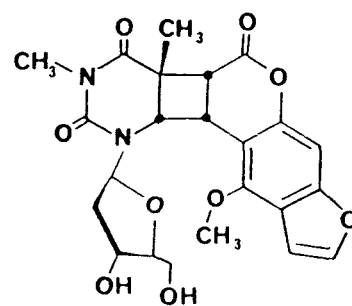
Cependant, cette réaction n'est pas sélective, on observe également une méthylation sur l'atome d'azote qui conduit aux dérivés 36 et 34 accompagnés de leurs isomères angulaires.



33



36



34

Ce problème devrait être résolu :

- en utilisant d'autres agents méthylants.....
- ou en protégeant sélectivement la fonction "imide" avant méthylation. Cette protection peut d'ailleurs se faire après hydrolyse mais aussi avant la photoréaction lors de la synthèse du composé de départ.

Cette approche intramoléculaire permettra sans doute de préparer des quantités importantes de l'"adduit" 33. Elle permet d'appréhender les problèmes posés par la généralisation d'une telle démarche, généralisation qui peut s'envisager pour d'autres nucléosides (dCyd , dUrd ^{*}) ou d'autres psoralènes. Notons que cette approche ne semble pas utilisable pour préparer les "adduits" thymidine (5,6 \diamond 3,4) méthoxy-8 psoralène cis-syn.

On peut également souligner l'intérêt de l'approche intramoléculaire pour l'étude des photoréactions base-psoralène en solution. En raison de la dimérisation très rapide des psoralènes, c'est actuellement la seule approche utilisable dans ce but.

Les modèles Thy-C_n-5Pso à chaîne alcane avaient permis de mettre en évidence une photoaddition thymine-psoralène stéréosélective du côté pyrone.

Le passage de la thymine à la thymidine permet de se rapprocher un peu plus de l'ADN. La présence du sucre ajoute une diastéréosélectivité à la

* Les "adduits" dCyd - Pso formés dans l'ADN sont isolés sous la forme d'adduits' dUrd - Pso en raison de leur hydrolyse.

photoaddition intramoléculaire. Elle est à rapprocher des différences rencontrées pour les pourcentages relatifs de diastéréoisomères d'un même type d' "adduit" formés dans l'ADN (29). Ces différences ont été interprétées comme étant dues à l'existence de sites d'intercalation privilégiés du psoralène dans l'ADN.

La faible luminescence des alcoxy-5 psoralènes, l'insolubilité et la dimérisation des modèles à chaîne alcane en ont limité l'étude. Dans le cas du composé 21, la photoréaction peut être étudiée en solution beaucoup plus concentrée. Il sera intéressant de déterminer l'influence de différents paramètres sur cette photoréaction (solvants non polaires, longueur d'onde...). En effet, les paramètres orientant la photoaddition du côté furane sont encore mal connus.

P A R T I E E X P E R I M E N T A L E

- - o o O o o - -

A. INDICATIONS GENERALES :

La purification des produits a été effectuée par chromatographie sur gel de silice KIESELGEL 60 0,063-0,200 mm MERCK. Un appareil de chromatographie liquide à hautes performances GILSON (modèle 303) avec un détecteur holochrome JOBIN-YVON, a également été utilisé pour des purifications sur colonne semi-préparative de phase inverse RP 8 20 μ m.

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 10 μ m MERCK, programmeur de solvant 660, deux pompes M-6000, détecteur UV 440).

Les désoxynucléosides sont révélés directement sur les plaques de CCM par pulvérisation d'une solution de cystéine sulfurique (solution de chlorhydrate de cystéine à 0,5 % dans H₂SO₄ 3N, diluée dix fois avec de l'acétone).

Les points de fusion (F) ont été mesurés à l'aide d'un banc KOFLER et d'un appareil TOTTOLI. Ils sont donnés sans correction de colonne émergente.

Les spectres de RMN ont été enregistrés sur les spectromètres BRUKER WP 60, WP 80 et AM 400 WB, à transformée de FOURIER. Les déplacements chimiques (δ) sont donnés en ppm par rapport à l'hexaméthylidisiloxane pris comme référence interne. Les spectres sont décrits par les abréviations : s : singulet, d : doublet, t : triplet, J : constante de couplage en Hz.

Les spectres de masse (SM) ont été réalisés sur les spectromètres RIBER MAG 10-10 et VARIAN MAT 311 avec couplage C.P.G.

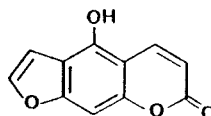
Les spectres d'absorption infra-rouge (IR) ont été enregistrés sur les spectrophotomètres PERKIN-ELMER 237 et 1320.

Les spectres d'absorption électronique (UV) ont été obtenus sur un spectrophotomètre PERKIN-ELMER LAMBDA/5 UV/VIS.

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

B. SYNTHÈSES :

HYDROXY-5 PSORALENE, 5HP 3 :



Dans un ballon à 3 cols (thermomètre interne, arrivée d'azote sec, réfrigérant muni d'un piège à CaCl_2), on introduit le chlorhydrate de pyridine (PyH^+ , Cl^- ; 17 g ; 147 mmol) préalablement recristallisé dans un mélange chloroforme - acétate d'éthyle (50 : 50), lavé à l'éther éthylique anhydre puis séché.

Le chlorhydrate de pyridine est ensuite porté à 180°C , puis on ajoute le 5MOP 1 (2,0 g ; 9,3 mmol) en une seule fraction.

Le mélange est agité à cette température et la réaction est suivie par CCM (élution : 1/ éther éthylique, 2/ benzène - éthanol (27 : 3)).

La réaction terminée (1 h), la solution chaude est versée dans de la glace (200 g) puis gardée au froid pendant 2 à 3 h.

Le précipité jaune clair formé est filtré, lavé à l'eau froide jusqu'à neutralité puis séché. (1,7 g ; 8,4 mmol ; 91 %).

F : $272 - 276^\circ\text{C}$ (Litt. 276°C (49) ; 275°C (51)).

RMN (60 MHz, $\text{DMSO } d_6$) δ ppm = 11,25 (s large, 1H, $\text{C}_5\text{-OH}$) ; 8,20 (d, 1H, $J=10\text{Hz}$, C_4H) ; 7,85 (d, 1H, $J=2\text{Hz}$, C_5H) ; 7,20 (d, 1H, $J\leq 1\text{Hz}$, C_8H) ; 7,10 (dd, 1H, $J=2\text{Hz}$, $J\leq 1\text{Hz}$, C_4H) ; 6,20 (d, 1H, $J=10\text{Hz}$, C_3H).

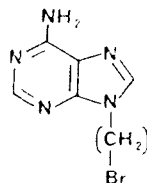
SM (impact électronique) ; $M = 202,17$
m/e : 203 (12 ; $(M+1)^+$) ; 202 (100 ; M^+) ; 174 (56 ; $M^+ - \text{CO}$) ; 145 (12) ; 118 (29) ; 90 (23) ; 89 (28) ; 63 (11) ; 59 (10) ; 51 (13).

IR (KBr) : 3290 ; 1690 ; 1620 ; 1475 ; 1450 ; 1315 ; 1240 ; 1150 ; 1130 ; 1070 ; 945 ; 825 ; 810 ; 760 cm^{-1} .

UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 315 (12300) ; 269 (13150) ; 149,5 (11950) ; 221,5 (21500) nm.

A 254/280 = 3,25 ; A 254/365 = 6,05.

(BROMO-4 BUTYL)-9 ADENINE 7 :



A une suspension d'hydruure de sodium à 50 % dans l'huile (0,36 g ; 7,50 mmol), préalablement lavée avec du pentane, on ajoute une solution d'adénine 6 (1,0 g ; 7,4 mmol) dans la DMF (50 cm^3).

Le mélange est agité sous courant d'azote sec, à température ambiante pendant 2 à 3 h.

La solution laiteuse d'adénylate de sodium obtenue est ajoutée à une solution de dibromo-1,4 butane (20 cm^3 ; 167 mmol).

L'addition terminée (3 h), l'agitation est maintenue pendant 1 h. Le résidu est trituré avec de l'éther éthylique.

Il est filtré, lavé plusieurs fois à l'eau puis séché (0,63 g ; 2,33 mmol) ; 31 %).

Le composé 7 est obtenu pur après cristallisation dans l'eau (0,6 g ; 2,2 mmol) ; 30 %).

F = 140°C.

RMN (60 MHz, DMSO d_6) δ ppm = 8,10 (s, 2H, C_2H , C_8H) ; 7,15 (s large, 2H, $\text{C}_6\text{-NH}_2$) ; 4,15 (t, 2H, $J=6\text{Hz}$, N_9CH_2) ; 3,50 (t, 2H, $J=6\text{Hz}$, CH_2Br) ; 1,80 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$).

SM (impact électronique) ; M = 270, 13
m/e : 271 (17, 6 ; $(\text{M}+1)^+$; Br^{81}) ; 269 (17, 7 ; $(\text{M}-1)^+$; Br^{79}) ; 191 (14 ; $(\text{Ade}(\text{CH}_2)_4+1)^+$) ; 190 (100 ; $\text{Ade}(\text{CH}_2)_4^+$) ; 176 (8 ; $\text{Ade}(\text{CH}_2)_3^+$) ; 162 (9 ; $\text{Ade}(\text{CH}_2)_2^+$) ; 148 (15 ; AdeCH_2^+) ; 135 (40 ; Ade^+) ; 108 (30) ; 55 (24).

IR (KBr) : 3300 ; 3135 ; 2960 ; 1685 ; 1615 ; 1590 ; 1490 ; 1435 ; 1370 ; 1320 ; 1260 ; 1130 ; 1085 ; 1020 ; 875 ; 810 cm^{-1} .

UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 266 (11300) nm.
A 254/280 = 1,10.

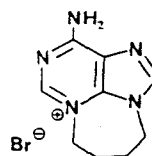
Analyse, $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_5\text{Br}$:

Calc. % : C : 40,02 H : 4,48 N : 25,93 Br : 29,58

Tr. % : 39,59 4,56 25,39 29,17

BROMURE DE CYCLO-3,9 TETRAMETHYLENE

ADENYLIUM 8 :



Ce dérivé a été isolé à partir des eaux de cristallisation du composé 7, après concentration de celles-ci. Il a été cristallisé dans du méthanol.

F = 290-300°C (décomposition).

RMN (60 MHz, D_2O) δ ppm = 8,50 (s, 1H, C_2H) ; 8,20 (s, 1H, C_8H , échange) ; 4,65 (m, 4H, N_3CH_2 , N_9CH_2) ; 2,35 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$).

IR (KBr) : 3280 ; 3120 ; 1690 ; 1640 ; 1615 ; 1450 ; 1395 ; 1340 ; 1265 ; 1235 ; 1135 ; 1055 ; 980 ; 875 ; 700 cm^{-1} .

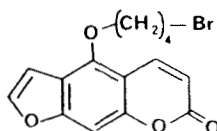
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 272,5 (13450) nm.
A 254/280 = 0,55.

Analyse, $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_5\text{Br}$:

Calc. % : C : 40,02 H : 4,48 N : 25,93 Br : 29,58

Tr. % : 40,29 4,56 25,46 29,69.

(BROMO-4 BUTOXY)-5 PSORALENE 9 :



A un mélange de dibromo-1,4 butane (15 cm³ ; 125 mmol), de carbonate de potassium (1,0 g ; 7 mmol) et de DMF anhydre (15 cm³), on ajoute le 5HP 3 (1,0 g ; 4,9 mmol) en une seule fraction.

Le mélange est porté à la température de 70°C en agitant, sous atmosphère d'azote et à l'abri de la lumière. La réaction terminée (3 h), le carbonate de potassium est filtré, lavé avec de la DMF.

La DMF est ensuite évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est chromatographié sur silice (élution : dichlorométhane).

Le composé 9 est obtenu après cristallisation dans un mélange benzène - éther de pétrole (1 : 2).

(0,63 g ; 1,87 mmol ; 38 %).

F = 131-132°C (Litt. : 138°C (57)).

RMN (60MHz, CDCl₃) δ ppm = 8,10 (d, 1H, J=10Hz, C₄H) ; 7,55 (d, 1H, J=2Hz, C₅H) ; 7,10 (d, 1H, J≤1Hz, C₈H) ; 6,90 (dd, 1H, J=2Hz, J≤1Hz, C₄H) ; 6,25 (d, 1H, J=10Hz, C₃H) ; 4,45 (t, 2H, J=6Hz, OCH₂) ; 3,45 (t, 2H, J=6Hz, CH₂Br) ; 2,05 (m, 4H, CH₂-CH₂).

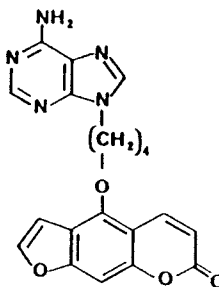
SM (impact électronique) ; M = 337,16
m/e : 338 (7,6 ; (M+1)⁺ ; Br⁸¹) ; 336 (7,6 ; (M-1)⁺ ; Br⁷⁹) ; 258 (7 ; (Pso(CH₂)₄+1)⁺) ; 202 (53 ; PsoOH⁺) ; 174 (31) ; 149 (33) ; 137 (87) ; 135 (96 ; Ade⁺) ; 71 (29) ; 57 (32) ; 55 (100).

IR (KBr) : 3130 ; 2960 ; 1725 ; 1610 ; 1580 ; 1450 ; 1350 ; 1210 ; 1160 ; 1140 ; 1100 ; 820 ; 750 ; 640 cm⁻¹.

UV (EtOH) : λ_{max} (ε) : 312 (14200) ; 268 (13750) ; 249,5 (15300) ; 222 (23800) nm.

A 254/280 = 9,20 ; A 254/365 = 12,30.

((ADENYL-9)-4 BUTOXY)-5 PSORALENE 10 :



VOIE 1 :

A un mélange du composé 7 (68 mg ; 0,25 mmol), de carbonate de potassium (76 mg ; excès) et de DMF anhydre (5 cm³), on ajoute le 5HP 3 (50 mg ; 0,25 mmol). Le mélange est porté à la température de 70°C en agitant sous atmosphère d'azote sec et à l'abri de la lumière. L'évolution de la réaction est suivie par CCM, (élution : 1) éther éthylique, 2) chloroforme - méthanol (8 : 1)). La réaction terminée (3 h 30), le carbonate de potassium est filtré, lavé avec de la DMF. La DMF est ensuite évaporée sous pression réduite. Le résidu huileux obtenu est trituré avec de l'éther éthylique jusqu'à obtention d'un solide qui est dissous dans un minimum d'éthanol absolu et chromatographié sur silice. Le produit 10 est obtenu pur sous forme de poudre blanche (51 mg ; 0,13 mmol ; 52 %).

VOIE 2 :

A une solution du composé 9 (0,5 g ; 1,5 mmol) et de carbonate de potassium (2,0 g ; excès) dans la DMF anhydre (30 cm³), on ajoute de l'adénine 6 (0,20 g ; 1,5mmol).

Le mélange est agité à température ambiante, sous atmosphère d'azote sec et à l'abri de la lumière.

L'évolution de la réaction est suivie par CCM. La réaction terminée (18 h), le carbonate de potassium est filtré, lavé avec de la DMF. La DMF est évaporée sous pression réduite.

Le résidu obtenu est trituré avec de l'éther éthylique jusqu'à obtention d'un solide. Il est ensuite chromatographié sur silice (élution : éthanol absolu).

Deux chromatographies sont nécessaires pour obtenir le composé 10 à l'état pur (0,23 g ; 0,60 mmol ; 40 %). Le produit 10 est ensuite cristallisé dans l'éthanol absolu (0,21 g ; 0,54 mmol ; 36 %).

F = 210°C.

RMN (60 MHz, DMSO d_6) δ ppm = 8,15 (s, 1H, C₈H, Ade, échange) ; 8,12 (s, 1H, C₂H, Ade) ; 8,10 (d, 1H, J=10Hz, C₄H) ; 8,00 (d, 1H, J=2Hz, C₅'H) ; 7,30 (d, 1H, J \leq 1Hz, C₈H) ; 7,25 (dd, 1H, J=2Hz, J \leq 1Hz, C₄'H) ; 7,15 (s large, 2H, C₆-NH₂) ; 6,25 (d, 1H, J=10Hz, C₃H) ; 4,45 (t, 2H, J=6Hz, O-CH₂) ; 4,20 (t, 2H, J=6Hz, N₉-CH₂) ; 1,85 (m, 4H, CH₂-CH₂).

SM (impact électronique) ; M = 391,38
m/e : 391 (3 ; M⁺) ; 202 (4 ; PsoOH⁺) ; 190 (100 ; Ade(CH₂)₄⁺) ; 177 (19) ; 149 (32) ; 148 (69) ; 136 (63) ; 135 (59 ; Ade⁺) ; 121 (23) ; 119 (29) ; 108 (58) ; 94 (40) ; 89 (41) ; 79 (32) ; 55 (93).
(ionisation chimique, méthane) :
m/e : 392 (90 ; (M+1)⁺) ; 391 (6 ; M⁺) ; 191 (18) ; 190 (100) ; 187 (44) ; 177 (18).

IR (KBr) : 3430 ; 3350 ; 3240 ; 2980 ; 1730 ; 1665 ; 1615 ; 1595 ; 1495 ; 1475 ; 1425 ; 1355 ; 1305 ; 1265 ; 1220 ; 1165 ; 1140 ; 1110 ; 895 ; 815 ; 765 ; 660 cm⁻¹.

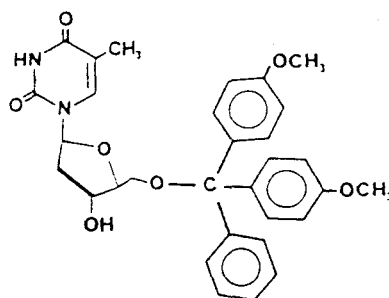
UV (EtOH) : λ_{\max} (ϵ) : 311,5 (13600) ; 259,5 (26100) nm.
A 254/280 = 5,00 ; A 254/365 = 23,20.

Analyse, C₂₀H₁₇N₅O₄

Calc. % : C : 61,38 H : 4,38 N : 17,89

Tr. % : 61,08 4,40 18,19.

O-(DIMETHOXY-4,4' TRITYL)-5'
THYMIDINE 15 :



A une solution de thymidine 14 (5,5 g ; 22,7 mmol) dans la pyridine anhydre (40 cm³), refroidie dans un bain de glace, on ajoute du chlorure de diméthoxy-4,4' trityle (7,77 g ; 23,0 mmol).

Le mélange est agité en refroidissant avec de la glace jusqu'à dissolution puis placé au réfrigérateur pendant 16 h.

La réaction terminée, le mélange réactionnel est précipité dans l'eau (1 l) sous forte agitation.

Le précipité obtenu est lavé abondamment avec de l'eau puis séché. Il est ensuite dissous dans du benzène (150 cm³) à reflux. A la solution en ébullition, on ajoute du n-hexane (100 à 150 cm³) jusqu'à turbidité. On laisse revenir à température ambiante. Le précipité blanc obtenu est filtré puis séché (11,10 g ; 20,4 mmol ; 90 %).

F = 116-117°C (Litt. : 115-118°C (75)).

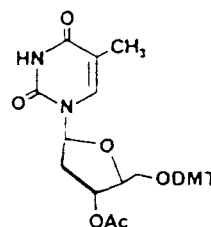
RMN (60MHz, CDCl₃) δ ppm = 8,75 (s large, 1H, N₃H) ; 7,50 (d, 1H, J \leq 1Hz, C₆H) ; 7,30-6,70 (m, 13H, HAr) ; 6,35 (t, 1H, J=7Hz, C1'H) ; 4,50 (m, 1H, C₃'H) ; 4,00 (m, 1H, C4'H) ; 3,70 (s, 6H, -OCH₃) ; 3,40 (m, 2H, 2C₅'H) ; 2,35 (m, 2H, 2C₂'H) ; 1,40 (d, 3H, J \leq 1Hz, C₅-CH₃).

SM (impact électronique) ; M = 544,60
m/e : 544 (0,9 ; M⁺) ; 304 (31) ; 303 (100 ; DMT⁺) ; 126 (17 ; Thy⁺) ; 81 (17).

IR (KBr) : 3500 ; 3200 ; 3070 ; 2950 ; 2860 ; 1700 ; 1620 ; 1480 ; 1265 ; 1185 ; 1100 ; 1045 ; 835 cm⁻¹.

UV (EtOH) : λ_{\max} (ϵ) : 269,5 (10600) ; 233,5 (21700) nm.
A 254/280 = 1,15.

O-(ACETYL)-3', O-(DIMETHOXY-4,4' TRITYL)-5'
THYMIDINE 16 :



A une solution du composé 15 (1,63 g ; 3,0 mmol) dans la pyridine anhydre (10 cm³), on ajoute sous agitation de l'anhydride acétique (5 cm³ ; 50 mmol).

La réaction est poursuivie à température ambiante pendant 24 h.

Le mélange réactionnel est précipité dans l'eau additionnée de glace (200 cm³). Le précipité formé est filtré, lavé abondamment à l'eau puis séché (1,06 g ; 1,80 mmol ; 60 %).

F = 87-89°C.

RMN (60 MHz, CDCl₃) δ ppm = 8,75 (s large, 1H, N₃H) ; 7,55 (d, 1H, J ≤ 1Hz, C₆H) ; 7,30-6,70 (m, 13H, HAr) ; 4,05 (m, 1H, C₄'H) ; 3,70 (s, 6H, -OCH₃) ; 3,40 (m, 2H, 2C₅'H) ; 2,35 (m, 2H, 2C₂'H) ; 2,05 (s, 3H, COCH₃) ; 1,35 (d, 3H, J ≤ 1Hz, C₅-CH₃).

SM (ionisation chimique, méthane) ; M = 586,64
m/e : 586(74 ; M⁺) ; 469 (12) ; 427 (12) ; 377 (100) ; 363 (28) ; 303 (42) ; 271 (25) ; 241 (88) ; 227 (36) ; 213 (27) ; 197 (48) ; 135 (53) ; 127 (100) ; 105 (75).

IR (KBr) : 3200 ; 3070 ; 2950 ; 2860 ; 1720 ; 1620 ; 1520 ; 1475 ; 1375 ; 1260 ; 1185 ; 1115 ; 1080 ; 1045 ; 835 ; 710 ; 690 cm⁻¹.

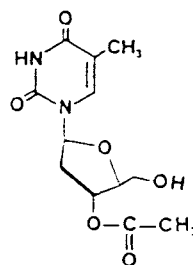
UV (EtOH) : λ_{max} (ε) : 266,5 (10500) ; 133,5 (22300) nm.
A 254/280 = 1,28.

Analyse, C₃₃H₃₄N₂O₈ :

Calc. % : C : 50,70 H : 5,67 N : 9,85

Tr. % : 50,88 5,61 9,56.

O-(ACETYL)-3' THYMIDINE 17 :



Tritylation :

A une solution de thymidine 14 (3,31 g ; 13,70 mmol) dans la pyridine anhydre (60 cm³), refroidie dans un bain de glace, on ajoute du

chlorure de diméthoxy-4,4' trityle (4,9 g ; 14,5 mmol). Après dissolution, la solution est placée au réfrigérateur.

Acétylation :

Après une nuit, la fin de la tritylation est mise en évidence par CCM, on ajoute alors un mélange de N,N-diméthylamino-4 pyridine (1,67 g ; 13,70 mmol) et d'anhydride acétique (15 cm³ ; 150 mmol). La solution obtenue est agitée à température ambiante et l'évolution de la réaction est suivie par CCM. La réaction terminée (environ 2h), le brut réactionnel est précipité dans l'eau glacée (600 cm³).

Le précipité formé est filtré, lavé abondamment à l'eau puis séché.

Détritylation :

Le produit brut est dissous dans l'acétonitrile (250 cm³), placé dans un bain de glace puis on ajoute une solution d'acide benzène sulfonique (10,8 g ; 68,4 mmol) dans l'acétonitrile (250 cm³).

L'évolution de la détritylation est suivie par CCM.

La détritylation est terminée en 15 mn, la solution orange obtenue est ensuite neutralisée avec une solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 10 %. Après neutralisation (décoloration), le benzène sulfonate de sodium est éliminé par filtration.

Le filtrat est concentré puis dilué avec l'eau (100 cm³). La solution est extraite avec du dichlorométhane (3x200 cm³). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ puis évaporées à sec.

Le résidu obtenu est cristallisé dans du benzène (2,95 g ; 10,40 mmol ; 76 %).

F = 175°C (Litt. 176°C (72) ; 172-174°C (73)).

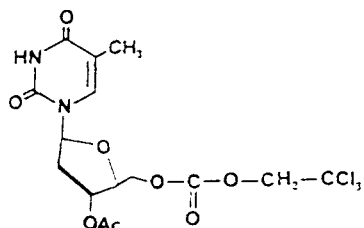
RMN (60 MHz, DMSO d_6) (Litt. (77)), δ ppm = 11,35 (s large, 1H, N_3H) ; 7,70 (d, 1H, $J \leq 1\text{Hz}$, C_6H) ; 6,15 (t, 1H, $J=7\text{Hz}$, $C_1'H$) ; 5,20 (m, 2H, $C_3'H$, $C_5,-OH$ échange) ; 3,95 (m, 1H, $C_4'H$) ; 3,60 (m, 2H, $2C_5'H$) ; 2,20 (m, 2H, $2C_2'H$) ; 2,05 (s, 3H, $COCH_3$) ; 1,75 (d, 3H, $J \leq 1\text{Hz}$, C_5-CH_3).

SM (impact électronique) ; $M = 284,27$
 m/e : 284 (0,3 ; M^+) ; 283 (2 ; $(M-1)^+$) ; 126 (31 ; Thy^+) ; 99 (95) ; 81 (24) ; 69 (100) ; 55 (32).

IR (KBr) : 3500 ; 3210 ; 3100 ; 2960 ; 2830 ; 1720 ; 1675 ; 1485 ; 1420 ; 1385 ; 1265 ; 1105 ; 1075 ; 1035 ; 995 ; 965 ; 890 ; 795 cm^{-1} .

UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 265 (9600) nm.
 $A_{254/280} = 1,30$.

O-(ACETYL)-3', O-(TRICHLORO-2,2,2
ETHOXYCARBONYL)-5', THYMIDINE 18 :



A une solution du composé 17 (0,87 g ; 3,10 mmol) dans la pyridine anhydre (10 cm^3), on ajoute le chlorure de l'acide trichloro-2,2,2 éthylcarbonique (0,43 cm^3 ; 3,10 mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 3 jours. La réaction terminée, la pyridine est évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est chromatographié sur silice (élution : éther éthylique - éthanol (8 : 2)).

Le produit 18 est ainsi obtenu pur sous forme d'une poudre blanche (0,14 g ; 0,30 mmol ; 10 %).

F = 135-136°C.

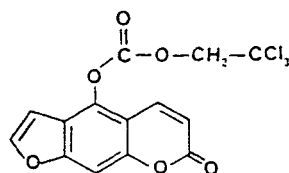
RMN (60 MHz, DMSO d_6) δ ppm = 11,35 (s large, 1H, N_3H) ; 7,70 (d, 1H, $J \leq 1$ Hz, C_6H) ; 6,15 (t, 1H, $J=7$ Hz, C_1H) ; 5,20 (m, 1H, C_3H) ; 4,90 (s, 2H, $O-CH_2-CCl_3$) ; 4,40 (m, 2H, $2C_5H$) ; 4,20 (m, 1H, C_4H) ; 2,30 (m, 2H, $2C_2H$) ; 2,05 (s, 3H, $COCH_3$) ; 1,75 (d, 3H, $J \leq 1$ Hz, C_5-CH_3).

SM (ionisation chimique, méthane) ; $M = 459,67$
m/e : 461 (17 ; $(M+1)^+$) ; 460 (6 ; M^+) ; 459 (17 ; $(M-1)^+$) ; 267 (33) ; 225 (12) ; 207 (43) ; 157 (28) ; 141 (37) ; 127 (100) ; 126 (88) ; 117 (37) ; 113 (74).

IR (KBr) : 3170 ; 3040 ; 2850 ; 1770 ; 1745 ; 1695 ; 1460 ; 1380 ; 1290 ; 1250 ; 975 ; 890 ; 835 ; 785 ; 760 ; 730 cm^{-1} .

UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 264 (11900) nm.
A 254/280 = 1,45.

TRICHLORO-2,2,2 ETHOXYCARBOXYLATE DE
(FURO (3,2-g) COUMARINYLE)-5 19 :



A une solution de 5HP 3 (0,50 g ; 2,50 mmol) dans la pyridine anhydre, on ajoute le chlorure de l'acide trichloro-2,2,2 éthylcarbonique (0,35 cm^3 ; 2,50 mmol).

La réaction est agitée à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant une nuit.

La pyridine est évaporée sous pression réduite, le résidu obtenu est chromatographié sur silice (élution : chloroforme).

Le composé 19 est obtenu sous forme de poudre blanche (0,65 g ; 1,70 mmol ; 68 %). Il est ensuite cristallisé dans l'éther éthylique (0,57 g ; 1,50 mmol ; 60 %).

F = 139°C.

RMN (60 MHz, DMSO d_6) δ ppm = 8,15 (d, 1H, $J=2\text{Hz}$, $C_{5,H}$) ; 8,10 (d, 1H, $J=10\text{Hz}$, $C_{4,H}$) ; 7,75 (d, 1H, $J\leq 1\text{Hz}$, $C_{8,H}$) ; 7,00 (dd, 1H, $J=2\text{Hz}$, $J\leq 1\text{Hz}$, $C_{4',H}$) ; 6,50 (d, 1H, $J=10\text{Hz}$, $C_{3,H}$) ; 5,10 (s, 2H, $O-CH_2-CCl_3$).

SM (impact électronique) ; $M = 377,56$
 m/e : 378 (3 ; $(M+1)^+$) ; 376 (3 ; $(M-1)^+$) ; 202 (75 ; $P_{SO_4H^+}$) ; 201 (100) ; 174 (23) ; 173 (52) ; 145 (55) ; 95 (26) ; 89 (23) ; 61 (23).

IR (KBr) : 3160 ; 3100 ; 3060 ; 2980 ; 1790 ; 1710 ; 1650 ; 1580 ; 1475 ; 1440 ; 1370 ; 1285 ; 1240 ; 1200 ; 1145 ; 1115 ; 1035 ; 1010 ; 950 ; 830 ; 730 ; 690 cm^{-1} .

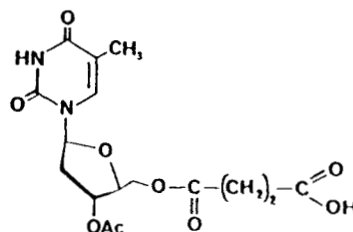
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 301 (10400) ; 246 (21900) nm.
 $A_{254/280} = 2,45$; $A_{254/365} = 11,15$.

Analyse, $C_{14}H_7O_6Cl_3$:

Calc. % : C : 44,54 H : 1,87 Cl : 28,17

Tr % : 44,37 1,76 28,32.

O-(ACETYL)-3', O-(CARBOXY-3 PROPANOYL)-5'
THYMIDINE 20 :



A une solution du composé 17 (1,0 g ; 3,5 mmol), dans le dichlorométhane (10 cm^3), on ajoute de la N,N-diméthylamino-4 pyridine (0,47 g ; 3,85 mmol) puis de l'anhydride succinique (0,7 g ; 7,0 mmol).

La solution est agitée à température ambiante et l'évolution de la réaction est suivie par CCM.

La réaction terminée (30 mn), la solution est diluée avec du dichlorométhane (90 cm^3) puis lavée avec une solution aqueuse de dihydrogénophosphate de sodium à 10 % (100 cm^3). La phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane (3 x 100 cm^3). Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 puis évaporées (1,32 g ; 3,45 mmol ; 98 %).

Le produit brut est chromatographié sur silice (élution : acétate d'éthyle).

Le solide obtenu est ensuite dissous dans un minimum de dichlorométhane puis précipité dans l'éther de pétrole (1,21 g ; 3,15 mmol ; 90 %).

$F = 140^{\circ}\text{C}$.

RMN (60 MHz, DMSO d_6) δ ppm = 12,35 (s très large, 1H, COOH) ; 11,30 (s large, 1H, N₃H) ; 7,45 (d, 1H, $J \leq 1\text{Hz}$, C₆H) ; 6,15 (t, 1H, $J=7\text{Hz}$, C₁H) ; 5,15 (m, 1H, C₃H) ; 4,20 (m, 2H, 2C₅H) ; 4,10 (m, 1H, C₄H) ; 2,40 (m, 4H, COCH₂-CH₂CO) ; 2,15 (m, 2H, 2C₂H) ; 2,00 (s, 3H, COCH₃) ; 1,75 (d, 3H, $J \leq 1\text{Hz}$, C₅-CH₃).

SM (ionisation chimique, méthane) ; M = 384,34
m/e : 385 (11 ; (M+1)⁺) ; 267 (17) ; 260 (25) ; 259 (100) ; 225 (10) ; 207 (29) ; 199 (53) ; 155 (75).

IR (KBr) : 3200 ; 3060 ; 2950 ; 2660 ; 1755 ; 1700 ; 1480 ; 1430 ; 1255 ; 1210 ; 1165 ; 1110 ; 1025 ; 965 ; 900 cm^{-1} .

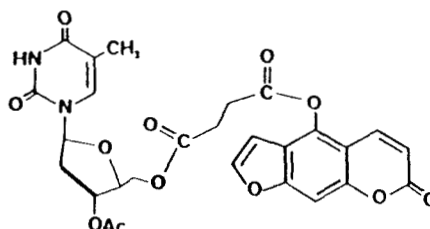
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 265 (11300) nm.
A 254/280 = 1,25.

Analyse, C₁₆H₂₀N₂O₉ :

Calc. % : C : 50,00 H : 5,24 N : 7,29

Tr. % : 49,57 5,18 7,17.

SUCCINATE DE (O-(ACETYL)-3', DESOXY-5'
THYMIDINYLE)-5' ET DE (FURO (3,2-g)
COUMARINYLE)-5 21 :



A une solution de 5HP 3 (0,53 g ; 2,6 mmol) dans un mélange dichlorométhane-acétonitrile (50 : 50 ; 100 cm^3), on ajoute du

N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (0,54 g ; 2,6 mmol), le méthyl-1 imidazole (25 μ l ; 0,26 mmol) et le composé 20 (1,0 g ; 2,6 mmol ; en quatre fractions).

Le mélange est agité à température ambiante pendant 1 à 2 h. La réaction terminée, la N,N'-dicyclohexylurée est filtrée puis lavée avec du dichlorométhane.

La solution est ensuite évaporée. Le résidu obtenu est chromatographié sur silice en éluant avec de l'acétate d'éthyle.

Le produit pur obtenu est dissous dans un minimum de dichlorométhane puis précipité dans le n-hexane. Le précipité blanc formé est filtré puis séché (1,18 g ; 2,1 mmol ; 80 %).

F = 128-129°C.

RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8,13 (s large, 1H, N_3H) ; 7,84 (dd, 1H, $J=9,80$ Hz, $J=0,70$ Hz, PsoC_4H) ; 7,58 (d, 1H, $J=2,30$ Hz, $\text{PsoC}_5'\text{H}$) ; 7,35 (dd, 1H, $J=1,00$ Hz, $J=0,70$ Hz, PsoC_8H) ; 7,16 (d, 1H, $J=1,30$ Hz, C_6H) ; 6,67 (dd, 1H, $J=2,30$ Hz, $J=1,00$ Hz, PsoC_4H) ; 6,34 (d, 1H, $J=9,80$ Hz, PsoC_3H) ; 6,20 (dd, 1H, $J=8,50$ Hz, $J=5,75$ Hz, C_1H) ; 5,14 (m, 1H, $J=6,75$ Hz, $J=2,60$ Hz, $J=2,15$ Hz, C_3H) ; 4,43 (dd, 1H, $J=12,10$ Hz, $J=4,45$ Hz, C_5H) ; 4,34 (dd, 1H, $J=12,10$ Hz, $J=3,45$ Hz, C_5H) ; 4,17 (m, 1H, $J=4,45$ Hz, $J=3,45$ Hz, $J=2,60$ Hz, C_4H) ; 3,02-2,80 (m, 4H, $\text{COCH}_2\text{-CH}_2\text{CO}$) ; 2,38 (m, 1H, $J=14,25$ Hz, $J=5,75$ Hz, $J=2,15$ Hz, C_2H) ; 2,13 (m, 1H, $J=14,25$ Hz, $J=8,50$ Hz, $J=6,75$ Hz, C_2H) ; 2,04 (s, 3H, COCH_3) ; 1,81 (d, 3H, $J=1,30$ Hz, $\text{C}_5\text{-CH}_3$).

SM (ionisation chimique, méthane) ; M = 568,49
m/e : 569 (0,6 ; $(\text{M}+1)^+$) ; 243 (28 ; $(\text{Thd} + 1)^+$) ; 217 (28) ; 202 (56, PsoOH^+) ; 127 (80 ; $(\text{Thy}+1)^+$).
(impact électronique, haute résolution) :

: m/e :	367	: 267	: 202	: 174	:
:-----:					
:M. trouvée :	367,1132	: 267,0980	: 202,0251	: 174,0311	:
:M. théorique :	367,11413	: 267,09809	: 202,02660	: 174,03169	:
:Formule brute:	$\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_8$: $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_5$: $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_4$: $\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_3$:

IR (KBr) : 3280 ; 3080 ; 3000 ; 2950 ; 1750 ; 1690 ; 1590 ; 1480 ; 1375 ; 1245 ; 1205 ; 1130 ; 835 ; 785 ; 765 cm^{-1} .

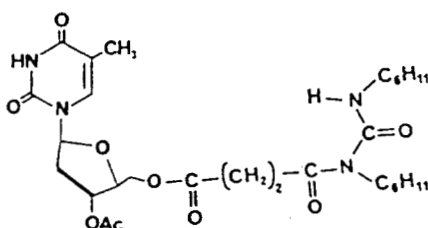
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 247,5 (24000) nm.
A 254/280 = 1,85 ; A 254/365 = 26,6.

Analyse, $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_{12}$:

Calc. % : C : 57,05 H : 4,26 N : 4,93

Tr. % : 56,97 4,53 5,07.

N-ACYL UREE 22 :



Cette impureté a été isolée lors de la synthèse du composé 21, en utilisant comme solvant la DMF.

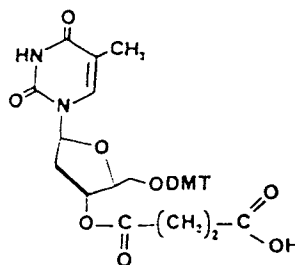
RMN (60MHz, CDCl_3) δ ppm = 9,35 (s large, 1H, N_3H) ; 7,30 (d, 1H, $J \leq 1\text{Hz}$, C_6H) ; 6,25 (t, 1H, $J=7\text{Hz}$, C_1H) ; 5,10 (m, 1H, C_3H) ; 4,25 (m, 2H, $2\text{C}_5\text{H}$) ; 4,10 (m, 1H, C_4H) ; 2,65 (m, 4H, $\text{COCH}_2\text{-CH}_2\text{CO}$) ; 2,30 (m, 2H, $2\text{C}_2\text{H}$) ; 2,05 (s, 3H, COCH_3) ; 1,90 (d, 3H, $J \leq 1\text{Hz}$, $\text{C}_5\text{-CH}_3$) ; 2,00-0,85 (m, 22H, H cyclohexyle).

SM (impact électronique, haute résolution) ; M = 590,67

:	m/e	:	465	:	280	:	126	:

:	M. trouvée	:	465,2143	:	280,1560	:	126,0435	:
:	M. théorique	:	465,21110	:	280,15487	:	126,04292	:
:	Formule brute:	:	$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_8$:	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{NO}_4$:	$\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$:

O-(DIMETHOXY-4,4' TRITYL)-5',
O-(CARBOXY-3 PROPANOYL)-3' THYMIDINE 23 :



A une solution du composé 15 (2,0 g ; 3,7 mmol) dans le dichlorométhane (10 cm³), on ajoute de la N,N-diméthylamino-4 pyridine (0,5 g ; 4,1 mmol) et de l'anhydride succinique (0,56 g ; 5,60 mmol). La solution est agitée à température ambiante pendant 2 h, puis diluée avec du dichlorométhane (40 cm³). La solution obtenue est lavée avec une solution aqueuse de dihydrogénéosphate de sodium à 10 % (50 cm³). La phase aqueuse est extraite par du dichlorométhane (3 x 50 cm³). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ puis évaporées à sec.

Le solide obtenu est purifié par chromatographie sur silice sous faible pression (élution dichlorométhane - méthanol - pyridine, 96 : 3,5 : 0,5).

Le composé 23 est ainsi obtenu pur. Il est ensuite solubilisé dans un minimum de dichlorométhane puis précipité dans du pentane (2,31 g ; 3,60 mmol ; 97 %).

F = 105°C.

RMN (60 MHz, CDCl₃) δ ppm = 9,55 (s large, 1H, N₃H) ; 7,55 (d, 1H, J≤1Hz, C₆H) ; 7,30-6,70 (m, 13H, HAr) ; 6,30 (t, 1H, J=7Hz, C₁H) ; 5,40 (m, 1H, C₃H) ; 4,10 (m, 1H, C₄H) ; 3,75 (s, 6H, OCH₃) ; 3,45 (m, 2H, 2C₅H) ; 2,60 (m, 4H, COCH₂-CH₂CO) ; 2,35 (m, 2H, 2C₂H) ; 1,35 (d, 3H, J≤1Hz, C₅-CH₃).

SM (ionisation chimique, méthane) ; M = 644,68
m/e : 645 (0,3 ; M⁺) ; 545 (1, (Thd5'ODMT + 1)⁺) ; 402 (13) ; 390 (100).

IR (KBr) : 3200 ; 3050 ; 2940 ; 1710 ; 1615 ; 1510 ; 1255 ; 1180 ; 1035 ; 835 ; 710 cm⁻¹.

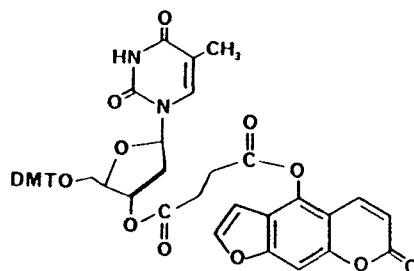
UV (EtOH) : λ_{max} (ε) : 265,5 (9200) ; 234 (18400) nm.
A 254/280 = 1,32.

Analyse, $C_{35}H_{36}N_2O_{10}$:

Calc. % : C : 65,21 H : 5,63 N : 4,35

Tr. % : 65,32 5,77 4,17.

SUCCINATE DE (O-(DIMETHOXY-4,4' TRITYL)-5',
DESOXY-3' THYMIDINYLE)-3' ET DE
(FURO (3,2-g) COUMARINYLE)-5 24 :



A une solution de 5HP 3 (0,63 g ; 3,10 mmol) dans un mélange dichlorométhane-acétonitrile (50 : 50 ; 100 cm³), on ajoute le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (0,7 g ; 3,4 mmol) et le composé 23 (2,0 g ; 3,1 mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 1 à 2 h. La réaction terminée, la N,N'-dicyclohexylurée est filtrée, lavée avec du dichlorométhane. La solution est ensuite évaporée. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur silice sous faible pression en éluant avec un mélange dichlorométhane-acétate d'éthyle (50 : 50 ; 0,3 % de pyridine).

Le produit obtenu est dissous dans un minimum de dichlorométhane puis précipité dans le n-hexane (1,67 g ; 2,0 mmol ; 65 %).

F : 151°C.

RMN (400 MHz, DMSO d₆) δ ppm = 11,32 (s large, 1H, N₃H) ; 8,09 (dd, 1H, J = 9,80 Hz, J=0,60Hz, PsoC₄H) ; 7,99 (d, 1H, J=2,30Hz, PsoC₅H) ; 7,67 (dd, 1H, J=0,95Hz, J=0,60Hz, PsoC₈H) ; 7,46 (d, 1H, J=0,85Hz, C₆H) ; 7,32-7,17 (m, 9H, HAr) ; 6,93 (dd, 1H, J=2,30Hz, J=0,95Hz, PsoC₄H) ; 6,83-6,80 (m, 4H, HAr) ; 6,34 (d, 1H, J=9,80Hz, PsoC₃H) ; 6,16 (dd, 1H, J=6,10Hz, J=5,90Hz, C₁H) ; 5,32 (m, 1H, C₃H) ; 4,03 (m, 1H, C₄H) ; 3,66 (s, 6H, OCH₃) ; 3,15 (m, 2H, 2C₅H) ; 3,10-2,75 (m, 4H, COCH₂-CH₂CO) ; 2,30 (m, 2H, 2C₂H) ; 1,30 (d, 3H, J=0,85Hz, C₅-CH₃).

SM (impact électronique, haute résolution) ; M = 828,83

m/e	304	303	202	174	126
M. trouvée	304,1460	303,1393	202,0251	174,0311	126,0435
M. théorique	304,14632	303,13850	202,02660	174,03169	126,04292
Formule brute:	C ₂₁ H ₂₀ O ₂	C ₂₁ H ₁₉ O ₂	C ₁₁ H ₆ O ₄	C ₁₀ H ₆ O ₃	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂

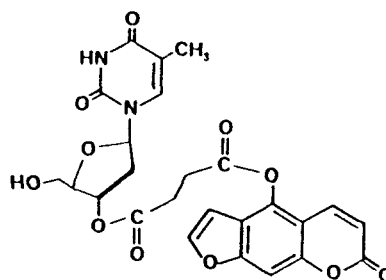
Décomposition thermique : m/e = 504

M. trouvée = 504,1551

M. théorique = 504,15728

Formule brute = C₃₂H₂₄O₆.

SUCCINATE DE (DESOXY-3' THYMIDINYLE)-3'
ET DE (FURO(3,2-g) COUMARINYLE)-5 25 :



Une solution de composé 24 (1,00 g ; 1,21 mmol) dans l'acétonitrile (100 cm³) est placée dans un bain de glace. A la solution refroidie on ajoute une solution d'acide benzène sulfonique 0,1 M (1,58 g ; 10 mmol) dans l'acétonitrile (100 cm³).

La solution rouge orangée est agitée pendant 15 mn. La détritylation terminée, la solution est ensuite neutralisée par une solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 10 %. Après neutralisation (décoloration) le benzène sulfonate de sodium qui précipite est éliminé par filtration. Le filtrat est concentré puis dilué avec de l'eau (100 cm³). La solution obtenue est extraite avec du dichlorométhane (3x200 cm³). Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ puis évaporées à sec.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur silice (élution : 1) chloroforme 2) chloroforme-acétate d'éthyle (50 : 50) 3) acétate d'éthyle.

Le composé 25 est ainsi obtenu pur sous forme d'une poudre blanche (0,53 g ; 1,0 mmol ; 83 %).

F = 170-174°C.

RMN (400 MHz, DMSO d_6) δ ppm = 11,27 (s large, 1H, N_3H) ; 8,11 (d, 1H, $J=10,00\text{Hz}$, $PsoC_{4H}$) ; 8,06 (d, 1H, $J=2,00\text{Hz}$, $PsoC_{5H}$) ; 7,67 (s large, 2H, C_6H , $PsoC_8H$) ; 6,96 (d, 1H, $J=2,00\text{Hz}$, $PsoC_{4H}$) ; 6,43 (d, 1H, $J=10,00\text{Hz}$, $PsoC_3H$) ; 6,14 (dd, 1H, $J=6,00\text{Hz}$, $J=5,60\text{Hz}$, C_{1H}) ; 5,25 (d, 1H, $J=5,75\text{Hz}$, C_{3H}) ; 5,16 (t, 1H, $J=5,10\text{Hz}$, $J=5,15\text{Hz}$, $C_{5,-OH}$) ; 3,94 (d, 1H, $J=1,65\text{Hz}$, C_{4H}) ; 3,58 (t, 2H, $J=4,70\text{Hz}$, $J=3,70\text{Hz}$, $2C_{5H}$) ; 3,10 (t, 2H, $J=6,40\text{Hz}$, $COCH_2-CH_2CO$) ; 2,80 (t, 2H, $J=6,40\text{Hz}$, $COCH_2-CH_2CO$) ; 2,30-2,16 (m, 2H, $2C_{2H}$).

SM (ionisation chimique, méthane) ; M = 526,46
m/e = 527 (0,8 ; $(M+1)^+$) ; 325 (0,4 ; $(M+1)-PsoOH^+$) ; 242 (0,8 ; Thd^+) ; 207 (90 ; $(Thd-2H_2O+1)^+$) ; 206 (34 ; $(Thd-2H_2O)^+$) ; 174 (8 ; $(PsoOH-CO)^+$) ; 167 (22) ; 161 (28) ; 155 (43) ; 141 (55) ; 128 (100) ; 126 (40 ; Thy^+) ; 117 (11) ; 110 (61).

(impact électronique, haute résolution) :

m/e	M.trouvée	M.théorique	Formule brute
202	202,0251	202,0266	$C_{11}H_6O_4$

IR (KBr) : 3500 ; 3200 ; 3060 ; 2940 ; 1740 ; 1715 ; 1680 ; 1470 ; 1215 ; 1125 ; 835 cm^{-1} .

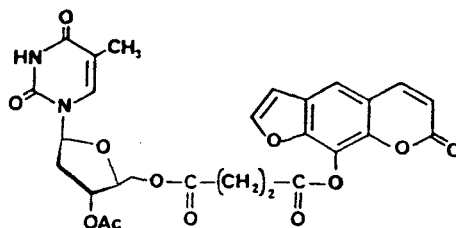
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 248 (25650) nm.
A 254/280 = 1,80 ; A 254/365 = 28,5.

Analyse, $C_{25}H_{22}N_2O_{11}$:

Calc. % : C : 57,04 H : 4,21 N : 5,32

Tr. % : 56,78 4,38 5,16.

SUCCINATE DE (O-(ACETYL)-3', DESOXY-5'
THYMIDINYLE)-5' ET DE (FURO (3,2-g)
COUMARINYLE)-8 26 :



A une solution de 8HP 4 (100 mg ; 0,5 mmol) dans un mélange dichlorométhane-acétonitrile (50 : 50 ; 10 cm³), on ajoute du N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (110 mg ; 0,53 mmol) et le composé 20 (195 mg ; 0,5 mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 1 à 2 h. La réaction terminée, la N,N'-dicyclohexylurée est éliminée par filtration, lavée avec du dichlorométhane. Le filtrat est évaporé à sec. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur silice (élution : acétate d'éthyle).

Le produit pur obtenu est dissous dans un minimum de dichlorométhane puis précipité dans le n-hexane.

Le composé 26 est ainsi obtenu sous forme d'une poudre blanche. (165 mg ; 0,29 mmol ; 58 %).

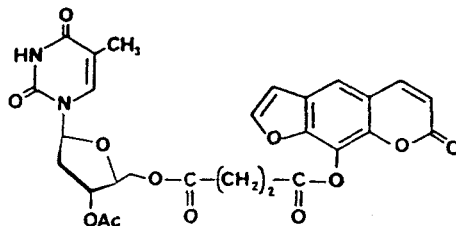
F = 135-136°C.

RMN (60 MHz, DMSO d₆) δ ppm = 11,30 (s large, 1H, N₃H) ; 8,15 (d, 1H, J=9,6Hz, PsoC₄H) ; 8,10 (d, 1H, J=2Hz, PsoC₅H) ; 7,90 (s, 1H, PsoC₅H) ; 7,40 (d, 1H, J≤1Hz, C₆H) ; 7,10 (d, 1H, J=2Hz, PsoC₄H) ; 6,40 (d, 1H, J=9,6Hz, PsoC₃H) ; 6,10 (t, 1H, J=7Hz, C₁H) ; 5,15 (m, 1H, C₃H) ; 4,25 (m, 3H, 2C₅H, C₄H) ; 2,95 (m, 4H, COCH₂-CH₂CO) ; 2,30 (m, 2H, 2C₂H) ; 2,00 (s, 3H, COCH₃) ; 1,65 (d, J≤1Hz, C₅-CH₃).

SM (impact électronique, haute résolution) ; M = 568,49
m/e : 569 (32 ; (M+1)⁺) ; 568 (100 ; M⁺).

m/e	368	267	202	174	126
M.trouvée	368,1224	267,0980	202,0251	174,0311	126,0435
M.théorique	368,12195	267,09809	202,02660	174,03169	126,04292
Formule brute:	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O ₈	C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₅	C ₁₁ H ₆ O ₄	C ₁₀ H ₆ O ₃	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂

SUCCINATE DE (O-(ACETYL)-3', DESOXY-5'
THYMIDINYLE)-5' ET DE (FURO (3,2-g)
COUMARINYLE)-8 26 :



A une solution de 8HP 4 (100 mg ; 0,5 mmol) dans un mélange dichlorométhane-acétonitrile (50 : 50 ; 10 cm³), on ajoute du N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (110 mg ; 0,53 mmol) et le composé 20 (195 mg ; 0,5 mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 1 à 2 h. La réaction terminée, la N,N'-dicyclohexylurée est éliminée par filtration, lavée avec du dichlorométhane. Le filtrat est évaporé à sec. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur silice (élution : acétate d'éthyle).

Le produit pur obtenu est dissous dans un minimum de dichlorométhane puis précipité dans le n-hexane.

Le composé 26 est ainsi obtenu sous forme d'une poudre blanche. (165 mg ; 0,29 mmol ; 58 %).

F = 135-136°C.

RMN (60 MHz, DMSO d₆) δ ppm = 11,30 (s large, 1H, N₃H) ; 8,15 (d, 1H, J=9,6Hz, PsoC₄H) ; 8,10 (d, 1H, J=2Hz, PsoC₅H) ; 7,90 (s, 1H, PsoC₅H) ; 7,40 (d, 1H, J≤1Hz, C₆H) ; 7,10 (d, 1H, J=2Hz, PsoC₄H) ; 6,40 (d, 1H, J=9,6Hz, PsoC₃H) ; 6,10 (t, 1H, J=7Hz, C₁H) ; 5,15 (m, 1H, C₃H) ; 4,25 (m, 3H, 2C₅H, C₄H) ; 2,95 (m, 4H, COCH₂-CH₂CO) ; 2,30 (m, 2H, 2C₂H) ; 2,00 (s, 3H, COCH₃) ; 1,65 (d, J≤1Hz, C₅-CH₃).

SM (impact électronique, haute résolution) ; M = 568,49
m/e : 569 (32 ; (M+1)⁺) ; 568 (100 ; M⁺).

: m/e	: 368	: 267	: 202	: 174	: 126	:
:-----:						
:M.trouvée	: 368,1224	: 267,0980	: 202,0251	: 174,0311	: 126,0435	:
:M.théorique	: 368,12195	: 267,09809	: 202,02660	: 174,03169	: 126,04292	:
:Formule brute:	C ₁₆ H ₂₀ N ₂ O ₈	: C ₁₂ H ₁₅ N ₂ O ₅	: C ₁₁ H ₆ O ₄	: C ₁₀ H ₆ O ₃	: C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	:

IR (KBr) : 3230 ; 3080 ; 2980 ; 1750 ; 1605 ; 1415 ; 1375 ; 1245 ; 1155 ; 1030 ; 995 ; 880 ; 765 cm^{-1} .

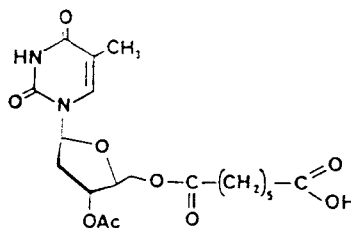
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 246 (25550) nm.
A 254/280 = 1,63 ; A 254/365 = 30,50.

Analyse, $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_{12}$:

Calc. % : C : 57,05 H : 4,26 N : 4,93

Tr. % : 56,71 4,38 4,82.

O-(ACETYL)-3', O-(CARBOXY-6 HEXANOYL)-5'
THYMIDINE 27 :



A une solution d'acide pimélique (176 mg ; 1,10 mmol) dans le dichlorométhane (5 cm^3), on ajoute le N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (226 mg ; 1,10 mmol). La solution est agitée à température ambiante pendant 1h30. A cette solution on ajoute une solution de N,N-diméthylamino-4 pyridine (134 mg ; 1,10 mmol) et du composé 17 (284 mg ; 1,0 mmol) dans le dichlorométhane (20 cm^3).

L'évolution de la réaction est suivie par CCM. La réaction terminée (30 mn), la N,N'-dicyclohexylurée formée est filtrée, lavée avec du dichlorométhane.

La solution obtenue est ensuite lavée avec une solution aqueuse de dihydrogénophosphate de sodium à 10 % (20 cm^3). La phase aqueuse est extraite avec du dichlorométhane (3 x 20 cm^3).

Les phases organiques sont séchées sur MgSO_4 puis évaporées à sec.

Le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur silice en éluant avec un mélange dichlorométhane - méthanol (9 : 1).

Le composé 27 est ainsi obtenu pur (110 mg ; 0,26 mmol ; 26 %).

F = 50-55°C.

RMN (60 MHz, DMSO d_6) δ ppm = 11,35 (s large, 1H, N_3H) ; 7,45 (d, 1H, $J \leq 1$ Hz, C_6H) ; 6,15 (t, 1H, $J=7$ Hz, C_1H) ; 5,15 (m, 1H, C_3H) ; 4,20 (m, 3H, $2C_5H$, C_4H) ; 2,35 (m, 4H, $COCH_2-(CH_2)_3-CH_2CO$) ; 2,20 (m, 2H, $2C_2H$) ; 2,00 (s, 3H, $COCH_3$) ; 1,75 (d, 3H, $J \leq 1$ Hz, C_5-CH_3) ; 1,30 (m, 6H, $COCH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2CO$).

SM (impact électronique, haute résolution) ; M = 426,42
m/e : 426 (M^+) ; 301 (M^+-Thy) ; 241 ; 126 (Thy^+).

m/e	426	301
M.trouvée	426,1615	301,1280
M.théorique	426,16381	301,12872
Formule brute	$C_{19}H_{26}N_2O_9$	$C_{14}H_{21}O_7$

IR (film transparent) : 3200 ; 3060 ; 2970 ; 1730 ; 1475 ; 1380 ; 1245 ; 1080 ; 1030 ; 970 ; 900 ; 790 ; 745 cm^{-1} .

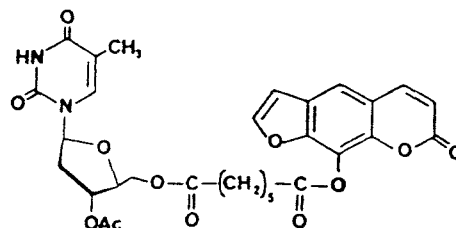
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 266 (15900) nm.
A 254/280 = 1,15.

Analyse, $C_{19}H_{26}N_2O_9$

Calc. % : C : 53,52 H : 6,15 N : 6,57

Tr. % : 53,33 6,32 7,04.

HEPTANEDIOATE DE (O-(ACETYL)-3', DESOXY-5'
THYMIDINYLE)-5' ET DE (FURO (3,2-g)
COUMARINYLE)-8 28 :



A une solution de 8HP 4 (52 mg ; 0,26 mmol) dans un mélange dichlorométhane-acétonitrile (50 : 50 ; 5 cm^3), on ajoute du

N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (53 mg ; 0,26 mmol) et le composé 27 (110 mg ; 0,26 mmol). Le mélange est agité à température ambiante pendant 1 h. La N,N'-dicyclohexylurée formée est filtrée, lavée avec du dichlorométhane.

La solution est ensuite évaporée puis le résidu obtenu est purifié par chromatographie sur silice en éluant avec de l'acétate d'éthyle.

Le composé 28 est obtenu pur après précipitation dans le n-hexane (110 mg ; 0,18 mmol ; 70 %).

F = 88-90°C.

RMN (60 MHz, CDCl₃) δ ppm = 8,40 (s large, 1H, N₃H) ; 7,75 (d, 1H, J=9,6Hz, PsoC₄H) ; 7,65 (d, 1H, J=2Hz, PsoC₅H) ; 7,55 (s, 1H, PsoC₅H) ; 7,25 (d, 1H, J≤1Hz, C₆H) ; 6,80 (d, 1H, J=2Hz, PsoC₄H) ; 6,30 (d, 1H, J=9,6Hz, PsoC₃H) ; 6,25 (t, 1H, J=7Hz, C₁H) ; 5,15 (m, 1H, C₃H) ; 4,30 (m, 3H, 2C₅H, C₄H) ; 2,55 (m, 4H, COCH₂-(CH₂)₃-CH₂CO) ; 2,30 (m, 2H, 2C₂H) ; 2,05 (s, 3H, COCH₃) ; 1,85 (d, 3H, J ≤ 1Hz, C₅-CH₃) ; 1,65-0,85 (m, 6H, COCH₂-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂CO).

SM (impact électronique, haute résolution) ; M = 610,57

:	m/e	:	327	:	202	:	174	:	126	:

:	M.trouvée	:	327,0869	:	202,0251	:	174,0311	:	126,0435	:
:	M.théorique	:	327,08685	:	202,02660	:	174,03169	:	126,04292	:
:	Formule brute:	:	C ₁₈ H ₁₅ O ₆	:	C ₁₁ H ₆ O ₄	:	C ₁₀ H ₆ O ₃	:	C ₅ H ₆ N ₂ O ₂	:

IR (KBr) : 3200 ; 3060 ; 2940 ; 2870 ; 1740 ; 1695 ; 1600 ; 1470 ; 1240 ; 1150 ; 1030 ; 880 ; 760 cm⁻¹.

UV (EtOH) : λ_{max} (ε) : 246 (24550) nm.
A 254/280 = 1,60 ; A 254/365 = 27,70.

Analyse, C₃₀H₃₂N₂O₁₃, 1H₂O :

Calc. % : C : 57,32 H : 5,13 N : 4,46
Tr. % : 56,95 5,13 4,61.

D. ETUDE PHOTOCHEMIQUE :

I. INDICATIONS GENERALES :

1°/ Conditions d'irradiation :

Dans cette étude, nous avons utilisé des solvants PROLABO R.P. NORMAPUR qui sont de qualité dite "pour analyses". L'eau a été bidistillée (pH = 6).

Irradiation à 365 nm :

Les solutions à irradier sont placées dans des flacons en pyrex puis désoxygénées par barbotage d'argon U. Les flacons sont ensuite fermés de manière à maintenir les solutions sous atmosphère d'argon. Les solutions placées à 10 cm environ de la lampe, sont refroidies par un courant d'air comprimé pendant toute la durée de l'irradiation.

L'irradiation à 365 nm se fait par l'intermédiaire d'une lampe à mercure haute pression PHILIPS HPW 125 W. L'éclairement énergétique arrivant sur les solutions, mesuré à l'aide d'une thermopile KIPP et ZONEN, est de 5 à 8 mW/cm².

Irradiation à 254 nm :

Les irradiations à 254 nm sont effectuées à l'air libre dans de petits cristallisoirs sans désoxygénation préalable. Les solutions (1 cm³) sont irradiées avec une lampe TUV 15 W durant 5 à 10 mn. L'éclairement énergétique reçu par ces solutions est d'environ 0,5 mW/cm². Les irradiations à 254 nm suivies par spectrophotométrie UV sont réalisées dans des cuves en quartz (1 cm de trajet optique) contenant des solutions non désoxygénées.

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

L'analyse des solutions se fait par CLHP (appareil WATERS, programmateur de solvant 660, deux pompes M-6000, détecteur UV 440, colonne de phase inverse RP 18 10 μm MERCK).

Les solutions sont éluées avec un débit de $2 \text{ cm}^3/\text{mn}$, par un gradient linéaire de deux solvants : l'un est l'eau pure bidistillée (pH=6) ou l'eau acidifiée (pH=2,5 ; H_3PO_4) et l'autre est un mélange méthanol-eau pure (95:5). La composition du mélange d'éluion Y (en % de méthanol) est donnée en fonction du temps d'éluion t (en mn), par l'équation :

$$Y = K + (95 - K) \cdot t/10$$

K étant la composition du mélange éluant en % du méthanol au temps t=0.

Les photoproduits formés sont détectés par leurs absorptions à 254 et 365 nm ou 254 et 280 nm. Les rapports d'absorption A 254/280 ou/et A 254/365 sont utilisés pour caractériser les produits.

Les volumes injectés sont de 25 à 150 μl selon les concentrations utilisées (10^{-3} à 10^{-5}M). La détection se fait dans une gamme de densité optique de 2 à 0,02.

3°/ Paramètres utilisés (CLHP) :

* Temps de rétention :

t_{R_0} = temps de rétention du modèle de départ.

t_R = temps de rétention du produit formé.

* Taux de conversion (TC) :

$$\text{TC} = \left(1 - \frac{\text{hauteur (cm) signal du composé de départ au temps } t}{\text{hauteur (cm) signal du composé de départ à } t=0}\right) \times 100$$

C. ETUDE PHYSICO - CHIMIQUE
EN SPECTROSCOPIE DE RMN :

Nous avons utilisé lors de cette étude du diméthylsulfoxyde d_6 (DMSO d_6) et de l'eau lourde (D_2O) tous deux à 99,8 % de pureté isotopique.

Des solutions mères à $5 \cdot 10^{-3} M$ environ, du composé modèle Ade- C_4 -5Pso 10 et des composés de référence Ade- C_3 12, 5Pso- C_3 13, ont été préparées dans le DMSO d_6 ($0,5 \text{ cm}^3$) (à partir d'échantillons de 0,5 à 1 mg). Ces solutions mères ont été diluées avec de l'eau lourde et du DMSO d_6 . Des solutions dans le mélange D_2O -DMSO d_6 (95 : 5) ont été obtenues aux concentrations finales de 10^{-4} et $5 \cdot 10^{-5} M$ pour le composé Ade- C_4 -5Pso 10, de $5 \cdot 10^{-5} M$ pour la référence Ade- C_3 12 et de $2 \cdot 10^{-5} M$ pour la référence 5Pso- C_3 13 en raison de la faible solubilité de ce composé.

Les spectres ont été enregistrés à 25°C sur un spectromètre BRUKER AM 400 WB.

Les protons 3,4 ainsi que les protons 4',5' du noyau psoralène sont détectés sous la forme de doublets $J_{3,4}=10\text{Hz}$, $J_{4',5'}=2\text{Hz}$.

L'attribution des protons 2 et 8 du cycle adénine (H_2A et H_8A) a été réalisée en chauffant à 80°C les solutions du composé Ade- C_4 -5Pso 10 et de la référence Ade- C_3 12 dans le mélange D_2O -DMSO d_6 (95 : 5) pendant 2 à 3 h. Dans ces conditions, le proton 8 du cycle imidazole de l'adénine s'échange (55,56).

composé	mol/l	H_4	$H_{5'}$	H_8	$H_{4'}$	H_3	H_8A	H_2A
Ade- C_3	$5 \cdot 10^{-5}$						8,10	8,02
5Pso- C_3	$2 \cdot 10^{-5}$	8,32	7,67	7,22	7,06	6,26		
Ade- C_4 -5Pso	$5 \cdot 10^{-5}$	8,00	7,58	7,01	6,79	6,16	7,745	7,66
	10^{-4}	7,99	7,58	7,00	6,78	6,155	7,745	7,66

Tableau 2 : Etude en RMN¹H (400MHz) du composé modèle Ade- C_4 -5Pso 10 et des composés de référence Ade- C_3 12, 5Pso- C_3 13.

Spectres enregistrés dans un mélange D_2O -DMSO d_6 (95 : 5) à 25°C.

* Rapports d'absorption :

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

$$A_{254/365} = \frac{\text{hauteur (cm) signal à 254 nm}}{\text{hauteur (cm) même signal à 365 nm}}$$

II. RESULTATS ANALYTIQUES :

1°/ Irradiation du composé Ade-C₄-5Pso 10 :

Des solutions du composé 10 de concentrations 6.10^{-4} et 3.10^{-5} M sont préparées dans quatre solvants différents : un mélange eau-méthanol (95:5), l'éthanol, la DMF et l'acétonitrile. Ces solutions sont désoxygénées par barbotage d'argon (15 mn) puis irradiées à 365 nm à différents temps.

Solvant	Temps :d'irradiation:	tR ₀	tR	TC %
EtOH	3h30	8mn24	8mn36	61
	3h	8mn24	8mn42	36
DMF	8h	8mn18	8mn30	57

Tableau 7 : Irradiation à 365 nm du composé Ade-C₄-5Pso 10 dans l'éthanol et la DMF (C = 6.10^{-4} M).

Etude analytique en CLHP (élution eau : pH = 2,5, méthanol).

2°/ Irradiation à 365 nm du composé 21 :

Le composé 21 est irradié à 365 nm dans différents solvants : H₂O-EtOH, H₂O-CH₃CN, H₂O-DMF, CH₃CN, DMF et DMSO en solution désoxygénée, dans une gamme de concentration située entre 2.10⁻⁵ et 10⁻³M. Un même photoproduit est détecté en CLHP (A 254/280 = 2,30 ; tR = 6mn12 à 6mn24).

* Etude du taux de conversion en fonction de la nature du solvant :

Dans cette étude, nous avons utilisé des solutions du composé 21 à environ 10⁻³M dans quatre solvants différents : H₂O-EtOH, H₂O-DMF, H₂O-CH₃CN et DMSO. Ces solutions (5 cm³) sont désoxygénées (15 mn) puis irradiées à 365 nm.

Solvant	Temps d'irradiation en mn	tR ₀	tR	TC %
H ₂ O-EtOH (50:50):	40	9mn18	6mn18	98
H ₂ O-DMF (50:50):	"	"	"	97
H ₂ O-CH ₃ CN (50:50):	"	"	"	94
DMSO	"	"	"	61

Tableau 8 : Irradiation à 365 nm du composé 21.

Etude analytique (CLHP) du taux de conversion (TC) en fonction de la nature du solvant.

* Effet de l'oxygène sur la formation du photoproduit 29 :

Des solutions du composé 21 à environ 10⁻³M sont préparées, dans le DMSO et le mélange H₂O-EtOH (50 : 50).

Pour un même solvant, la solution est partagée en deux fractions. L'une d'elles (5 cm³) est saturée en oxygène par barbotage du gaz pur (15 mn) puis fermée sous atmosphère d'oxygène. L'autre fraction (5 cm³) est

désoxygénée par barbotage d'argon. Les solutions ainsi obtenues sont irradiées à 365 nm en même temps et sous agitation magnétique. L'évolution de la photoréaction est suivie par CLHP.

Solvant	H ₂ O - EtOH		DMSO	
	(50 : 50)			
	absence	présence	absence	présence
	d'O ₂	d'O ₂	d'O ₂	d'O ₂
Temps				
d'irradiation:	25	25	60	60
en mn				
TC %	70	36	46	20

Tableau 9 : Irradiation à 365 nm du composé 21 en absence ou présence d'oxygène C = 10⁻³M.

* Influence des photosensibilisateurs :

Des solutions du composé 21 à environ 10⁻³M sont préparées dans un mélange H₂O-EtOH (50 : 50). Dans chaque solution (5 cm³) à l'exception de celle qui servira de témoin, on ajoute le photosensibilisateur étudié (10 % en masse du composé 21). Les différentes solutions sont désoxygénées par barbotage d'argon (15 mn) puis irradiées à 365 nm. La photoréaction est suivie par CLHP. Dans tous les cas, un même photoproduit très majoritaire est observé (tR = 6mn18 à 6mn24).

: Photosensibilisateur :	Temps :	TC % :	A_{sens}^* (365nm) :	E_T^{**} :
:	d'irradiation :	:	% :	KJ/mol :
:	en mn :	:	:	:
: composé <u>21</u> :	10 :	90 :	:	:
: (témoin) :	18 :	98 :	:	:
: benzophénone :	10 :	83 :	<1 :	290 :
:	18 :	99 :	:	:
: fluorène :	10 :	77 :	<1 :	285 :
: thioxanthone :	18 :	74 :	58 :	275 :
: cétone de Michler :	18 :	5 :	95 :	265 :
: naphthalène :	10 :	42 :	<1 :	255 :

Tableau 6 : Irradiation à 365 nm du composé 21 dans le mélange eau-éthanol (50 : 50), C = 10⁻³M. Influence de l'addition de photosensibilisateurs sur le taux de conversion mesuré en CLHP.

$$* \quad A_{sens} (365 \text{ nm}) = \frac{hs}{hs+ho} \times 100$$

hs = hauteur (cm) signal du photosensibilisateur à 365 nm.

ho = hauteur (cm) signal du composé 21 à 365 nm.

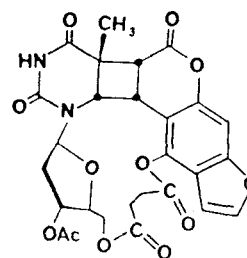
** E_T : énergie de l'état excité triplet du photosensibilisateur en KJ/mol.

3°/ Irradiation à 254 nm du composé 21 :

L'irradiation à 254 nm d'une solution non désoxygénée du composé 21 dans le mélange eau-éthanol (50 : 50), à la concentration de $5.10^{-3}M$ a été suivie par CLHP. Un seul photoproduit est observé lorsque la durée de l'irradiation est courte ($0,5\text{ cm}^3$ de solution ; 30 mn). Lorsque l'irradiation est poursuivie plus longuement, un mélange complexe de photoproduits est obtenu.

Le photoproduit observé est caractérisé par : $t_R = 6\text{mn}24$; $A_{254/280}=2,5$.

III. OBTENTION ET CARACTERISATION DU PHOTOPRODUIT 29 :



Une solution du composé 21 (0,9 g ; 1,58 mmol) dans un mélange eau-éthanol (50 : 50 ; 1,8 l) est répartie en cinq fractions ($4 \times 400\text{ cm}^3$) et ($1 \times 200\text{ cm}^3$). Ces fractions sont désoxygénées par barbotage d'argon (15 à 20 mn). Les flacons sont ensuite fermés sous atmosphère d'argon puis disposés à 10 cm environ autour de la lampe à mercure haute pression.

Les solutions sont irradiées à 365 nm sous agitation, en refroidissant par un courant d'air comprimé.

L'avancement de la photoréaction est suivie par CLHP. La conversion est quasi totale au bout de 2 à 2h15.

Les cinq fractions sont extraites plusieurs fois avec du dichlorométhane (1,8 l au total). Les phases organiques sont évaporées à sec. Le résidu obtenu est chromatographié sur silice sous faible pression en éluant avec un mélange dichlorométhane - acétate d'éthyle (50 : 50). Il est ensuite dissous dans un minimum de dichlorométhane puis précipité dans le n-hexane.

Le photoproduit 29 est ainsi obtenu pur sous forme d'une poudre blanche (0,562 g ; 1,0 mmol ; 63 %).

F : 98-100°C.

RMN (400 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7,50 (d, 1H, $J=2,30\text{Hz}$, $\text{PsoC}_{5,\text{H}}$) ; 7,09 (d, 1H, $J=0,85\text{Hz}$, $\text{PsoC}_{8,\text{H}}$) ; 6,81 (s large, 1H, $\text{N}_{3,\text{H}}$) ; 6,50 (dd, 1H, $J=2,30\text{Hz}$, $J=0,85\text{Hz}$, $\text{PsoC}_{4,\text{H}}$) ; 5,94 (dd, 1H, $J=7,85\text{Hz}$, $J=5,40\text{Hz}$, $\text{C}_{1,\text{H}}$) ; 4,95 (t, 1H, $J=11,15\text{Hz}$, $J=-11,30\text{Hz}$, $\text{C}_{5,\text{H}}$) ; 4,83 (m, 1H, $J=7,80\text{Hz}$, $J=4,15\text{Hz}$, $J=2,75\text{Hz}$, $\text{C}_{3,\text{H}}$) ; 4,13 (dd, 1H, $J=8,60\text{Hz}$, $J=7,50\text{Hz}$, $\text{PsoC}_{4,\text{H}}$) ; 4,10 (d, 1H, $J=7,50\text{Hz}$, $\text{C}_{6,\text{H}}$ ou $\text{PsoC}_{3,\text{H}}$) ; 4,05 (m, 1H, $J=11,15\text{Hz}$, $J=4,10\text{Hz}$, $J=2,50\text{Hz}$, $\text{C}_{4,\text{H}}$) ; 4,04 (t, 1H, $J=2,50\text{Hz}$, $J=-11,30\text{Hz}$, $\text{C}_{5,\text{H}}$) ; 3,46 (d, 1H, $J=8,60\text{Hz}$, $\text{PsoC}_{3,\text{H}}$ ou $\text{C}_{6,\text{H}}$) ; 3,00-2,65 (m, 4H, $\text{COCH}_2\text{-CH}_2\text{CO}$) ; 2,28 (m, 1H, $J=5,40\text{Hz}$, $J=2,75\text{Hz}$, $J=-14,30\text{Hz}$, $\text{C}_{2,\text{H}}$) ; 2,02 (s, 3H, COCH_3) ; 1,82 (m, 1H, $J=7,85\text{Hz}$, $J=7,80\text{Hz}$, $J=-14,30\text{Hz}$, $\text{C}_{2,\text{H}}$) ; 1,60 (s, 3H, $\text{C}_5\text{-CH}_3$).

SM (ionisation chimique, méthane) ; $M = 568,49$
 $m/e = 569$ (27 ; $(M+1)^+$) ; 568 (11, M^+) ; 267 (18) ; 231 (18) ; 203 (100 ; $(\text{PsoOH}+1)^+$) ; 202 (31 ; PsoOH^+) ; 187 (19) ; 141 (12) ; 127 (99 ; $(\text{Thy}+1)^+$).
 (impact électronique, haute résolution) :
 $m/e : 367 ; 267 ; 207 ; 202 ; 174 ; 127.$

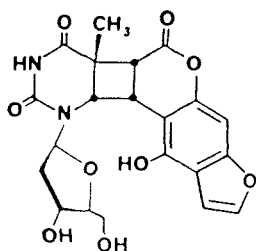
m/e	367	267	202	174
M.trouvée	367,1132	267,0980	202,0251	174,0311
M.théorique	367,11413	267,09809	202,02660	174,03169
Formule brute	$\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_8$	$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_5$	$\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_4$	$\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_3$

IR (KBr) : 3300 ; 2950 ; 1765 ; 1715 ; 1650 ; 1470 ; 1375 ; 1340 ; 1245 ; 1125 ; 1060 cm^{-1} .

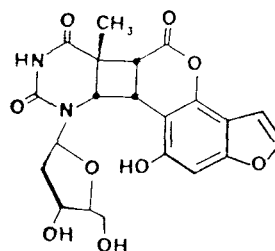
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 255,5 (10550) ; 223 (13300) nm.
 $A_{254/280} = 3,35.$

Analyse, $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_{12}$:
 Calc. % : C : 57,05 H : 4,26 N : 4,93
 Tr. % : 57,13 4,43 4,60.

E. HYDROLYSE DU PHOTOPRODUIT 29
OBTENTION DES COMPOSES 31 ET 32 :



31



32

1°/ Hydrolyse basique : essai préparatif :

Une solution du photoproduit 29 (100 mg ; 0,18 mmol) dans un mélange eau-dioxane (50:50 ; 50 cm³) est amenée à pH=12,5 avec une solution aqueuse de soude 0,5M.

La solution est agitée à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CLHP. Au début de la réaction, la valeur du pH chute rapidement ; elle est ramenée plusieurs fois à pH = 12,5 par additions de solution aqueuse de soude.

La réaction terminée (10 à 12h), le mélange réactionnel est ensuite neutralisé avec une solution aqueuse d'acide chlorhydrique. Le solvant est évaporé à température ambiante sous pression réduite. Le résidu obtenu est purifié par chromatographie liquide à hautes performances, sur colonne semi-préparative de phase inverse (RP 8 20 μm) en éluant avec un mélange eau-méthanol (5 à 20 % de méthanol), (16 mg ; 0,036 mmol ; 20 %).

Caractéristiques CLHP du produit d'hydrolyse :

tR = 3mn48 ; A 254/280 = 2,3.

RMN (400 MHz, DMSO d₆) δ ppm = 9,94 (s très large, 4H, 2N₃H, 2PsoOH, échange avec D₂O) ; 7,84 (s, 2H, 2PsoC₅,H) ; 7,11 et 6,90 (2d, 2H, J=1,9Hz, 2PsoC₄,H) ; 6,85 et 6,82 (2s, 2H, 2PsoC₈,H) ; 5,75 et 5,57

($2t_{app.}$, 2H, $J=6,6\text{Hz}$, $J=6,3\text{Hz}$, $2C_{1,H}$) ; 5,18 et 5,13 (2m, 2H, 20H déoxyribose, échange avec D_2O) ; 4,66 et 4,64 (2d, 2H, $J=3,6\text{Hz}$, $2C_{3,H}$) ; 4,25 et 4,24 (2m, 2H, $2C_{4,H}$) ; 4,09 et 4,02 ($2t_{app.}$, 2H, $J=8,1\text{Hz}$, $J=7,6\text{Hz}$, $2PsoC_{4,H}$) ; 3,85-3,26 (m, 8H, $2PsoC_{3,H}$, $2C_{6,H}$, $4C_{5,H}$) ; 2,30-2,09 (m, 4H, $4C_{2,H}$) ; 1,56 et 1,55 (2s, 6H, $2C_{5}-CH_3$)

SM (ionisation chimique, méthane) ; M = 444,40

m/e : 445 (2 ; $(M+1)^+$) ; 443 (0,3 ; $(M-1)^+$) ; 355 (2) ; 243 (6 ; $(Thd+1)^+$) ; 203 (38 ; $(PsoOH+1)^+$) ; 202 (9 ; $PsoOH^+$) ; 127 (100 ; $(Thy+1)^+$) ; 126 (15 ; Thy^+) ; 117 (11) ; 112 (30).

2°/ Hydrolyse acide :

a. Essais préliminaires :

ESSAI 1 :

Une solution du photoproduit 29 (1,5 mg ; 2,6 μmol) dans un mélange éthanol-acide chlorhydrique concentré (50:50 ; 2,5 cm^3) est agitée à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par CLHP. La réaction est terminée au bout de 5 jours.

Caractéristiques CLHP du produit d'hydrolyse :

$t_R = 3\text{mn}48$; $A_{254}/280 = 2,3$.

ESSAI 2 :

Une solution du photoproduit 29 (1,5 mg ; 2,6 μmol) dans un mélange méthanol-acide chlorhydrique concentré (50:50 ; 2,5 cm^3) est agitée à la température de 50°C.

La réaction est suivie par CLHP ; elle est quasi totale au bout de 2h.

Caractéristiques CLHP du produit d'hydrolyse :

tR = 3mn48 ; A254/280 = 2,3

ESSAI 3 :

On fait barboter de l'acide chlorhydrique dans une solution méthanolique du photoproduit 29 (2 cm³ ; 1 mg ; 1,8 μmol). La solution est agitée à la température de 50°C. La réaction est totale au bout de 4 h.

Caractéristiques CLHP du produit d'hydrolyse :

tR = 3mn48 ; A254/280 = 2,3.

b. Essai préparatif (selon l'essai 3) :

Une solution méthanolique du photoproduit 29 (20 cm³ ; 50 mg ; 0,09 mmol) est agitée à la température de 50°C. On y fait barboter de l'acide chlorhydrique jusqu'à la fin de la réaction qui est détectée par CLHP (8 h).

Le rendement de la réaction a été estimé par CLHP (90 %).

Caractéristiques CLHP du produit d'hydrolyse :

tR = 3 mn48 ; A254/280 = 2,3.

3°/ Comparaison des caractéristiques CLHP des produits d'hydrolyses acide et basique :

: Conditions:	:	:	:
: CLHP :	:	:	:
: Conditions :	Prog 50 %*	: Iso 40 %*	: Iso 25 %*
: d'hydrolyse :	:	:	:

: NaOH :	1 pic	: 1 pic large	: 2 pics larges
:	tR = 3mn48	: tR = 6mn30	: tR ₁ =19mn36; tR ₂ =21mn48:
: pH=12,5 :	A** = 2,3	: A = 1,9	: A ₁ =2,4 ; A ₂ =2,1

: HCl gaz :	1 pic	: 1 pic large	: 2 pics larges
:	tR = 3mn48	: tR = 6mn20	: tR ₁ =19mn48; tR ₂ =21mn
: 50°C :	A = 2,3	: A = 1,8	: A ₁ =2,3 ; A ₂ =2,1

Tableau 10: Caractéristiques CLHP des produits d'hydrolyses basique et acide.

* Prog 50 % : élution avec évolution de la composition du mélange de solvant eau pH 2,5 - méthanol de 50:50 à 5:95 en 10 mn.

Iso 40 % : élution isocratique avec un mélange éluant eau pH 2,5 - méthanol 60:40.

Iso 25 % : élution isocratique, eau pH 2,5 - méthanol 75:25.

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

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

1. A. MUSTAFA : "Fuopyrans and Fuopyrones" (J. Willey Ed.), Interscience, New york (1967), pp. 14-90.
2. T.B. FITZPATRICK, M.A. PATHAK, J. Invest. Dermatol. (1965), 32, 225-238.
3. H. KUSKE, Arch. Dermatol. Suppl. (1938), 178, 112-123.
4. A.M. EL MOFTY, J. Roy. Egyptian M.A. (1948), 31, 651 ; ibid (1952), 35, 1 ; Brit. J. Dermatol. (1952), 64, 431.
5. L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, Experientia (1962), 18, 153-161.
6. J.A. PARRISH, T.B. FITZPATRICK, L. TANENBAUM, M.A. PATHAK, New Engl. J. Medicin (1974), 291, 1207-1222.
7. F. ZAJDELA, E. BISAGNI, Carcinogenesis (1981), 2, 121-127.
8. M. CRAW, M.R. CHEDEKEL, T.G. TRUSCOTT, E.J. LAND, Photochem. Photobiol. (1984), 39, 155-159.
9. D.D. GRUBE, R.D. LEY, R.J. FRY, Photochem. Photobiol. (1977), 25, 269-276.
10. A. SARASIN, La Recherche (1982), 13, 920-923.
11. D.A. GREKIN, J.H. EPSTEIN, Photochem. Photobiol. (1981), 33, 957-960.
12. R.S. STERN, L.A. THIBODEAU, R.A. KLEINERMAN, J.A. PARRISH, T.B. FITZPATRICK, New Engl. J. Medicin (1979), 300, 809-813.
13. E.M. FARBER, L. NALL, "Psoriasis A Review of Recent Advances in Treatment", Drugs (1984), 28, 324-346.

14. J.E. HEARST, *Studia Biophysica* (1983), 94, 25-30.
15. A. PRAGER, M. GREEN E. BEN HUR, *Photochem. Photobiol.* (1983), 37, 525-528.
16. M. GRANGER, C. HELENE, *Photochem. Photobiol.* (1983), 38, 563-568.
17. O. SCHIAVON, R. SIMONIC, S. RONCHI, R. BEVIL'ACQUA, F.M. VERONESE, *Photochem. Photobiol.* (1984), 39, 25-30.
18. L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, *Photophysiology* (1972), 7, 115-147.
19. L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, "Research Progress in Organic, Biological and Medical Chemistry" (U. GALLO, L. SANTAMARIA, Ed.), North Holland Publ. Company, Amsterdam (1972), vol. 3, pp. 155-181.
20. L. MUSAJO, G. RODIGHIERO, D. DALL'ACQUA, *Experientia* (1965), 21, 22-24 ; *ibid* (1965), 21, 24-25.
21. F. DALL'ACQUA, M. TERBOJEVICH, S. MARCIANI, D. VEDALDI, M. RECHER, *Chem. Biol. Interactions* (1978), 21, 103-115.
22. P.S. SONG, K.J. TAPLEY Jr., *Photochem. Photobiol.* (1979), 29, 1177-1197.
23. K. STRAUB, D. KANNE, J.E. HEARST, H. RAPOPORT, *J. Am. Chem. Soc.* (1981), 103, 2347-2355.
24. B.S. HAHN, P.C. JOSHI, L.S. KAN, S.Y. WANG, *Photobiochem. Photobiophys.* (1981), 3, 113-124.
25. D. KANNE, K. STRAUB, J.E. HEARST, H. RAPOPORT, *J. Am. Chem Soc.*, (1982), 104, 6754-6764.
26. D. KANNE, K. STRAUB, H. RAPOPORT, J.E. HEARST, *Biochemistry* (1982), 21, 861-871.
27. S. PECKLER, B. GRAVES, D. KANNE, H. RAPOPORT, S.H. KIM, *J. Mol. Biol.* (1982), 162, 157-172.

28. P. VIGNY, F. GABORIAU, L. VOITURIEZ, J. CADET, *Biochimie* (1983), 67, 317-325.
29. J.E. HERST, S.T. ISAACS, D. KANNE, H. RAPOPORT, K. STRAUB, *Quarterly Review of Biophysics* (1984), 17, 1-44.
30. L. MUSAJO, F. BORDIN, G. CAPORALE, S. MARCIANI, G. RIGATTI, *Photochem. Photobiol.* (1967), 6, 711-719.
31. E.J. LAND, F.A.P. RUSHTON, R.L. BEDDOES, J.M. BRUCE, R.J. CERNICK, S.C. DAWSON, O.S. MILLS, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* (1982), 22-23.
32. S.C. SHIM, Y.Z. KIM, *Photochem. Photobiol.* (1983), 38, 265-271.
33. J. CADET, L. VOITURIEZ, J. ULRICH, P.C. JOSHI, S.Y. WANG, *Photobiochem. Photobiophys.* (1984), 8, 35-49.
34. J. CADET, L. VOITURIEZ, F. GABORIAU, P. VIGNY, S. DELLA NEGRA, *Photochem. Photobiol.* (1983), 37, 363-371.
35. a) J. BOLTE, C. DEMUYNCK, J. LHOMME, *J. Am. Chem. Soc.* (1976), 98, 613-615.
b) J. BOLTE, C. DEMUYNCK, J. LHOMME, *J. Med. Chem.* (1977), 20, 1607-1611.
c) J. BOLTE, C. DEMUYNCK, J. LHOMME, *Bull. Soc. Chim. Fr.* (1980), 316-320.
d) J. BOLTE, C. DEMUYNCK, J. LHOMME, M.C. FOURNIE-ZALUSKI, B.P. ROQUES, *Biochemistry* (1979), 18, 4928-4935.
36. J. BOLTE, C. DEMUYNCK, M.F. LHOMME, J. LHOMME, J. BARBET, B.P. ROQUES, *J. Am. Chem. Soc.* (1982), 104, 760-765.
37. J. FAHY, Thèse de 3ème Cycle, U.S.T. Lille (1982).
38. G. HUART, Thèse de 3ème cycle, U.S.T.Lille (1983).
39. J.L. DECOU, Thèse de Doctorat ès Sciences Physiques, U.S.T.Lille (1983).
40. J.L. DECOU, J. LHOMME, *Photobiochem. Photobiophys.* (1985), 10, 113-120.

41. J.L. DECOU, G. HUART, J. LHOMME, C. COURSEILLE, M. HOSPITAL, *Nouv. J. Chim.* (1984), 8, 433-435.
42. a) S. PASZYC, B. SKALSKI, G. WENSKA, *Tet. Lett.* (1976), 6, 449-450.
b) G. WENSKA, S. PASZYC, B. SKALSKI, *Bull. Acad. Polon. Sci. Sér. Sci. Chim.* (1976), 24, 517-526.
c) G. WENSKA, S. PASZYC, B. SKALSKI, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1983), 22, 623-624.
43. a) S.N. BOSE, R.J.H. DAVIES, S.K. SETHI, J.A. McLOSKEY, *Science* (1983), 220, 723-725.
b) S.M. BOSE, S. KUMAR, R.J.H. DAVIES, S.K. SETHI, J.A. McLOSKEY, *Nucleic Acids Res.* (1984), 12, 7929-7947.
c) S.M. BOSE, R.J.H. DAVIES, *Nucleic Acids Res.* (1984), 12, 7903-7914.
44. J. CADET, L. VOITURIEZ, F. GABORIAU, P. VIGNY, (communication) 13th Annual Meeting of the Am. Soc. for Photobiology, *Photochem. Photobiol.* (1985), 11, 113s.
45. G.I. FEUTRILL, R.N. MIRRORINGTON, *Tetrahedron Lett.* (1970), 16, 1327-1328.
46. I.T. HARRISON, *Chem. Comm.* (1969), 616.
47. a) R. ROYER, J.P. BUISSON, P. DEMERSEMAN, J.P. LECHARTIER, *Bull. Soc. Chim. Fr.* (1969), 2792-2797.
b) L. RENE, J.P. BUISSON, R. ROYER, *Bull. Soc. Chim. Fr.* (1975), 2763-2766.
48. G. WILLIARD, C.B. FRYHLE, *Tetrahedron Lett.* (1980), 21, 3731-3734.
49. A. SCHONBERG, G. AZIZ, *J. Am. Chem. Soc.* (1955), 77, 2563-2564.
50. S.K. CHAKRABORTI, P.K. BOSE, *Trans. Bose Res. Inst. Calcutta* (1959), 23, 55-57.
51. N. ECKHARD, *Ger. Offen.* (1977), 2.724.207.
52. S.T. ISAACS, H. RAPOPORT, J.E. HEARST, *J. Label. Compound. Radiopharm.* (1982), 19, 345-356.

53. D.T. BROWNE, J. EISINGER, N.J. LEONARD, J. Am. Chem. Soc. (1968), 90, 7302-7323.
54. N.J. LEONARD, R.F. LAMBERT, J. Org. Chem. (1969), 34, 3240-3248.
55. Y. MAKI, K. KAMEYAMA, M. SUZUKI, M. SAKO, K. HIROTA, J. Chem. Res. (1984), 388-389.
56. M.P. SCHWEIZER, S.I. CHAN, G.K. HELMKAMP, P.O.P. TS'O, J. Am. Chem. Soc. (1964), 86, 106.
57. C. ANTONELLO, S.M. MAGNO, O. GIA, F. CARLASSARE, F. BACCICHETTI, F. BORDIN, IL FARMACO (1979), 34, 139-156.
58. G. RODIGHIERO, G. CAPORALE, IL FARMACO (1955), 10, 760.
59. J.L. DECOU, J. LHOMME, Tetrahedron Lett. (1981), 22, 1247-1250.
60. J.L. DECOU, J. LHOMME, Photochem. Photobiol. (1983), 37, 155-161.
61. P.O.P. Ts'o, N.S. KONDO, M.P. SCHWEIZER, D.P. HOLLIS, Biochemistry (1969), 8, 997-1029.
62. K.N. FANG, N.S. KONDO, P.S. MILLER, P.O.P. TS'O, J. Am. Chem. Soc. (1971), 93, 6647-6656.
63. J. BARBET, B.P. ROQUES, S. COMBRISSE, J.B. LE PECQ, Biochemistry (1976), 12, 2642-2650.
64. B. GAUGAIN, J. BARBET, R. OBERLIN, B.P. ROQUES, J.B. LE PECQ, Biochemistry (1978), 24, 5071-5078.
65. G. GIESSNER-PRETTRE, B. PULLMAN, Biochem. Biophys. Research Comm. (1976), 70, 578-581.
66. C.H. CRAUCH, D.M. KRAMER, A. WACKER, Photochem. Photobiol. (1967), 6, 341-354.
67. C.N. OU, P.S. SONG, Biochemistry (1978), 17, 1054-1059.

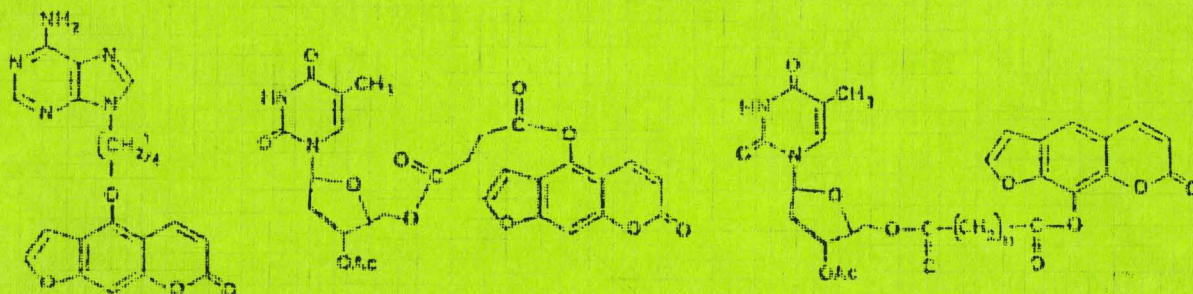
68. P. VIGNY, M. SPIRO, F. GABORIAU, Y. LEBEYEC, S. DELLA NEGRA, J. CADET, L. VOITURIEZ, *Intl. J. Mass Spectrom. Ion. Phys.* (1983), 53, 69-83.
69. J. CADET, L. VOITURIEZ, F. GABORIAU, P. VIGNY, *Photochem. Photobiol.* (1984), 39, 78s.
70. S.C. SHIM, H.K. SHIM, T.H. CHO, *Chem. Letters* (1986), 19-22.
71. S. HANESSIAN, P. LAVALLEE, *Can. J. Chem.* (1975), 53, 2975-2977.
72. A.M. MICHELSON, A.R. TODD, *J. Chem. Soc.* (1953), 951-956.
73. J.P. HORWITZ, J.A. URBANSKI, J. CHUA, *J. Org. Chem.* (1962), 27, 3300-3302.
74. H. SCHALLER, G. KEIMANN, B. LERCH, H.G. KHORANA, *J. Am. Chem. Soc.* (1963), 85, 3821.
75. W.A. DENNY, W. LEUPIN, D.R. KEARNS, *Helv. Chim. Acta* (1982), 65, 2372-2393.
76. G.C. CROCKETT, *Aldrichimica Acta* (1983), 16, 47-55.
77. F. KAPPLER, A. HAMPTON, *J. Carbohyd. "Nucleosides-Nucleotides"* (1975), 2, 109-119.
78. M.P. MERTES, E.A. COATS, *J. Medicin. Chem.* (1969), 12, 154-157.
79. D.S. JONES, J.R. TITTENSOR, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* (1969), 1240.
80. B.L. GAFFNEY, L.A. MARKY, R. JONES, *Tetrahedron* (1984), 40, 3-13.
81. B. NEISES, W. STEGLICH, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1978), 17, 522-524.
82. E.P. BODEN, G.E. KECK, *J. Org. Chem.* (1985), 50, 2394-2395.
83. a) B. CASTRO, J.R. DORMOY, G. EVIN, C. SELVE, *Tetrahedron Lett.* (1975), 1219-1222.
b) B. CASTRO, G. EVIN, C. SELVE, R. SEYER, *Synthesis* (1977), 413.

84. E. SCHAUMANN, R. KETCHAM, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* (1982), 21, 225-247.
85. M. CRAW, R.V. BENSASSON, J.C. RONFARD-HARET, M.T. SAEMELO, T.G. TRUSCOTT, *Photochem. Photobiol.* (1983), 37, 611-615.
86. J.H. VAN BOOM, P.M.J. BURGERS, *Tetrahedron Lett.* (1976), 4875-4878.
87. J.A. HAINES, C.B. REESE, L. TODD, *J. Chem. Soc.* (1964), 1406-1412.
88. F. DALL'ACQUA, S. CAFFIERI, D. VEDALDI, A. GUIOTTO, G. RODIGHIERO, *Photochem. Photobiol.* (1981), 33, 261-264.
89. F. DALL'ACQUA, S. CAFFIERI, D. VEDALDI, A. GUIOTTO, G. RODIGHIERO, *Photochem. Photobiol.* (1983), 37, 373-379.

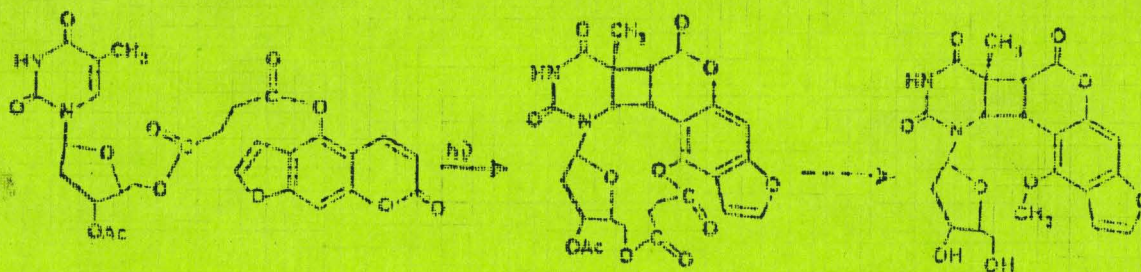


Les psoralènes sont des composés utilisés en photochimiothérapie de diverses dermatoses (vitiligo, psoriasis...). Leur mode d'action principal implique une intercalation au sein du DNA, suivie d'une photoaddition sur les bases pyrimidiques.

Dans ce travail, nous avons étudié par une approche intramoléculaire les interactions et la photo-réactivité de dérivés des méthoxy-5 et -9 psoralènes avec l'adénine et la thymidine.



Nous avons mis en évidence une photocyclisation hautement sélective qui peut être exploitée pour préparer en quantité importante une thymidine modifiée par le méthoxy-5 psoralène.



MOTS-CLES : PSORALENE, THYMIDINE, ADENINE, INTERCALATION, INTERACTION MOLECULAIRE, PHOTOBIOLOGIE, PHOTOCHEMIE.