

N° d'ordre : 116

50376
1987
147

50376
1987
147

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

Anne BOUXIN - LETERME

" MODIFICATION DE LA GUANOSINE PAR LES AMINES AROMATIQUES CANCEROGENES :
ETUDES SUR DES SYSTEMES MODELES "

Soutenu le 9 Juin 1987 devant la commission d'examen

Membres du Jury : MM. J. MELLOR, Président et Rapporteur
M. HUBERT-HABART, Rapporteur
Mme M.F. LHOMME, Examineur
MM. J. LHOMME, Examineur
B. RIGO, Examineur

A TOUTE MA FAMILLE,

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

Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour les enseignements et les conseils qu'il m'a dispensés et pour l'aide qu'il m'a apportée dans la réalisation de ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à Madame M. F. LHOMME pour l'aide qu'elle m'a apportée et pour m'avoir fait profiter de ses connaissances et de son expérience.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur J. MELLOR pour les discussions fructueuses que nous avons eues et lui suis très reconnaissante d'avoir accepté la présidence de mon Jury.

Je remercie également Monsieur M. HUBERT-HABART, Directeur de Recherche à l'INSERM à l'Institut Curie à PARIS, qui a bien voulu être rapporteur de cette thèse, et Monsieur le Professeur B. RIGO de HEI qui a accepté de faire partie de mon Jury.

J'exprime ma reconnaissance à Monsieur J.E. ANDERSON, Professeur à l'University College de LONDRES pour l'aide qu'il m'a apportée pour l'interprétation des spectres de RMN du proton.

Enfin, je tiens à remercier mes camarades de laboratoire et Madame R. DRUON pour la sympathie qu'ils m'ont toujours témoignée et pour leur aide durant ces trois années.

Je n'oublierai pas non plus ceux qui m'ont permis de mener à bien ce travail :

- Messieurs B. MOUCHEL et P. WATKIN du service de RMN.
- Monsieur G. RICART, responsable du spectromètre de masse
- Madame J. RICART qui a réalisé la dactylographie de ce
manuscrit
- Madame L. SAINLEGER qui en a réalisé l'impression.

S O M M A I R E



<u>INTRODUCTION</u>	1
I. GENERALITES.....	1
II. LES AMINES ET AMIDES AROMATIQUES.....	4
III. OBJECTIFS DE NOTRE TRAVAIL.....	23
<u>PARTIE THEORIQUE</u>	28
I. SYNTHESE.....	28
A. SERIE INDOLE.....	31
1/ Couplage avec le (N-hydroxy N-acétyl)amino-4 toluène <u>7</u>	37
2/ Couplage avec le (N-hydroxy N-acétyl)amino-2 fluorène <u>2</u>	40
B. SERIE GUANOSINE.....	43
1/ Synthèse du précurseur guanosine <u>22</u>	45
2/ Couplage avec l'acide hydroxamique <u>7</u>	47
3/ Couplage avec l'acide hydroxamique <u>2</u>	48
4/ Extension à l'amino-4 biphényle.....	50
II. REACTIVITE.....	53
A. RESULTATS EXPERIMENTAUX.....	53
1/ Etude du composé de couplage indole-toluène <u>11</u>	54
2/ Etude du composé de couplage indole-fluorène <u>16</u>	60
3/ Etude du composé de couplage guanosine-toluène <u>17</u>	61
4/ Etude du composé de couplage guanosine-fluorène <u>18</u>	63

B. DISCUSSION.....	77
1/ Bilan de notre travail.....	77
2/ Rappels bibliographiques.....	80
3/ Discussion de ces résultats.....	82

<u>CONCLUSION</u>	87
-------------------------	----

ANNEXES

ANNEXE I : Spectrométrie de masse.....	89
ANNEXE II : RMN du proton.....	99

<u>PARTIE EXPERIMENTALE</u>	109
-----------------------------------	-----

<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	135
----------------------------	-----

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

- o - o - o - o - o -

CANCEROGENESE CHIMIQUE

I. GENERALITES :

Les études épidémiologiques établissent que 80 % des cancers humains sont liés à des facteurs de notre environnement (pollution, certaines habitudes sociales et alimentaires).

Les facteurs principaux sont des substances chimiques de synthèse (hydrocarbures aromatiques, arylamines, N-nitrosoamines...) ou naturelles (aflatoxines).

Les facteurs secondaires sont d'origine physique : radiations ionisantes et rayons ultraviolets (cancer de la peau)...

Les cancérogènes chimiques peuvent agir :

- Soit directement : ce sont les agents alkylants, halogénures d'alkyle, moutardes azotées, certains époxydes, les N-nitrosoguanidines etc...; leur activité est liée à leurs propriétés électrophiles.

- Soit indirectement : c'est le cas de la majorité des cancérogènes. Ils sont à l'origine inactifs, et deviennent après transformation enzymatique (1) des produits très réactifs (cancérogènes ultimes). Ce sont les hydrocarbures polycycliques, les nitrosoamines, les aflatoxines, les amines aromatiques et les dérivés nitrés.....

De multiples travaux ont montré que les systèmes enzymatiques de la cellule sont responsables de l'activation métabolique des cancérogènes chimiques (2). Lorsque ces substances sont activées en cancérogènes ultimes, elles deviennent alors très actives et réagissent avec les macromolécules cellulaires et plus particulièrement avec le DNA (schéma 1).

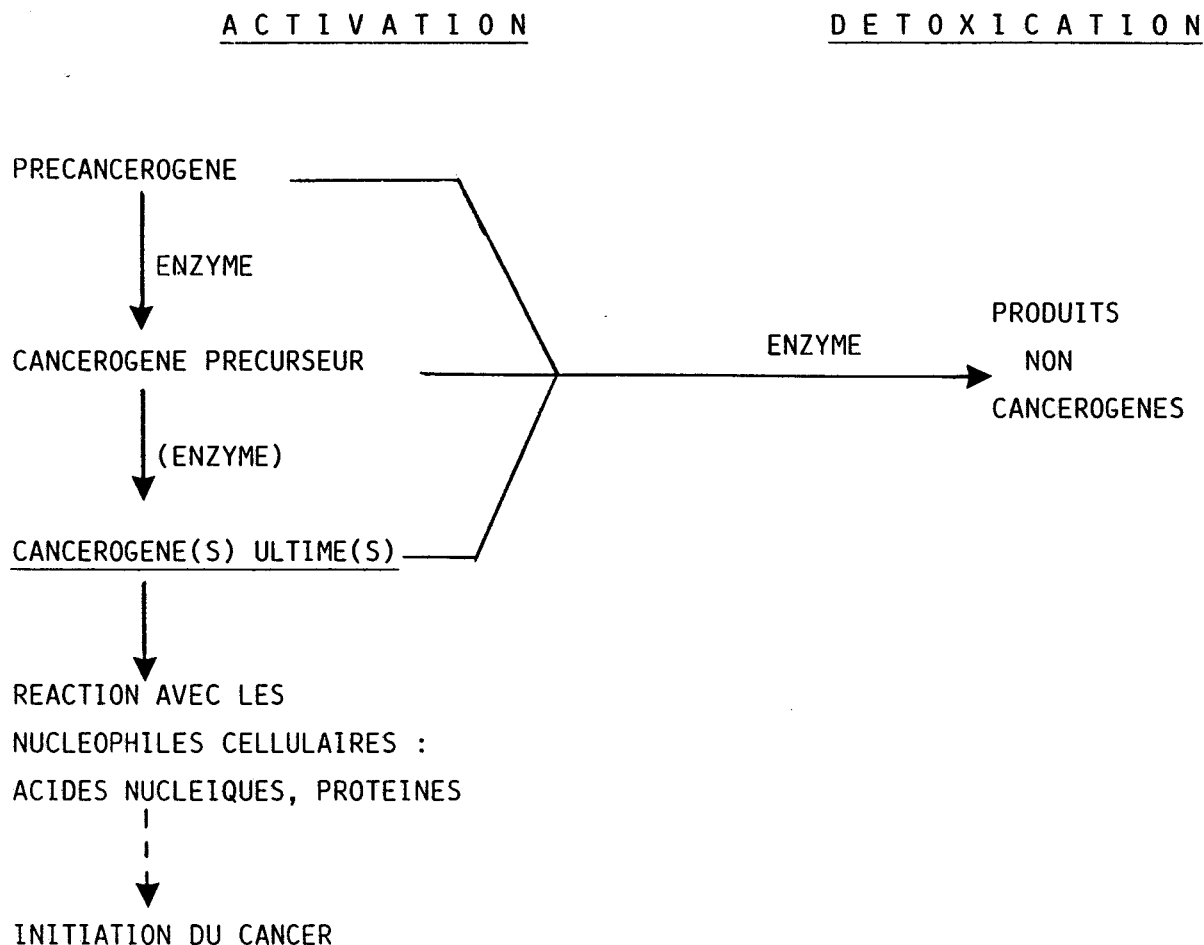
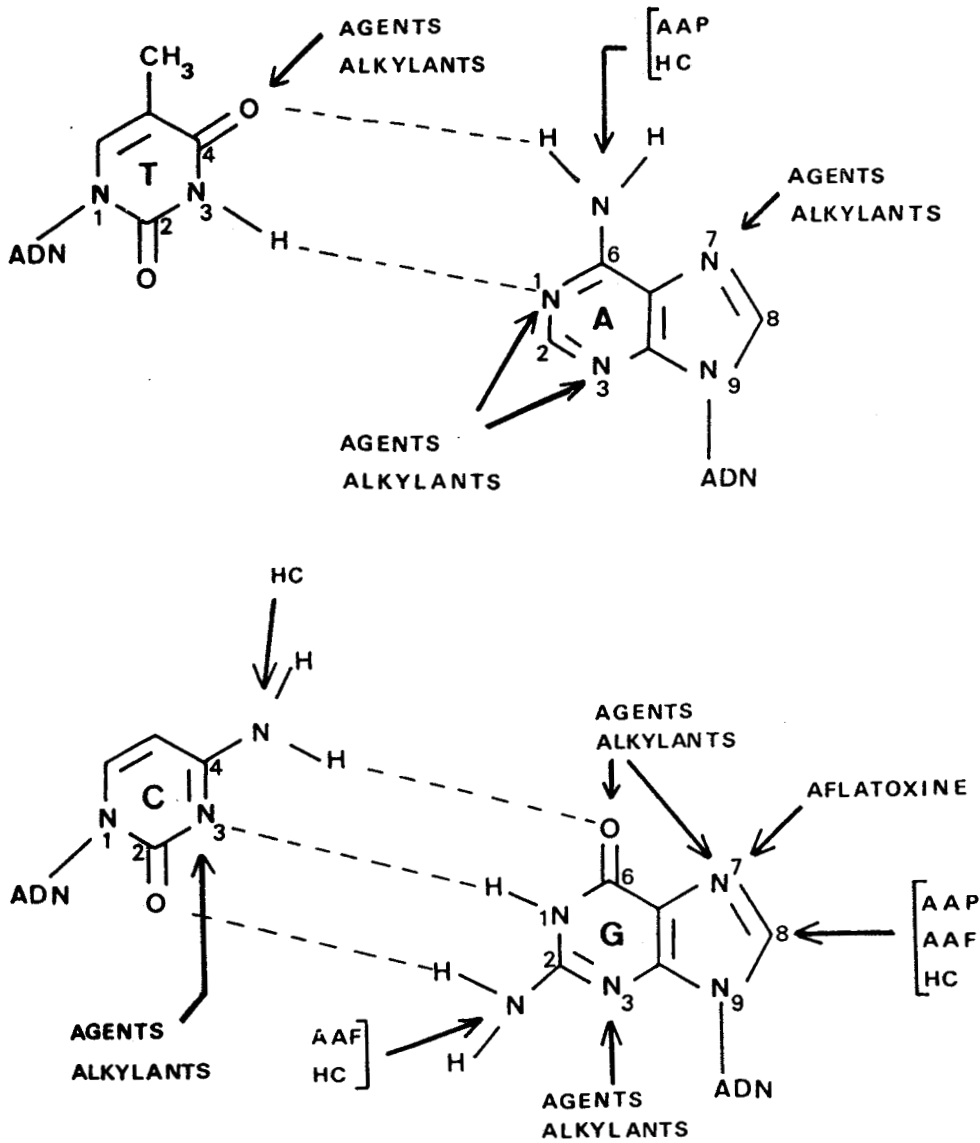


Schéma 1 : Métabolisme des substances cancérogènes.

Comme nous venons de le voir il existe une très grande diversité de molécules cancérogènes et il semblait difficile d'imaginer une relation entre leur structure et leur activité. Mais en 1970, J. MILLER (1) introduit un nouveau concept qui peut s'appliquer à tous les cancérogènes ultimes : "Ces composés sont des électrophiles capables de réagir et de former des liaisons covalentes avec les sites nucléophiles du DNA".

Cette réaction est peu sélective, elle dépend du cancérogène et de la base nucléique (schéma 2).



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



Schéma 2 : Principaux sites de réaction des cancérogènes sur les bases nucléiques.

Nous nous intéressons plus particulièrement aux amines et amides aromatiques, une des grandes classes de cancérogènes chimiques.

II. LES AMINES ET AMIDES AROMATIQUES :

1/ ACTIVATION METABOLIQUE DES AMINES AROMATIQUES :

Certains produits de cette famille sont connus comme étant cancérogènes ; parmi ceux-ci on peut citer : l'amino-2 fluorène (AF), l'amino-2 naphthalène (AN), la benzidine (Bz), l'amino-4 biphényle (ABP), l'amino-4 stilbène (AS), l'amino-2 phénanthrène (AP) et le N-méthylamino-4 azobenzène (MAB) (3, 4).

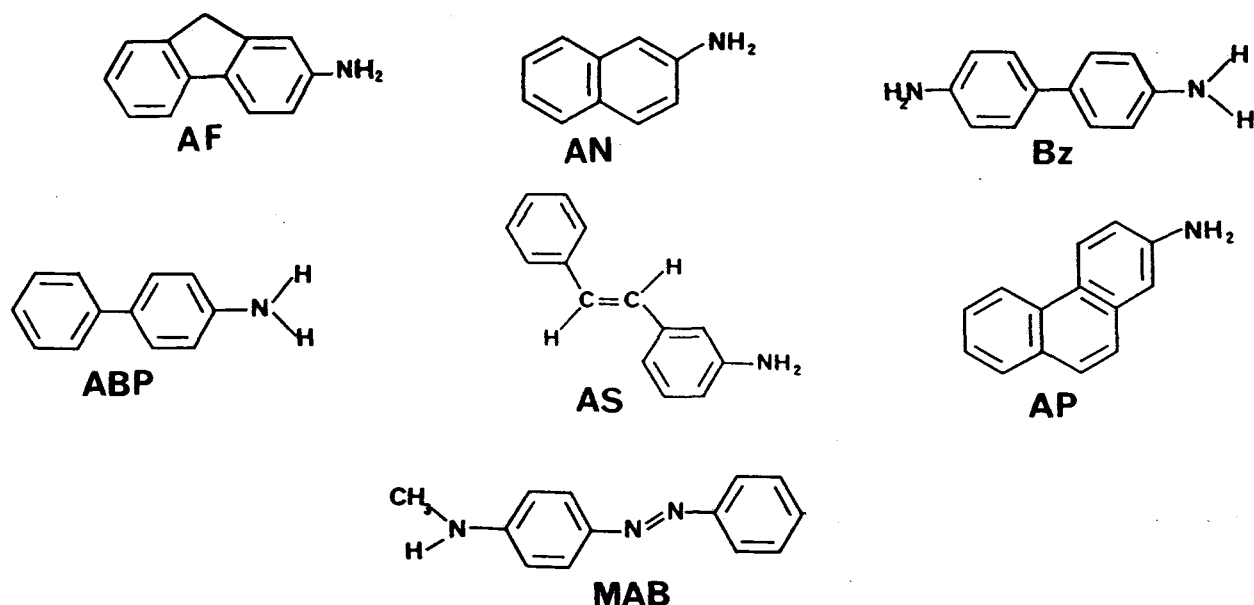
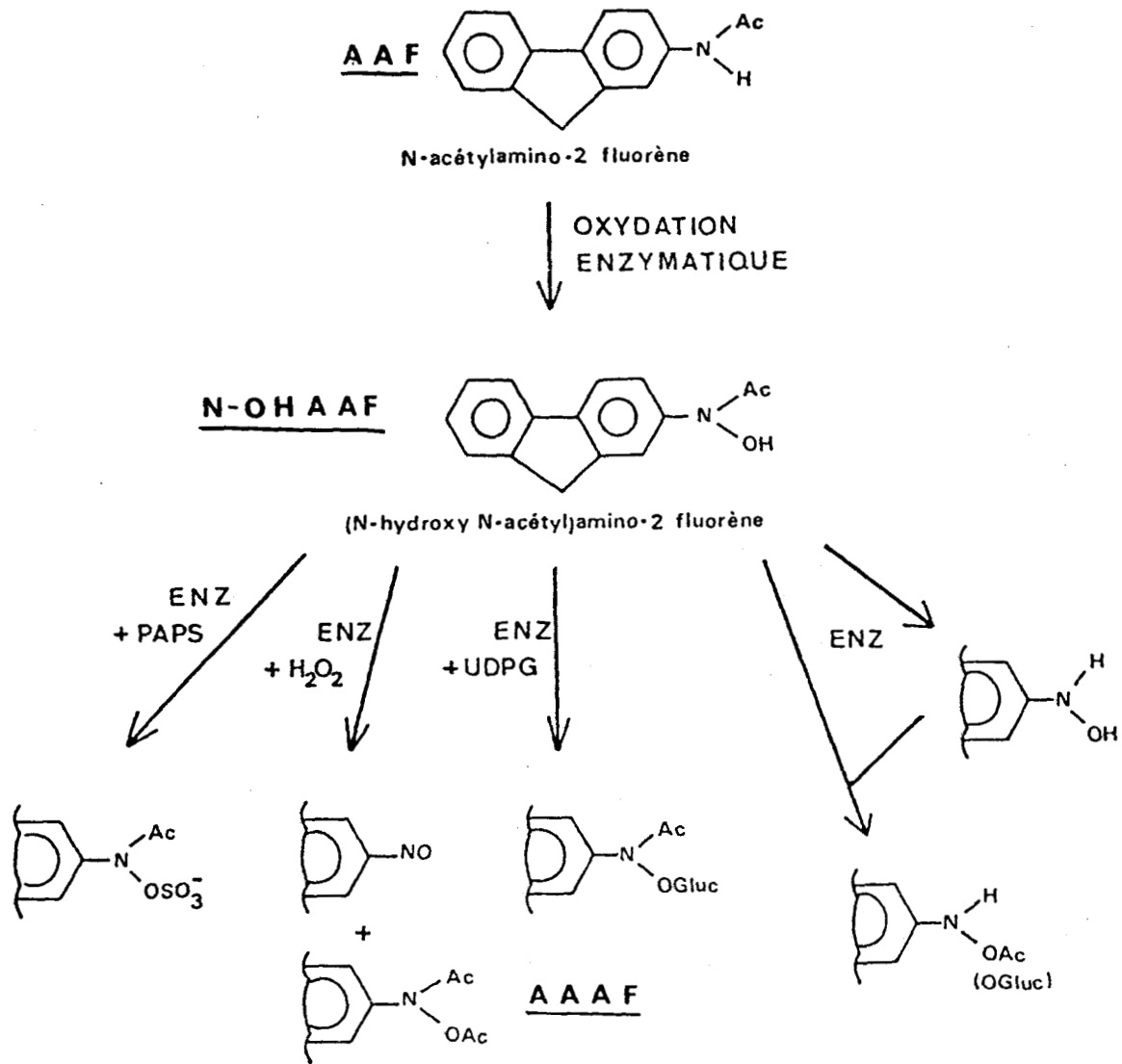


Schéma 3 : Exemples d'amines aromatiques cancérogènes.

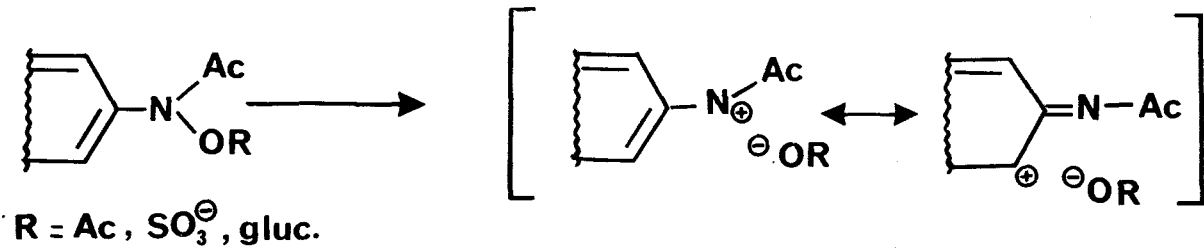
Toutes ces amines aromatiques requièrent une activation métabolique pour devenir des réactifs électrophiles capables de réagir avec les sites nucléophiles des bases nucléiques. Cette activation a été bien étudiée dans le cas du N-acétylamino-2 fluorène 1 (AAF ; hépato-cancérogène chez le rat) ; elle est représentée dans le schéma 4 (4).



UDPG : Uridine diphosphoglucose
PAPS : Acide 3' phosphoadénosine 5' phosphosulfurique.

Schéma 4 : Activation métabolique de l'acétylamino-2 fluorène (AAF).

La première étape du métabolisme est une acétylation des amines aromatiques puis une N-hydroxylation (5) conduisant aux acides hydroxamiques, composés cancérigènes. Par contre une C-hydroxylation (sur le noyau aromatique) est une voie de détoxication (6). Le cancérigène est ensuite estérifié sous forme de O-sulfate (7, 8), O-acétate ou O-glucuronate (4, 6, 9) qui sont les cancérigènes ultimes. Malgré leur réactivité différente, ces esters sont tous susceptibles de donner lieu à une rupture hétérolytique de la liaison N-O pour former un intermédiaire électrophile : l'ion "acylnitrénium" et sa forme mésomère l'ion "carbénium" (la charge est alors délocalisée sur le cycle aromatique).



Les métabolites ultimes sont donc des électrophiles qui interagissent par formation de liaison covalente avec le DNA.

L'action du cancérigène sur des cellules en culture ("in vivo") induit la fixation d'un résidu cancérigène pour 10^4 à 10^5 paires de bases. La détection de telles quantités est obtenue essentiellement en utilisant des cancérigènes marqués.

Par contre la mesure des modifications induites par le cancérigène ultime sur le DNA ("in vitro"), est faite par des techniques physicochimiques : UV, fluorescence, dichroïsme circulaire, température de fusion etc... Pour fixer un ordre de grandeur on estime qu'il y a fixation d'un résidu cancérigène pour 10^3 nucléosides (cas du (N-benzoyloxy N-méthyl)amino-4 azobenzène).

L'identification et la détermination du taux relatif de chaque produit de fixation "in vivo" ou "in vitro" sont réalisées par hydrolyses, enzymatiques ou chimiques, du DNA modifié, suivie d'une analyse par chromatographie liquide haute performance (CLHP), celle-ci peut être accompagnée de l'emploi d'isotopes radioactifs.

Nous allons décrire les différents produits de fixation du N-acétylamino-2 fluorène 1 (AAF) et de ses métabolites sur le DNA.

2/ REACTIONS DE L'AAF 1 :

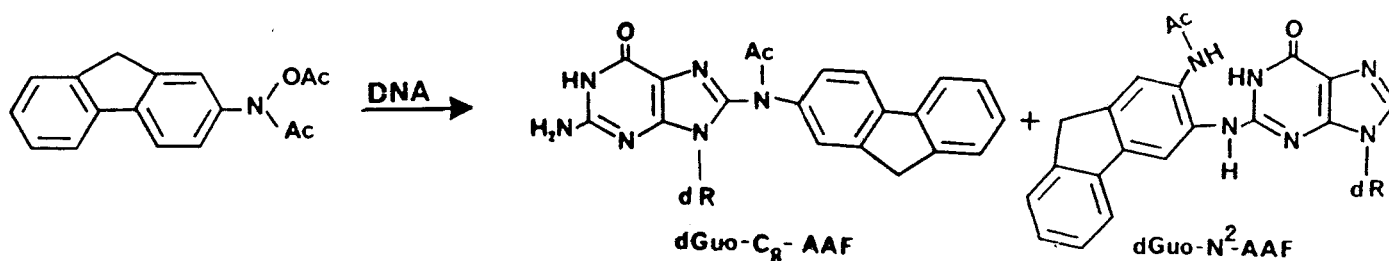
a. Réactions "in vitro" :

Avec le DNA :

La réaction avec le DNA natif donne deux produits majoritaires, uniquement sur la guanosine ; ceux-ci ont pu être isolés et identifiés ; ce sont :

- le N-(désoxyguanosine-8-yl) AAF : 80 % (3, 10) (dGuo-C₈-AAF)
- le (désoxyguanosine-N²-yl)-3AAF : 20 % (dGuo-N²-AAF) qui fut identifié par E. KRIEK et Coll. (11).

(Les rendements indiqués correspondent aux % relatifs des 2 produits isolés ; le rendement total de la réaction n'est pas mentionné par les auteurs).



Il faut noter que la réaction du cancérogène ultime sur le DNA dénaturé ("mono-brin"), ne produit qu'un seul dérivé de fixation, c'est le dGuo-C₈-AAF (3, 10).

Avec les nucléosides :

On trouve un produit de fixation sur la guanosine : celui-ci a pu être isolé après réaction de 4 équivalents de AAF 4 sur 1 équivalent de guanosine (11) ; il a été caractérisé : c'est le Gua-C₈-AAF. Mais le rendement de cette réaction est de 5,7 % par rapport à la guanosine et de 1,3 % par rapport au cancérogène ultime.

En utilisant des produits marqués, J. SCRIBNER et N. NAIMY (12) observent que l'AAF 4 réagit sur la guanosine mais également sur l'adénosine. Le produit de fixation sur l'adénosine n'a pas été identifié, mais il se forme dans le rapport de un pour 40 dGuo-C₈-AAF formés.

Il semble que la formation du produit dGuo-N²-AAF soit liée à un phénomène de conformation du DNA puisqu'on ne l'observe qu'avec le DNA natif.

b. Réactions "in vivo" :

Après l'administration de l'AAF 1 chez le rat, quatre produits sont détectés (3, 10) par CLHP :

- dGuo-C₈-AAF : 15 % et dGuo-N²-AAF : 5 % déjà observés dans les réactions "in vitro".
- deux produits désacétylés : 80 % :
 - le dGuo-C₈-AF
 - un produit d'ouverture du cycle imidazole de la guanine : le rodGuo-C₈-AF (10 % du dGuo-C₈-AF).

Comme dans le cas de la réaction "in vitro" (p. 7) les pourcentages indiqués ici sont des rendements relatifs.

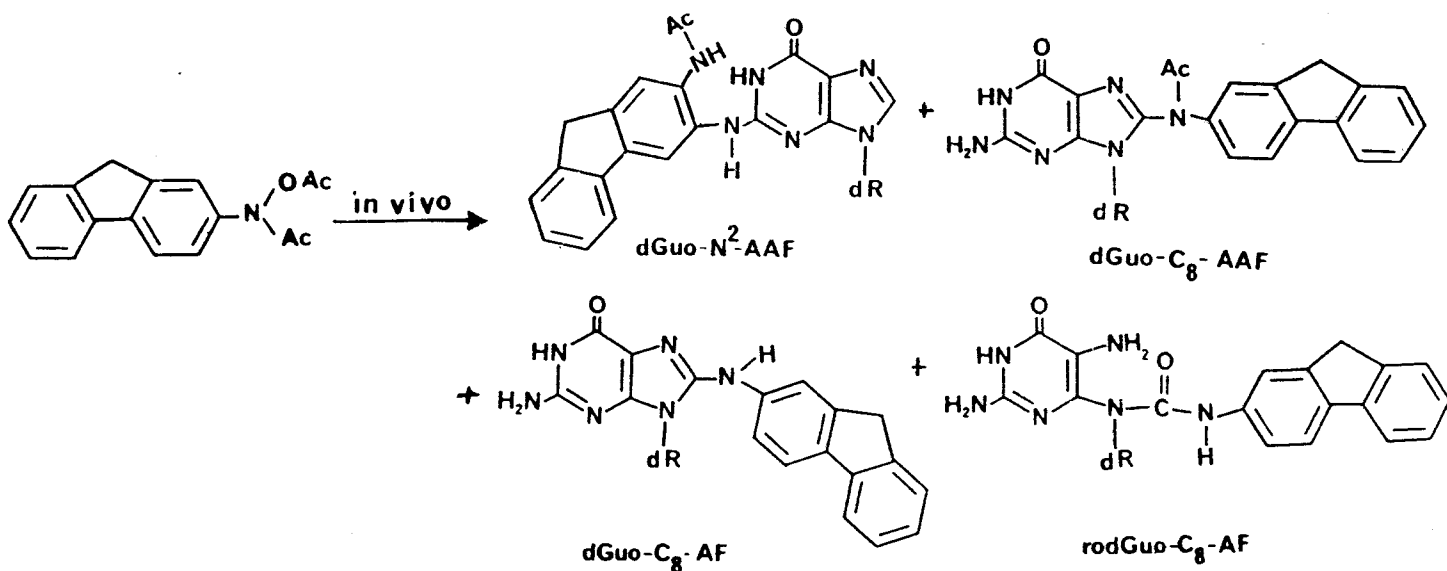


Schéma 6 : Produits de fixation de l'AAF 1 sur la désoxyguanosine obtenus "in vivo".

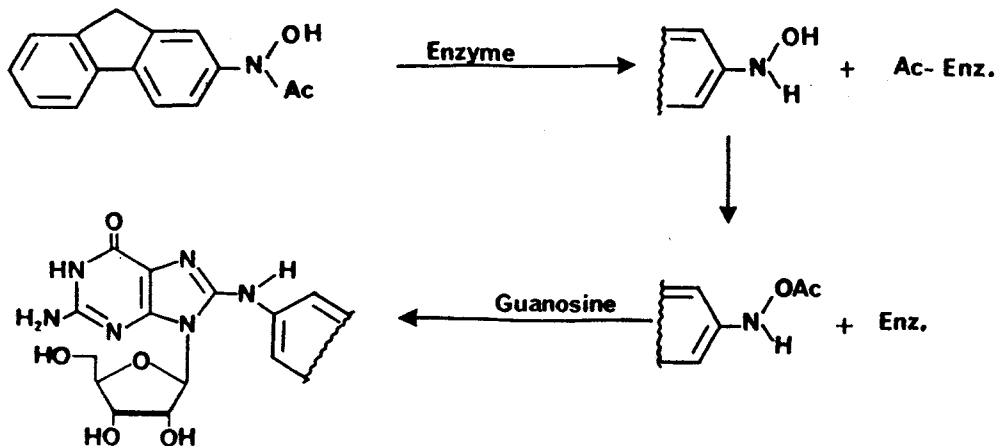
On remarque que parmi les produits obtenus "in vivo", deux sont nouveaux : le dGuo-C₈-AF et le rodGuo-C₈-AF.

Le N(désoxyguanosin-8-yl)AF : (dGuo-C₈-AF) :

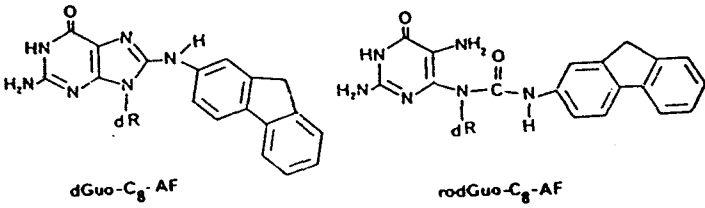
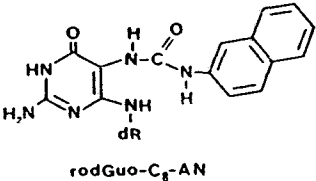
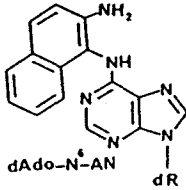
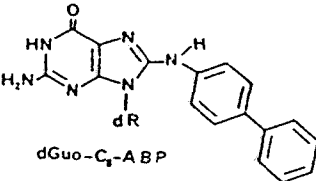
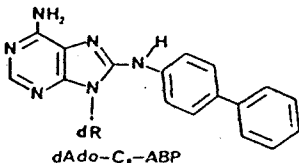
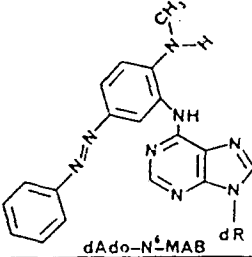
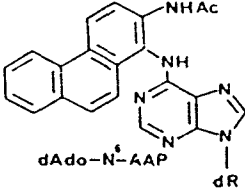
Il est majoritaire (80 %) ; il peut provenir :

- soit d'une réaction de désacétylation du composé dGuo-C₈-AAF
- soit de la réaction du N-acétoxyamino-2 fluorène sur le DNA.

Ce cancérrogène ultime provient de la réaction de la N,0-acyltransférase sur le N-OH-AAF 2 selon le mécanisme suivant (13) :





désoxyguanosine	Produits de fixation sur la désoxyadénosine et la cytosine
 <p>dGuo-C₈-AF rodGuo-C₈-AF</p>	<p>- un produit de fixation sur l'adénosine non identifié.</p>
 <p>rodGuo-C₈-AN</p>	 <p>dAdo-N⁶-AN</p>
 <p>dGuo-C₈-ABP</p>	 <p>dAdo-C₈-ABP</p>
	 <p>dAdo-N⁶-MAB</p>
	 <p>dAdo-N⁶-AAP</p>
	<p>- sur le N₁ de la désoxyadénosine - sur le N₁ de la cytosine</p>

"in vitro" on peut l'obtenir de deux manières (14) :

- par désacétylation alcaline du dérivé dGuo-C₈-AAF.
- par traitement du DNA avec le N-OH-AF 3 à pH = 5.

Les produits d'ouverture : rodGuo-C₈-AF ("ring open dGuo-C₈-AF") :

Une hydrolyse enzymatique ou alcaline du DNA modifié par l'AAF 1 décompose le dérivé dGuo-C₈-AF ; en milieu acide cette décomposition n'existe pas. E. KRIEK et J.G. WESTRA (15) montrèrent que le traitement alcalin de ce produit, conduit à 2 dérivés de la pyrimidine. Après analyses chimiques et spectrales les auteurs proposent pour ces deux produits une même structure de N-(désoxy-2 β-D-ribofurannosyl)-1 N-(diamino-2,5 one-4 pyrimidinyl)-6 N'-(fluorényl-2) urée (rodGuo-C₈-AF). Les deux composés sont des "stéréoisomères" ; cependant aucune précision n'est apportée sur cette "stéréoisométrie". Ces produits ont été isolés également à partir d'hydrolysats enzymatique du DNA ayant réagi avec le N-OH-AF 3 à pH = 5 suivi d'un traitement basique.

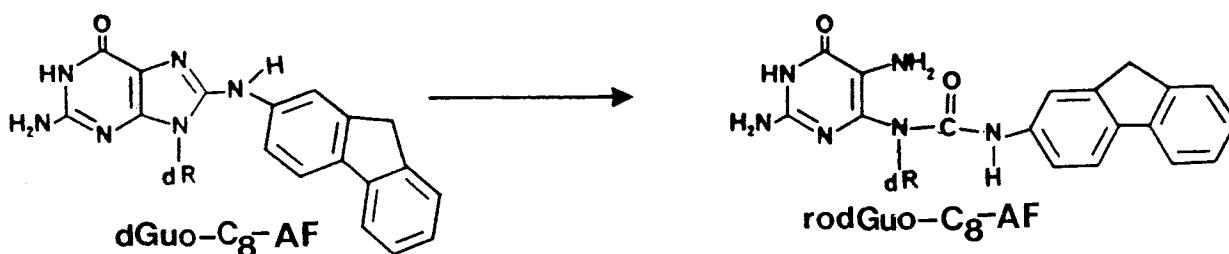


Schéma 7 : Structure des dérivés de la pyrimidine formés après traitement alcalin du composé dGuo-C₈-AF.

Par ailleurs M. LENG et Coll. (16) ont pu établir par des études immunologiques que ces "adduits ouverts" existent bien dans le DNA traité par le cancérogène. Des anticorps spécifiques du rodGuo-C₈-AF ont pu être préparés et utilisés pour titrer ces dérivés formés dans le DNA du foie du rat ayant subi l'action du N-OH-AAF 2. Ces "adduits" existent bien "in vivo" et représentent environ 10 % des produits de fixation sur le C₈ de la guanine.

c. Conclusion :

Comme nous venons de le voir, l'AAF 1 réagit préférentiellement avec les purines ; il en est de même pour les autres amines aromatiques cancérogènes dont les produits de fixation sur le DNA ont été isolés et identifiés. Ils sont répertoriés dans le tableau n° 1 (p. 10) (3, 4, 17).

3/ MODIFICATIONS DU DNA :

Nous venons de voir que les cancérogènes ultimes réagissent avec le DNA ; il en résulte la formation de liaisons covalentes entre cancérogènes et bases nucléiques. Ces liaisons introduisent d'importants changements dans la structure du DNA au niveau des sites de fixation.

On a pu montrer que l'orientation relative de la base par rapport au résidu sucre au niveau de la liaison glycosidique est un des aspects structuraux majeurs influençant la conformation des nucléosides et des polynucléotides : ainsi la présence de la fonction acétyle de l' amino-2 fluorène fixé sur la guanosine produit un changement de conformation : le produit dGuo-C₈-AF a la configuration anti qui est celle du nucléoside non modifié, alors que son homologue acétylé : dGuo-C₈-AAF existe sous la forme syn (18) (schéma 8).

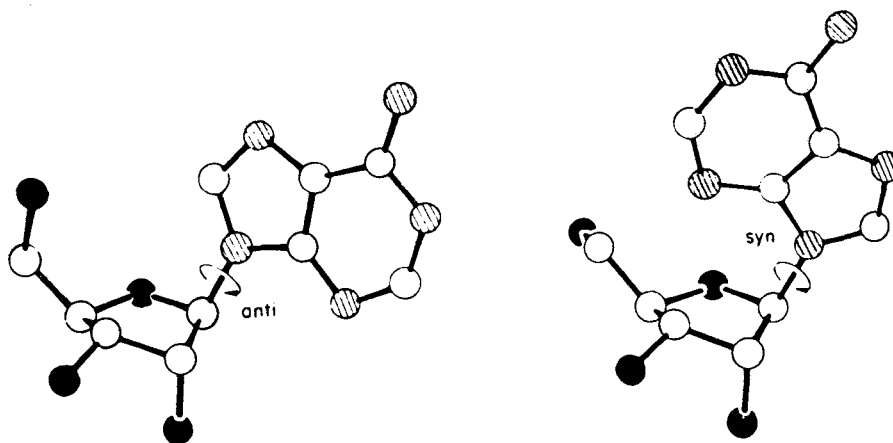
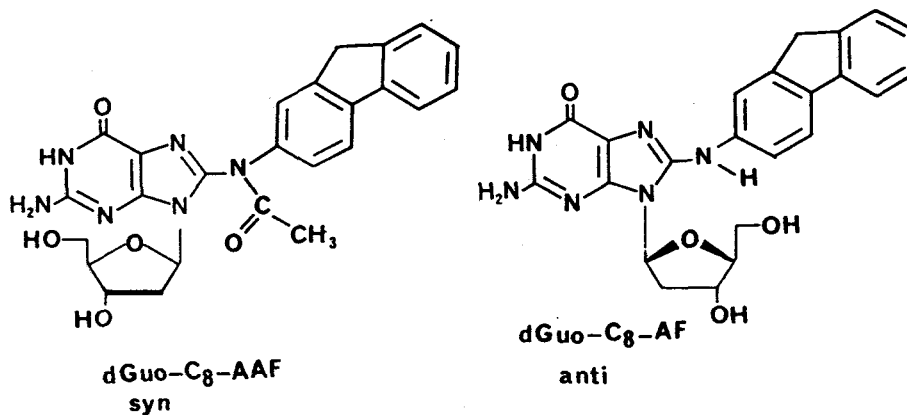


Schéma 8 : Illustration des conformations "anti" et "syn" autour de la liaison glycosidique.

Le changement de conformation anti-syn s'expliquerait par l'encombrement stérique existant entre le groupement acétylamino-2 fluorène et le désoxyribose, il provoque la rotation de la guanine autour de la liaison glycosidique (hypothèse de travail) :



Un autre aspect important du DNA modifié par l'AAF 1 est l'insertion du fluorène dans l'hélice du DNA à la place du résidu guanine rejeté vers l'extérieur. Ceci est représenté par les modèles "d'insertion-dénaturation" de R.P. FUCHS et M.P. DAUNE (19) (schéma 9) et de "déplacement de bases" de I.B. WEINSTEIN et Coll. (20). Il existe entre le noyau fluorène et les bases adjacentes du résidu guanine substitué des interactions d'empilement. Des études ont montré que le plan du fluorène forme un angle de 80° avec l'axe de l'hélice.

Par ailleurs la présence du résidu fluorène à la place du résidu guanine dans le DNA, empêche l'appariement avec un résidu cytosine du brin complémentaire et induit des erreurs au cours des processus de réplication ou de transcription (par exemple : absence de base en cette position).

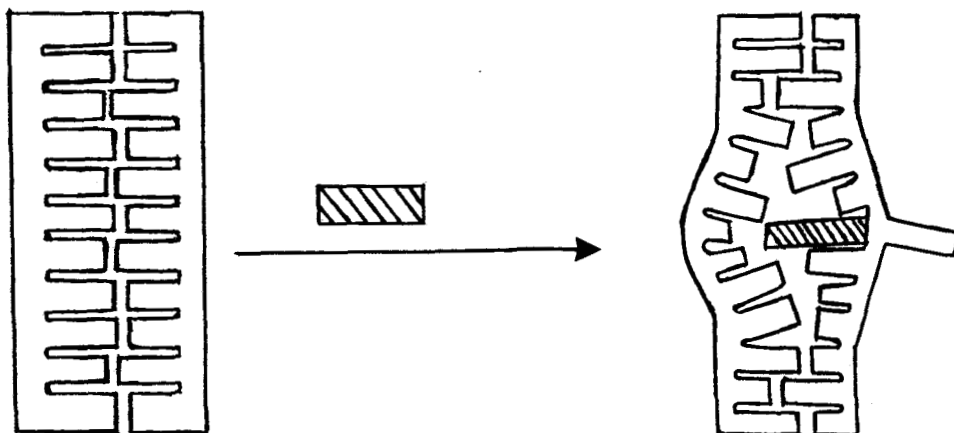


Schéma 9 : Modèle "d'insertion-dénaturation".

M. LENG et Coll. (21a) ainsi que R.M. SANTELLA et Coll. (21b) ont observé que la modification du poly(dG-dC)-poly(dG-dC) par l'AAAF 4 à un taux supérieur à 20 % conduit à la transition de la structure B vers la structure Z (inversion du spectre de dichroïsme circulaire).

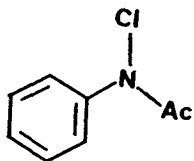
On conçoit aisément que de telles déformations du DNA par des cancérigènes conduisent à des dysfonctionnements au niveau cellulaire. On considère généralement que de telles modifications sont à l'origine de l'initiation du cancer.

4/ MECANISME DE FORMATION DES ADDUITS CANCEROGENE-BASE : IONS NITRENIUM :

Le mécanisme réactionnel conduisant à la création de liaison covalente peut impliquer le passage par une espèce "nitrénium" (22) : ce qui serait en accord avec l'hypothèse générale d'un intermédiaire électrophile. Mais les études permettant d'affirmer le passage par un "ion nitrénium" sont peu

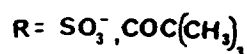
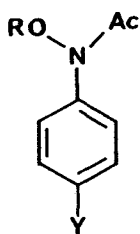
nombreuses. Cet intermédiaire est en fait mal connu, même au niveau de son mécanisme de formation .

Les premiers travaux ont été réalisés dans les années 1970 par P.G. GASSMAN (23a) qui a rédigé un article revue sur ce sujet. Il s'est intéressé notamment aux espèces "nitrénium", postulées dans la solvolysse de chloramines aromatiques :



Ce n'est qu'au cours des dernières années, avec le développement des études de cancérogénèse sur les amines et dérivés nitrés aromatiques, que quelques équipes ont étudié les mécanismes mis en jeu.

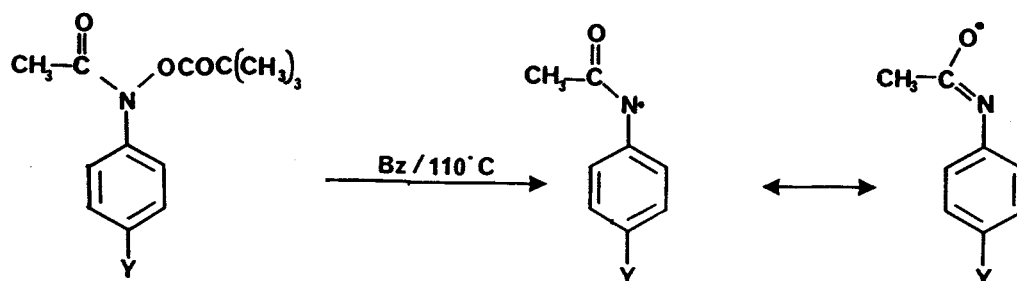
a. M. NOVAK et Coll. (24a) ont réalisé des études mécanistiques sur des molécules modèles simples comme les N-sulfonatoxy ou N-pivaloyloxy d'acétanilides para substituées.



Ils montrent par UV, RMN du proton et CLHP que la réactivité de tels composés dépend :

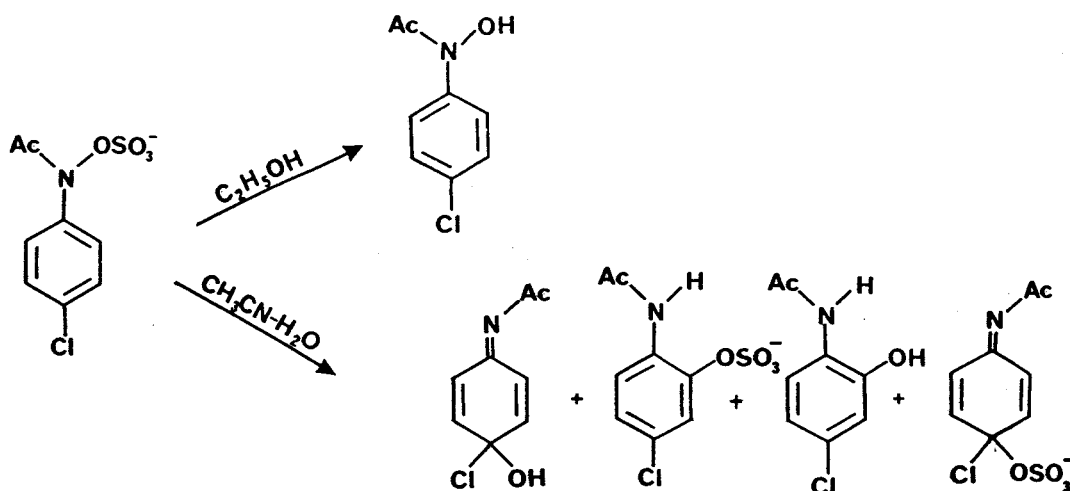
- du solvant utilisé (24b)
- du substituant Y porté par le noyau aromatique (24c)
- de la nature de l'ester, c'est-à-dire du groupe partant (24d, b).

* Dans le cas d'un ester d'acide carboxylique la réactivité est faible et il est nécessaire de chauffer pour observer une transformation. La réaction est de type radicalaire dans le benzène.



* Avec un ester sulfonique, la réaction est plus rapide et devient ionique. On peut citer l'exemple du N-sulfonoxy acétanilide pour lequel un changement de solvant entraîne une modification du comportement :

- dans l'éthanol, on observe une coupure de la liaison O-SO₃⁻
- dans l'acétonitrile-eau (tamponnée 1 < pH < 8) : 5-95 v/v, on a la rupture de la liaison N-OSO₃⁻ qui conduit à la formation d'un ion nitrénium.

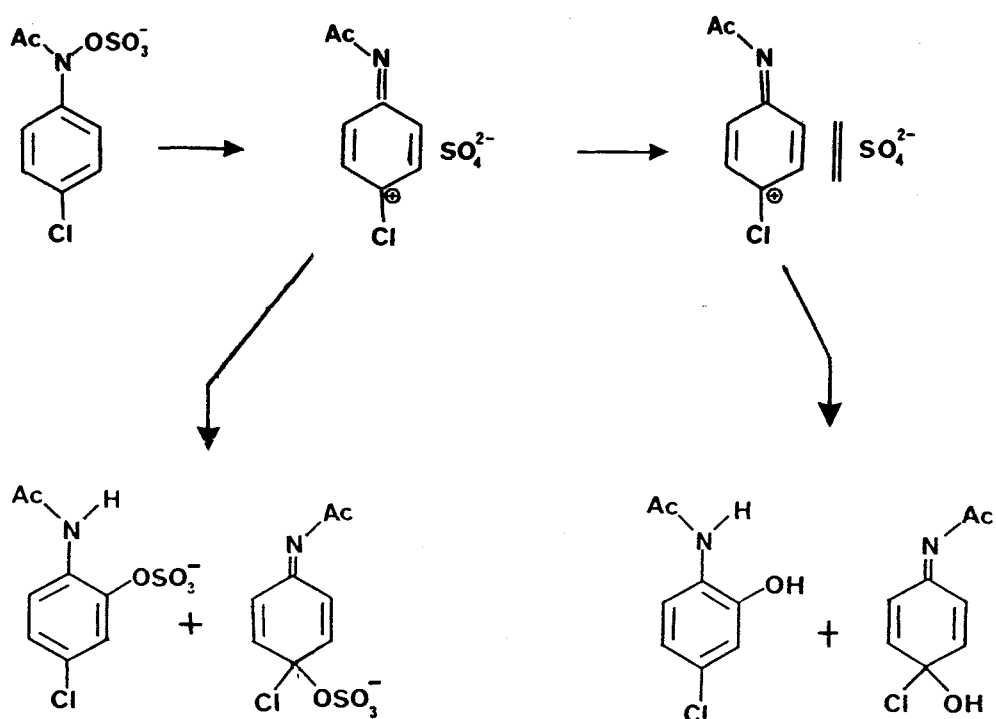


Dans ces conditions on obtient plusieurs produits :

- des produits provenant de la migration de l'ester en ortho ou para de la fonction acétamide.
- des produits de réaction avec le solvant, toujours sur les positions ortho ou para de la fonction acétamide formée.

Les auteurs (24e) expliquent l'obtention des différents composés par l'existence lors de la formation de l'espèce "nitrénium" d'une paire d'ions :

- Si cette paire d'ions est "intime", il se forme les produits de réarrangement par "retour interne" ; cette paire d'ions peut être stabilisée par le substituant porté par le noyau aromatique.
- Si cette paire d'ions est "séparée par le solvant", on favorise les réactions avec le solvant ou les nucléophiles présents dans le milieu.

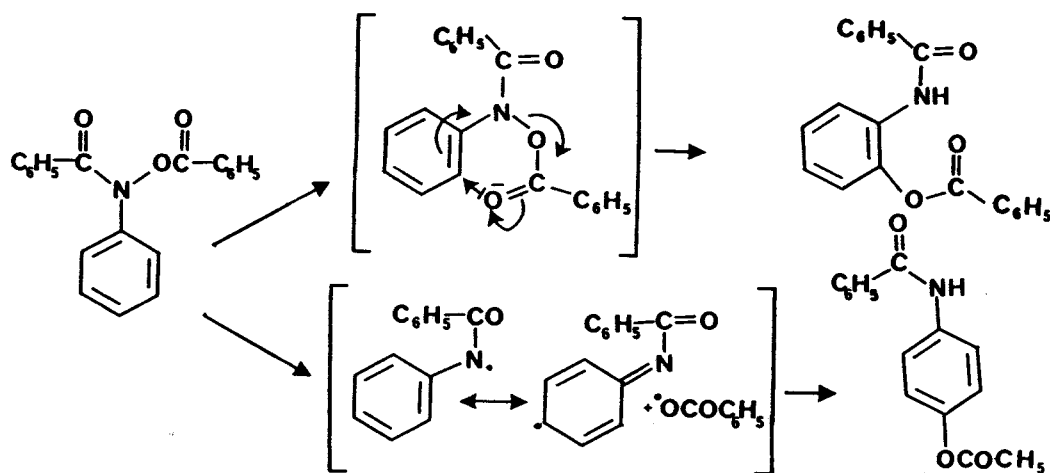


b. On peut également citer les travaux de L. HORNER et H. STEPPAN (25), B. RINDOME et G. GALLIANI (26) et de T. OKAMOTO et Coll. (27) sur les acétates ou benzoates d'acides hydroxamiques en série monocyclique.

L. HORNER (25) et B. RINDONE (26) ont étudié plus particulièrement leurs réactivités dans des solvants non nucléophiles. Ils obtiennent uniquement les produits de réarrangement de l'ester sur les positions ortho (ou para) du cycle.

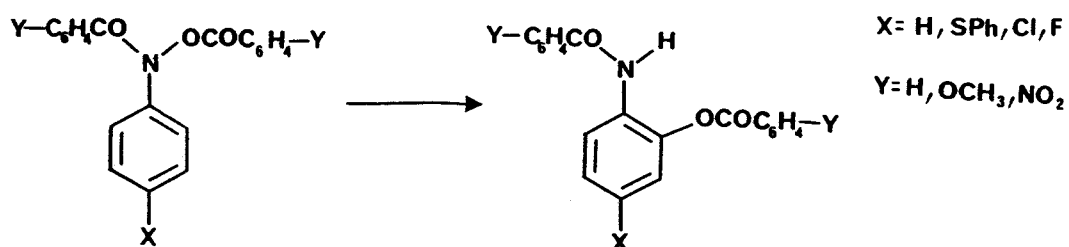
L. HORNER explique la formation de ces deux produits :

- soit par un mécanisme concerté pour rendre compte de la formation du produit réarrangé en ortho.
- soit par un mécanisme radicalaire pour expliquer l'obtention du produit en para.

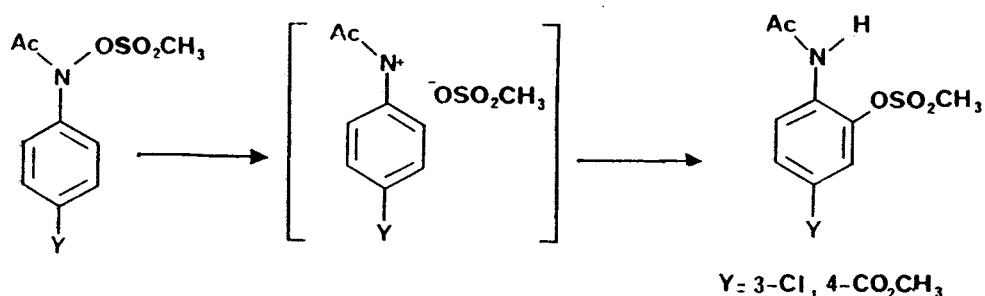


B. RINDONE propose également deux mécanismes pour expliquer la formation du produit de réarrangement en ortho par thermolyse dans le dioxane ou l'acétonitrile :

- un mécanisme radicalaire.
- un mécanisme passant par un intermédiaire nitrénium.

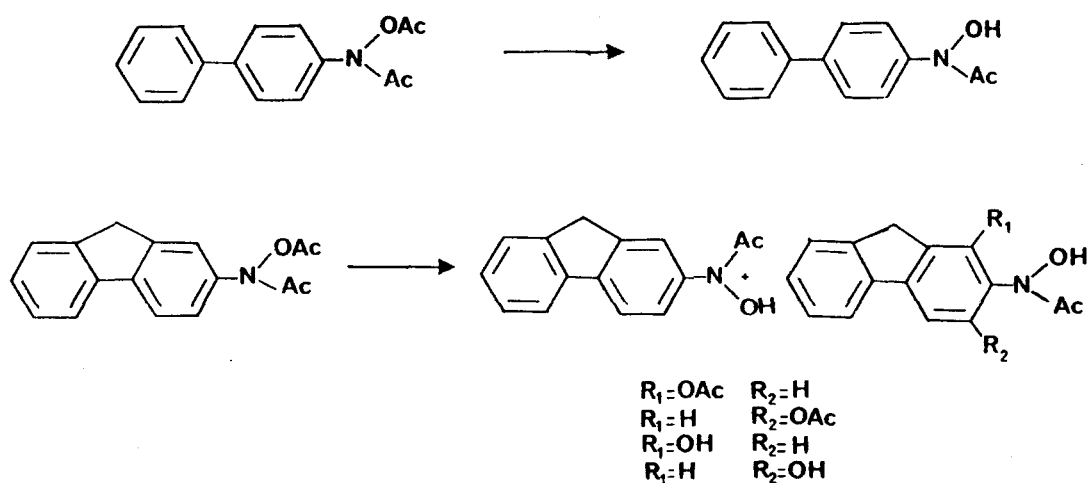


c. P.G. GASSMAN (23b) montre que le groupe partant influence la réactivité : par exemple avec l'ester méthanesulfonique du N-hydroxyacétanilide et quel que soit le solvant, il observe le passage par un ion nitrénium (il démontre par la relation de TAFT-HAMMETT que la rupture de la liaison N-O de l'ester est hétérolytique).



d. A côté de ces travaux sur des produits modèles en série monocyclique, des études solvolytiques sur les dérivés d'amines aromatiques cancérigènes ont été entreprises par G. UNDERWOOD et Coll. (28a) et plus particulièrement sur les acétates d'acides hydroxamiques dans le milieu acétone:eau (tampon pH = 4 à 10) 60-40 v/v à 40°C. Il note une influence importante du noyau aromatique sur la réactivité :

- Dans la série de l' amino-2 fluorène et de l' amino-1 naphthalène (28b) c'est la liaison N-O qui se coupe, on a à la fois formation de produits de réarrangement et de produits d'hydrolyse.
- Dans la série de l' amino-2 naphthalène , de l' amino-4 biphényle et de l' amino-4 toluène, seuls les produits d'hydrolyse sont isolés.



Ces auteurs montrent que : quelle que soit la nature de l'aromatique la réaction est de pseudo premier ordre (28a, b, c). La constante de vitesse de réaction k est alors :

$10^{-6}k \text{ (s}^{-1}\text{)}$	$88,5 \pm 2,7$	$19,0 \pm 0,94$	1,5	1,28
Ar	fluorenyl-2	naphthyl-1	naphthyl-2	tolyl-4

On observe la formation de produits de réarrangement pour les N-acétates d'amino-2 fluorène et d'amino-1 naphthalène, composés les plus réactifs. Mais dans tous les cas on observe aussi une réaction d'hydrolyse.

Notons que ces études mécanistiques se limitent à une approche solvolytique. La réactivité avec le nucléoside n'est pas abordée.

Rappelons que la réaction entre nucléoside et cancérigène ultime a été décrite, notamment par E. KRIEK et Coll. (11). Dans le meilleur des cas, à savoir la réaction entre l'AAAF 4 et la désoxyguanosine, le rendement en produit d'arylamidation (fixation du résidu acétylamino-2 fluorène en position C_8 de la guanine) ne dépasse pas 1,3 % (rendement calculé par rapport au cancérigène).

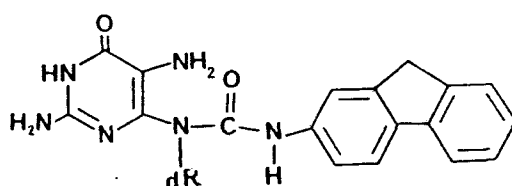
5/ CONCLUSION :

Sur les plans chimique et physicochimique, un certain nombre de problèmes restent posés.

a. Caractérisation de produits de réaction :

Structure :

Dans certains cas les adduits mis en évidence ont pu être caractérisés, aucune structure définitive ou aucune conformation n'a pu être attribuée : ainsi en est-il des 2 dérivés pyrimidiniques résultant de l'hydrolyse enzymatique du DNA modifié par l'AF.



rodGuo-C₈-AF

Conformation :

On a vu l'importance déterminante de la conformation d'un nucléoside modifié sur la conformation du DNA. Or très peu d'études ont pu être réalisées sur la conformation des nucléosides modifiés, ceci en raison notamment des faibles quantités de produits disponibles.

Stabilité des "adduits" :

Rien ne permet d'affirmer que le bilan des produits isolés après extraction, hydrolyse et traitement du DNA correspond au bilan réel. Les

auteurs ont par exemple constaté que certains "adduits" n'étaient pas modifiés par un traitement acide, alors qu'ils sont décomposés au cours d'hydrolyse enzymatique du DNA (15).

b. Mécanisme de fixation :

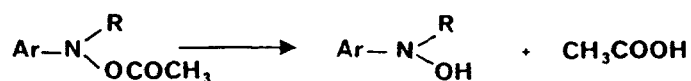
Comme nous l'avons vu, le mécanisme de fixation du cancérogène ultime sur les bases pyrimidiques reste encore peu connu.

III. OBJECTIFS DE NOTRE TRAVAIL :

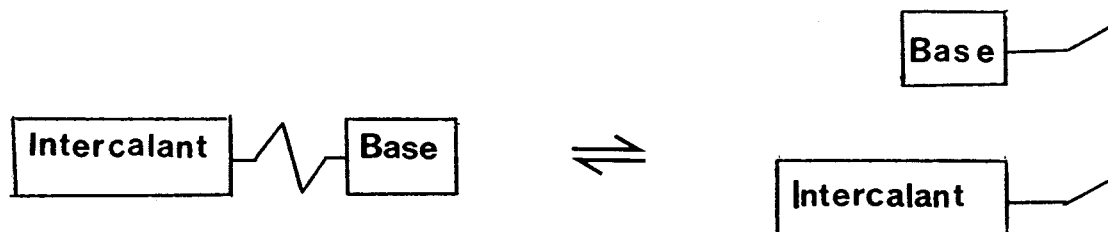
Nous nous sommes proposés :

- 1/ de mettre au point une méthode générale de préparation des "adduits" cancérogène-nucléoside, afin d'en disposer en quantité suffisante pour étudier leurs propriétés physico-chimiques (et leur insertion ultérieure dans un oligonucléotide).
- 2/ d'étudier les interactions et la réactivité des formes actives d'amines aromatiques avec les bases nucléiques.

La réaction intermoléculaire entre un nucléoside et la forme active du cancérogène se fait avec des rendements très faibles par rapport au cancérogène, la réaction majeure étant l'hydrolyse.

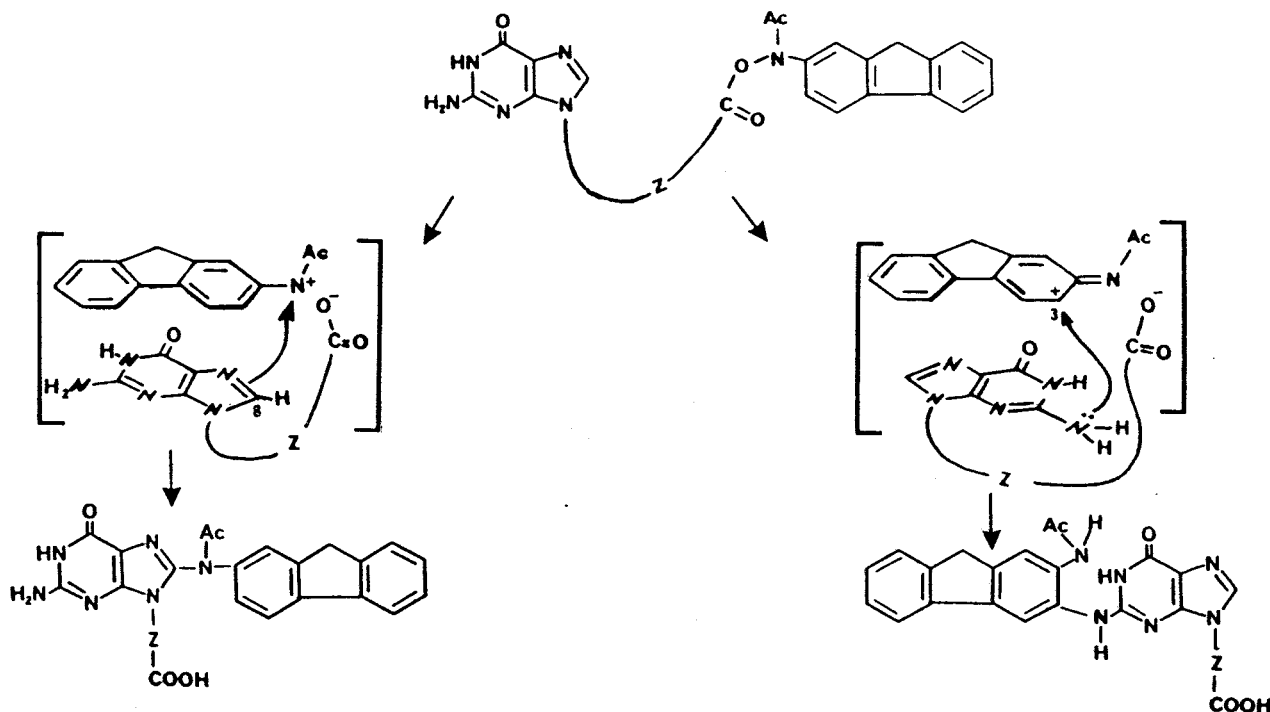


Nous avons envisagé une nouvelle approche de synthèse qui repose sur le fait que l'aminofluorène lors de son processus de fixation s'intercale et se complexe avec les bases nucléiques (cf. p. 14). Nous allons modéliser cet empilement en reliant le cancérigène à la base par une chaîne. Notre approche s'inspire des études faites dans le laboratoire sur les intercalations Intercalant-Base nucléotidique (29). Ces travaux ont montré que des molécules modèles de type Base-(CH₂)_n-Intercalant sont capables de se replier sous l'action d'interactions attractives intramoléculaires :

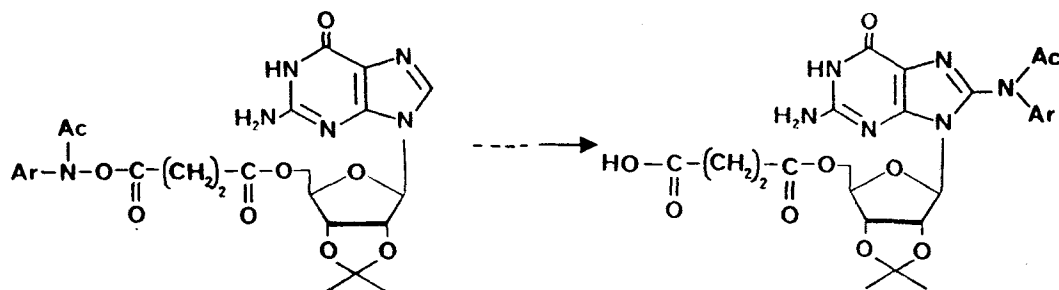


La chaîne reliant les deux molécules est choisie pour ne pas intervenir dans le processus d'interaction et sa longueur doit permettre l'empilement des noyaux. La nature de l'intercalant et du solvant intervient sur la force de l'interaction : celle-ci peut-être suffisante dans l'eau pour que le système existe essentiellement sous forme repliée.

Dans notre cas, par analogie avec la structure du métabolite ultime, le noyau fluorène sera sous forme d'ester d'acide hydroxamique aromatique lequel sera relié à la base nucléique par une chaîne Z. On peut ainsi espérer observer l'interaction cancérigène-base et surtout avoir une réaction qui devient dans ce système une réaction intramoléculaire, puisque l'on réalise une géométrie favorable à cette réaction (géométrie proche de celle existant dans le DNA quand le cancérigène est intercalé).



Si le bras Z qui relie la base au cancérogène inclut le sucre, c'est-à-dire si l'on utilise le nucléoside à la place de la base, on obtiendra un précurseur immédiat du produit de réaction nucléoside-cancérogène. Nous avons choisi de relier le sucre au fluorène par l'intermédiaire d'une chaîne dicarboxylique. Nous nous proposons donc de synthétiser la molécule :



On peut ainsi espérer avoir une vue quantitative de la réaction, avoir accès aux adduits cancérogènes-nucléosides, être en mesure de les étudier et éventuellement de mettre en évidence des produits de réaction non identifiés au niveau des acides nucléiques. Cette méthodologie serait applicable à toute amine aromatique.

Remarque :

Outre l'intérêt de disposer de quantités suffisantes de tels adduits pour étudier leurs propriétés physico-chimiques, il serait fort utile d'être en mesure d'en préparer des quantités telles que l'on puisse envisager leur insertion dans un oligonucléotide.

En effet, malgré le nombre toujours croissant de résultats précisant la formation et la structure d'adduits cancérogène-DNA aucune corrélation n'a pu être établie entre la structure d'un adduit, sa localisation dans un gène, et le risque de mutation qu'il présente pour la cellule. Les études sur les bases moléculaires de la mutagénèse ont été limitées jusqu'à présent par l'incapacité dans laquelle on se trouve à créer une lésion définie en un site particulier, à déterminer avec certitude la structure chimique de la lésion et à examiner dans le détail les conséquences sur le plan biochimique.

A l'approche qui consiste à modifier un DNA (ou un fragment de DNA) par un cancérigène -processus que l'on ne sait pas rendre sélectif- (actuellement, la synthèse d'un heptamère (5'-ATCCGTC-3') comportant un seul résidu guanine modifié en C₈ par l'aminofluorène a été réalisée par D.L. JOHNSON et Coll. (30)), on peut envisager l'approche inverse qui consiste à synthétiser de manière univoque le polymère incluant une base sélectivement modifiée par le cancérigène. La première étape implique la préparation d'un oligonucléotide contenant une base modifiée.

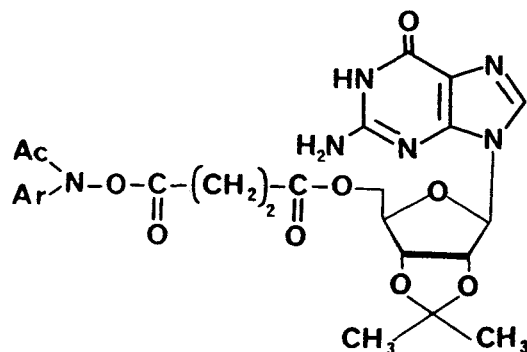
Le développement d'une telle approche nécessite de pouvoir disposer des nucléosides sélectivement modifiés par les cancérigènes et ceci, en quantités suffisantes (à l'échelle du gramme) pour que la synthèse présente véritablement un aspect préparatif.

En effet, si l'on envisage d'insérer avec quelques succès des nucléosides à tel point modifiés dans une séquence d'oligonucléotides, il est indispensable d'avoir des quantités suffisantes d'adduits tant pour l'étude préalable de leur comportement au cours des opérations de protection, d'activation et de déblocage de la synthèse d'oligonucléotides, que pour la mise au point de méthodes originales au cas où les voies usuelles deviendraient inapplicables.

PARTIE THEORIQUE

- o - o - o - o - o -

Notre objectif est de synthétiser les molécules de formule générale :



dans laquelle :

- 1/ Ar est le noyau d'une amine cancérigène comme le fluorène et le biphényle.
- 2/ Le nucléoside retenu dans un premier temps est la guanosine qui constitue la cible privilégiée des cancérigènes.
- 3/ La chaîne est constituée des 4 carbones de l'acide succinique.

Mais plusieurs problèmes se posent :

- Mettre au point des techniques de synthèse, sur des molécules faciles à manipuler.
- Eviter dans la phase exploratrice le travail, toujours délicat, avec des produits cancérigènes.
- Tester la validité du concept d'une réaction intramoléculaire.

Nous avons donc suivi la démarche suivante :

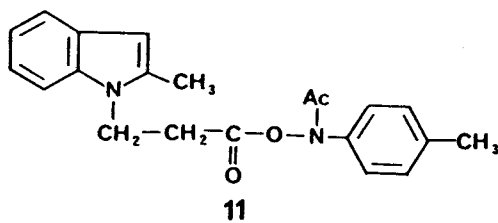
I. S Y N T H E S E :

A/ SERIE INDOLE :

Le méthyl-2 indole a été retenu comme hétérocycle modèle (au lieu de la guanosine) car sa réactivité est élevée vis-à-vis des électrophiles. Il est facile à manipuler et à fonctionnaliser.

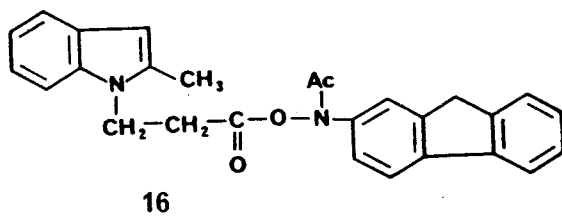
1/ COUPLAGE AVEC LE (N-HYDROXY N-ACETYL)AMINO-4 TOLUENE 7 :

Cet acide hydroxamique est utilisé car c'est l'un des systèmes les plus simples. Il est dépourvu de toxicité.



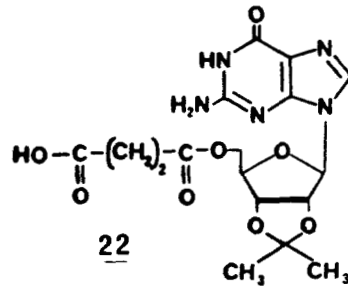
2/ COUPLAGE AVEC LE (N-HYDROXY N-ACETYL)AMINO-2 FLUORENE 2 :

Cette mise au point nous permettra de tester la validité de notre méthode de couplage pour les dérivés aromatiques encombrés avec le précurseur indole, ceci avant d'employer la guanosine.



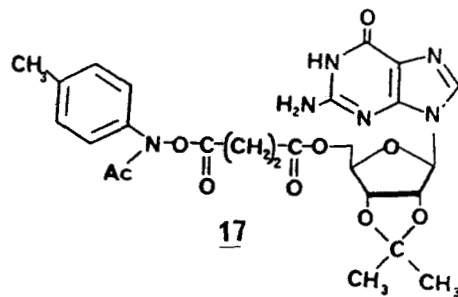
B/ SERIE GUANOSINE :

1/ SYNTHESE DU PRECURSEUR GUANOSINE 22 :

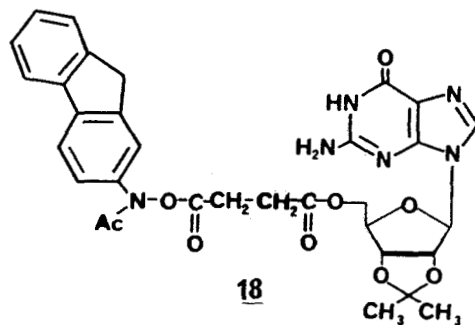


2/ COUPLAGE AVEC L'ACIDE HYDROXAMIQUE 7 :

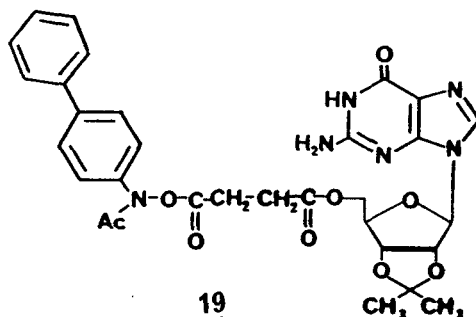
La solubilité de la guanosine dans le solvant utilisé pour le couplage étant différente de celle de l'indole nous utiliserons dans un premier temps le dérivé du toluène 7 pour mettre au point la méthode de condensation, avant de faire cette réaction sur les dérivés nitrés cancérogènes.



3/ COUPLAGE AVEC L'ACIDE HYDROXAMIQUE 2 :



4/ EXTENSION A L'AMINO-4 BIPHENYLE : COUPLAGE AVEC
L'ACIDE HYDROXAMIQUE 23 :



II. REACTIVITE :

Dans un deuxième temps nous nous intéresserons à la réactivité des molécules précédemment synthétisées.

Des essais préliminaires sur les molécules 11, 16 et 17 nous permettent d'avoir des renseignements sur leur stabilité, leur réactivité et de tester la validité du concept d'une réaction intramoléculaire, avant d'étudier plus en détail le produit de couplage 18.

A/ RESULTATS EXPERIMENTAUX

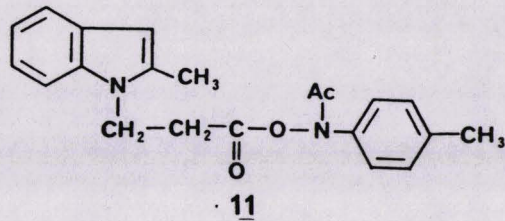
- 1/ ETUDE DU COMPOSE DE COUPLAGE INDOLE-TOLUENE 11
- 2/ ETUDE DU COMPOSE DE COUPLAGE INDOLE-FLUORENE 16
- 3/ ETUDE DU COMPOSE DE COUPLAGE GUANOSINE-TOLUENE 17
- 4/ ETUDE DU COMPOSE DE COUPLAGE GUANOSINE-FLUORENE 18

B/ DISCUSSION

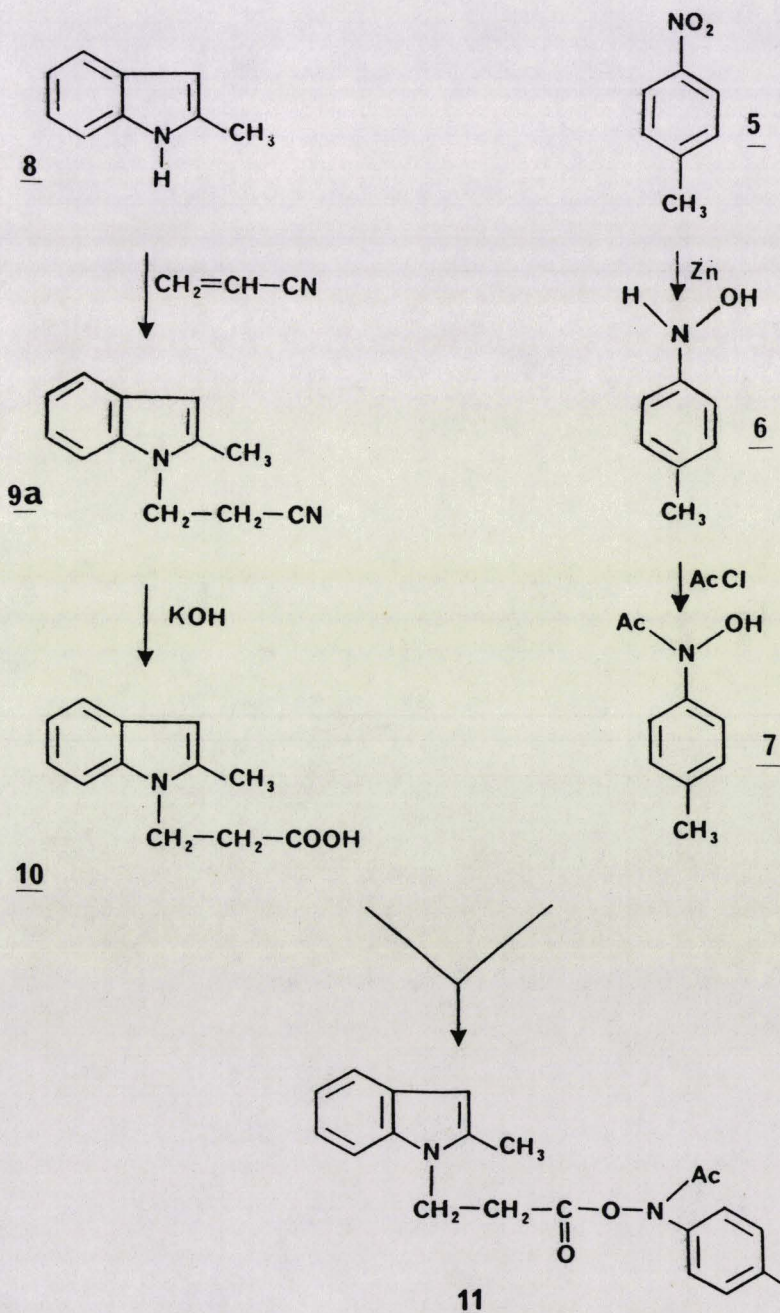
I. SYNTHESE :

A/ SERIE INDOLE :

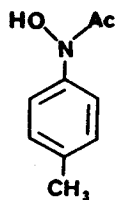
1/ MOLECULE 11



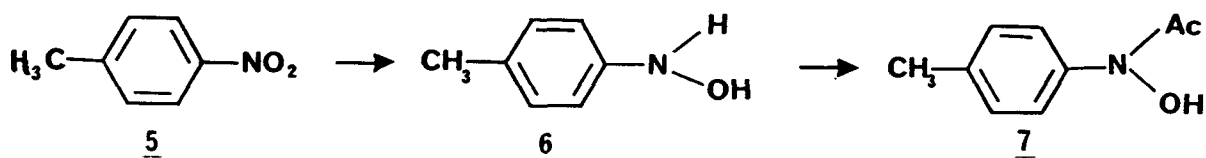
Ce composé est obtenu selon le schéma de synthèse suivant :



a. Synthèse du (N-hydroxy N-acétyl)amino-4 toluène 7 :



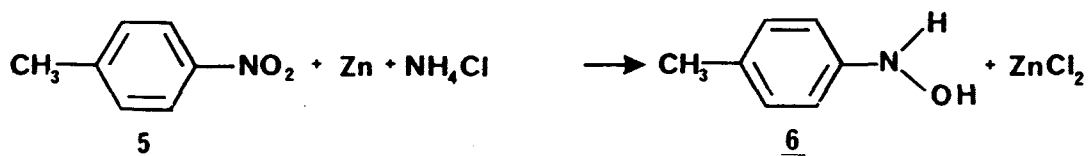
La synthèse de l'acide hydroxamique 7 s'effectue en deux étapes à partir du nitro-4 toluène 5.



La première étape consiste à réduire la fonction nitro en hydroxylamine 6, la seconde est l'acétylation en acide hydroxamique 7.

Réduction :

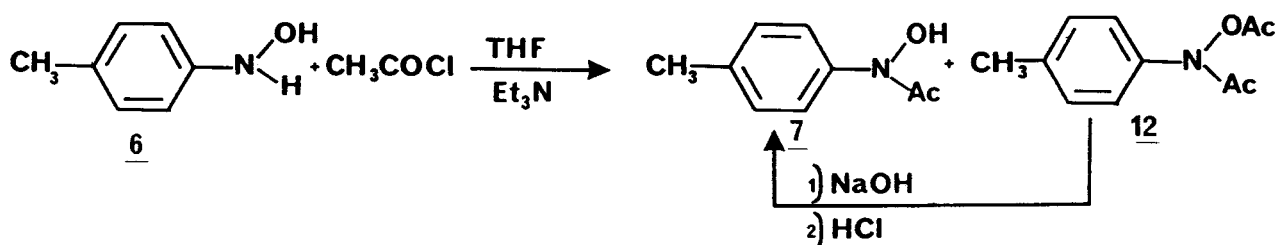
Nous utilisons la méthode de A. RISING (31). Le nitro-4 toluène 5 est réduit par le zinc en présence de chlorure d'ammonium dans l'éthanol à 50 %. Après avoir éliminé le précipité de chlorure de zinc et concentré la phase éthanolique, l'hydroxylamine 6 précipite avec un rendement de 70 %.



La structure de 6 est confirmée par la RMN du proton : en effet on constate l'apparition dans le spectre de deux singulets échangeables intégrant chacun pour un proton à 8 et 8,2 ppm attribuables aux fonctions N-H et N-OH.

Acétylation :

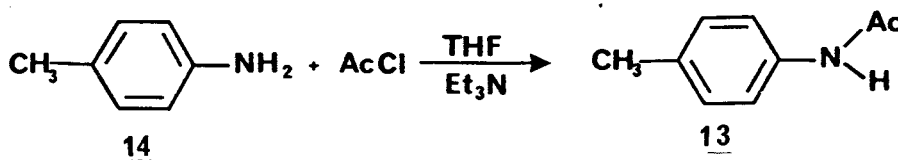
Bien que dans une hydroxylamine l'atome d'azote soit acylé plus rapidement que l'oxygène, il n'est pas possible de réaliser une réaction totalement sélective. Aussi avons nous utilisé les conditions décrites par J.G. WESTRA (32) qui consiste en une acétylation suivie d'hydrolyse sélective du dérivé diacétylé formé dans le milieu. Le produit 6 est acétylé par le chlorure d'acétyle dans le THF en présence de triéthylamine (Et_3N). Il se forme ainsi les produits N-acétylé 7 et N,O-bis-acétylé 12. Ce dernier est hydrolysé en milieu basique.



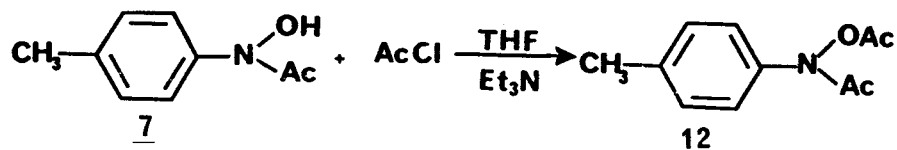
Dans le but de disposer de tous les composés acétylés dans cette série et de pouvoir faire les vérifications et comparaisons nécessaires, nous avons également préparé :

La p-acétamidotoluidine 13 et le composé diacétylé 12 :

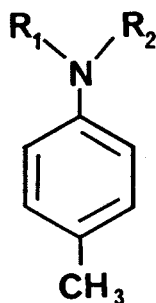
La p-acétamidotoluidine 13 est obtenue par acétylation de la p-toluidine 14 selon le procédé décrit précédemment.



Le dérivé 12 acétylé à la fois sur l'azote et l'oxygène est isolé soit par séparation sur plaque préparative du mélange obtenu lors de l'acétylation de 6 avant hydrolyse, soit par acétylation du dérivé 7 par le chlorure d'acétyle dans le THF en présence de Et_3N .



La structure des dérivés 6, 7, 12 et 13 est confirmée par les données spectroscopiques (voir tableaux 2 et 3).



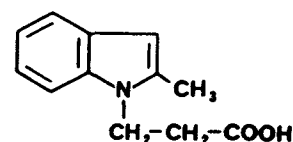
	CH_3 -To1	CH_3 -CO	CH_3 -COO	N-OH	N-H	H_2 et H_6	H_3 et H_5
$\text{R}_1=\text{H}$ $\text{R}_2=\text{OH}$ <u>6</u>	2,10	-	-	8,10	8,00	6,90	6,95
$\text{R}_1=\text{Ac}$ $\text{R}_2=\text{OH}$ <u>7</u>	2,05	2,20	-	10,50	-	7,25	7,45
$\text{R}_1=\text{Ac}$ $\text{R}_2=\text{OAc}$ <u>12</u>	1,95	2,10	2,30	-	-	7,30	7,35
$\text{R}_1=\text{Ac}$ $\text{R}_2=\text{H}$ <u>13</u>	1,95	2,20	-	-	9,75	7,10	7,35

Tableau 2 : Déplacements chimiques des protons des composés 6, 7, 12 et 13 (DMSO d_6 , 60MHz).

:	:	<u>7</u>	:	<u>13</u>	:	<u>12</u>	:	
:	:	N-C=O	:	1655	:	1610	:	1695
:	:	N-OC=O	:	-	:	-	:	1790

Tableau 3 : Bandes de vibration $\nu_{C=O}$ des composés 7, 12, 13 (Nujol)

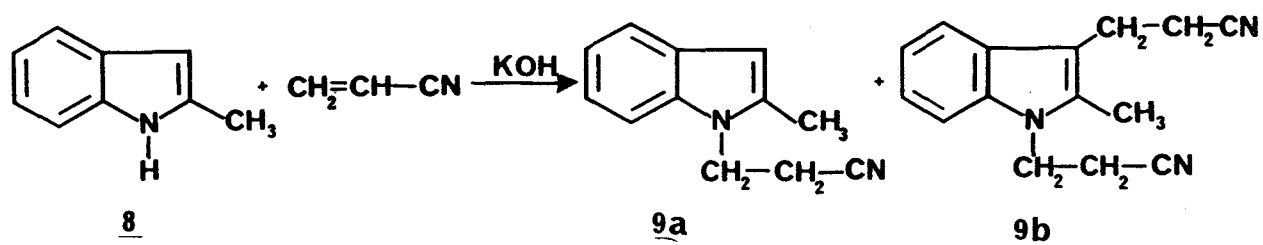
b. Acide (méthyl-2 indolyl)-1 -3 propionique 10 :



Nous devons à A.P. TERENT'EV (33) la description de la synthèse du composé 10. Elle est réalisée en deux étapes : fixation de la chaîne carbonée, puis formation de l'acide carboxylique.

N-Alkylation : Obtention du composé 9a :

La réaction s'effectue en milieu parfaitement anhydre. Le méthyl-2 indole 8 est solubilisé dans le benzène sec en présence d'acrylonitrile et de potasse fondue. On obtient deux produits correspondant au dérivé de N-alkylation 9a et au produit bis-alkylé sur le N₁ et le C₃ 9b. Après chromatographie sur colonne de silice le composé 9a est isolé avec un rendement de 66 %.



Pour le composé 9a, le spectre de RMN du proton indique la mono-fonctionnalisation sur l'azote et non sur le C₃ de l'indole :

- le proton porté par le N₁ à 7,50 ppm a disparu
- le proton porté par le C₃ à 6,20 ppm est toujours présent
- il y a apparition de deux triplets d'égale intensité intégrant chacun pour 2 protons, et de même constante de couplage J=7,3Hz à 2,90 et 4,40 ppm, correspondant respectivement à CH₂-CN et N-CH₂.

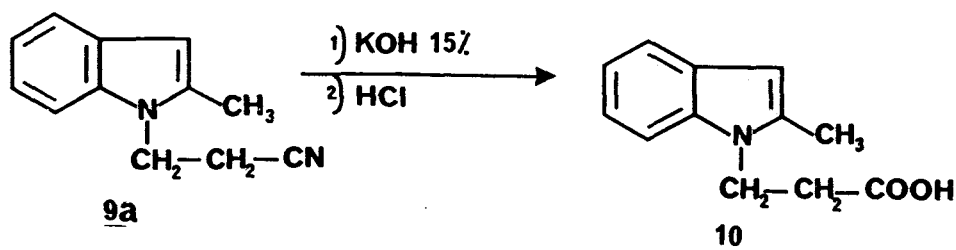
Pour le composé 9b : le spectre de RMN du proton montre :

- la disparition des protons C₃-H et N₁-H (6,20 ppm et 7,50 ppm)
- l'apparition d'un signal à 3,00 ppm correspondant à C₃-CH₂-
- Un triplet à 2,65 ppm intégrant pour 4 protons qui est attribuable à -CH₂-CN.

Nous n'avons pas obtenu de produit de C-alkylation.

Formation de l'acide carboxylique 10 :

La fonction nitrile du composé 9a est hydrolysée en milieu basique. Le produit 10 est précipité par acidification de la solution alcaline avec de l'acide chlorhydrique concentré.



Le spectre de masse donne le pic moléculaire à m/e = 203.

Dans le spectre RMN du proton, on retrouve :

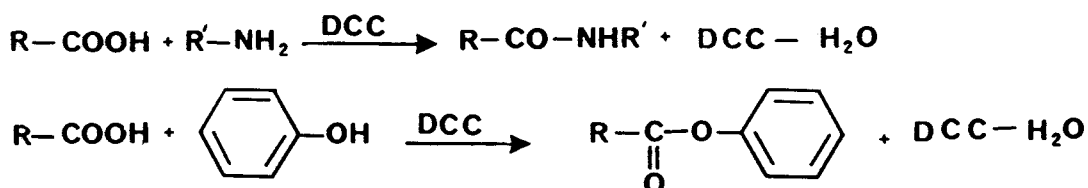
- le singulet dû au proton porté par le C₃ de l'indole à 6,20 ppm
- les deux triplets à 2,70 ppm et 4,35 ppm correspondant aux -CH₂ de la chaîne.

c. Couplage :

Les esters d'acides hydroxamiques (anhydrides mixtes d'acides hydroxamiques et carboxyliques) s'obtiennent en général par réaction de l'acide hydroxamique avec l'anhydride ou le chlorure d'acide (34). Ces réactions sont bien décrites pour l'obtention d'esters simples, tels que les acétates. Il n'en est plus de même lorsqu'il s'agit de préparer des esters avec des groupes acides appartenant à des molécules complexes poly-fonctionnelles comme dans notre cas. Nous avons donc recherché des méthodes générales, en nous inspirant des méthodes de couplage utilisées en synthèse peptidique, notamment :

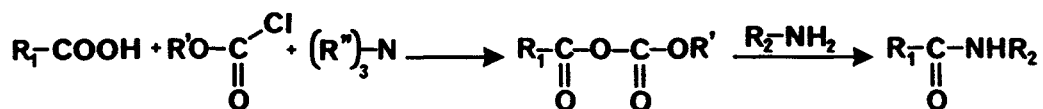
Le N,N-dicyclohexylcarbodiimide : DCC (35a, b) :

C'est l'agent de couplage le plus utilisé en synthèse peptidique et également pour estérifier des acides carboxyliques par des phénols.



Les chloroformiates d'alkyle (36) :

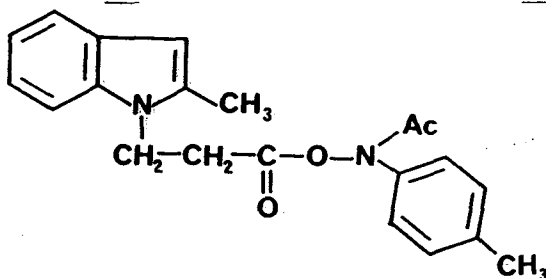
Ils sont employés pour éviter la racémisation en synthèse peptidique. Le couplage se fait en présence d'une base tertiaire, la réaction est effectuée à basse température pour que la durée de vie de l'anhydride mixte, intermédiaire formé, soit suffisante pour réagir avec l'amine.



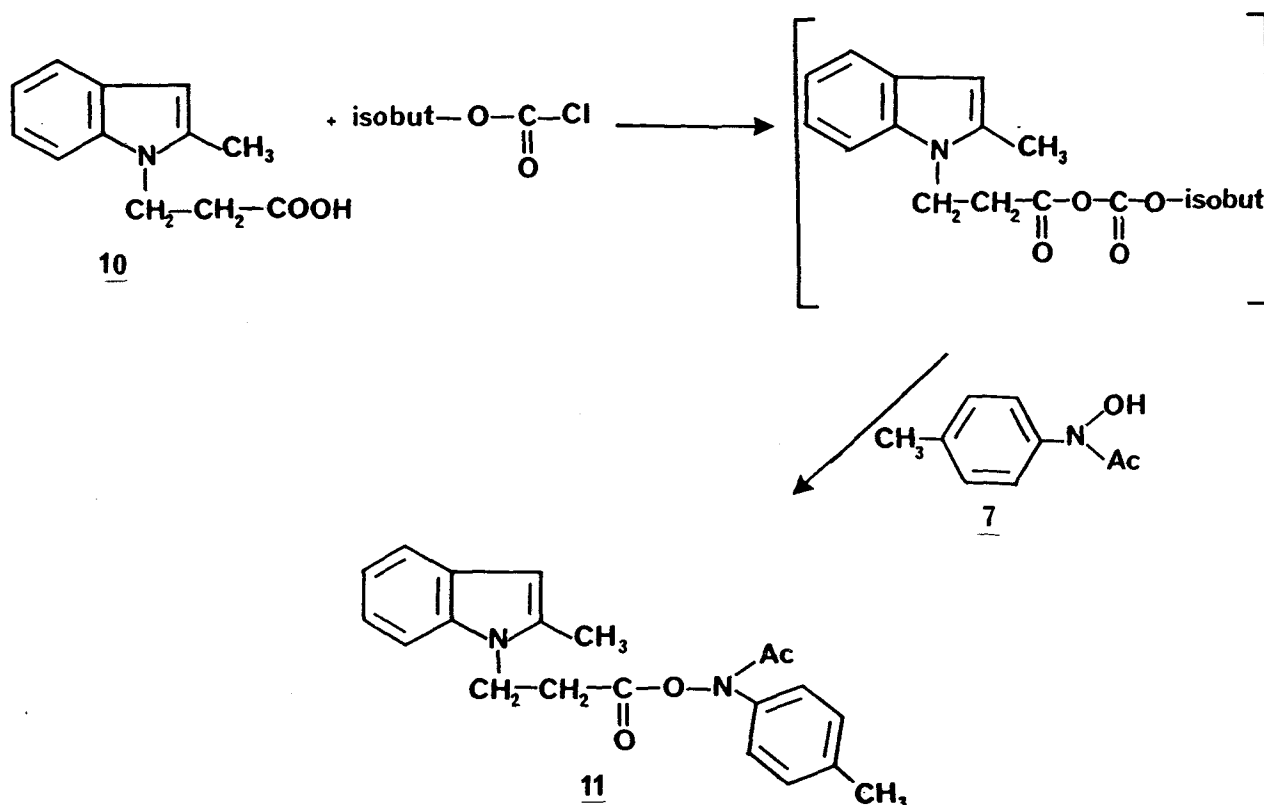
Les solvants, les bases et les chloroformiates employés interviennent sur le taux de racémisation.

Des essais préliminaires avec le DCC nous ont montré que la réaction est complexe et non totale, nous avons donc préféré utiliser les alkylchloroformiates.

Couplage de 7 et de 10 : Obtention du composé 11 :



La réaction s'effectue à -20°C sous courant d'azote. Le composé 10 est solubilisé dans le THF. On ajoute successivement de la N-méthyl morpholine et du chloroformiate d'isobutyle. On fait alors réagir l'anhydride mixte ainsi formé avec l'acide hydroxamique 7.



Le composé 11 est obtenu, après lavage en milieu basique, avec un bon rendement (80 %).

La structure est confirmée par les données spectroscopiques.

Dans le spectre de masse, on a le pic moléculaire à $m/e = 350$ (voir annexe p. 88).

Le spectre de RMN du proton de 11 correspond à la superposition des spectres des produits 7 et 10.

On remarque :

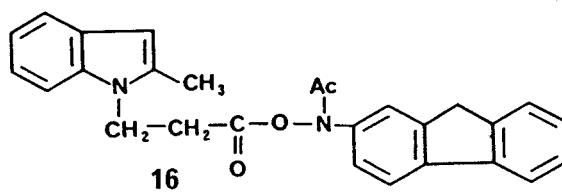
- la disparition du proton de la fonction hydroxyle à 10,50 ppm
- le blindage du méthyle de l'acétyle
- le déblindage du méthylène situé en α de la fonction acide (passage de $-\text{CH}_2-\text{COOH}$ à $-\text{CH}_2-\text{COON-}$).

	$:\text{CH}_3\text{-Tol}$	$:\text{CH}_3\text{-CO}$	$:\text{CH}_3\text{-Ind}$	$:\text{CH}_2\text{-COO}$	$\text{CH}_2\text{-N}$	$\text{C}_3\text{-H}$	H ArTol	H ArInd	N-OH
<u>7</u>	2,05	2,17	-	-	-	-	7,25-7,45	-	10,50
<u>10</u>	-	-	2,40	2,70	4,35	6,20	-	6,90 à 7,25	-
<u>11</u>	1,85	2,25	2,30	2,95	4,35	6,10	7,20	6,85 à 7,45	-

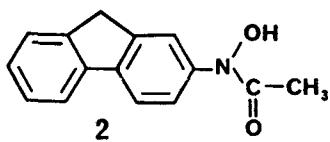
Tableau 4 : Déplacements chimiques des protons des composés 7, 10, 11 (DMSO d_6 , 60MHz).

Nous avons étudié la réactivité du produit de condensation 11 qui sera décrite p. 54. Il s'avère donc que la méthode de couplage acide carboxylique - acide hydroxamique est satisfaisante. Ce résultat permet d'envisager le couplage de systèmes plus complexes : nous allons donc vérifier que cette réaction peut être étendue aux acides hydroxamiques aromatiques plus encombrés, tels que le (N-hydroxy N-acétyl)amino-2 fluorène 2 pour synthétiser la molécule 16.

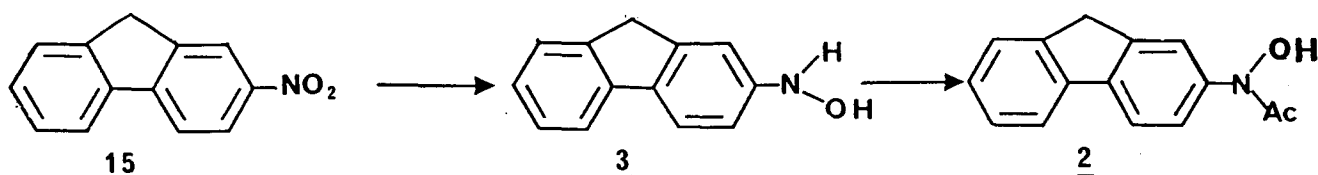
2/ SYNTHÈSE DE LA MOLECULE 16 :



a. Synthèse du (N-hydroxy N-acétyl)amino-2 fluorène 2 :



Comme dans la série toluène, nous partons du nitro-2 fluorène 15, qui sera réduit en hydroxylamine 3, puis acétylé en acide hydroxamique 2.



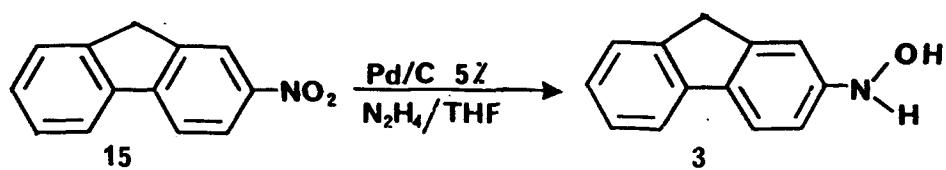
Réduction :

Dans le cas des dérivés cancérogènes qui nous intéressent, la réaction doit être à la fois quantitative et propre pour éviter un trop grand nombre de manipulations délicates.

La réduction des fonctions nitro d'aromatiques simples (du type : nitrobenzène ou nitrotoluène) a été mise au point par A. RISING (31), E. BAMBERGER (37) et A. WOHL (38). Les systèmes réducteurs utilisés sont le zinc en poudre et une solution aqueuse de chlorure de calcium ou d'ammonium. Ces systèmes ne sont pas utilisables pour les dérivés aromatiques plus complexes. En effet H. GILMAN et J.E. KIRKY (39) observent dans ces conditions, lors de la réduction du nitro-4 biphényle 24, la formation majoritaire du dérivé azoxy- et d'une faible quantité d'hydroxylamine. Ce faible rendement en hydroxylamine provient de la formation simultanée des dérivés nitroso, azo, azoxy et amino : ceci étant dû au caractère non spécifique de la réaction et à la faible stabilité de l'hydroxylamine formée.

En utilisant le système réducteur Pd/C 5 % - hydrate d'hydrazine, on évite la formation des amines observées précédemment. Une acétylation dans le milieu transforme l'hydroxylamine en acide hydroxamique plus stable.

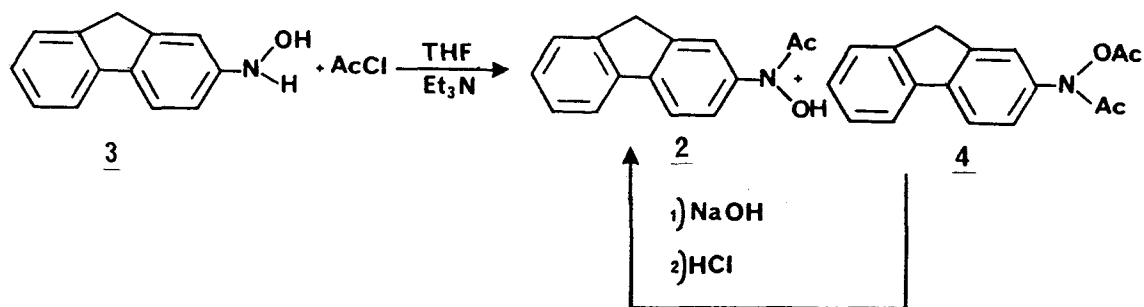
Nous utilisons la méthode décrite par J.G. WESTRA (32) qui est directement applicable à notre cas : nitro-2 fluorène 15 et nitro-4 biphényle 24.



Le nitro-2 fluorène **15** est réduit par Pd/C 5% en présence d'hydrate d'hydrazine dans le THF. La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince. Lorsque tout le composé **15** a disparu, sans isoler l'hydroxylamine **3**, on procède à son acétylation en utilisant la méthode décrite précédemment en série toluène (p. 33).

Acétylation :

L'hydroxylamine **3** est acétylée dans le milieu réactionnel par du chlorure d'acétyle en présence de Et_3N . En fin de réaction la solution contient les produits N-acétylé **2** et N,O diacétylé **4**. Un traitement basique du mélange hydrolyse le produit diacétylé **4** en acide hydroxamique **2** récupéré par précipitation, suffisamment pur pour éviter toute manipulation ultérieure et avec un rendement supérieur à 80 %.

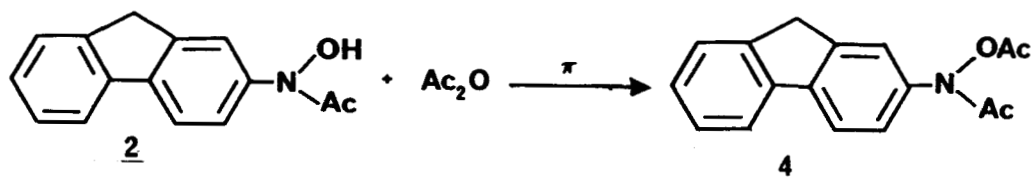


L'obtention du produit **2** est confirmée par :

- le spectre IR où l'on observe une bande caractéristique du groupement N-C=O à 1640 cm^{-1} .
- le spectre de RMN du proton où l'on note la présence d'un singulet à 2,17 ppm pour le méthyle de la fonction acétyle et d'un singulet à 9,40 ppm correspondant au proton de la fonction hydroxyle.

Les protons du fluorène résonnent à 3,90 ppm pour le CH_2 et entre 7,20 et 7,90 ppm pour les protons aromatiques.

Pour pouvoir disposer de produit témoin en série fluorène, nous avons préparé le (N-acétoxy N-acétyl)amino-2 fluorène 4 par acétylation du produit 2, isolé précédemment, dans la pyridine avec de l'anhydride acétique (40).

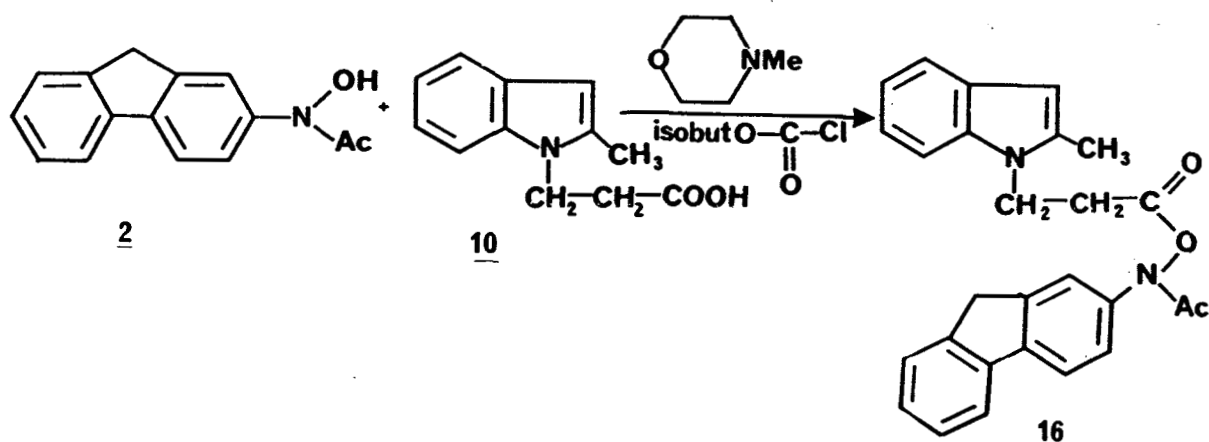


Le produit 4 est isolé par précipitation dans l'eau.

On remarque dans le spectre de RMN du proton, l'apparition d'un singulet intégrant pour 3 protons à 2,20 ppm, et la disparition du singulet à 9,40 ppm, ce qui est en accord avec la structure de 4.

b. Couplage des dérivés 10 et 2 : Obtention du produit 16 :

Nous utilisons la méthode mise au point sur le dérivé 11 (p.91 couplage entre l'acide 10 et le dérivé du toluène 7). Nous obtenons ainsi le produit de condensation 16 avec un rendement de 80 %.



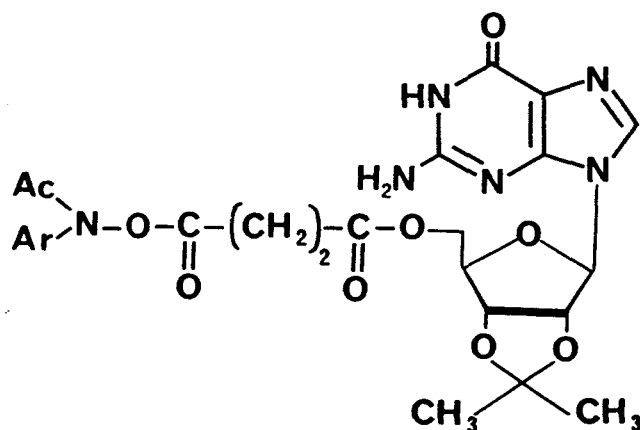
La structure de 16 est confirmée par les données spectroscopiques. En spectrométrie de masse on observe le pic moléculaire à $M^+ = 424$. La RMN du proton correspond à la superposition des spectres des composés 2 et 10.

	:CH ₃ -CO :	CH ₃ -Ind :	CH ₂ -N :	CH ₂ -COO :	CH ₂ -F ₉ :	H ArF :	H ₃ Ind :	H ArInd :
<u>2</u>	: 2,15 :	- :	- :	- :	3,85 :	7,20 à 7,90 :	- :	- :
<u>10</u>	: - :	2,40 :	4,35 :	2,70 :	- :	- :	6,20 :	6,90 à 7,40 :
<u>16</u>	: 1,90 :	2,30 :	4,40 :	2,95 :	3,85 :	7,30 à 7,90 :	6,10 :	6,85 à 7,30 :

Tableau 5 : Déplacements chimiques des protons des composés 2, 10 et 16 (DMSO d₆, 60 MHz).

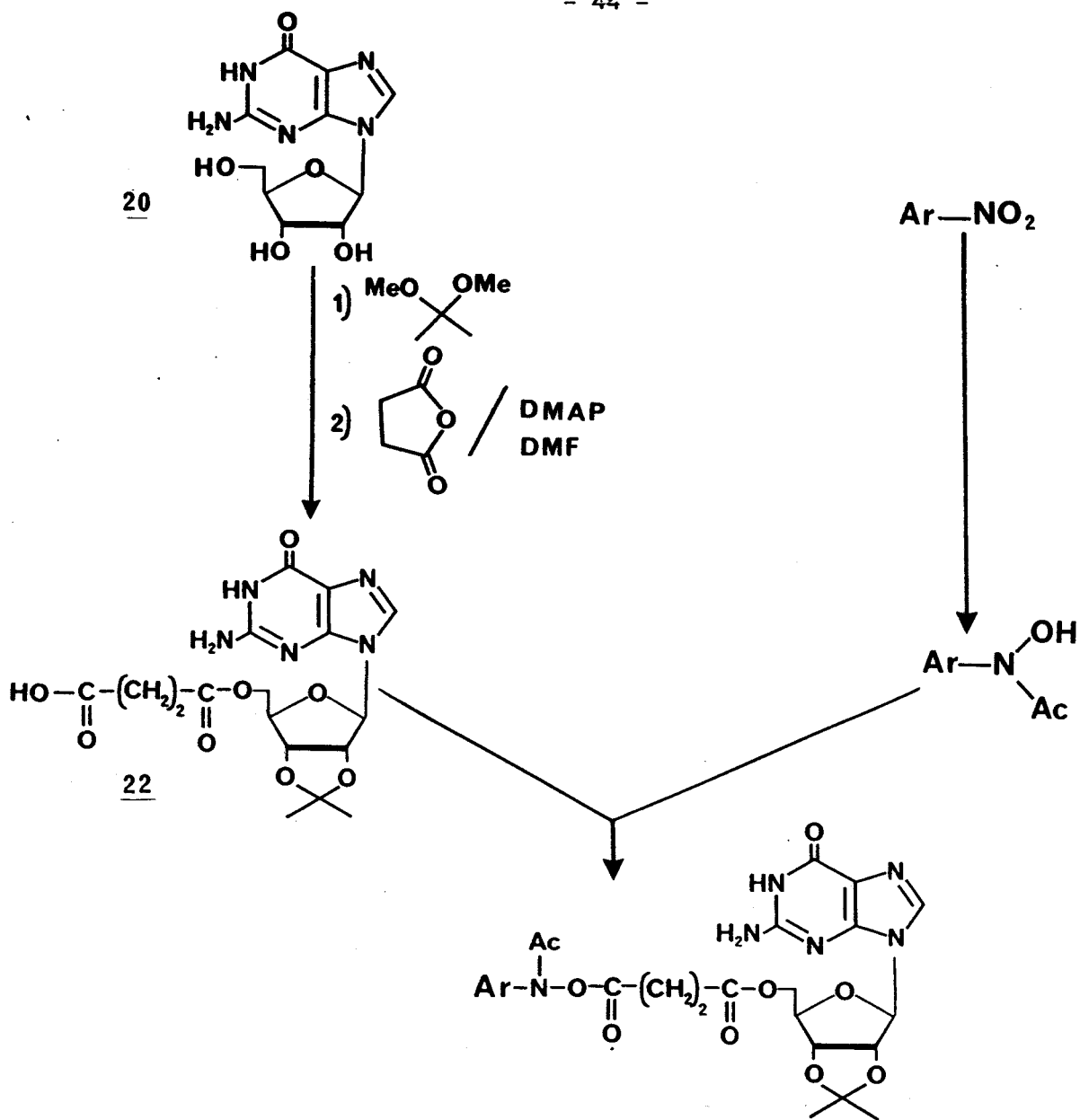
B. SERIE GUANOSINE :

La méthode de couplage étant utilisable avec des amines aromatiques encombrées, nous pouvons maintenant envisager la préparation des produits de type :



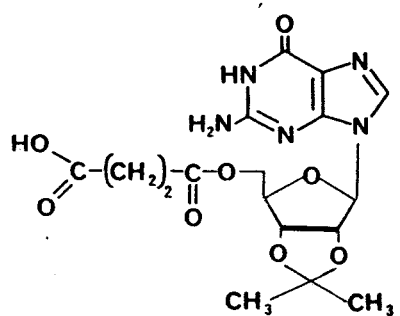
- 17 Ar = Toluene
- 18 Ar = Fluorene
- 19 Ar = Biphenyle



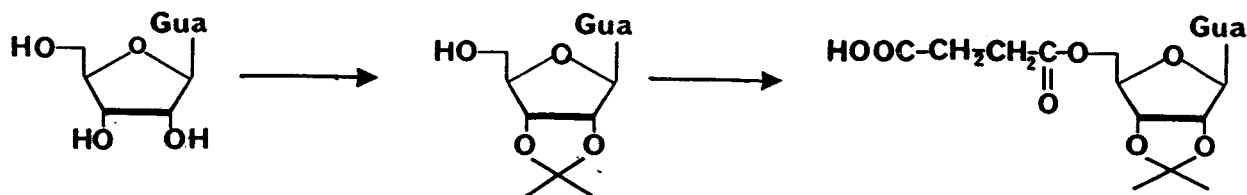


Nous avons donc choisi le groupe succinyle pour relier les deux parties de la molécule, l'une des fonctions acides estérifiant la fonction hydroxy-5' du sucre, l'autre fonction acide étant utilisée pour la condensation avec les acides hydroxamiques.

a. Synthèse du précurseur guanosine 22 :

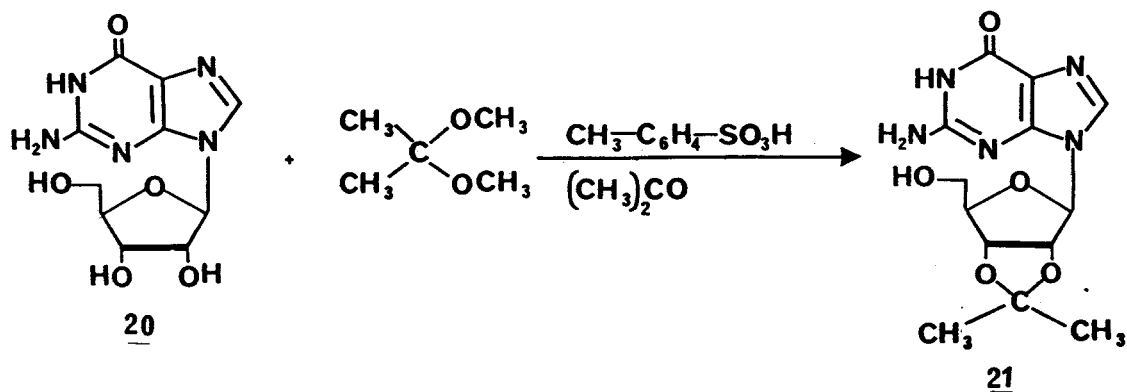


Il faut protéger les fonctions alcools 2' et 3' du ribose avant de faire réagir l'anhydride succinique sur la position 5'.



Protection des fonctions alcools 2' et 3' : Obtention de 21 (41) :

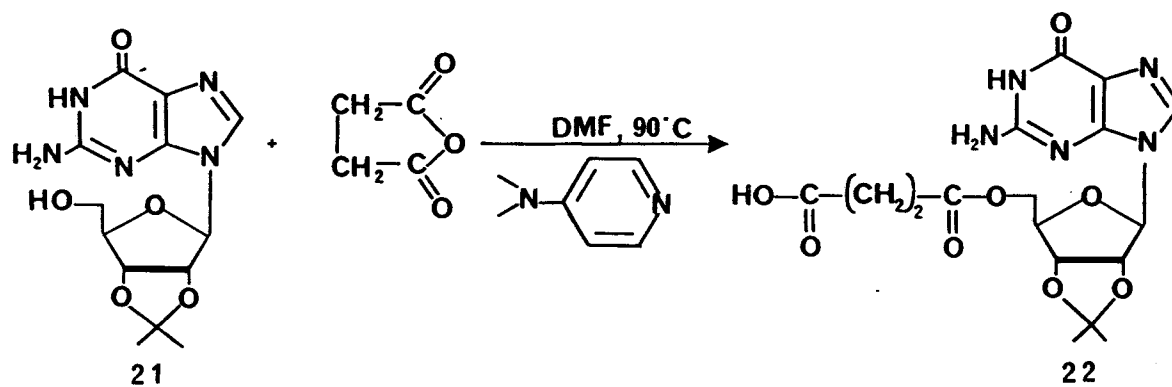
Il est classique de protéger ces positions du ribose par la formation d'un 0,0' isopropylidène 2',3' ribose. La guanosine 20 est mise en suspension dans l'acétone en présence de diméthoxypropane (DMP) et d'acide paratoluène sulfonique (APTS). Pour que la réaction soit totale, il est nécessaire d'utiliser des solvants et réactifs secs. On isole le composé 21 par précipitation dans une solution d'ammoniaque.



Cette protection permet de diminuer la polarité de la guanosine 20, et, en RMN du proton, les deux méthyles sont aisément repérables (2 singulets distants de 0,20 ppm pour l'anomère β), dans notre cas ils apparaissent à 1,26 et 1,46 ppm respectivement. Le reste du spectre est en accord avec la structure proposée : le C_8-H résonne à 7,88 ppm et le N_1-H à 10,68 ppm sous forme de singulets.

Succinylation de l'alcool en 5' : Obtention de 22 :

B.L. GAFFNEY et Coll. (42) décrivent la succinylation sur la position 3' des désoxyadénosines et désoxyguanosines protégées. Pour cela ils font réagir les nucléosides protégés en 5', avec l'anhydride succinique en présence de DMAP dans du chlorure de méthylène. Dans notre cas nous utiliserons ces mêmes réactifs tout en modifiant les conditions opératoires ; en effet pour des questions de solubilité de l'0,0'-isopropylidène-2',3' guanosine 21, le solvant employé sera la diméthylformamide (DMF) d'une part, d'autre part la réaction sera effectuée à 90°C pendant 4 heures. Celle-ci n'est pas totale mais un temps de contact plus long augmente la formation des produits secondaires au détriment du dérivé 22.



Après concentration du mélange réactionnel, on ajoute du chlorure de méthylène, le produit 22 coprécipite avec la DMAP, l'anhydride succinique et l'0,0'-isopropylidène 2',3' guanosine 21 résiduel. On purifie le composé 22 par chromatographie sur colonne de silice en éluant avec un mélange chlorure de méthylène - méthanol (85-15) contenant 1 % d'acide acétique.

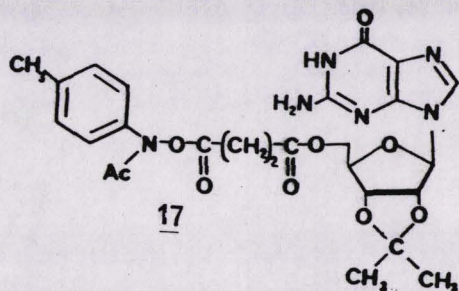
La RMN du proton nous indique la pureté et confirme la structure de 22. Dans son spectre on retrouve :

- à 1,26 et 1,46 ppm les 2 méthyles de l'isopropylidène.
- les protons du ribose : \underline{H}_1' , \underline{H}_2' et \underline{H}_3' qui résonnent à 5,95-5,19 et 5,07 ppm ; les protons \underline{H}_5' qui sont déblindés par la formation de la fonction ester, \underline{H}_4' et \underline{H}_5' qui apparaissent à 4,21 et 4,09 ppm.
- Pour la guanine, le proton $\underline{C}_8\text{-H}$ qui résonne à 7,80 ppm, celui de $\underline{N}_1\text{-H}$ à 10,45 ppm et le \underline{NH}_2 à 6,60 ppm.

On note l'apparition d'un signal à 2,45 ppm correspondant aux méthylènes de la chaîne succinique.

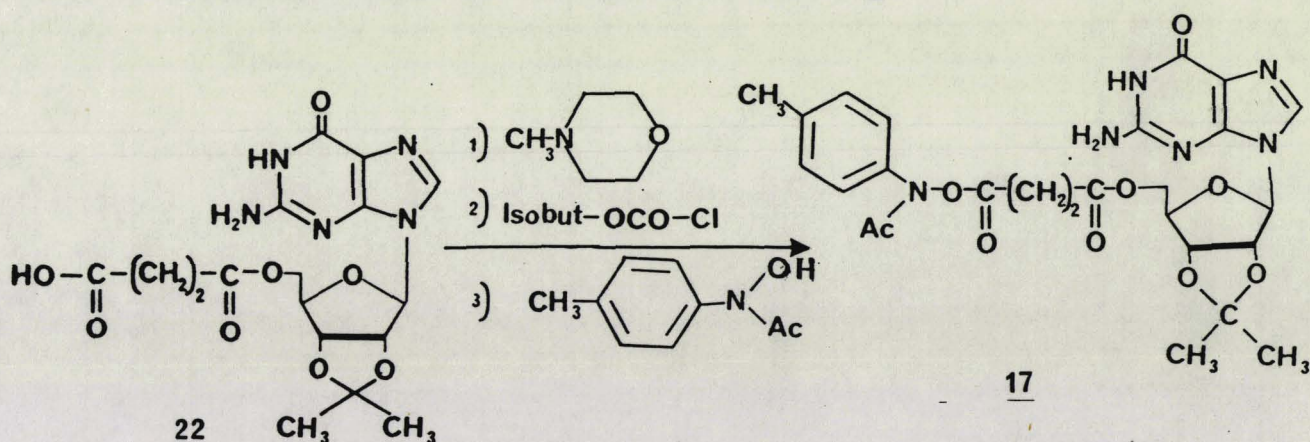
On remarque dans le spectre de masse haute résolution l'absence du pic moléculaire (la chaîne succinyle trop labile se coupe immédiatement) ; par contre on observe les pics correspondant respectivement à l'isopropylidène guanosine 21 à $m/e = 323$, puis 21 ayant perdu la fonction hydroxyle en 5' à $m/e = 306$ et enfin à la guanine $m/e = 151$ (voir annexe p. 93).

b. Couplage de 22 et 7 : Obtention du composé 17 :



L'insolubilité du dérivé 22 dans les solvants usuels de couplage : chlorure de méthylène, acétonitrile, THF, rend la réaction de condensation plus difficile, d'autant que nous avons pu remarquer que la solubilité de l'acide carboxylique intervient dans l'efficacité du couplage. Aussi utiliserons nous la DMF : solvant dans lequel 22 est soluble, tout en employant le procédé déjà décrit pour les produits de couplage 11 (indole-toluène p. 38) et 16 (indole-fluorène p. 42).

Le composé 22 est solubilisé dans la DMF puis refroidi à -20°C sous courant d'azote, avant d'ajouter successivement : la N-méthylmorpholine, le chloroformiate d'isobutyle et l'acide hydroxamique 7.



Après purification par un lavage basique, le produit 17 est précipité dans l'éther éthylique et isolé avec un rendement de 63 %.

Par étude du spectre de RMN du proton (qui est l'addition des spectres des composés 7 et 22), on remarque : la disparition du proton de la fonction N-hydroxyle de 7 à 10,5 ppm, et la présence du proton porté par le C₈ de la guanine.

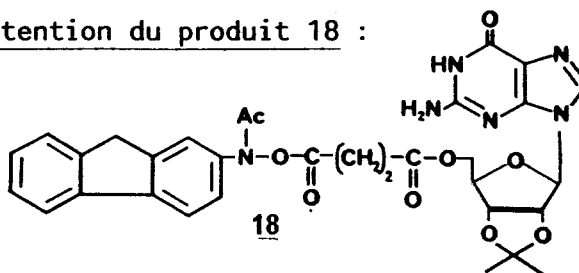
	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{CH}_3 \\ \text{isopropyl} \end{matrix}$	$-\text{C}(\text{CH}_2)_2-\text{CO}$	$\text{H}_4' \text{ H}_5'$	H_3'	H_2'	H_1'	NH_2	C_8-H	N_1-H	CH_3-Tol	CH_3-CO	H Ar-Tol
<u>7</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,26	2,15	7,25
<u>22</u>	1,26 1,46	2,41	4,09 4,21	5,07	5,19	5,96	6,60	7,81	10,45	-	-	-
<u>17</u>	1,26 1,46	2,65	4,16	5,13	5,13	5,95	6,48	7,80	10,62	2,25	1,95	7,25

Tableau 6 : déplacements chimiques des protons des composés 7, 22 et 17 (DMSO d₆, 60MHz).

Dans le spectre de masse haute résolution on ne trouve pas le pic moléculaire du produit de couplage 17 mais on observe les pics correspondant aux deux produits de départ modifiés :

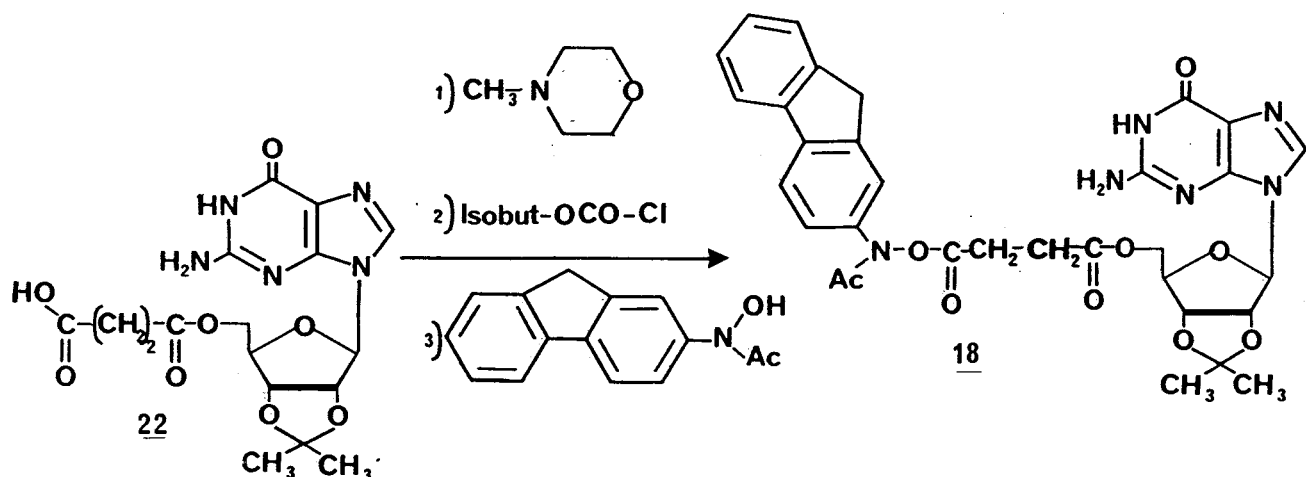
- l'isopropylidène guanosine 21 ayant perdu la fonction hydroxyle en 5' à m/e = 306 ; puis le pic correspondant à la guanine à m/e = 151.
- l'acide hydroxamique 7 sur lequel est fixée la chaîne succinyle à m/e = 247 (voir annexe p. 98).

c. Couplage de 22 et 2 : Obtention du produit 18 :



Notre méthode de condensation étant applicable à la guanosine, nous pouvons maintenant envisager la réaction entre l'acide hydroxamique 2 et la guanosine succinylée 22.

Comme précédemment (p. 47), le dérivé 22 est solubilisé dans la DMF puis refroidi à -20°C sous courant d'azote avant d'ajouter la N-méthylmorpholine, le chloroformiate d'isobutyle et l'acide hydroxamique 2.



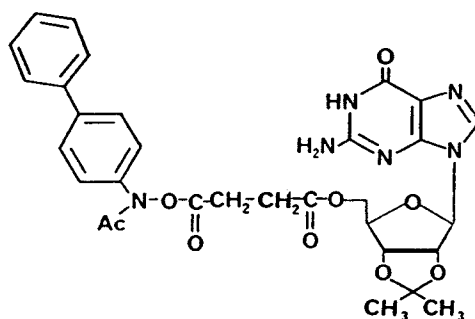
Après purification, on obtient 18 avec un rendement de 70 %.

Le spectre de RMN du proton à 400MHz confirme la structure de 18 : on retrouve l'ensemble des protons 2 et 22 ; seul le proton de la fonction N-hydroxyle de 2 à 9,40 ppm a disparu.

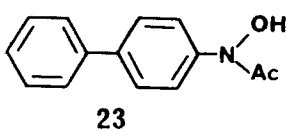
	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	H_5' et H_4'	H_3'	H_2'	H_1'	NH_2	C_8-H	N_1-H	CH_3-CO	$\text{H}-\text{ArF}$	$\text{N}-\text{OH}$	CH_2F_9
<u>22</u>	1,26 et 1,46	2,41	4,09 et 4,21	5,07	5,19	5,96	6,60	7,81	10,45	-	-	-	-
<u>2</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,17	7,20 à 7,90	9,40	3,87
<u>18</u>	1,25 1,45	2,50	4,10 et 4,20	5,07	5,20	5,90	6,60	7,88	10,78	2,00	7,29 à 7,86	-	3,92

Tableau 7 : Déplacements chimiques des protons des composés 22, 2, 18 (DMSO d_6 , 400MHz).

d. Extension à l' amino-4 biphényle : obtention du produit 19 :

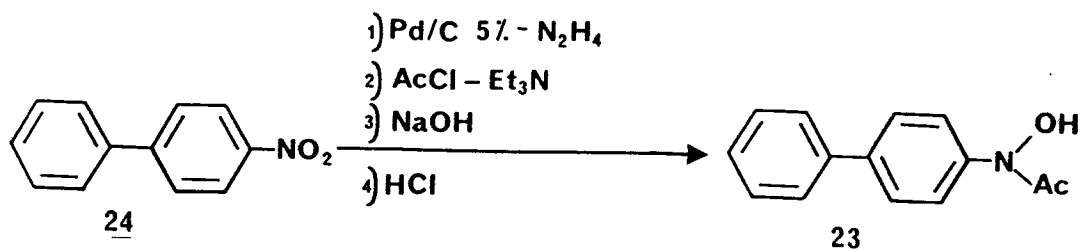


Synthèse du (N-hydroxy N-acétyl)amino-4 biphényle 23 :



Comme dans le cas du fluorène, l'acide hydroxamique 23 est obtenu à partir du nitro-4 biphényle 24 selon la méthode de J.G. WESTRA (32).

Le composé 24 est réduit en hydroxylamine par le Pd/C 5 % en présence d'hydrate d'hydrazine dans le THF. On acétyle dans le milieu par le chlorure d'acétyle.



La N-acétylation n'est pas sélective on obtient les produits N-acétylé et N,0-bisacétylé lequel par un traitement basique est hydrolysé en acide hydroxamique 23.

Sa structure est confirmée par les analyses spectroscopiques :

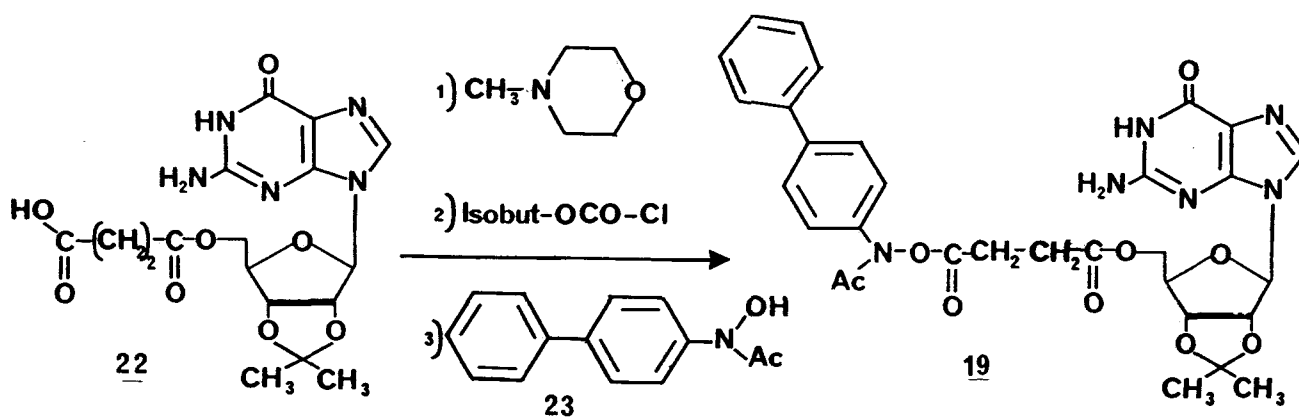
- * On trouve dans le spectre IR la bande $\nu_{\text{C=O}}$ à 1645 cm^{-1}
- * Dans le spectre de masse, le pic moléculaire est observé à $m/e=227$.

* Dans le spectre de RMN du proton on remarque :

- l'apparition de deux singulets à 2,17 ppm correspondant au méthyle de la fonction acétyle, et à 10,61 ppm pour le proton de la fonction hydroxyle.
- un massif entre 7,30 et 7,66 ppm attribuable aux protons aromatiques.

Couplage de 22 et 23 : Obtention du produit 19 :

Nous avons effectué cette synthèse en collaboration avec E. DEFRANCO, dans les conditions décrites pour le composé 18 : après avoir solubilisé le composé 22 dans la DMF et refroidi la solution à -20°C sous atmosphère d'azote, on additionne la N-méthylmorpholine, le chloroformiate d'isobutyle et l'acide hydroxamique 23.



Le spectre de RMN du proton à 400MHz nous permet de confirmer la structure de 19 : on retrouve les protons des deux composés de départ 22 et 23, seul le proton de la fonction N-hydroxyle de 23 à 10,61 ppm a disparu.

	$\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \diagdown \\ \text{C} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	H_5', H_4'	H_3'	H_2'	H_1'	N-H ₂	C ₈ -H	N ₁ -H	CH ₃ -CO	N-OH	H-ArBP
<u>23</u>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,17	10,60	7,3 à 7,66
<u>22</u>	1,26 1,46	2,41	4,09 et 4,21	5,07	5,19	5,96	6,60	7,81	10,45	-	-	-
<u>19</u>	1,25 1,45	2,63	4,09 et 4,19	5,06	5,18	5,95	6,52	7,78	10,65	2,03	-	7,32 à 7,66

Tableau 8 : Déplacements chimiques des protons des composés 23 (DMSO d₆, 60MHz) 22 et 19 (DMSO d₆, 400 MHz).

Dans le spectre de masse haute résolution on remarque, comme pour les produits 17 et 18, qu'il n'y a pas le pic moléculaire correspondant à 19 mais on observe des chemins réactionnels complexes (voir annexe p. 97).

II. REACTIVITE :

A/ RESULTATS EXPERIMENTAUX :

La réactivité des molécules préparées précédemment a été examinée dans les conditions solvolytiques suivantes :

* Solvants non aqueux (et non nucléophiles) :

Dans le but de limiter la réaction d'hydrolyse nous avons employé des solvants non nucléophiles : le DMSO et la DMF, et à pouvoir ionisant croissant : le trifluoroéthanol (TFE) et l'hexafluoroisopropanol (HFIP) pour favoriser une rupture hétérolytique de la liaison N-O.

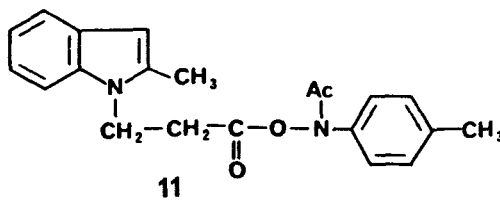
La formamide a également été utilisée dans la mesure où elle favorise les interactions entre les groupements non polaires et peut être comparée à l'eau (43).

* Solvants aqueux :

Nous avons choisi un mélange acétone-eau à divers pH, de manière à comparer nos résultats avec ceux de G. UNDERWOOD (28) lors des études solvolytiques du (N-acétoxy N-acétyl)amino-2 fluorène 4.

Les essais de réactivité ont été suivis par chromatographie liquide haute performance (CLHP) avec un gradient de solvant allant d'un mélange eau (pH = 2,5) - méthanol (50-50 v/v) au méthanol 100 % en 10 minutes. Les produits sont détectés à 254 et 280 nm.

1/ ETUDE DU COMPOSE 11 :



a. Essais solvolytiques :

Nous avons observé :

* La grande stabilité du produit 11 dans la DMF et le DMSO : il reste inchangé après 5 jours à 50°C.

* que dans le trifluoroéthanol à reflux, à une concentration de $2,5 \cdot 10^{-3}$ mole/l, la solvolysé est lente : le produit 11 a totalement disparu après 3 jours de réaction. Parmi les produits formés il y a un produit majoritaire, le composé 25. Nous l'avons isolé et identifié comme résultant du réarrangement de la fonction ester d'acide hydroxamique sur le cycle toluène.

* que dans un mélange acétone-eau (tamponnée à pH = 7) : 60-40 v/v à 40°C à une concentration de $2,8 \cdot 10^{-3}$ mole/l, la réaction est très lente : après 8 jours il subsiste toujours du produit de départ 11 ; on observe la formation des produits d'hydrolyse de la fonction ester d'acide hydroxamique conduisant aux produits 7 et 10. On ne décèle pas la présence du produit de réarrangement 25.

* qu'il est impossible d'isoler un produit de réaction sur le noyau indole.

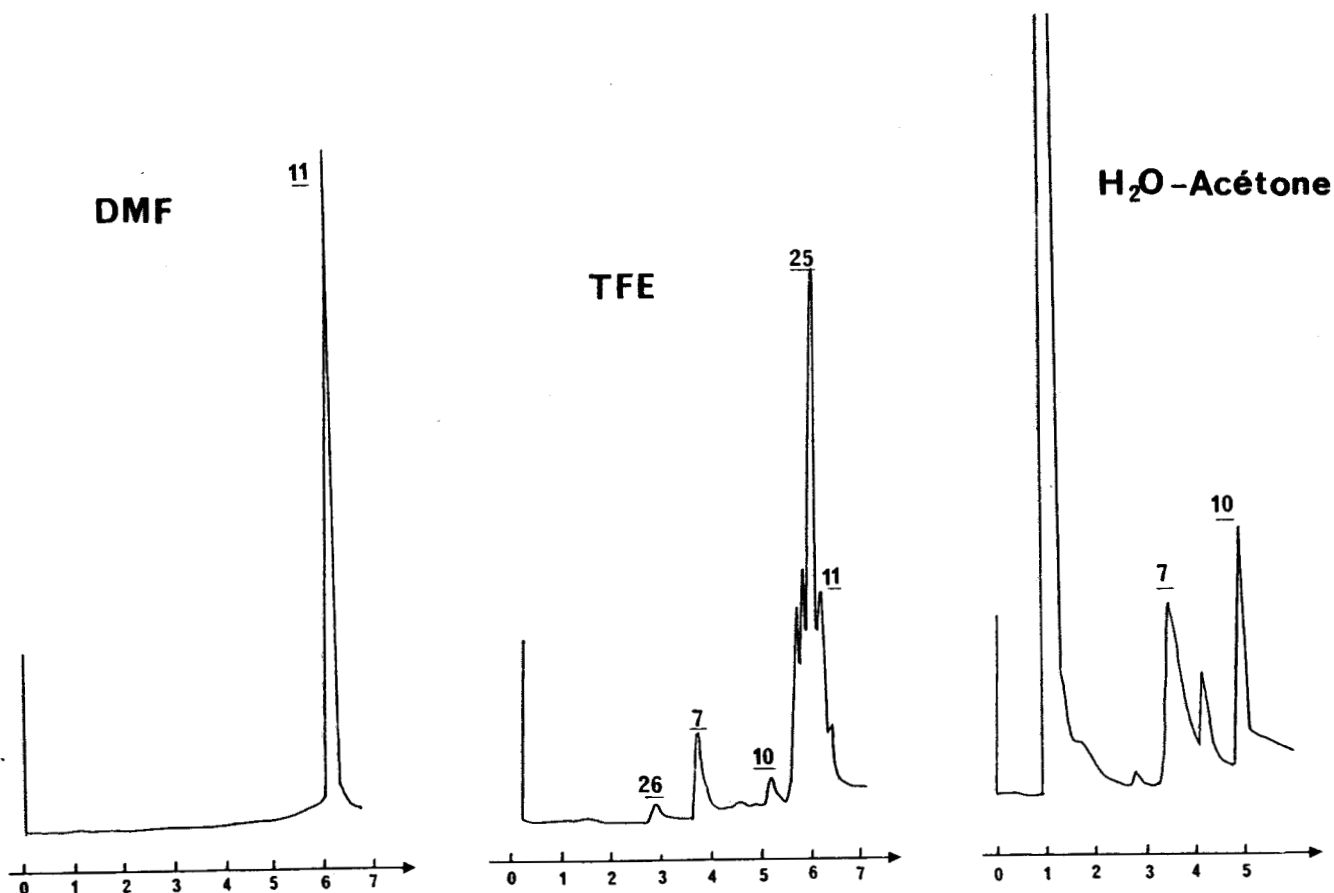
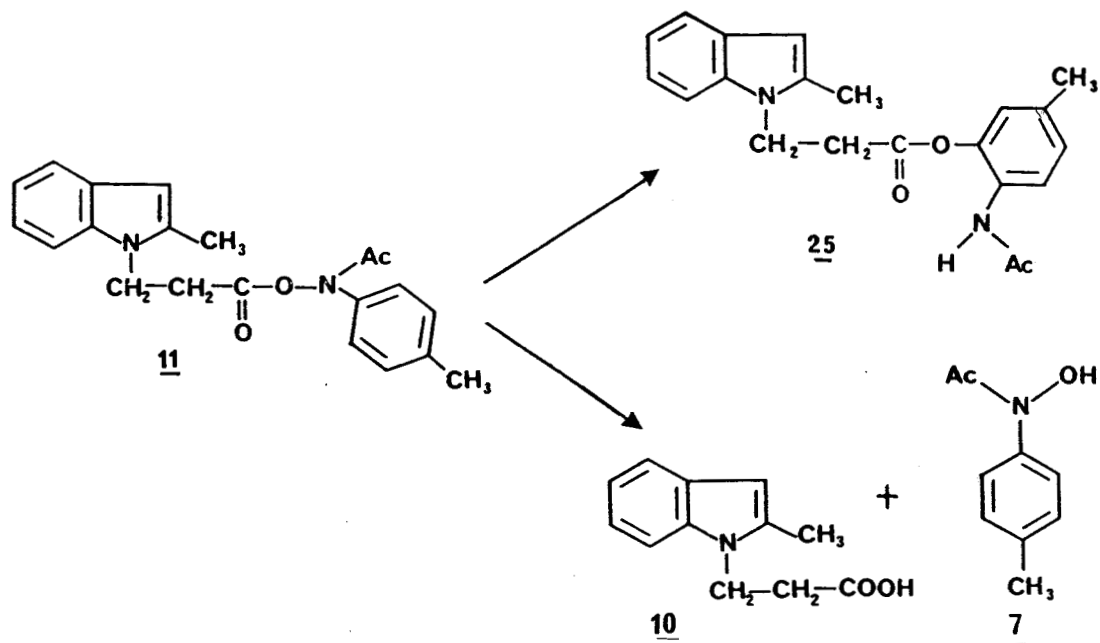


Schéma 10 : Analyses par CLHP à 254 nm de l'évolution du produit 11 dans les solvants : DMF (3 jours), trifluoroéthanol (TFE 5h15 mn) et acétone-eau pH = 7 (8 jours).



HMDS

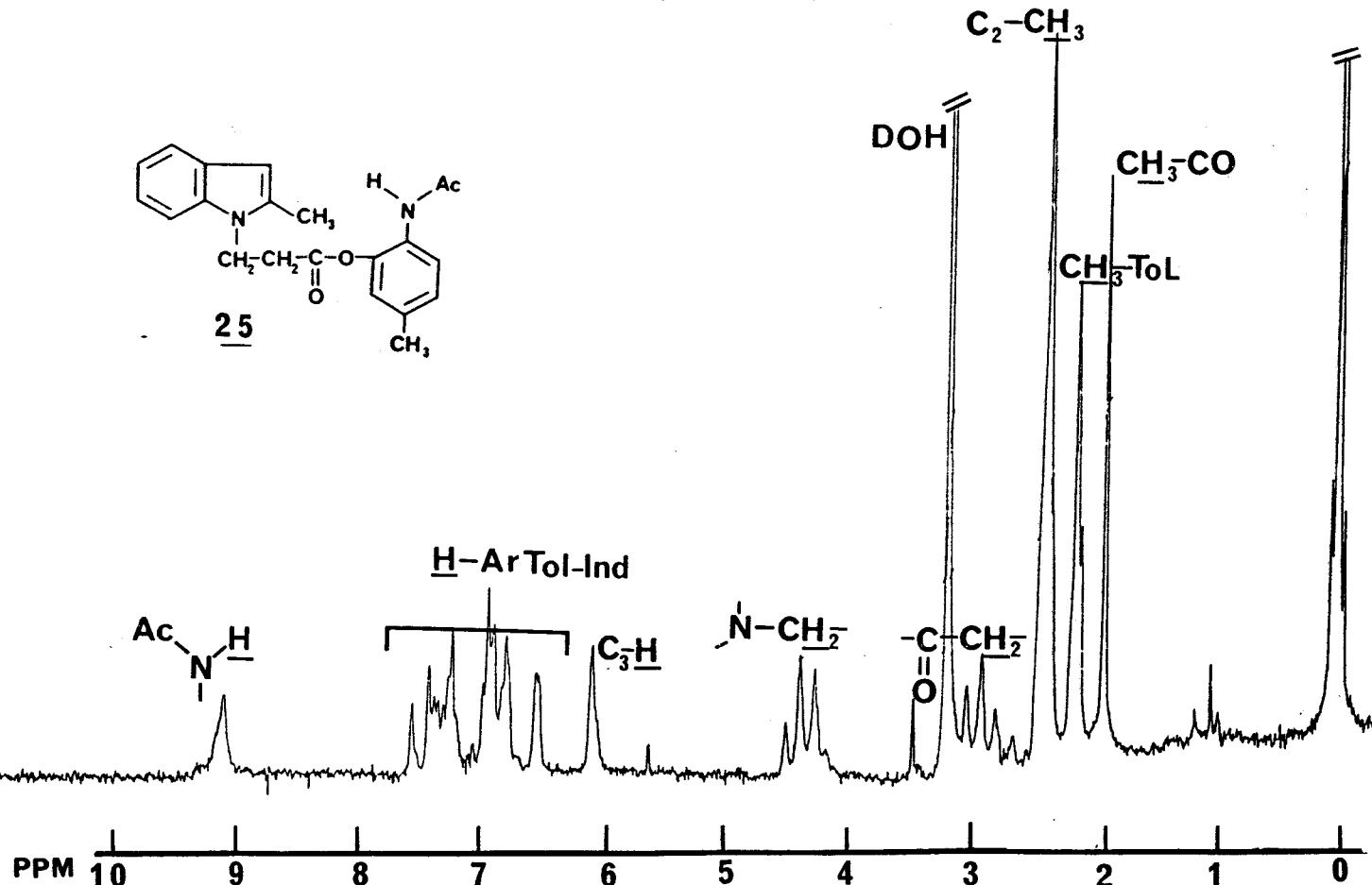
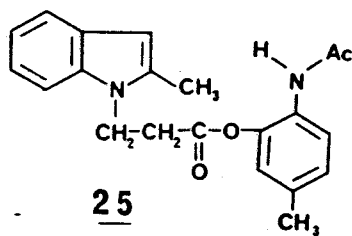
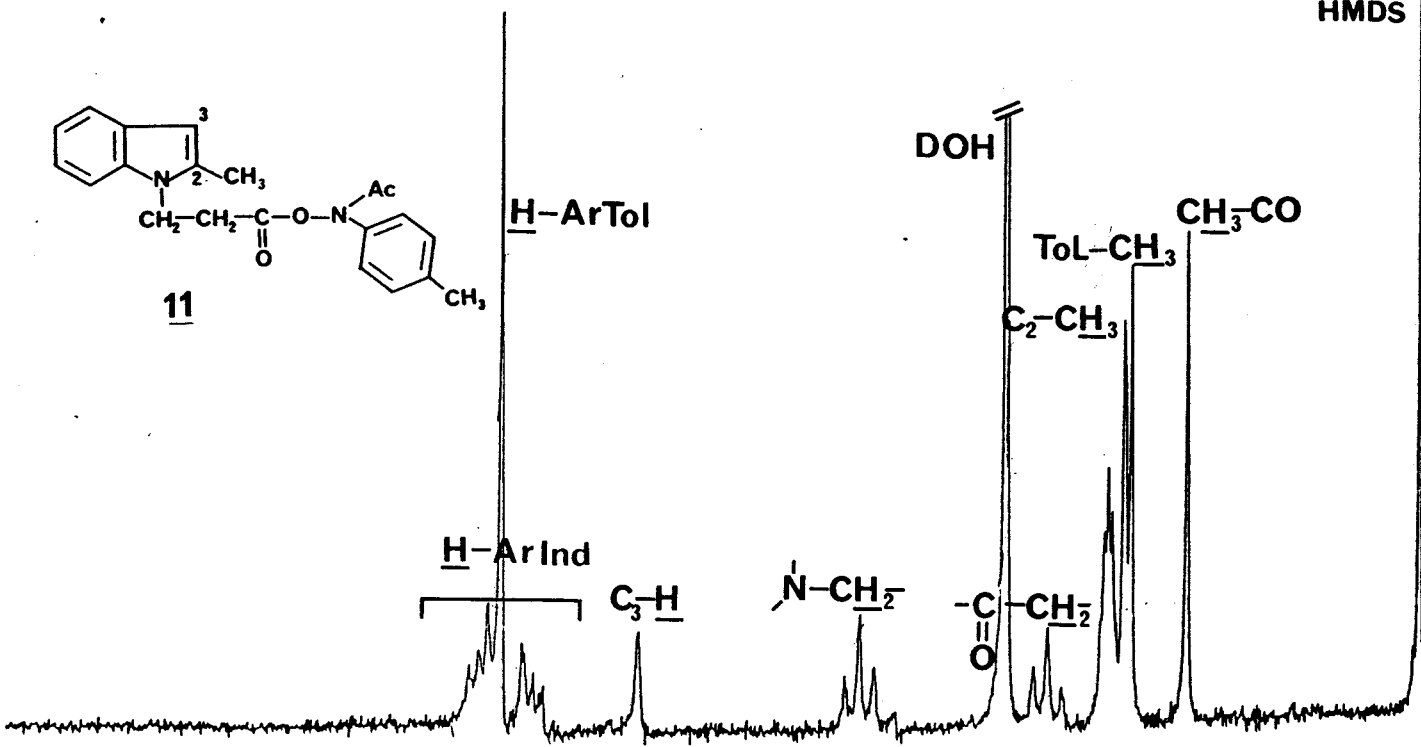
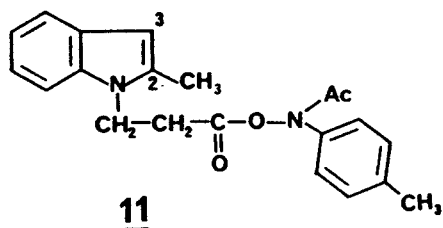
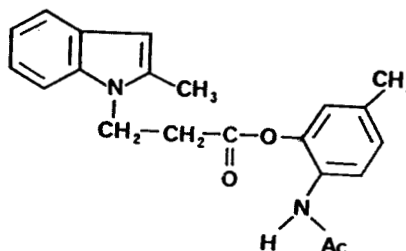


Schéma 11 : Spectres de RMN du proton des produits 11 et 25 (DMSO d₆, 60 MHz).



b. Structure du composé 25 :



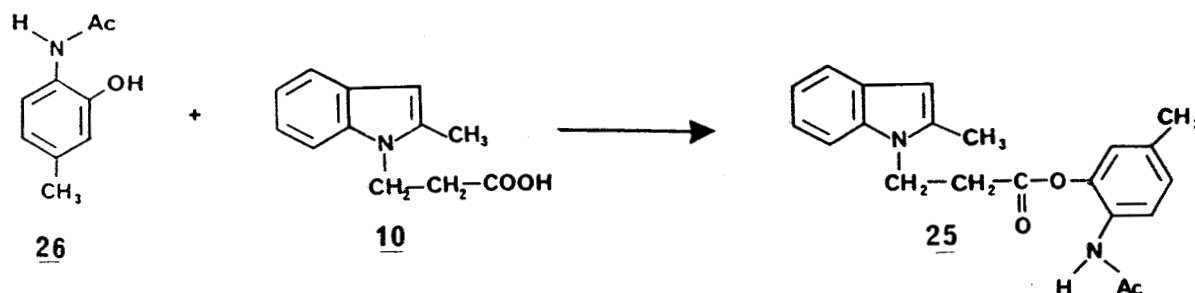
*) Caractérisation :

Nous l'avons identifié par :

- Spectrométrie de masse : on observe le pic moléculaire à $m/e = 350$ (correspondant aussi à la masse du produit de départ 11).
- RMN du proton : on remarque
 - . L'apparition d'un pic à 9,2 ppm correspondant au proton de la fonction acétamide.
 - . La modification du signal des protons aromatiques du noyau toluène : le singulet observé pour 11 devient un système complexe pour 25 (il intègre pour 3 protons).
 - . La persistance du singulet du proton porté par le C_3 de l'indole.
 - . La présence des signaux correspondant au noyau indole et à la chaîne éthylénique.

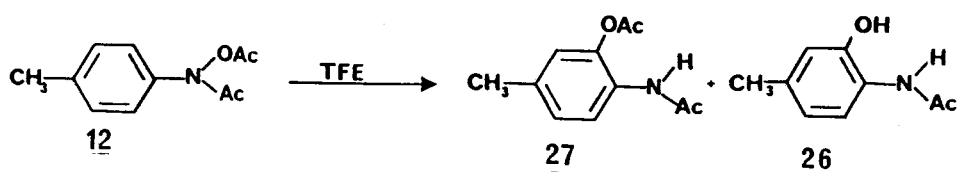
*) Synthèse :

Pour confirmer la structure de 25, nous en avons réalisé la synthèse par couplage de l'acide 10 et du N-acétylamino-4 hydroxy-3 toluène 26.



Nous avons synthétisé le composé 26 selon la méthode décrite par L. HORNER (25) par réarrangement de 12 suivi d'une hydrolyse sélective du groupement O-acétyl.

Le produit 12 est porté à reflux 16 heures dans le trifluoroéthanol sous atmosphère d'azote, il s'est alors formé le produit de réarrangement attendu 27 et un peu de dérivé 26 issu de l'hydrolyse de 27.



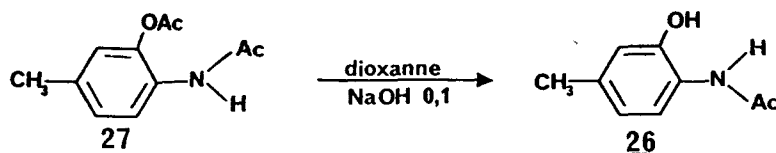
Le composé 27 est purifié par chromatographie sur colonne de silice ; sa structure est confirmée par les spectres de RMN du proton et du carbone :

* Dans le spectre du proton on voit :

- l'apparition d'un signal à 9,22 ppm correspondant au proton de la fonction acétamide.
- les protons aromatiques qui résonnent sous forme de trois signaux à 6,75, 6,94 et 7,65 ppm et qui intègrent pour 1 proton chacun (pour le composé 12 on a un seul signal à 7,33 ppm intégrant pour 4 protons).

* Dans le spectre de ¹³C : Les trois carbones du cycle aromatique (non substitués) sont différents et résonnent à 124,19, 121,9 et 121,22 ppm (pour le composé 12 les quatre carbones du cycle aromatique (non substitués) sortent sous forme d'un seul signal à 127,7 ppm).

Le produit 27 est ensuite hydrolysé dans le dioxanne avec une solution de soude. On obtient 26 avec un bon rendement.



Le spectre de RMN du proton de 26 montre :

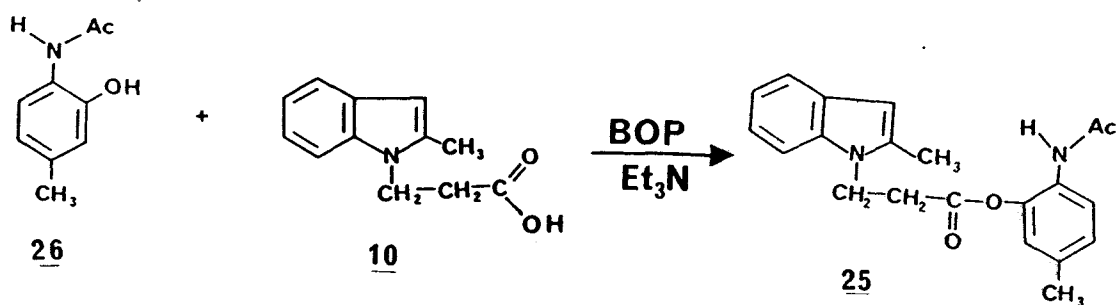
- La disparition du signal du méthyle du groupement acétoxy à 2,12 ppm.
- L'apparition d'un signal échangeable à 9,64 ppm correspondant au proton de la fonction hydroxyle du phénol.
- La présence des protons aromatiques qui résonnent sous forme de trois signaux intégrant chacun pour un proton à 6,53, 6,60 et 7,41 ppm ; ils sont déblindés par rapport aux signaux du composé 27.

Les essais de couplage de l'acide 10 avec le phénol 26 en présence d'alkylchloroformiate (cf. p. 37) sont infructueux : nous n'observons pas de formation du produit de couplage, les produits de départ restent inchangés.

La méthode utilisant le DCC n'est pas satisfaisante : il n'y a qu'un très faible taux de réaction.

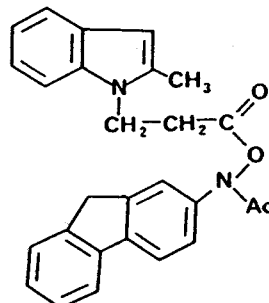
Nous avons employé un autre agent de couplage : le benzotriazoloyloxytris diméthylamino hexafluorophosphate (BOP) utilisé lors de synthèses peptidiques (44).

La réaction de condensation de 26 et 10 est faite dans l'acétonitrile à température ambiante en présence de triéthylamine.



Le composé 25 est séparé du brut réactionnel par chromatographie sur plaque préparative. Les données spectroscopiques du produit ainsi obtenu sont identiques à celle du produit isolé après réaction de 11 dans le TFE.

2/ ETUDE SOLVOLYTIQUE DU COMPOSE 16 :



Le produit 16 est solubilisé dans les solvants : trifluoroéthanol (TFE), hexafluoroisopropanol (HFIP) et eau-dioxanne : 40-60 v/v. Après trois jours à température ambiante on observe dans chacune des solutions la formation du même produit majoritaire X :

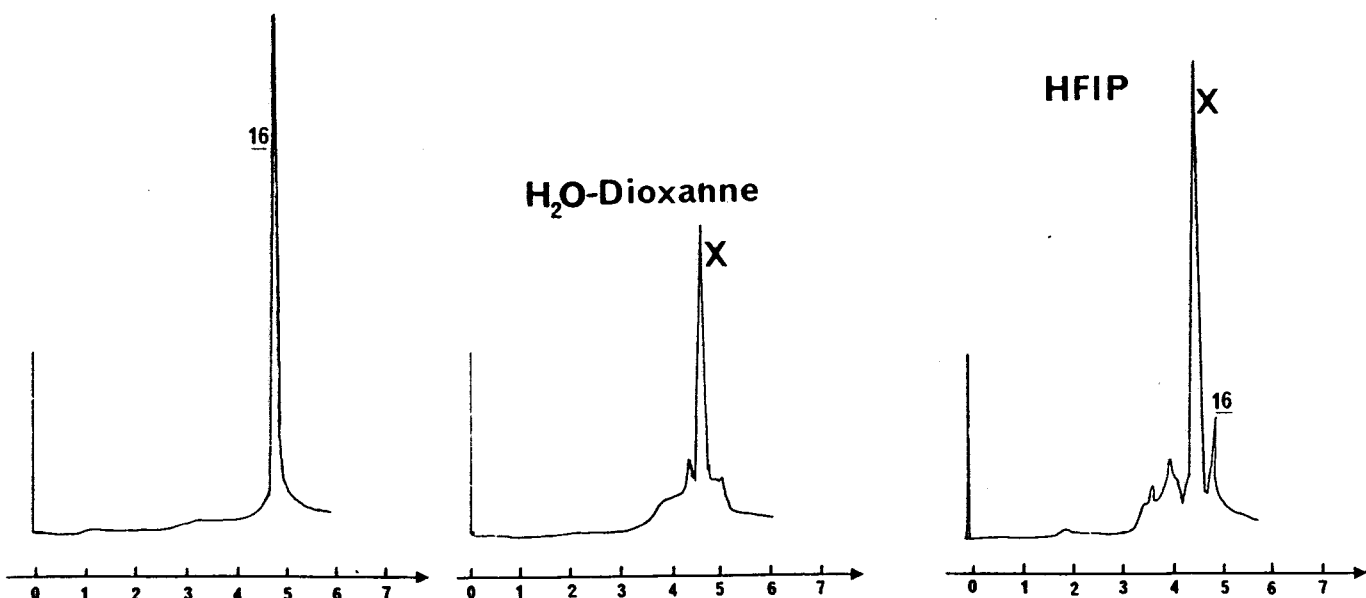
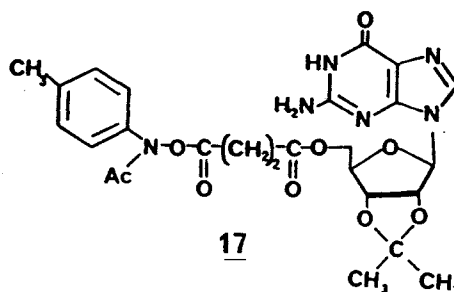


Schéma 12 : Analyses CLHP à 254 nm du composé 16 et de sa réaction dans l'eau-dioxanne (3 jours) et l'hexafluoroisopropanol (3 jours) à température ambiante.

Malgré nos essais répétés, nous n'avons pas réussi à isoler et caractériser ce produit X, celui-ci est instable.

3/ ETUDE DU PRODUIT 17 :



a. Etude solvolytique :

- * dans le trifluoroéthanol à reflux (80°) après trois jours de réaction, 17 reste prépondérant mais on remarque la formation d'un produit 28.
- * dans l'hexafluoroisopropanol à reflux (60°C), après 16 heures de réaction le produit 17 a totalement disparu et il s'est formé le produit 28 de façon majoritaire.
- * dans la formamide à 60°C, on observe l'hydrolyse du composé 17 (donnant les dérivés 22 et 7) et la formation du produit 28.

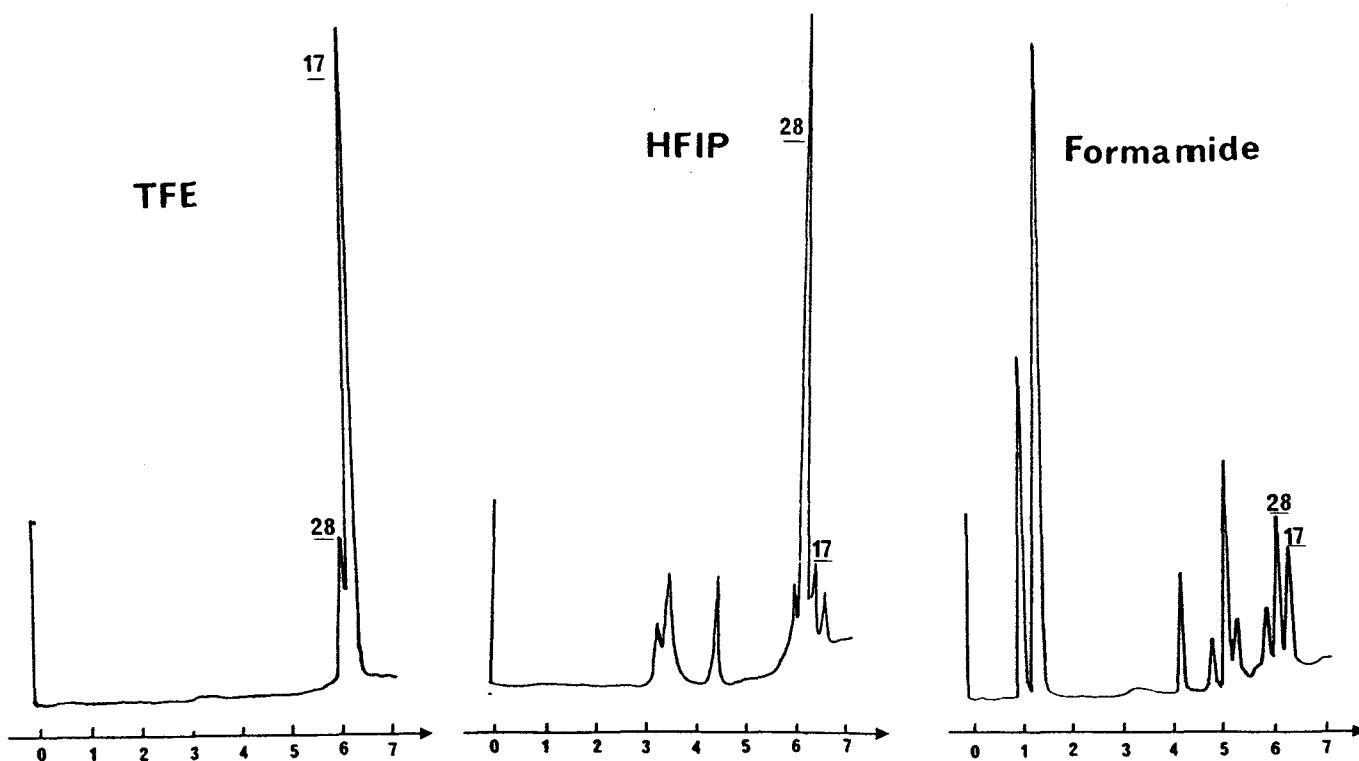
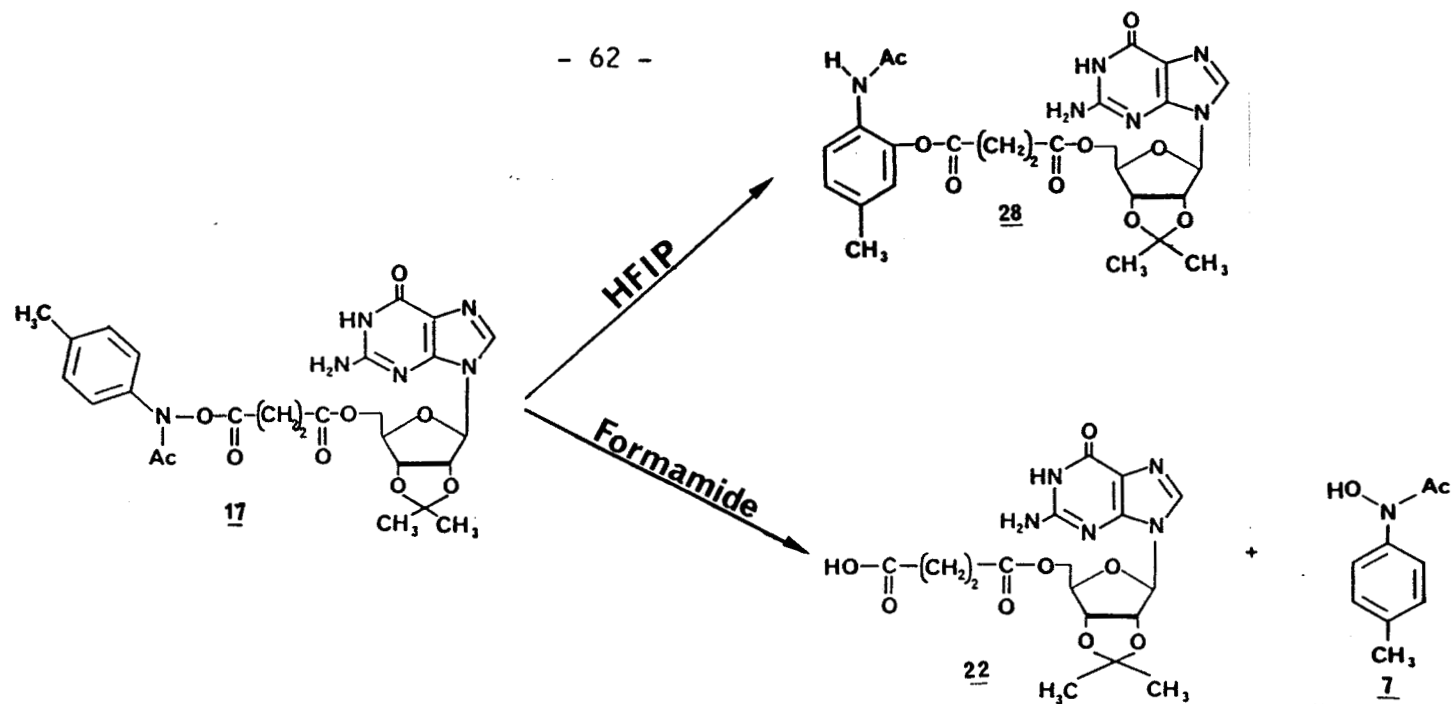
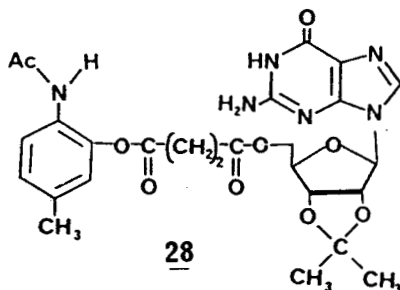


Schéma 13 : Analyses CLHP à 254 nm de la décomposition du produit 17 dans le trifluoroéthanol (TFE, 3 jours), l'hexafluoroisopropanol (HFIP, 10 h), la formamide (10 h).



b. Structure de 28 :

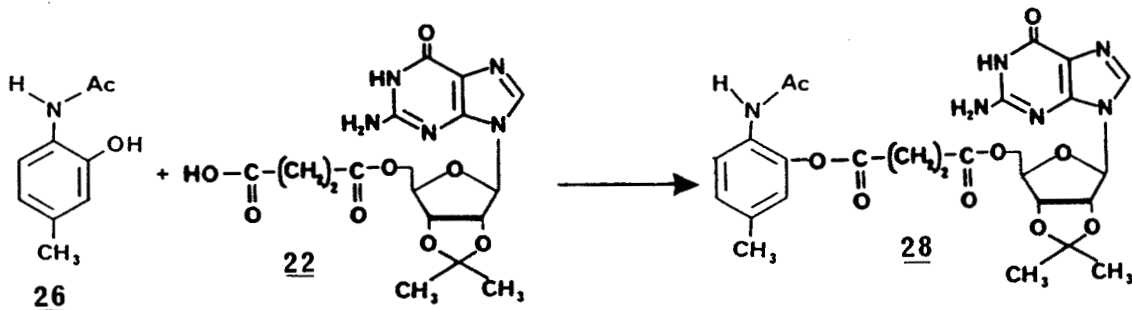


* Caractérisation :

Le dérivé 28 correspond au réarrangement de la fonction ester d'acide hydroxamique sur le cycle du toluène. Les différentes données spectroscopiques et notamment le spectre de RMN du proton qui est décrit dans l'annexe p. 101, sont en faveur de la structure postulée.

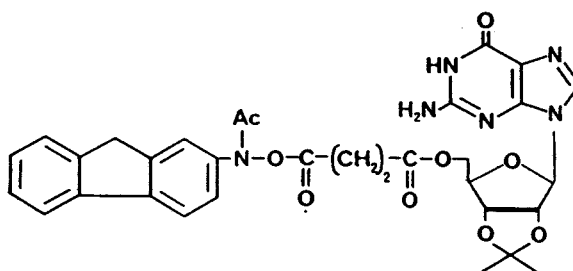
* Synthèse :

La structure a été confirmée par synthèse : elle a été réalisée selon la méthode déjà décrite (p. 59) pour le composé 25. La condensation des produits 26 et 22 dans la DMF en présence de BOP donne le dérivé 28.



Après purification sur plaque préparative de silice, nous obtenons un produit ayant les mêmes caractéristiques spectroscopiques que le produit isolé lors de la solvolysé dans le HFIP.

4/ ETUDE DU COMPOSE 18 :



Pour étudier la réactivité de 18, nous nous sommes placés dans les conditions de solvants et températures suivantes :

- chlorure de méthylène à reflux.
- trifluoroéthanol, formamide, mélange : acétone-eau (pH = 4, 7, 9,2) 60-40 v/v à 40°C sous atmosphère d'azote ; les solutions étudiées ont une concentration de 1,2 à 1,3.10⁻³ mole/l.

a. Etude dans le chlorure de méthylène :

La réaction est lente mais sélective : après 27 heures à reflux on obtient un seul type de produit 29.

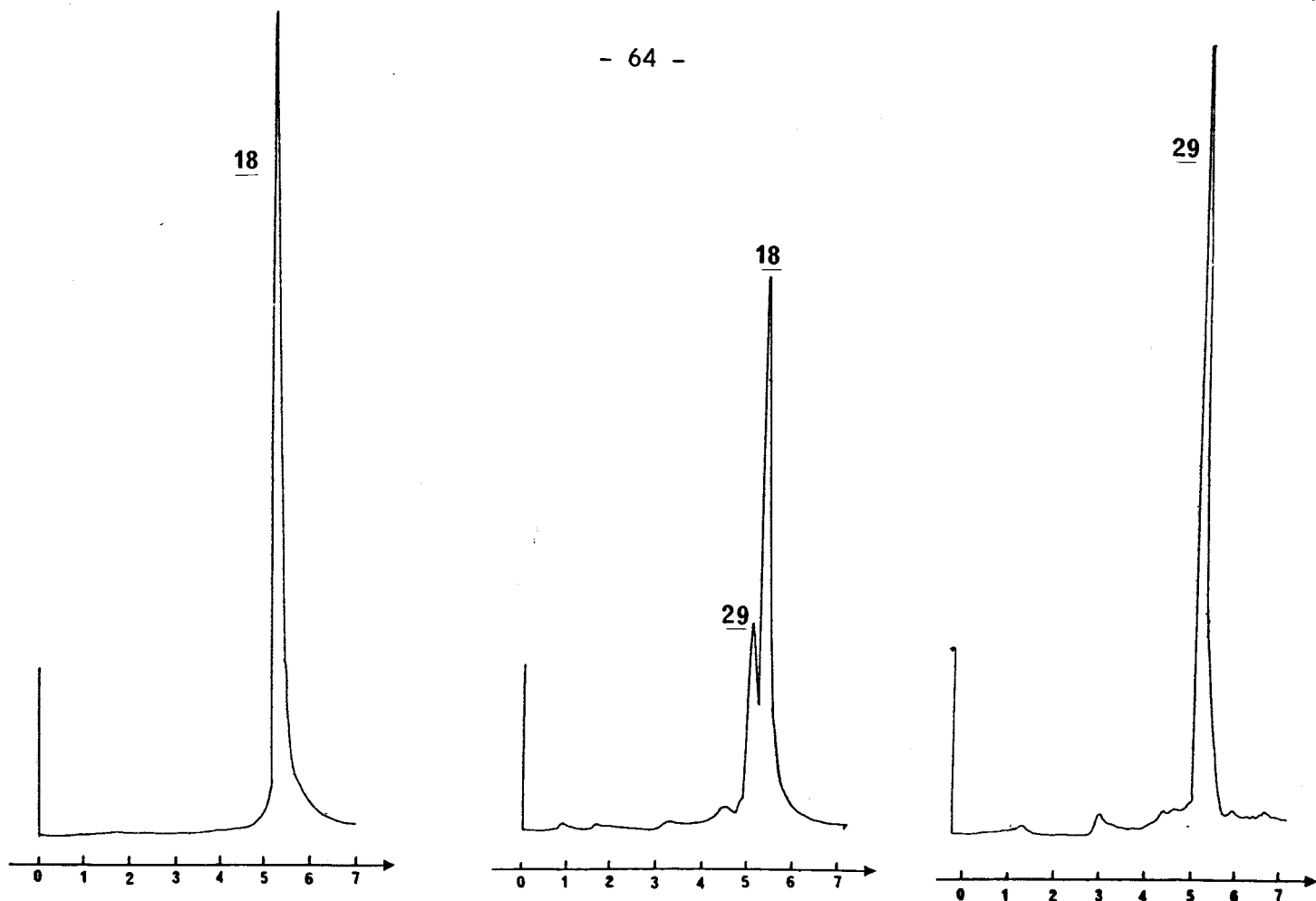
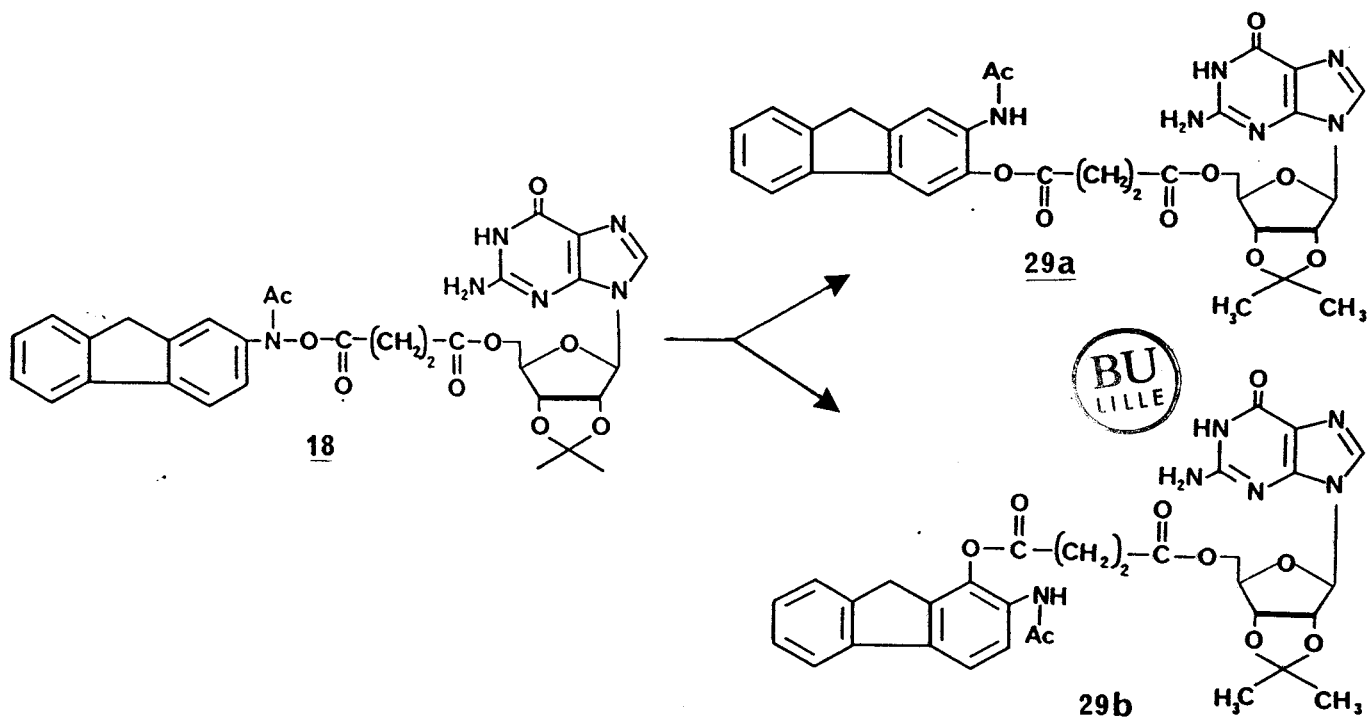


Schéma 14 : Analyses CLHP de l'évolution du produit 18 dans le chlorure de méthylène à t = 0h, 7h et 3 jours à 40°C.

Le produit 29 a été isolé en fin de réaction et identifié (cf. interprétation du spectre de RMN du proton p. 105); il correspond à un mélange de deux isomères "réarrangés" (en position 1 et 3 sur le noyau fluorène).



b. Etude dans le trifluoroéthanol (TFE) :

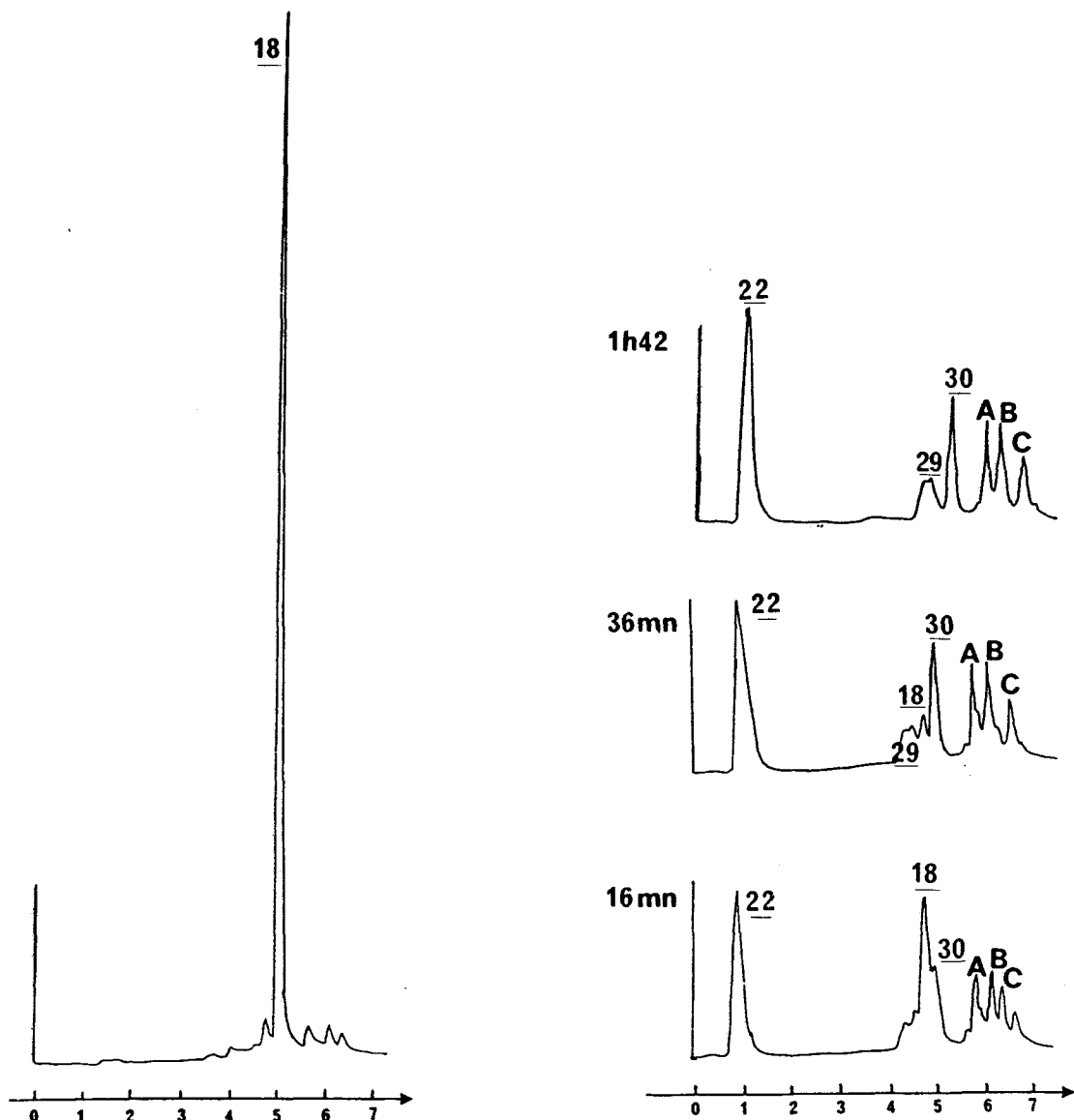


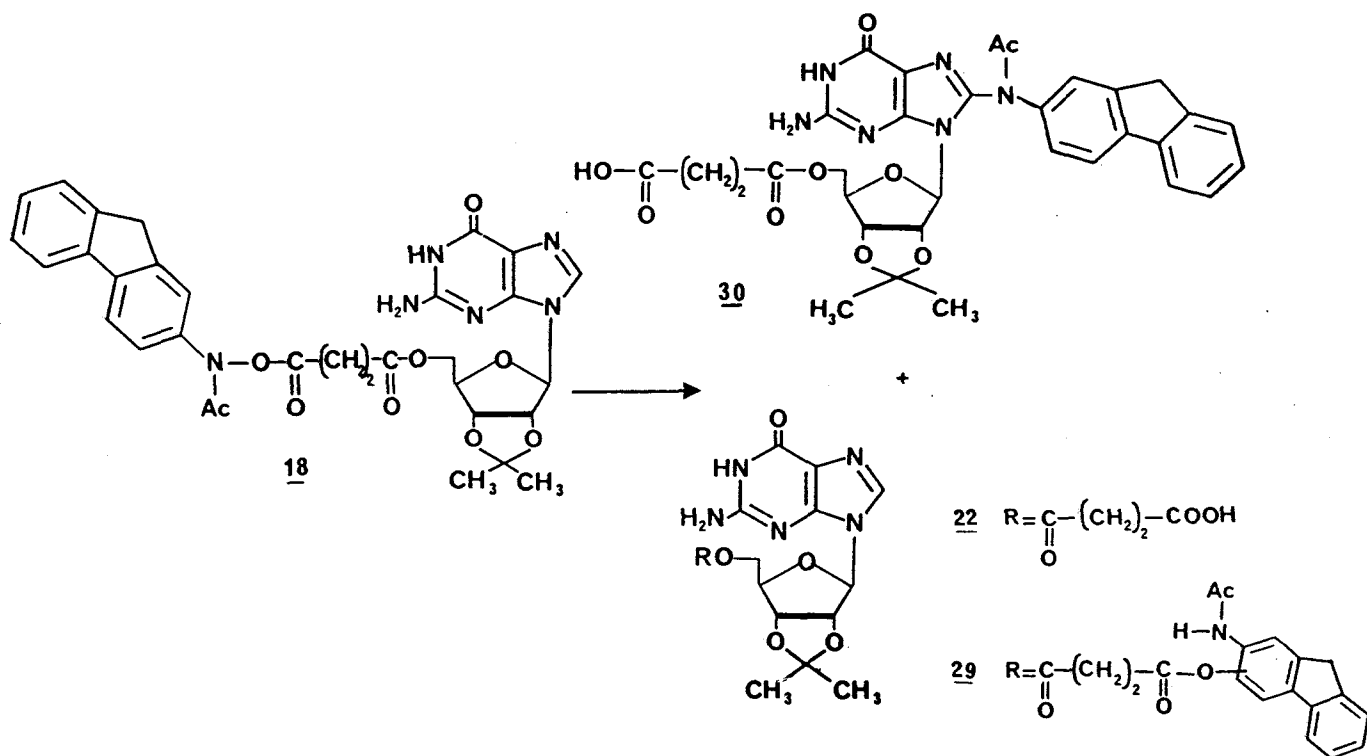
Schéma 15 : Analyses CLHP de la décomposition du composé 18 dans le trifluoroéthanol (TFE) à 40°C à t=0h, 16mn, 36mn et 1h42mn.

On remarque après 1 h 40 mn, la disparition du produit 18 et la formation :

- des produits 29 correspondant au réarrangement de la fonction ester d'acide hydroxamique sur les positions 1 et 3 du noyau fluorène (que nous appellerons produits de réarrangement).

- de l'acide (0,0'-isopropylidène-2',3' carboxy-5' guanosyl)-3 propa-
noïque 22 résultant de l'hydrolyse de la fonction ester d'acide
hydroxamique (que nous appellerons produit d'hydrolyse). Nous n'avons
pas tenté d'isoler et d'identifier le résidu acide hydroxamique, car
très vraisemblablement celui-ci s'est modifié dans le milieu pour
conduire aux produits correspondants aux pics (A, B, C) observés en
CLHP (p. 65), qui ont des temps de rétention supérieurs à celui de 30.

- d'un produit 30. Nous avons isolé ce composé. L'étude du spectre de
RMN du proton à 400 MHz nous permet de conclure que 30 est le produit de
fixation du N-acétylamino-2 fluorène sur le C₈ de la guanine : il
correspond au produit que nous cherchons à synthétiser (cf. introduction
p. 25). (Nous le nommerons produit de substitution 30).



Les produits 29 et 30 ont été isolés et identifiés (cf. annexe p. 105).
Nous ne pouvons avoir par CLHP qu'un bilan très approximatif, de la réaction :
les chromatogrammes étant mal résolus. Il s'est formé 10 % de 29, 20 % de 30
et au moins 50 % de 22.

c. Etude dans la formamide :

La réaction est suivie pendant 4 heures, c'est-à-dire jusqu'à la disparition du produit 18 (la formamide est détectée dans les conditions d'analyse : c'est le premier pic observé sur les chromatogrammes).

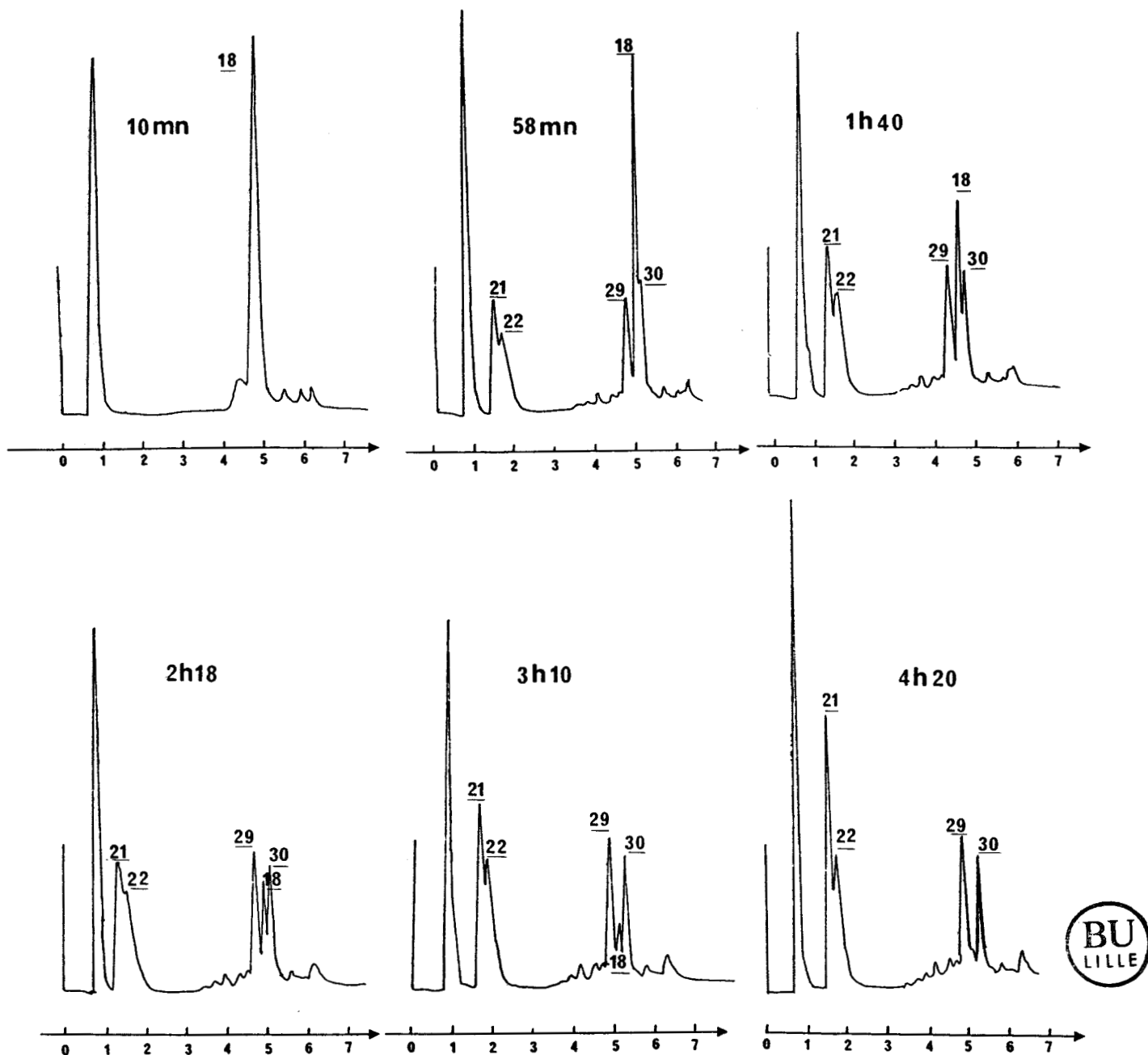
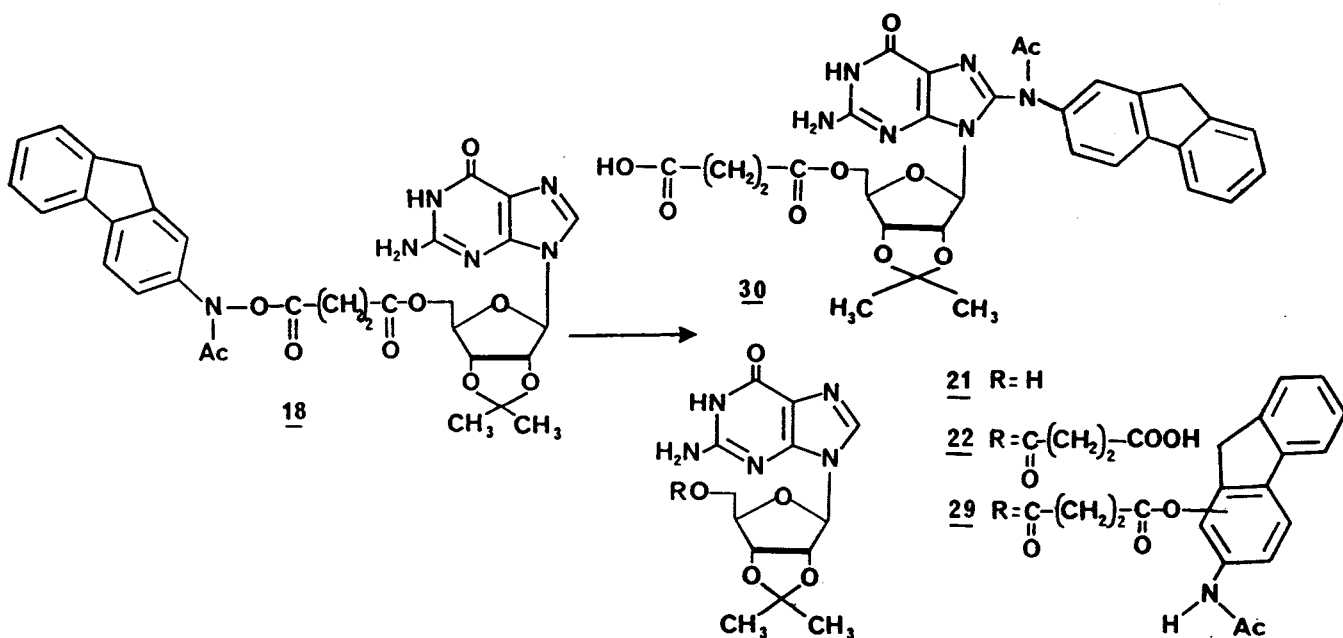


Schéma 16 : Analyses CLHP de la décomposition du composé 18 dans la formamide à 40°C à t=10 mn, 58 mn, 1h40mn, 2h18mn, 3h10mn et 4h20mn.

- En fin de réaction, on obtient :
- 40 % de 0,0'-isopropylidène-2',3' guanosine 21.
 - 20 % de produit d'hydrolyse 22.
 - 18 % de produit de substitution 30.
 - 20 % de produits de réarrangement 29.



Après 4 heures dans la formamide à 40°C, les composés 22, 29 et 30 ne se décomposent pas. Le produit 21 provient donc uniquement du produit 18 par une hydrolyse de la fonction ester en 5'.

La vitesse de disparition du composé 18 en fonction du temps est une réaction de pseudo-premier ordre, avec une constante de vitesse de $2,16 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ et un temps de demi-durée de vie $t_{1/2} = 52$ minutes.

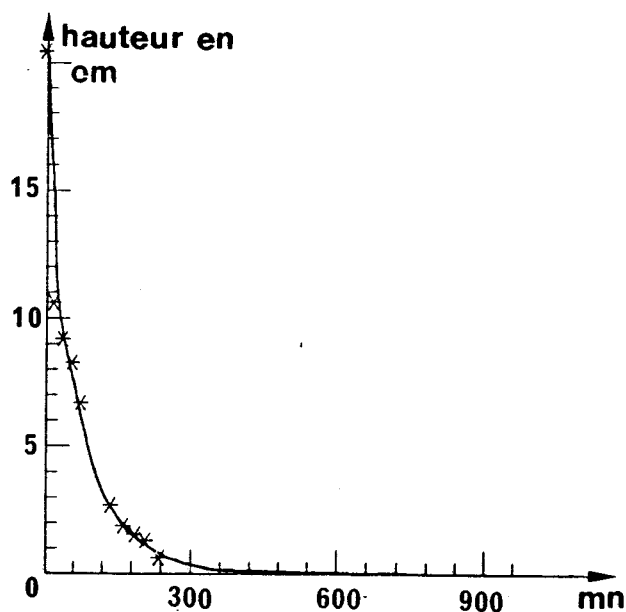


Schéma 17 : Evolution de la disparition de 18 en fonction du temps.

d. Etude dans les mélanges acétone-eau (tamponnée à pH = 4, 7 et 9,2)
dans la proportion 60-40 v/v :

Nous utiliserons un étalon interne : le fluorène, pour pouvoir vérifier la répétitivité de nos injections et calculer le pourcentage des différents produits formés. Le fluorène est inerte dans ces conditions et son temps de rétention n'interfère pas avec ceux des produits obtenus. L'acétone est le premier pic du chromatogramme.

1. Eau tamponnée à pH = 4 :

Nous avons suivi la solvolysé du produit 18 pendant 7 heures.

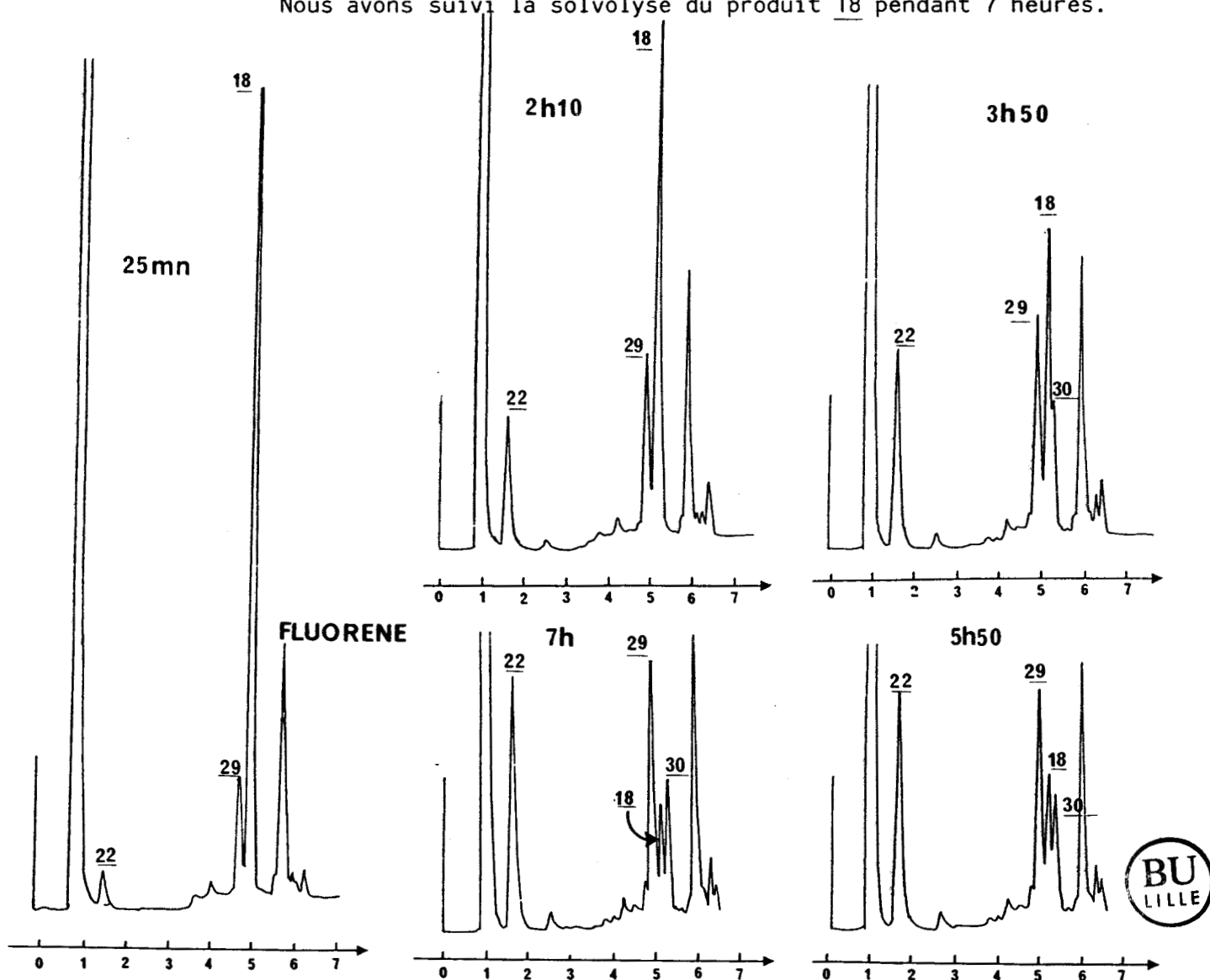
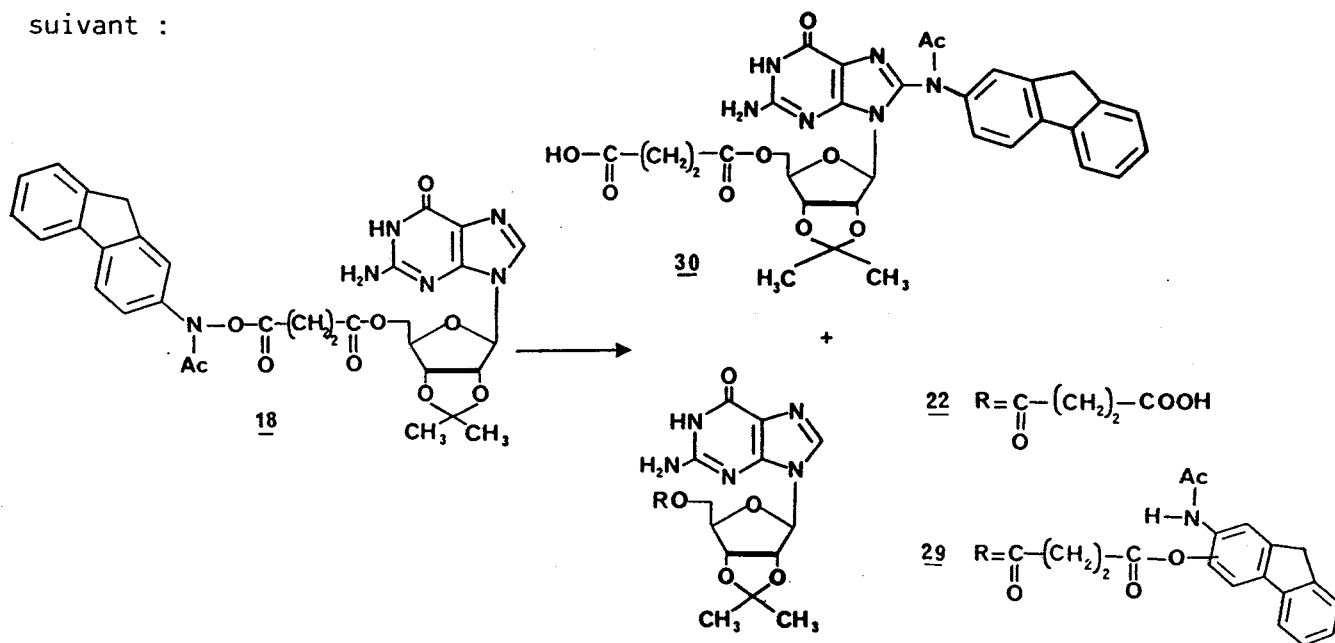


Schéma 18 : Analyses CLHP à 254 nm de la décomposition du composé 18 dans l'acétone-eau (pH = 4) à 40°C à t = 25 mn, 2h 10 mn, 3h50 mn, 5h50 mn et 7 h.

Après 7 heures de réaction, le produit 18 est encore présent dans le milieu et il s'est formé les produits d'hydrolyse 45 % 22, de substitution 18 % 30 et de réarrangement 35 % 29.

Nous avons vérifié que dans le mélange acétone-eau (pH = 4) à 40°C les produits 22, 29 et 30 sont stables; on peut donc écrire le schéma réactionnel suivant :



La disparition du produit 18 est de pseudo-premier ordre, sa vitesse est de $8,83 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ et son $t_{1/2} = 129$ minutes. Ces résultats sont donc très comparables à ceux obtenus à pH = 7.

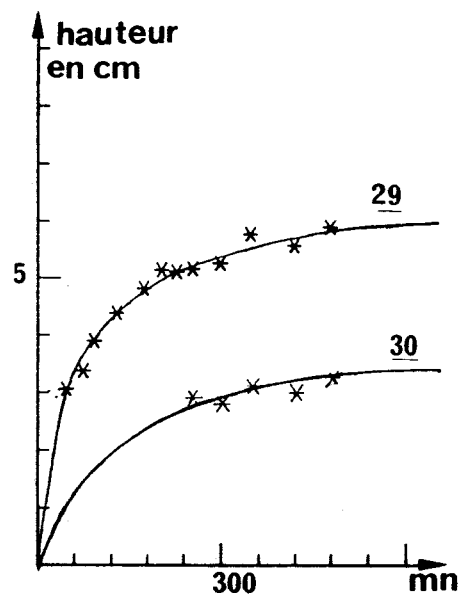
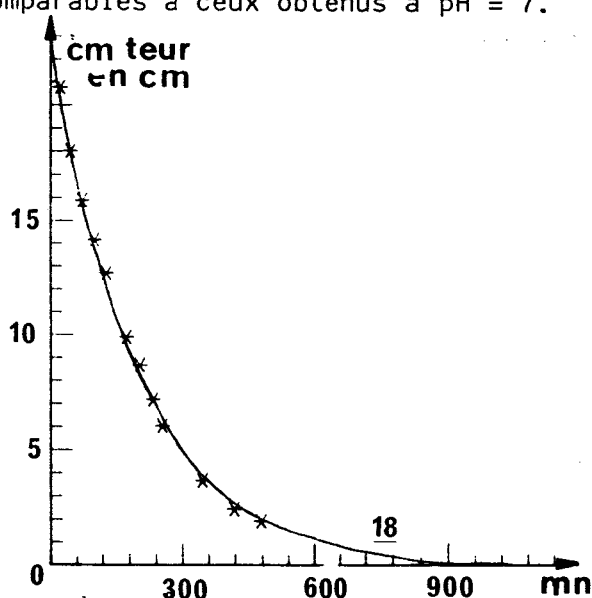


Schéma 19 : Evolution de la disparition de 18 et de l'apparition de 29 et 30 en fonction du temps.

2. Eau tamponnée à pH = 7 :

Le produit 18 disparaît lentement et les mélanges réactionnels observés au cours du temps sont assez simples à interpréter comme on peut le constater sur les chromatogrammes suivants :

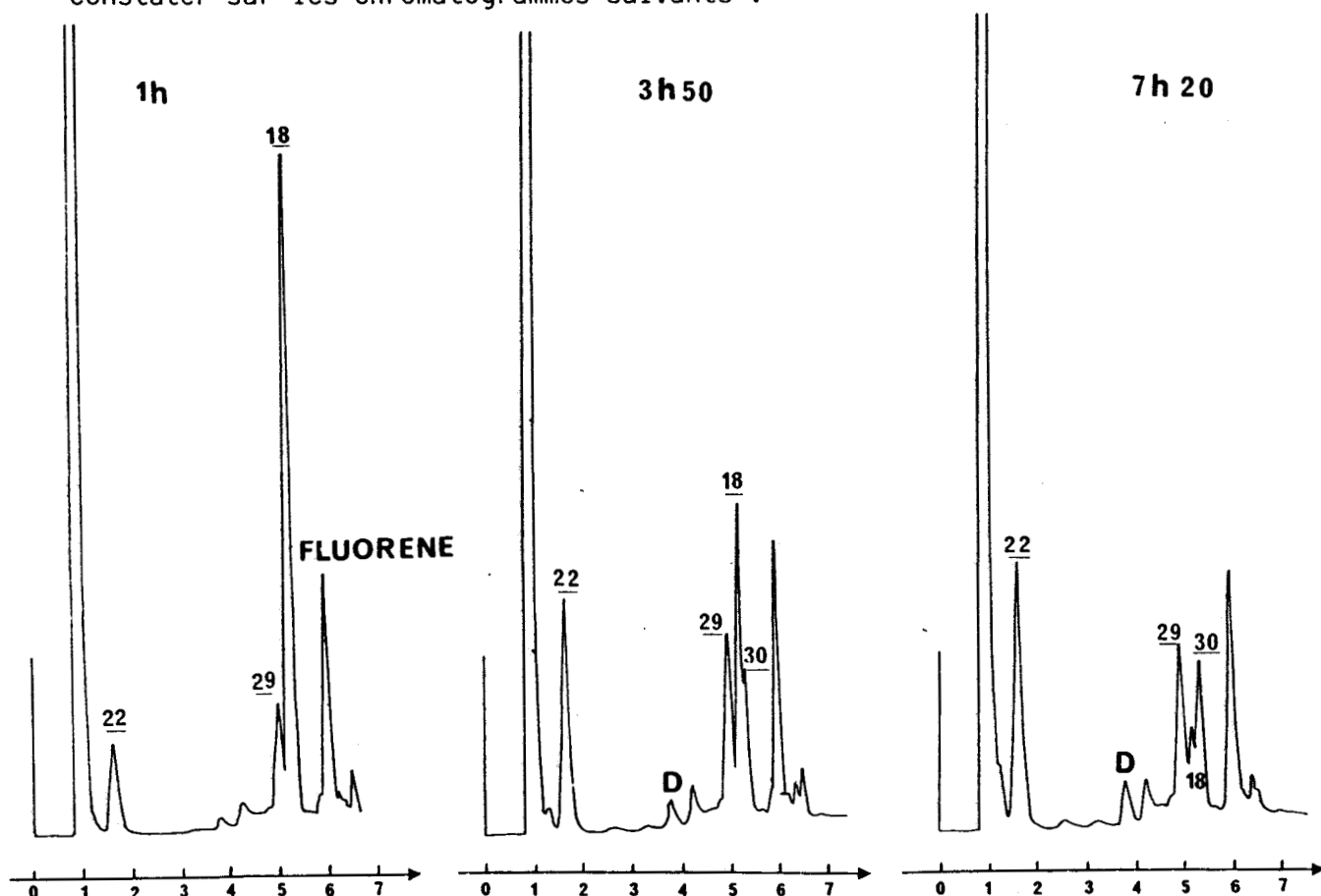
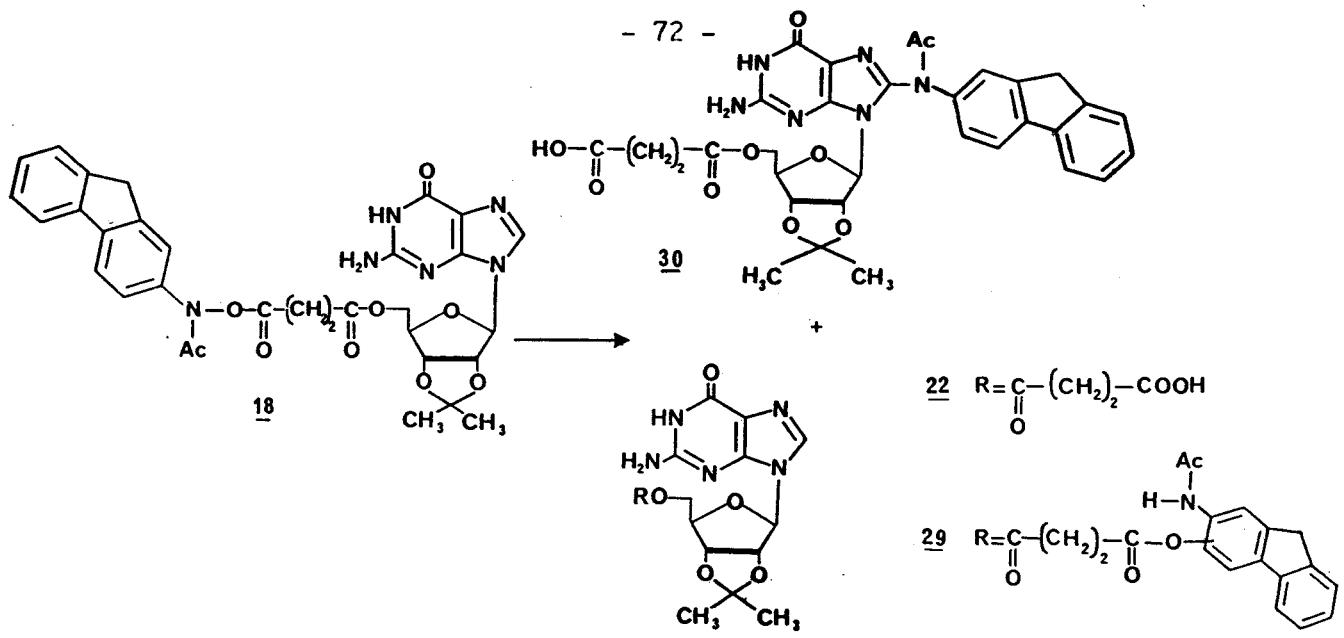


Schéma 20 : Analyses CLHP de l'évolution du composé 18 dans l'acétone-eau (pH = 7) à 40°C à t = 1h, 3h50 mn, 7h20 mn.

Le produit 18 après 7 heures de réaction n'a pas totalement disparu ; dans le mélange acétone-eau (pH = 7) il s'est formé :

- du produit d'hydrolyse 22
- des produits de réarrangement 29
- du produit de substitution 30.



Nous avons vérifié les stabilités des produits 22, 29 et 30 dans ces mêmes conditions solvolytiques : 22 et 30 sont stables par contre le dérivé 29 se décompose lentement, en un produit inconnu (D) (nous le retrouvons dans la solvolysse de 18, mais nous n'avons pu ni l'isoler ni le caractériser).

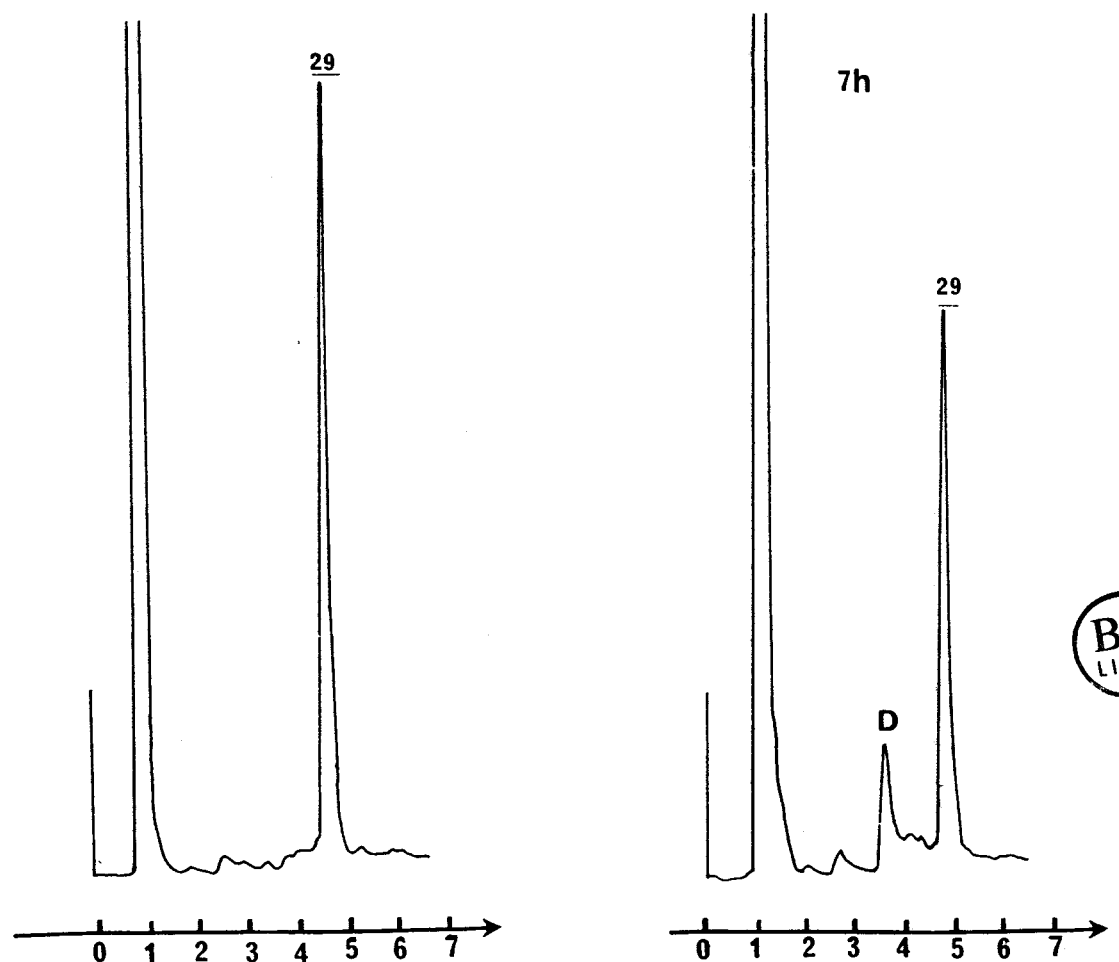


Schéma 21 : Décomposition du produit 29 dans l'acétone-eau (pH = 7) à 40°C pendant 7h.

Le produit 30 a un temps de rétention très proche de celui du composé de départ 18, aussi sa présence n'est-elle réellement détectée que lorsqu'il s'en est formé une certaine quantité (3h50mn).

Le bilan de la réaction peut être ainsi évalué à 55 % d'hydrolyse, 19 % de substitution et au moins 22 % de réarrangement du produit 18.

La disparition du produit de départ est une réaction de pseudo-premier ordre, sa constante de vitesse est de $8,83 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ et le temps de demi-durée de vie $t_{1/2} = 128$ minutes.

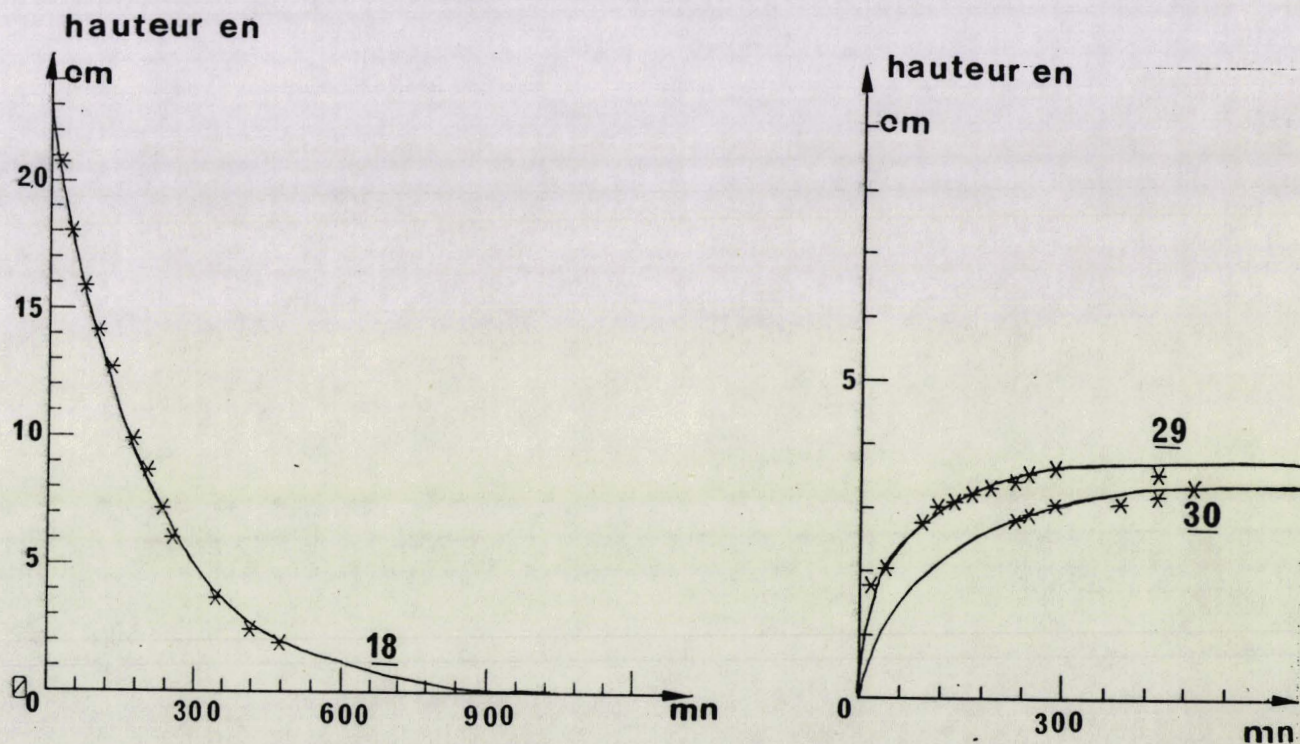


Schéma 22 : Evolution de la disparition de 18 et de l'apparition des produits 29 et 30 en fonction du temps.

3. Eau tamponnée à pH = 9,2 :

La réaction est complexe comme le montrent les chromatogrammes.

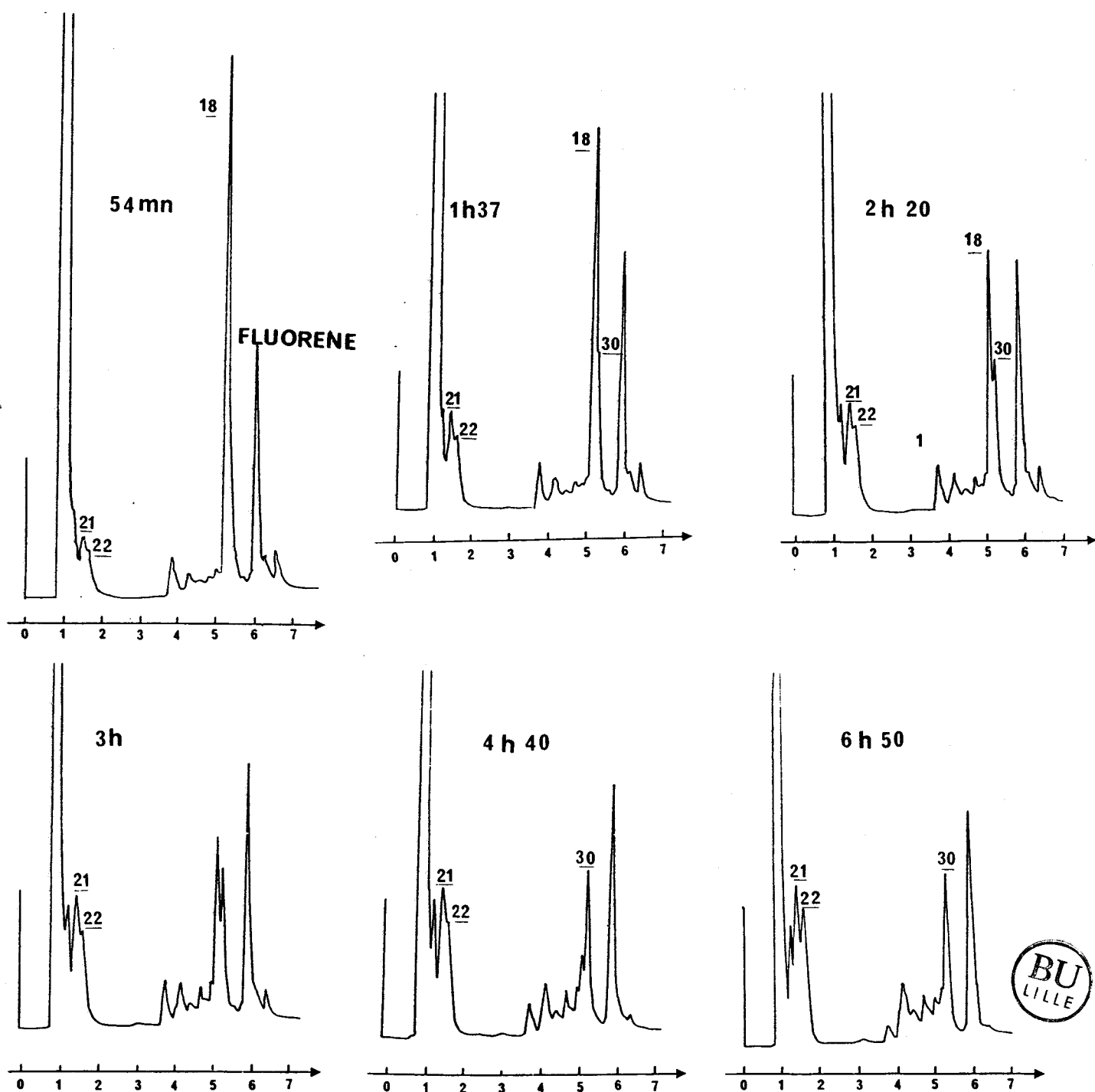


Schéma 23 : Analyses CLHP à 254 nm de l'évolution du produit 18 dans un mélange acétone-eau (pH = 9,2) à 40°C à t = 54 mn, 1h37mn, 2h20mn, 3h, 4h40mn et 6h50mn.

On peut constater qu'après 7 heures de réaction, 18 a disparu et qu'il y a alors dans le milieu :

- le produit 21 (35 %)
- le produit d'hydrolyse 22 (32 %)
- le produit de substitution 30 (30 %).

On note l'absence dans les chromatogrammes des produits de réarrangement 29, et la présence du produit 21.

Pour pouvoir expliquer cela, nous avons donc mis les produits 22, 29 et 30 dans les conditions solvolytiques utilisées pour 18. Les composés 22 et 30 sont parfaitement stables, par contre 29 se décompose rapidement et totalement (après 30 mn de réaction). Il se forme plusieurs produits parmi lesquels se trouve le produit 21. Ce qui explique donc l'absence de 29 et la formation de 21 dans ce milieu.

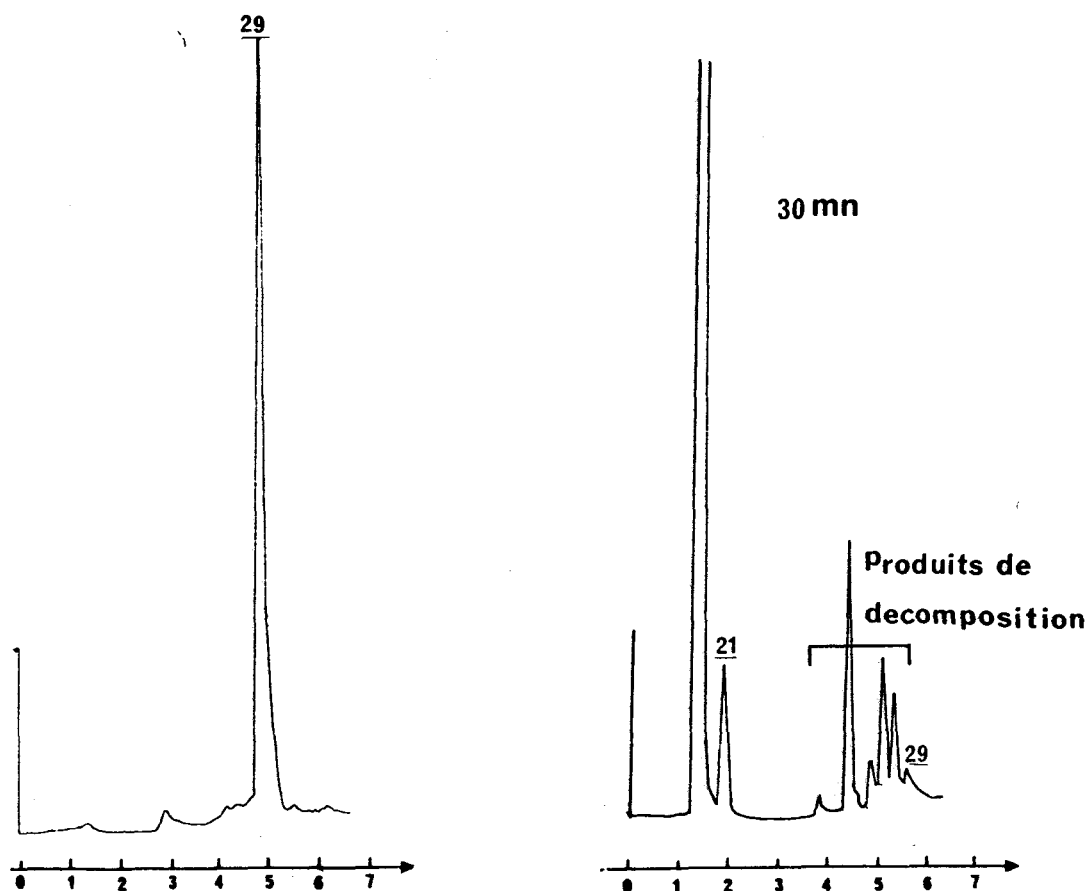
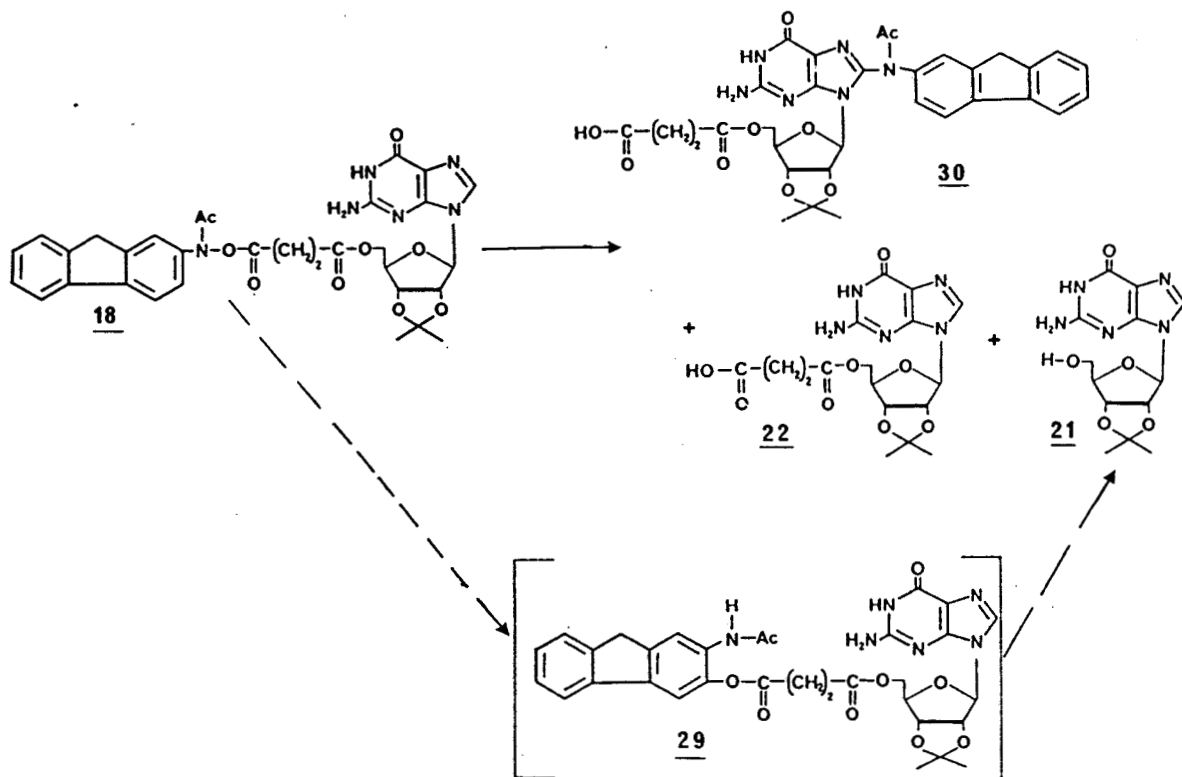


Schéma 24 : Décomposition des produits 29 dans le milieu acétone-eau (pH = 9,2) à 40°C après 30 mn de réaction.



Le bilan réactionnel peut donc s'écrire comme étant le mélange des réactions d'hydrolyse : 32 % (22), de réarrangement 35 % (21) et de substitution : 30 % (30).



La disparition de **18** dans l'acétone-eau à pH = 9,2 est un phénomène complexe ; la réaction n'est plus de pseudo-premier ordre : la courbe de disparition de **18** en fonction du temps diffère de celles obtenues pour les mélanges acétone-eau tamponnée à pH = 4 et 7.

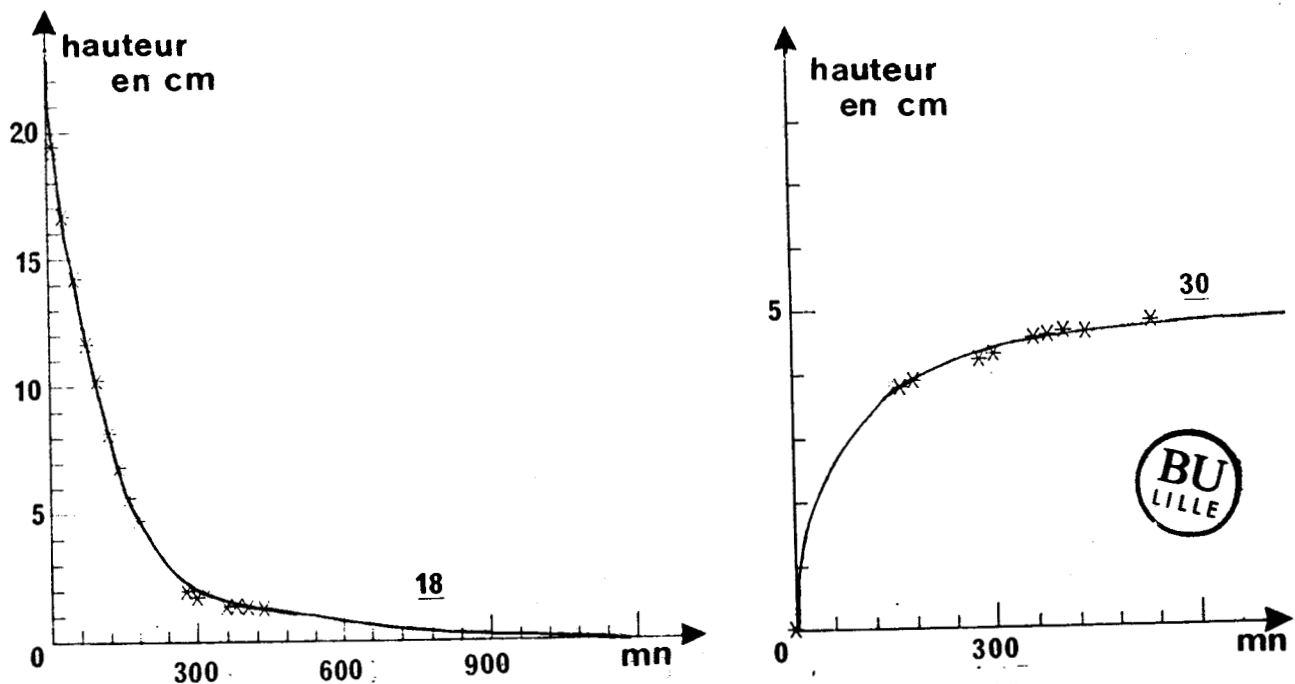
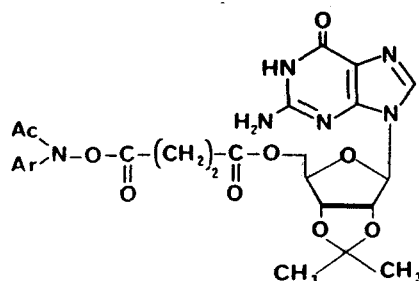
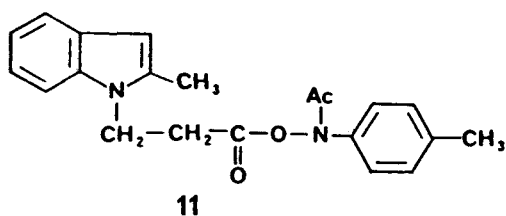


Schéma 25 : Evolution de la disparition de **18** et l'apparition de **30** en fonction du temps.

B/ DISCUSSION :

1/ BILAN DE NOTRE TRAVAIL :



Pour les produits 11 et 17, tous deux possédant un noyau toluène, nous remarquons lors des essais préliminaires que :

- les réactions sont très lentes.
- lorsque celles-ci se produisent il y a alors soit hydrolyse de la fonction ester d'acide hydroxamique soit réarrangement de la fonction ester d'acide hydroxamique sur le cycle toluène (en position ortho).
- il ne se forme pas de produit de substitution sur le C₈ de la guanine par le résidu acétylamino toluène et son équivalent en série indole n'a pas été isolé.

:	:	DMF ou DMSO :	TFE :	HFIP :	HCONH ₂ :	eau-acétone :
:	:	5 jours :	3 jours :	16h à reflux :	3 jours :	60-40 v/v :
:	:	à 50°C :	à reflux :	:	à 60°C :	3 jours à 40°C :
:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	40% réar. <u>25</u> :	:	:	100% hydrolyse :
:	<u>11</u> :	100% de <u>11</u> :	:	:	:	<u>7</u> et <u>10</u> :
:	:	:	+5% hydrolyse :	:	:	:
:	:	:	:	:	:	:
:	:	:	90 % de <u>17</u> :	:	:	:
:	<u>17</u> :	:	+ :	80% réar. <u>28</u> :	10% réar. <u>28</u> :	:
:	:	:	10% réar. <u>28</u> :	:	:	:

Tableau 9 : Produits formés lors des essais solvolytiques des composés 11 et 17.

Les rendements sont donnés à titre indicatif. Ils sont estimés par analyse CLHP avec une erreur relative de + 10 %.

Dans le cas du produit 18, nous constatons la formation :

- dans les solvants tel que : le trifluoroéthanol (TFE), la formamide et les mélanges eau-acétone, de trois types de réactions :

l'hydrolyse de la fonction ester d'acide hydroxamique (anhydride mixte) donnant l'acide carboxylique 22 et l'acide hydroxamique 2 instable dans le milieu (il conduit à l'apparition de pics parasites compliquant les chromatogrammes).

l'hydrolyse de la fonction ester en 5' : 21 est observé dans la formamide.

Le réarrangement de la fonction ester d'acide hydroxamique sur le noyau fluorène (positions 1 et 3) 29. Nous n'avons pas tenté la séparation de ces deux isomères.

La substitution de l'hydrogène sur l'atome de carbone C₈ de la guanine par le N-acétylamino-2 fluorène 30.

	Solvants : CH ₂ Cl ₂	TFE	HCO-NH ₂	acétone-eau : 60-40 v/v	40°C :			
: Produits formés	: Reflux	: 40°C	: 40°C	: pH = 4	: pH = 7	: pH = 9,2	:	:
: <u>21</u>	: -	: -	: 40 %	: -	: -	: -	:	:
: <u>22</u> hydrolyse	: -	: 50%	: 20 %	: 45 %	: 55 %	: 32 %	:	:
: <u>29</u> réarrangement	: 100 %	: 20 %	: 18 %	: 35 %	: 22 %	: 35 %	:	:
: <u>30</u> substitution	: -	: 10 %	: 20 %	: 18 %	: 19 %	: 30 %	:	:
: Constante de vitesse:	:	:	:	:	:	:	:	:
: de disparition de:	-	-	: 2,16.10 ⁻⁴	: 8,83.10 ⁻⁵	: 8,83.10 ⁻⁵	:	:	:
: <u>18</u> en s ⁻¹	:	:	:	:	:	:	:	:
: Temps de demi durée :	-	: 5	: 52	: 128	: 128	:	:	:
: de vie en mn	:	:	:	:	:	:	:	:

Tableau 10 : Pourcentages de produits formés (estimation CLHP), constante de vitesse de la réaction de disparition de 18 (s⁻¹), temps de demi-durée de vie (en mn) observés lors de la solvolysse du produit 18 dans les solvants : CH₂Cl₂, TFE, formamide et les mélanges acétone-eau (pH = 4-7-9,2).

* Les rendements sont calculés à partir de la mesure de la hauteur des pics (sur les chromatogrammes CLHP) pour des injections de volumes connus et des solutions de concentrations connues.



- dans le chlorure de méthylène : la thermolyse du composé 18 ne produit que les produits de réarrangement 29.

Lors de ces différentes solvolyses, nous nous sommes intéressés à la vitesse de disparition du produit 18.

- dans le trifluoroéthanol : la réaction est la plus rapide. La demi-durée de vie à 40°C est de l'ordre de quelques minutes.

- dans la formamide et les mélanges acétone-eau à pH = 4 à 7, la constante de vitesse a été calculée.

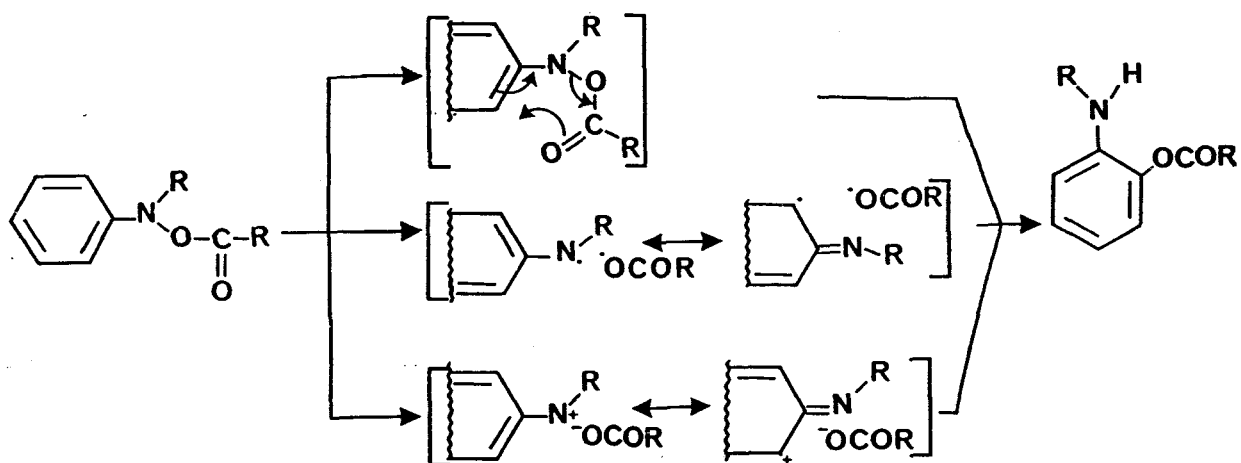
Les différents résultats : - pourcentage en produits formés
- constante de vitesse de réaction
- demi-durée de vie du produit 18

se trouvent résumés dans le tableau (p. 79).

La stabilité des produits formés dans les différents milieux a été vérifiée. Il en résulte que les produits 22 et 30 sont stables dans toutes les conditions alors que le produit 29 se décompose en milieu basique ; parmi les dérivés de décomposition se trouve le produit 21.

2/ RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES :

En série monocyclique, la thermolyse des esters d'acides hydroxamiques a été étudiée par L. HORNER (25) et B. RINDONE (26). Ces auteurs observent la formation de produits de réarrangement de la fonction ester d'acide hydroxamique sur les positions ortho (et parfois para) du noyau aromatique. Ils proposent trois mécanismes : - concerté
- radicalaire
- ionique.

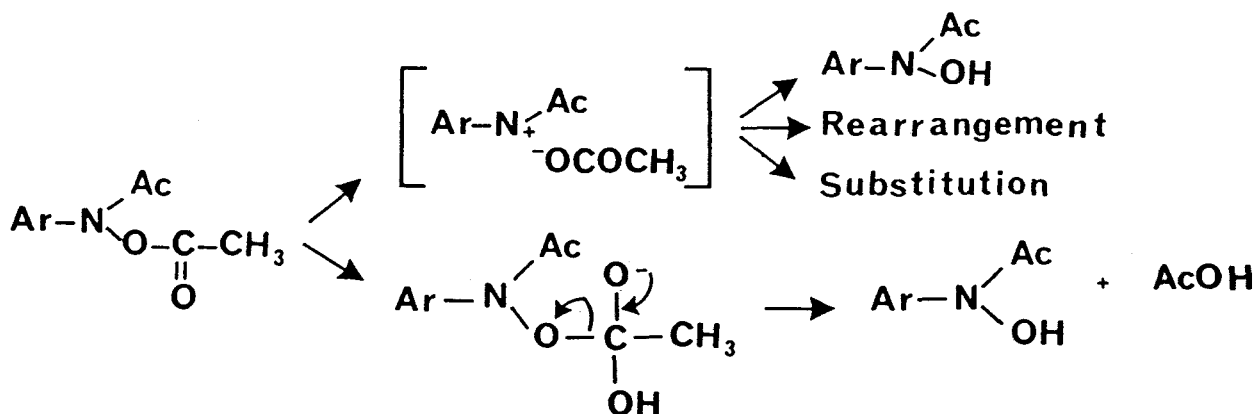


En série amines aromatiques cancérigènes, des études solvolytiques ont été réalisées par G. UNDERWOOD (28) dans des mélanges acétone-eau 60-40 v/v à 40°C à divers pH : $4 \leq \text{pH} \leq 10$. L'auteur étudie plus particulièrement la réaction de disparition des N-acétoxy N-aryl amines, les groupements aryles étant : le fluorène, le naphthyle ou le biphényle.

Il constate que pour le (N-acétoxy N-acétyl)amino-2 fluorène 4 :

- la constante de vitesse observée suit la relation :

$k_{\text{obs}} = k_0 + k_{\text{OH}^-} [\text{OH}^-]$, correspondant à une réaction de rupture de la liaison N-O (caractérisée par k_0) et l'intervention de la réaction de rupture de la liaison O-C caractérisée par $k_{\text{OH}^-} [\text{OH}^-]$.



- à $\text{pH} \leq 7$, la réaction est indépendante du pH et est exclusivement la réaction de coupure de la liaison N-O avec formation d'un ion "nitrénium".

- La constante de vitesse de la réaction de coupure de la liaison N-O varie avec la nature du noyau aromatique.

:noyau aromatique:	p-Tolyle	:Fluorène	: Naphtyle-1	: Naphtyle-2	: Biphényle:
:					:
: k_0 en s^{-1}	: $1,28 \cdot 10^{-6}$: $8,85 \cdot 10^{-5}$: $1,9 \cdot 10^{-5}$: $1,5 \cdot 10^{-6}$: $1,49 \cdot 10^{-6}$:

Il remarque également la formation des produits :

- d'hydrolyse (hydroxylamine) quelle que soit la nature du noyau aromatique.
- de réarrangement dans certains cas : les (N-acétoxy N-acétyl)amino-2 fluorène et l'amino-1 naphthalène.

On peut remarquer que pour ces deux produits, les constantes de vitesse k_0 sont les plus élevées.

3/ DISCUSSION DE CES RESULTATS :

La comparaison des produits 11, 17 et 18 amène les observations suivantes :

- Lors des solvolyses de ces trois composés il se forme les dérivés provenant de l'hydrolyse et du réarrangement de la fonction ester d'acide hydroxamique, le produit de substitution étant obtenu seulement pour le produit 18.

- La nature du noyau aromatique intervient sur la réactivité de la fonction ester d'acide hydroxamique.

- La nature du solvant a une incidence sur les produits formés.

Dans le cas particulier du produit 18, nous pouvons faire les remarques suivantes :

- Les milieux réactionnels contiennent un mélange des produits provenant des réactions d'hydrolyse, de réarrangement et de substitution (sauf dans le cas du chlorure de méthylène).

- Les pourcentages en produits formés varient avec les solvants, toutefois la réaction principale reste l'hydrolyse.

- La vitesse de disparition du produit 18 dépend du solvant :

* dans la formamide : Solvant polaire (sa constante diélectrique est $\epsilon = 109,5$ et son moment dipolaire $\mu = 3,4D$ pour l'eau $\epsilon = 78,5$ et $\mu = 1,8D$) la réaction est plus rapide que dans le mélange acétone-eau.

* dans le trifluoroéthanol : solvant ionisant, la réaction est très rapide, son temps de demi-durée de vie est de 5 minutes.

* dans les mélanges acétone-eau : le pH est un facteur important : On constate qu'à $\text{pH} \leq 7$, la réaction est de pseudo premier-ordre et la constante de vitesse observée est indépendante du pH : $k = 8,83 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; alors qu'à $\text{pH} = 9,2$ la réaction n'est plus de pseudo-premier-ordre, elle devient plus complexe.

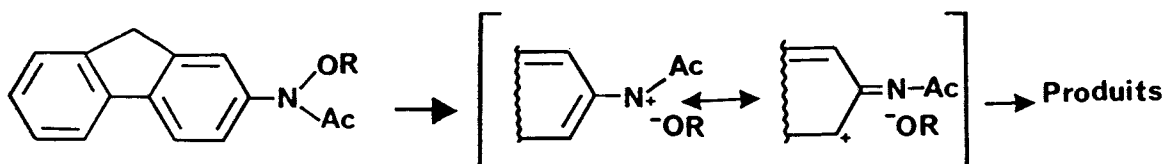
Nous pouvons comparer ces derniers résultats à ceux obtenus par G. UNDERWOOD (28) avec le (N-acétoxy N-acétyl)amino-2 fluorène 4 dans les mélanges acétone-eau : à $\text{pH} \leq 7$ il observe une réaction de pseudo-premier ordre avec une constante de vitesse $k_0 = 8,85 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ dans ce domaine de pH nous avons obtenu une constante de vitesse très proche $k = 8,83 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$.

Ceci nous amène à penser que : à $\text{pH} \leq 7$, la réactivité de la fonction acétoxy est identique à celle du succinate de (0,0'-isopropylidène-2',3' guanosyl-5'), la présence de l'hétérocycle guanine n'influence pas la vitesse de réaction.

G. UNDERWOOD constate également une vitesse de réaction plus faible dans le cas de la solvolysse du (N-acétoxy N-acétyl)amino-4 toluène : $k_0 = 1,43 \cdot 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ (soit 60 fois plus faible que dans le cas du fluorène). Ceci coïncide donc avec la faible réactivité observée lors des essais préliminaires sur les molécules 11 et 17.

Suite à la comparaison faite avec les résultats de la littérature, nous pouvons dire que : - la réaction des esters d'acide hydroxamique se passe au niveau de la liaison N-O : elle se rompt et conduit à la formation d'une paire d'ions.
- la vitesse de cette réaction dépend du milieu réactionnel et également du noyau aromatique.

Ceci nous conduit à proposer dans les solvants polaires le mécanisme suivant :



a. Si Ar = toluène :

La première étape du mécanisme est une réaction ionique. Or nous avons vu que la réaction est lente. Nous en concluons que le cation "acyl nitrénium" formé a une très faible stabilité, ce qui revient à dire qu'il a une très courte durée de vie, et il réagit dès sa formation avec les nucléophiles du milieu :

- soit sous sa forme mésomère carbénium avec le contre-ion succinate pour donner les produits de réarrangement.
- soit avec l'eau du milieu et il se forme les produits d'hydrolyse.

Il y a donc compétition entre les deux réactions d'hydrolyse et de réarrangement.

L'absence des produits de substitution peut s'expliquer par la très faible stabilité de l'intermédiaire "nitrénium" et l'éloignement des sites nucléophiles (C_3 de l'indole, C_8 de la guanine) ce qui diminue les probabilités de rencontre des deux espèces.

b. Si Ar = fluorène :

La première étape est une coupure hétérolytique de la liaison ester d'acide hydroxamique pour former une paire d'ions. Nous notons que la réaction de disparition du produit 18 est rapide, nous pouvons donc supposer que cet intermédiaire est plus stable. Cette hypothèse nous permet d'envisager que les probabilités de rencontre des espèces chargées et des sites nucléophiles sont variées et qu'il y a compétition entre les différents nucléophiles du milieu.

Or nous remarquons que dans les solvants polaires, les produits d'hydrolyse, de réarrangement et de substitution se forment. Nous pouvons donc conclure que l'ion "nitrénium" est assez stable pour réagir avec le C_8 de la guanine (cf. tableau p. 79).

Nous avons également observé une influence du solvant sur la vitesse de réaction (disparition de 18) et sur les pourcentages de produits formés (22, 29, 30).

Dans les mélanges acétone-eau $\text{pH} \leq 7$, la constante de vitesse de disparition du produit 18 est voisine de celle observée par G. UNDERWOOD pour la réaction de rupture de la liaison N-O, la réaction passe donc par la coupure hétérolytique de la liaison N-O. Ceci nous permet de conclure que la réaction est de type SN_1 : l'intermédiaire "nitrénium" est stable et réagit avec les différents nucléophiles présents dans le milieu.

A $\text{pH} = 9,2$, la vitesse de réaction est augmentée, le mécanisme est donc plus complexe : il y a superposition de plusieurs réactions.

En effet, le pH de la solution utilisée est supérieur au pK_a du proton porté par le N_1 de la guanine. L'ionisation de la molécule accroît la densité de charge sur le C_8 et par conséquent augmente sa réactivité. Cela peut expliquer l'augmentation de la formation du produit de substitution 30.

* Dans le chlorure de méthylène :

Nous avons vu précédemment que L. HORNER (25) et B. RINDONE (26) observent le réarrangement de la fonction ester sur le cycle aromatique. Or pour le produit 18 dans le chlorure de méthylène à reflux nous obtenons uniquement le produit de réarrangement 29, ceci coïncide parfaitement avec les résultats de la littérature. Nous pouvons donc conclure que le composé 29 est obtenu selon les mécanismes proposés par les auteurs, c'est-à-dire :

- soit une réaction concertée.
- soit une réaction de rupture homolytique ou hétérolytique de la liaison ester (mécanismes radicalaire ou ionique).

L'état actuel de nos résultats ne nous permet pas de choisir entre ces mécanismes.

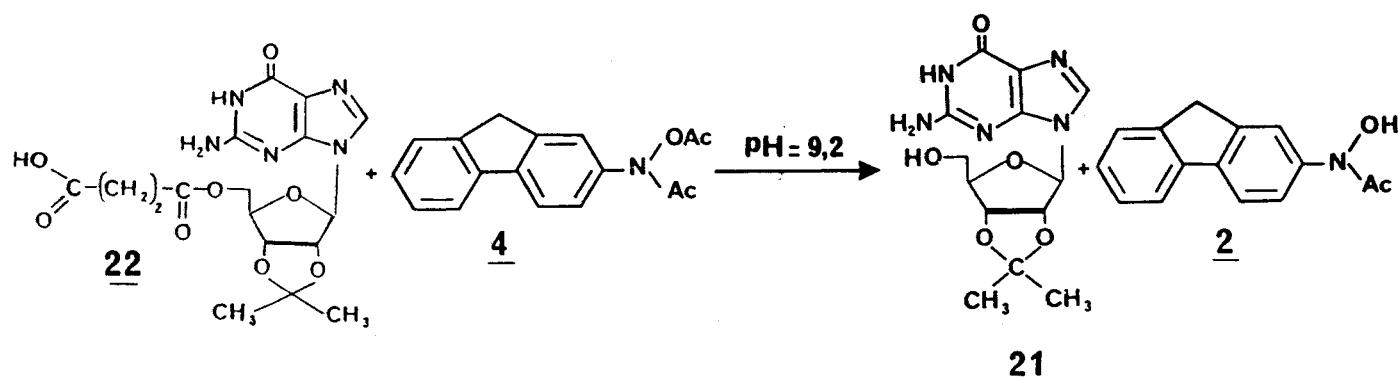
C O N C L U S I O N

- o - o - o - o - o -

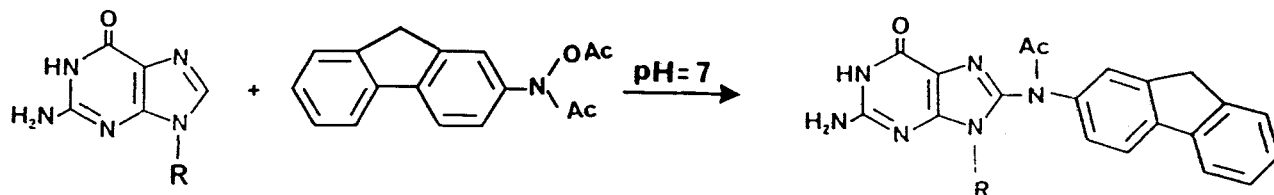
CONCLUSION

L'utilisation de notre modèle 18 nous permet, en série fluorène, par approche intramoléculaire d'obtenir le produit de substitution 30. Nous avons vu que le meilleur rendement en composé 30 est obtenu dans un mélange acétone-eau à pH = 9,2.

Dans ces mêmes conditions, nous observons lors de la réaction intermoléculaire entre l'acide (0,0-isopropylidène-2',3' 0-carboxy-5' guanosyl)-3 propanoïque 22 et le (N-acétoxy N-acétyl)amino-2 fluorène 4, uniquement des réactions d'hydrolyse au niveau des deux fonctions esters ce qui conduit à l'obtention des produits 21 et 2.



Nous pouvons également rappeler les résultats de la littérature (11) : le produit de réaction entre la désoxyguanosine et le (N-acétoxy N-acétyl)amino-2 fluorène 4 est obtenu avec un rendement de 1,3 % par rapport au cancérigène (mis en excès).



R = β -DRibofuranosyl

Notre méthode de synthèse, sans être complètement satisfaisante, conduit à l'obtention d'un "adduit" avec un rendement supérieur à celui obtenu par les méthodes traditionnelles. Cependant il nous semble possible d'améliorer et d'approfondir ces résultats de plusieurs manières :

- 1/ Par optimisation de la réaction : il nous faut favoriser la réaction de substitution au détriment de celle d'hydrolyse, ceci peut s'obtenir :
 - soit en ajustant nos conditions solvolytiques
 - soit en changeant la nature de la chaîne Z reliant la base nucléique et l'amine aromatique.

- 2/ Par une étude plus poussée dans l'eau (solvant dans lequel nous devrions favoriser un empilement des deux hétérocycles). Mais il nous faut alors envisager une modification de la molécule 18 qui est insoluble dans l'eau.

- 3/ Par une extension de notre travail dans des séries de nucléosides et amines aromatiques différents ; ceci tant dans un but mécanistique (nous avons vu que notre modèle donne accès à la réactivité des amines aromatiques) que préparatif : obtention d'adduits qui ont déjà ou non été isolés à partir du DNA.

A N N E X E S

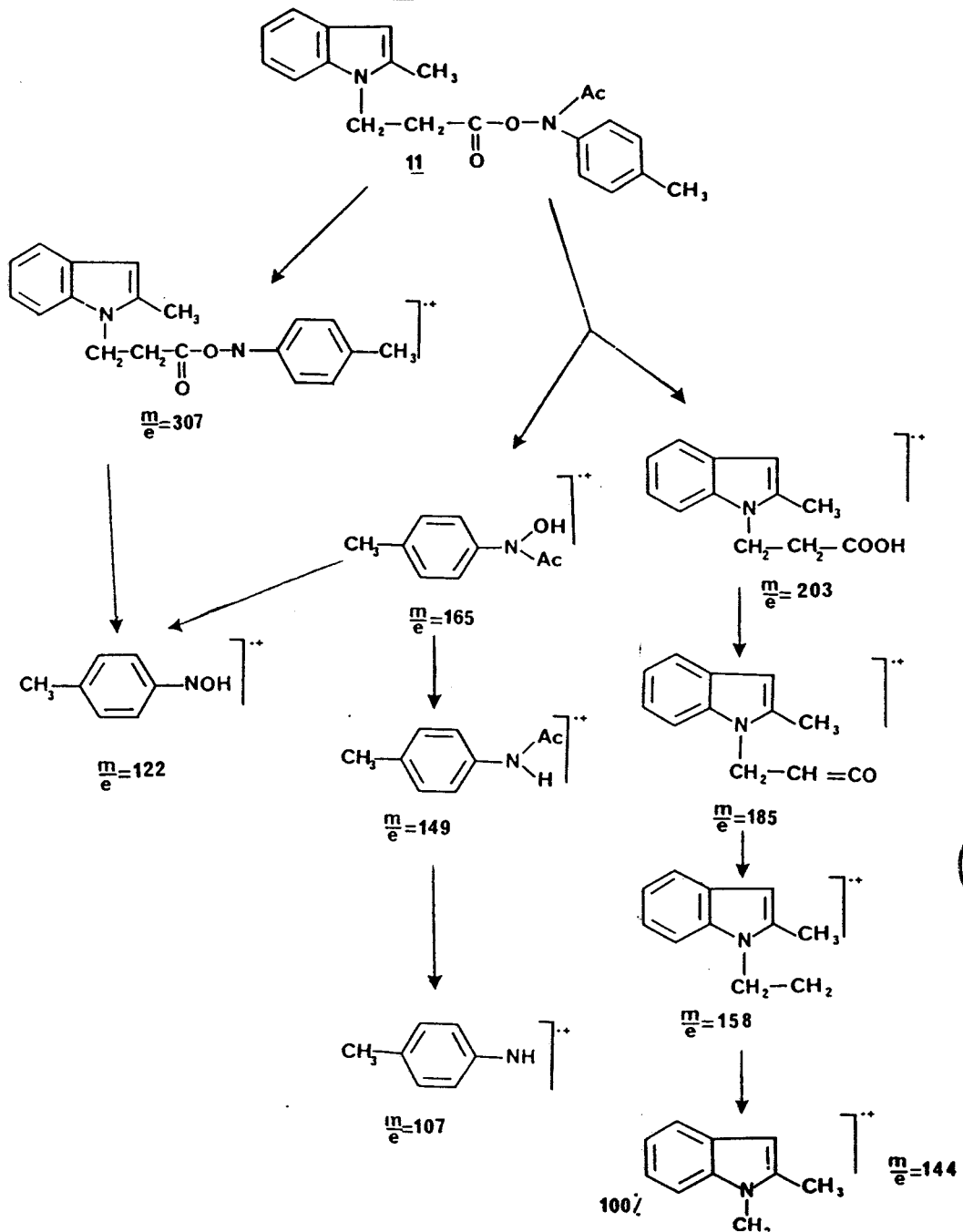
- o - o - o - o -

ANNEXE I : SPECTROMETRIE DE MASSE

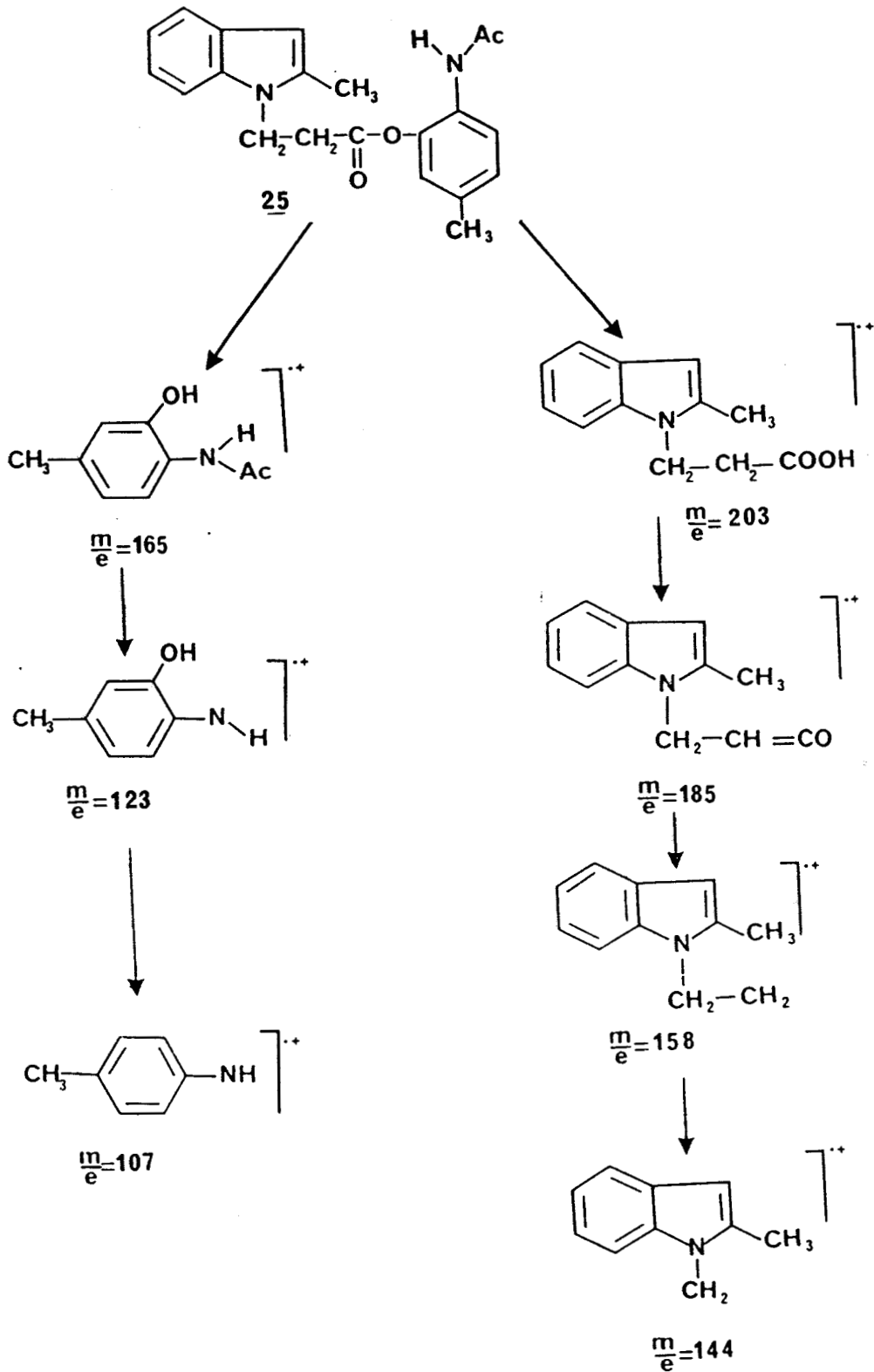
A/ ETUDE DES COMPOSES CONTENANT LE METHYL-2 INDOLE :

Dans le cas des dérivés 16 (produit de couplage indole-aminofluorène), 11 (produit de couplage indole-toluène) et 25 (produit de réarrangement indole-toluène) on observe uniquement la présence d'ions provenant des deux parties de la molécule sans réarrangements particuliers.

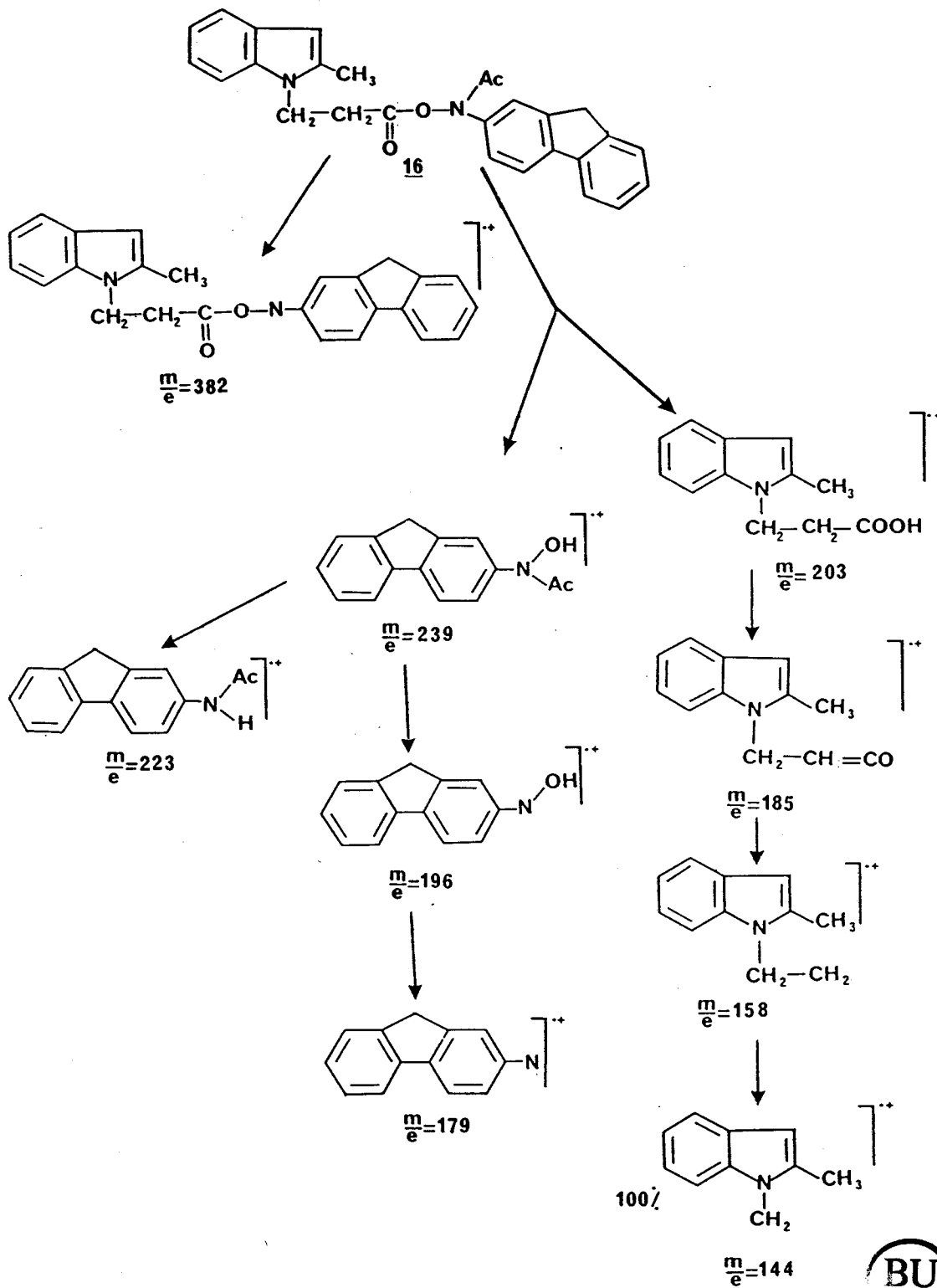
1/ PRODUIT DE COUPLAGE 11 :



2/ PRODUIT DE REARRANGEMENT TOLUENE-INDOLE 25 :



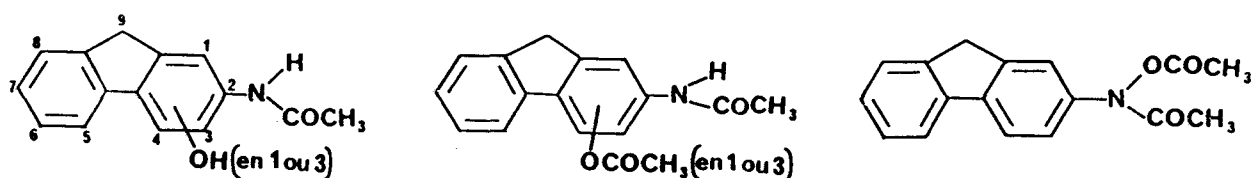
3/ PRODUIT DE COUPLAGE 16 :



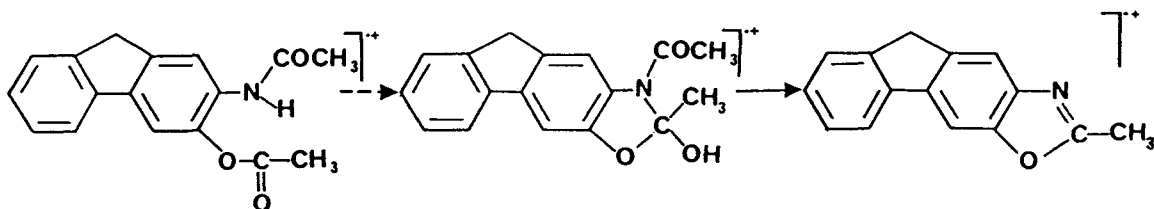
B/ ETUDE DES COMPOSES EN SERIE GUANOSINE :

Pour les composés 18, 19, 22, 29a et b et 30, nous n'observons pas de pic moléculaire en impact électronique ; mais une étude approfondie des spectres de masse, en nous basant sur des travaux de M.A. IORO et Coll. (45) faits sur les dérivés de l' amino fluorène, nous permet de confirmer les structures proposées.

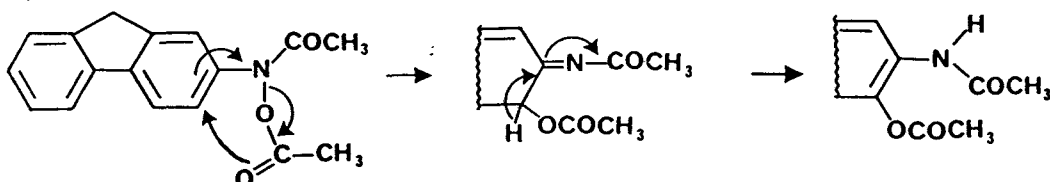
Les auteurs ont synthétisé et étudié les fragmentations, sous impact électronique, de dérivés acétylés et hydroxylés de structures voisines des notres :



Ils proposent lorsque le substituant $O-COCH_3$ se trouve en ortho (position 1 ou 3) de la fonction acétamide, le réarrangement suivant :

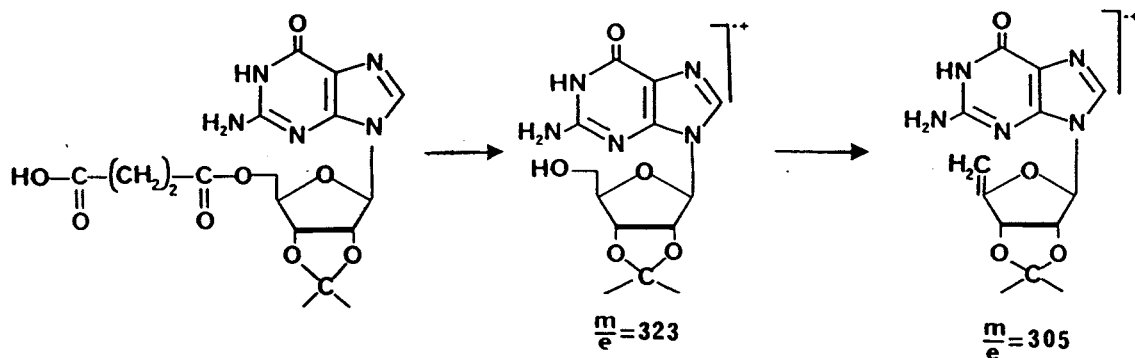


Nous retrouvons ce type de fragmentation dans les spectres du produit 29 (produit de réarrangement sur le noyau fluorène) des produits 18 (produit de couplage amino-2 fluorène-guanosine) et 19 (produit de couplage amino-4 biphényle-guanosine). Ceci sous-entend pour 18 et 19 un réarrangement thermique dans la sonde :



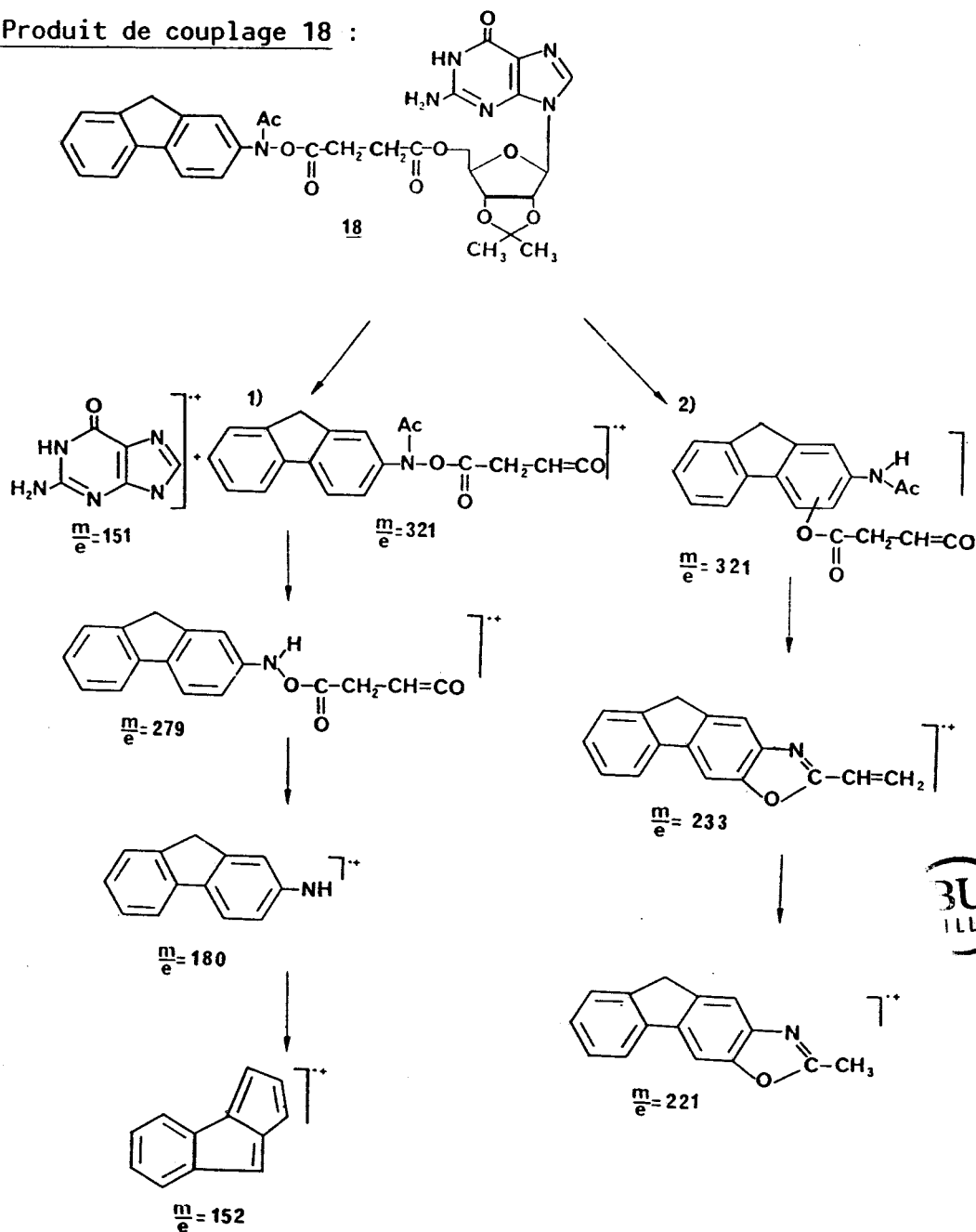
Dans le cas du toluène 17 nous n'avons pu mettre en évidence un tel réarrangement.

1/ LE PRODUIT 22 :



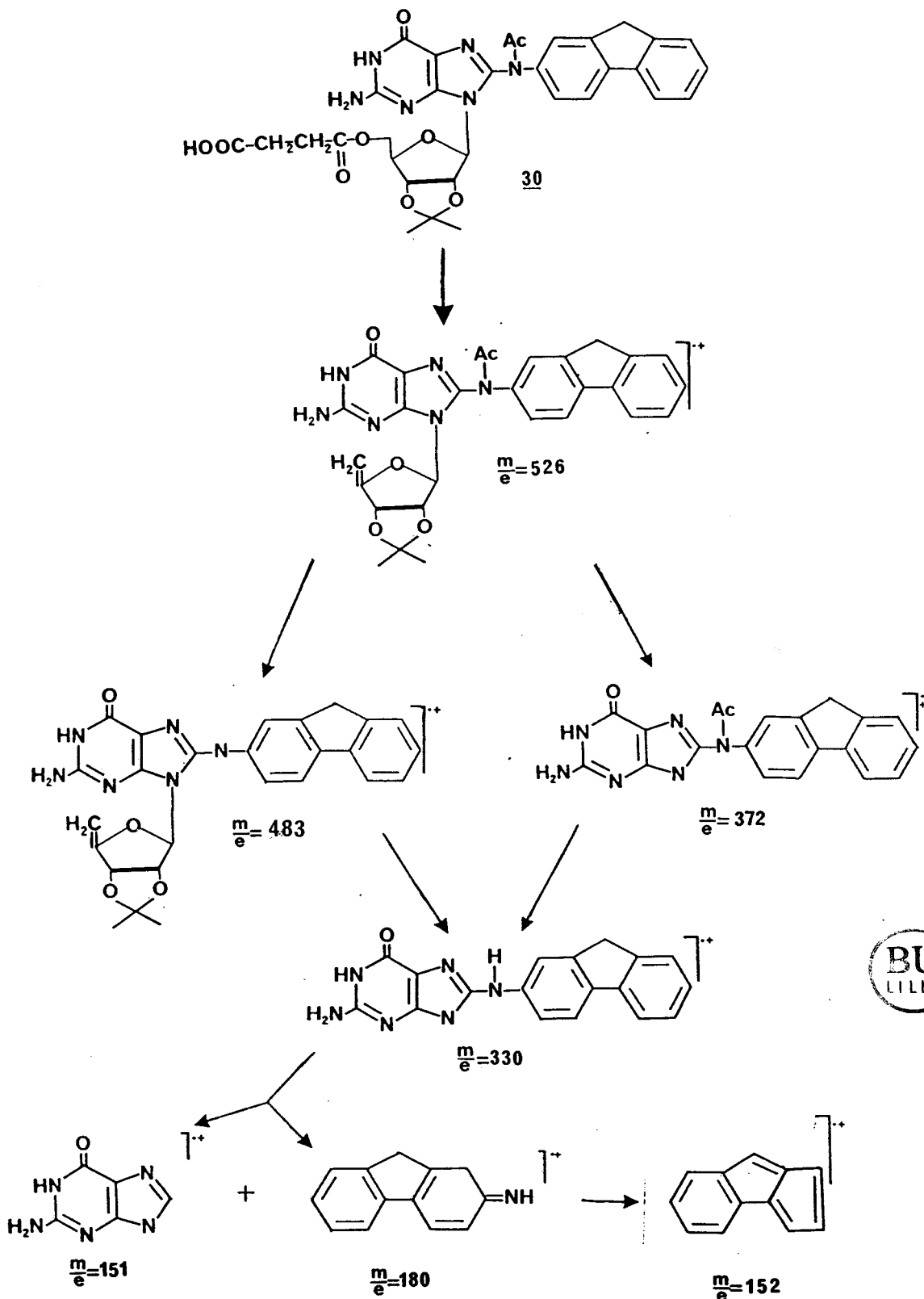
2/ LES PRODUITS DERIVES DE L'AMINO-2 FLUORENE :

a. Produit de couplage 18 :



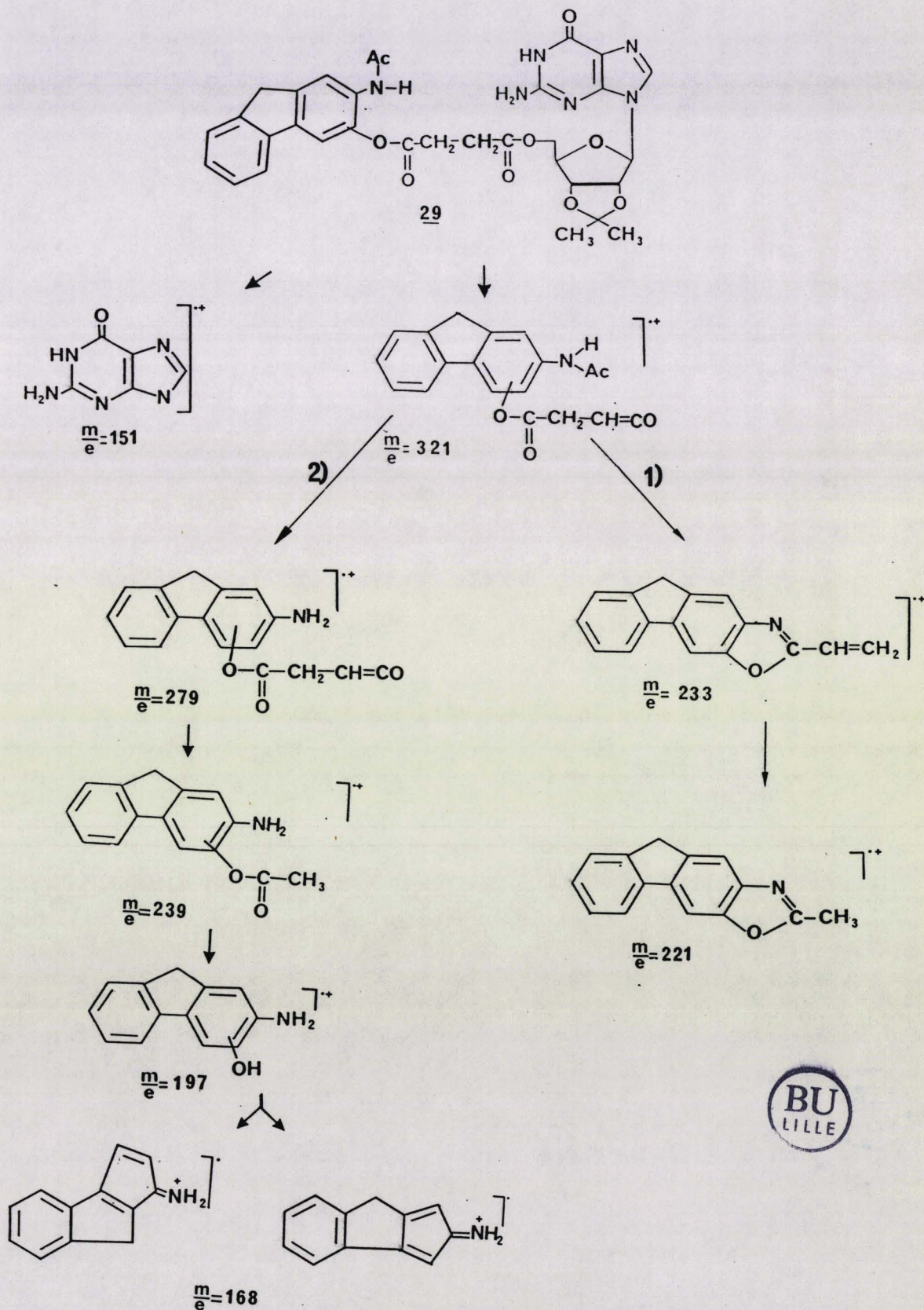
b. Produit de fixation sur le C8 de la guanosine 30 :

Par FAB positif on obtient le pic moléculaire $M^+ + 1 = 645$. Tandis que l'impact électronique conduit aux coupures suivantes :



c. Produits de réarrangement sur le fluorene 29a et b :

Le pic moléculaire est obtenu par FAB positif $M^+ + 1 = 645$. Par impact électronique on observe les fragmentations :



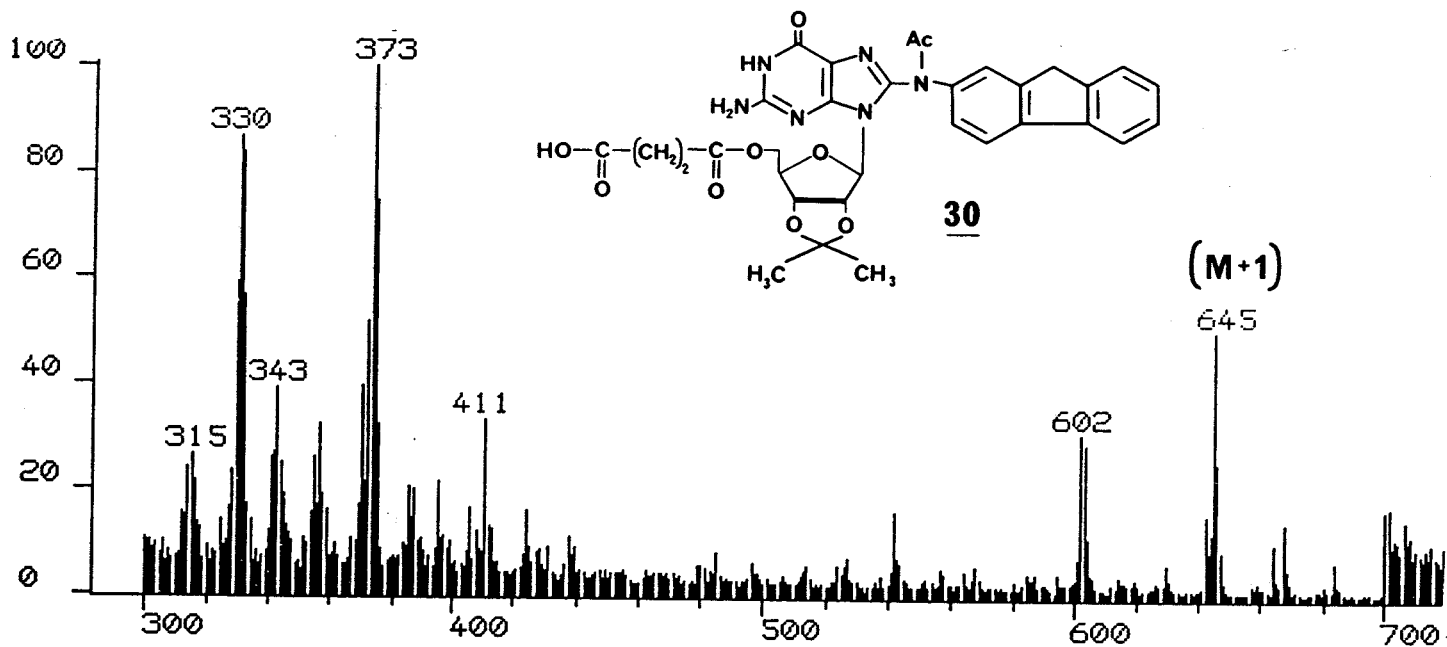
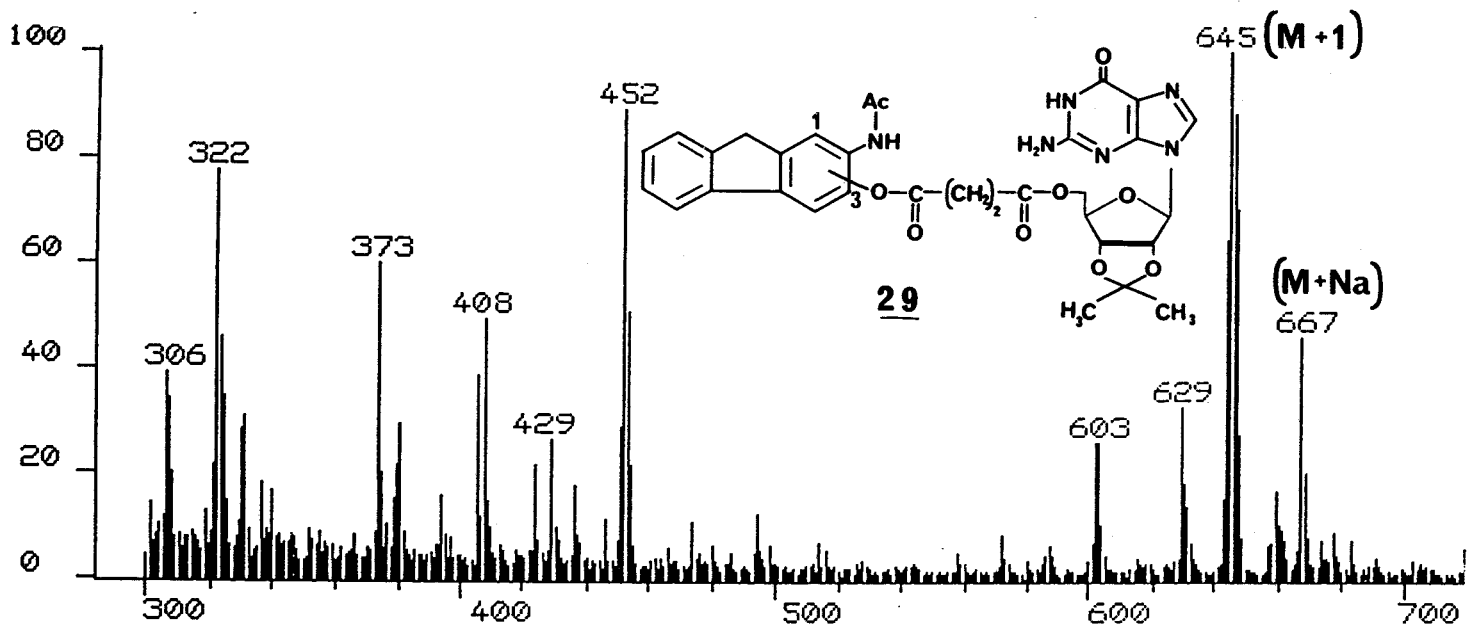
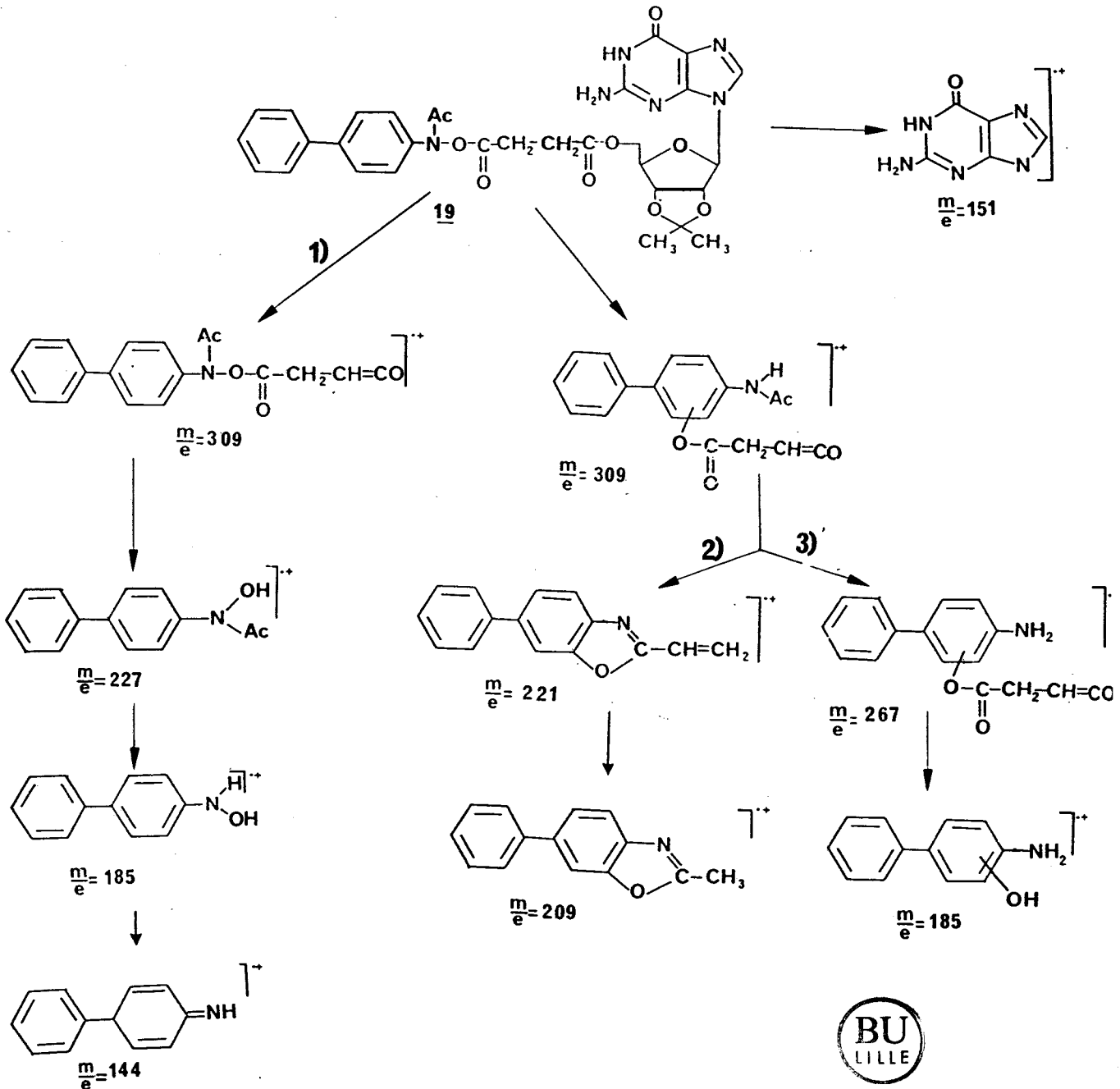


Schéma 26 : Spectres de masse en FAB positif des produits **29** et **30**.

3/ SERIE AMINOBIPHENYLE :

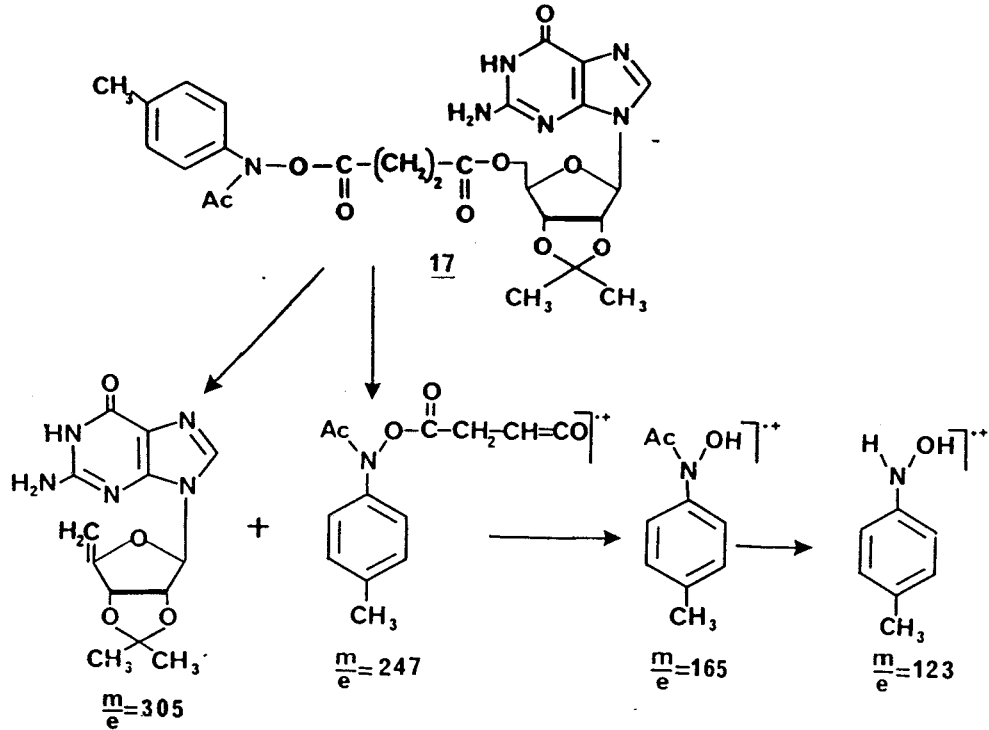
Produit de couplage 19.

3 voies sont possibles à partir du produit de dépurination à $m/e = 310$.

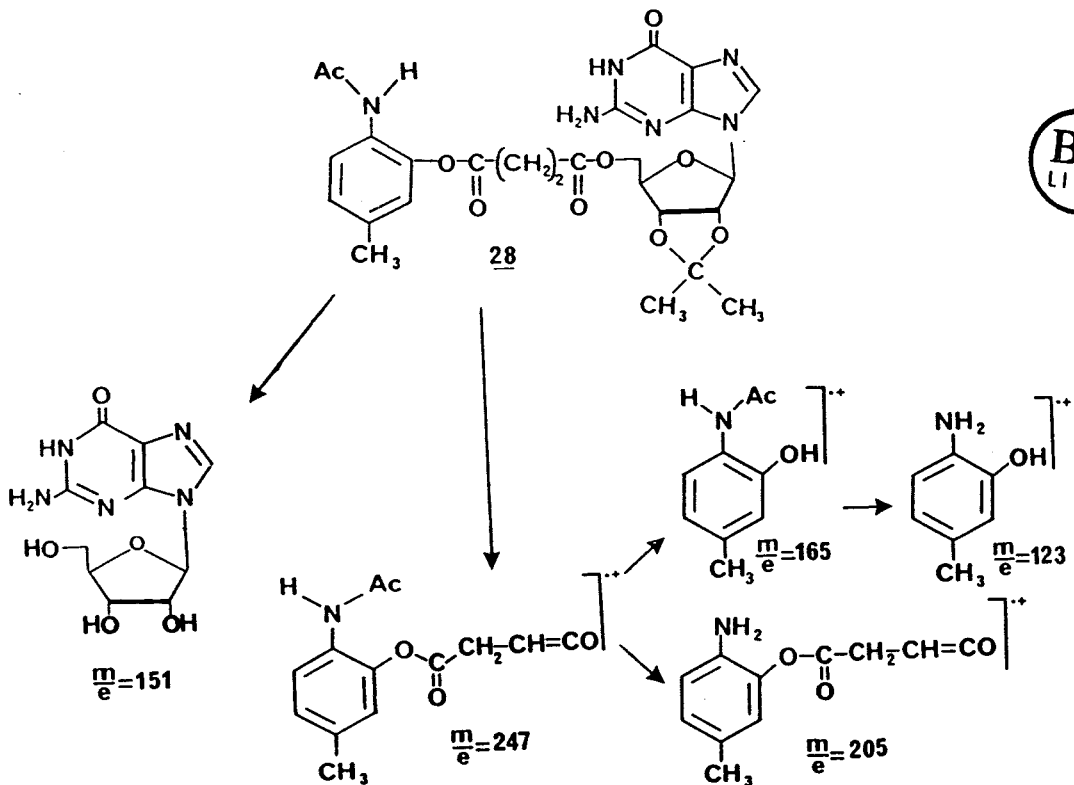


4/ SERIE AMINO-TOLUENE :

a. Produit de couplage avec la guanosine 17 :



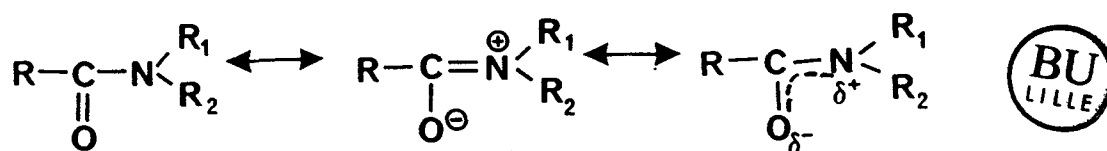
b. Produit de réarrangement 28 :



ANNEXE II : RMN DU PROTON

1/ RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES :

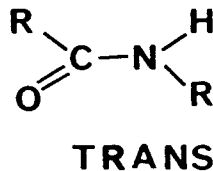
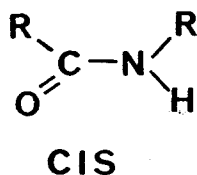
Le cas particulier de la liaison amide et de l'existence de ses conformères a pu être étudié par diverses techniques spectrométriques telles que la RMN du proton. En effet la paire d'électrons libres de l'azote peut se délocaliser dans le système du groupe carbonyle et induire un caractère de double liaison partielle au niveau de la liaison CO-N et la formation d'un dipole 1,3 (46).



Cette délocalisation entraîne :

- 1/ Une géométrie presque plane de la fonction amide.
- 2/ L'existence de deux conformères cis et trans.

Par convention, la forme cis correspond à la position cis de l'oxygène par rapport à l'hydrogène (47).



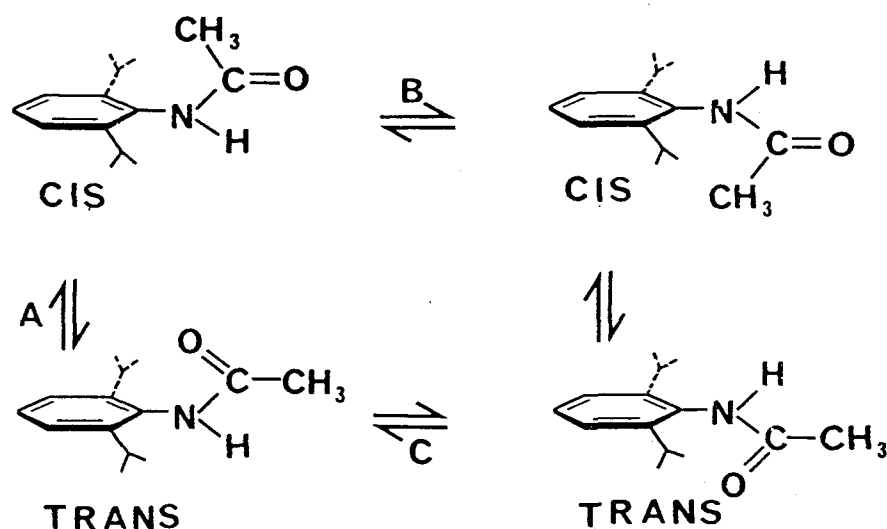
- Dans le cas des amides aromatiques comme l'acétanilide, T.H. SIDDAL et W.E. STEWAR (48) montrent que la molécule est plane et qu'elle n'existe que sous la seule conformation trans.

- Par contre, dans le cas de l'acétanilide substituée en position ortho (produit se rapprochant du composé 28), H. KESSLER et A. RIEKER (49) observent :

* que le produit existe sous les deux conformations cis et trans. En général, la forme trans est majoritaire : par exemple si le substituant est un méthyle dans le CDCl_3 à -30°C il y a 6 % de conformère cis. Le pourcentage de la forme cis augmente avec la taille du substituant.

* que la molécule n'est plus plane, la présence du substituant provoquant une rotation autour de la liaison N-benzène.

L'étude plus approfondie de la di-isopropyl-2,6 acétanilide (50) montre l'existence de barrières de rotation autour des liaisons N-CO et N-benzène ce qui conduit à envisager les équilibres suivants :



A température ambiante, H. KESSLER (50) ne détecte la présence que d'une seule espèce trans et des deux espèces cis. Ceci s'explique par l'existence des équilibres A, B et C ; en effet à température ambiante l'équilibre C est très rapide et son enthalpie libre d'activation est $\Delta G_{-60^\circ\text{C}} = 11,8$ Kcal/mol ce qui rend compte de l'unique forme trans.

Par contre les équilibres A et B sont très lents et les températures nécessaires afin d'obtenir la libre rotation autour des liaisons N-CO et N-benzène sont respectivement de 140°C et 75°C , les enthalpies libres d'activation calculées sont alors $\Delta G_{140^\circ\text{C}} = 19,3$ Kcal/mol et $\Delta G_{75^\circ\text{C}} = 18,9$ Kcal/mol.

2/ INTERPRETATION DES SPECTRES DE RMN DU PROTON DES PRODUITS 25, 28, 29a et b ET 30 :

a. Le produit 25 :

Nous n'observons l'existence que d'un seul conformère ; en effet le proton de l'acétamide sort sous forme d'un singulet à 9,2 ppm. Nous pouvons supposer que ce composé 25 est le conformère trans.

b. Le produit 28 :

Il y a une différence notable avec le composé 25 :

- Les signaux du proton et du méthyle de l'acétamide ainsi que ceux du toluène sont dédoublés.
- Les protons du ribose sont également dédoublés, alors que ceux de la chaîne succinyle sortent sous forme de massifs complexes.

Le dédoublement des protons N-H, CH₃-CO et aromatiques peut être interprété par l'existence de 2 conformères.

Par ailleurs les calculs du pourcentage relatif de ces 2 formes, par les intégrales des signaux correspondants au proton et au méthyle de la fonction acétamide, coïncident : on obtient un rapport approximatif de 70 % - 30 % à 33°C dans le DMSO d₆. Ce rapport varie avec la température il est à 100°C de 46 % - 54 % (en chauffant nous apportons l'énergie nécessaire pour passer d'une forme à l'autre).

La comparaison des spectres de RMN du proton des produits 25 et 28 nous permet de proposer l'hypothèse suivante : pour le produit 28, en solution les conformères cis et trans existent : le conformère trans serait caractérisé par le signal du proton de l'acétamide à 9,20ppm alors que la forme cis serait représentée par le singulet à 9,04 ppm.

L'apparente stabilisation du conformère cis dans le produit 28 serait-elle due à la présence du nucléoside ?

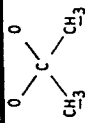
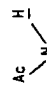
		$\text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}} - \text{N}$	CH_3	$\text{OCO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}-$	H'_1	H'_2	H'_3	H'_4 et H'_5	H toluène	NH_2	$\text{C}_\beta-\text{H}$		N_1-H
à 33°C ppm = multiplet	1,25 1,45 massif singulet	1,95 et 2,18 m s	2,19 s	2,52-2,62-2,78 m m m	5,95 m	5,18 m	5,06 m	4,11 et 4,23 m m	6,03-6,93-7,62 s.d - s.d- d.d	6,43 s élargi	7,79 s d (?)	9,04 et s s	10,54 s élargi
Intensité	3H 3H	2,18 H 0,82 H	3H	4H	1H	1H	1H	3H	1H 1H 1H		1H	0,30H 0,70H	
à 100°C ppm = multiplet	1,26 1,46 m s	1,95 et 2,17 t s	2,19 s	2,53-2,64-2,77 m m m	5,92 m	5,20 m	5,00 m	4,24 et 4,13 m m	6,84-6,90-7,56 Sxd Dxd Dxd ou T	6,19 s élargi	7,70 s d (?)	8,68 s s	10,32 s élargi
Intensité		1,68H (56%) 1,32H											0,46H 0,54H

Tableau 11 : Déplacements chimiques des protons du produit 28 à 33°C et 100°C (DMSO d_6 ; 400MHz).



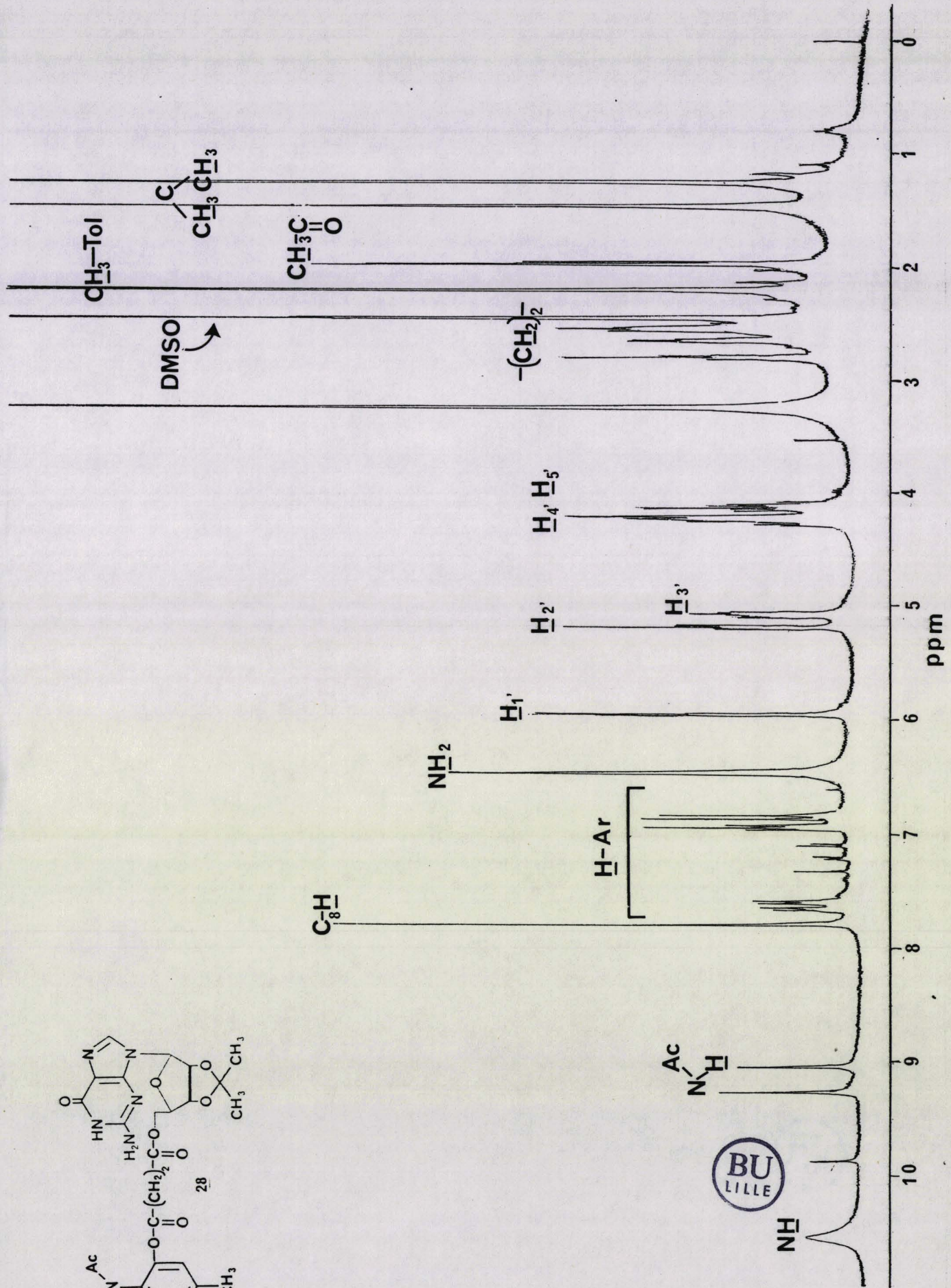
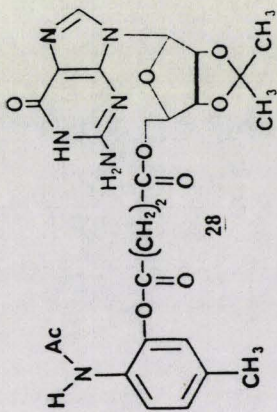


Schéma 27 : Spectre de RMN du proton du produit 28 à 33°C (DMSO d₆, 400 MHz).



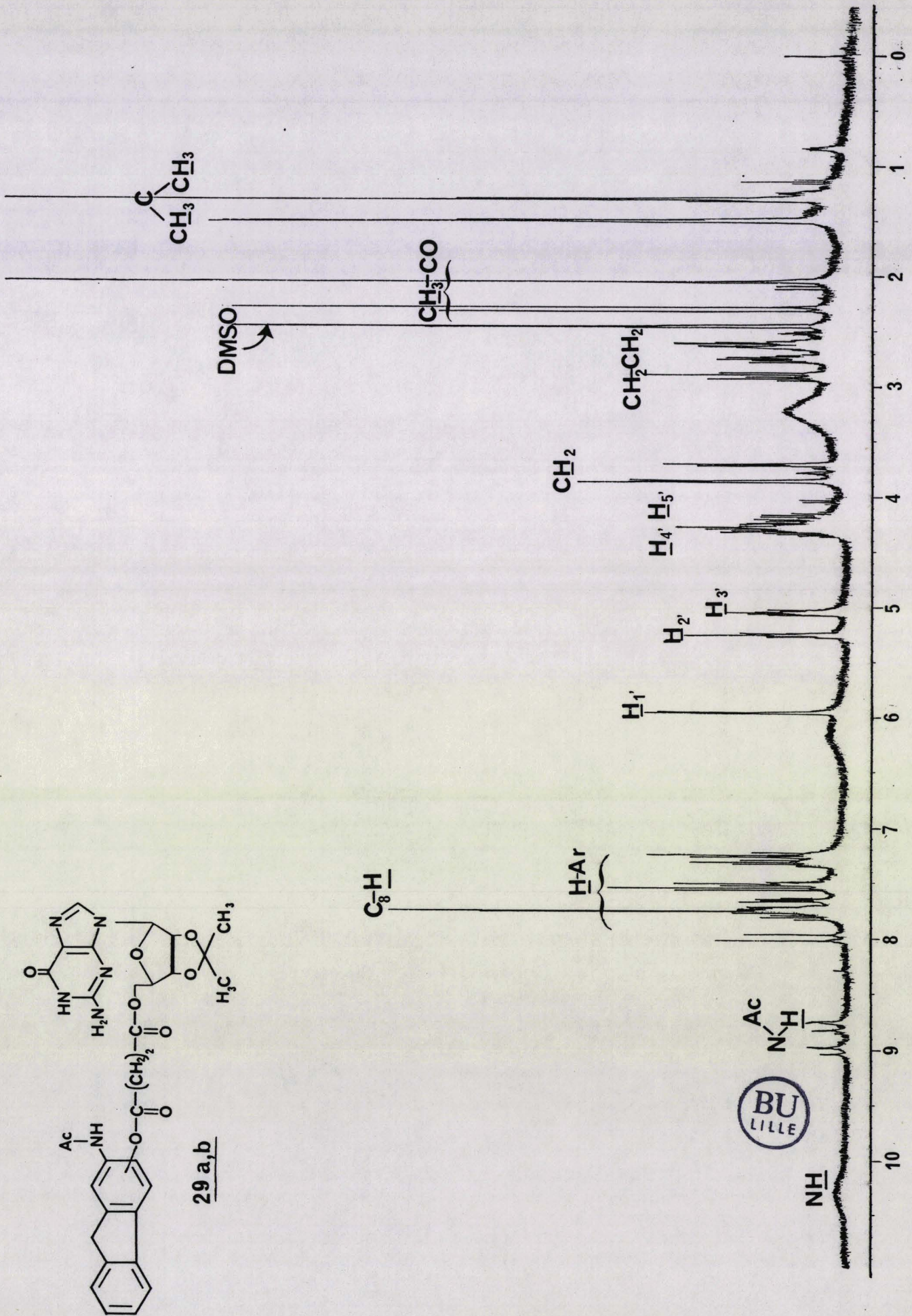


Schéma 23 : Spectre de RMN du proton des produits 29a,b à 80°C (DMSO d₆, 400 MHz).

Ceci est possible car nous constatons aussi un dédoublement des protons du ribose. Mais l'interprétation du spectre du produit 28 est encore plus complexe, en effet le signal du méthyle à 1,95 ppm correspondant à l'un des conformères est dédoublé ; ce phénomène peut s'expliquer par l'existence d'un empêchement de rotation autour de la liaison N-toluène.

Nous rappelons que la structure du produit 28 a été confirmée par synthèse directe à partir des composés 22 et 26.

c. Le produit 29 :

Le composé 29 est un mélange de deux produits différents (29a et b) : le réarrangement de la fonction ester d'acide hydroxamique pouvant se faire sur les positions 1 ou 3 du noyau fluorène. Comme dans le cas du produit 28, nous avons pour chacun de ces isomères de position des conformères cis et trans, ce qui est en accord avec le signal du proton de l'acétamide représenté par 4 pics et intégrant pour 1 proton.

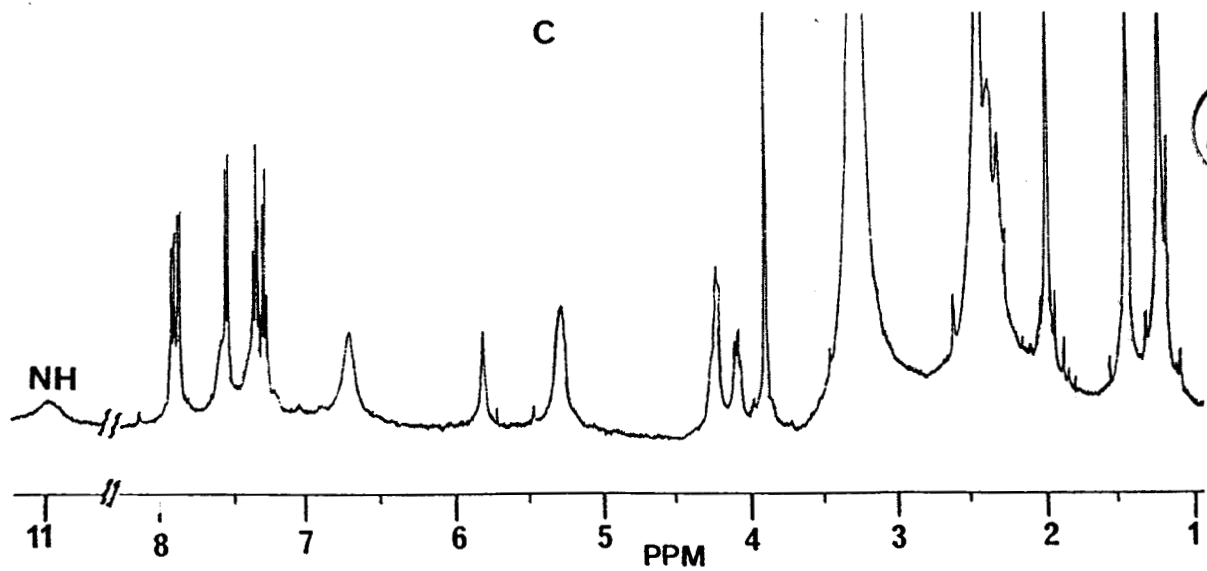
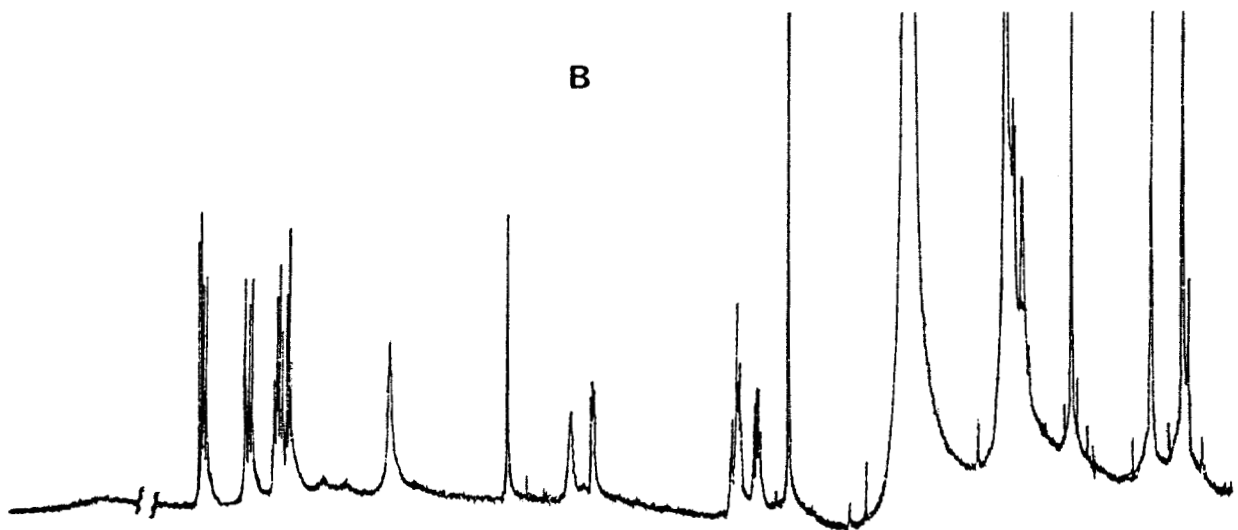
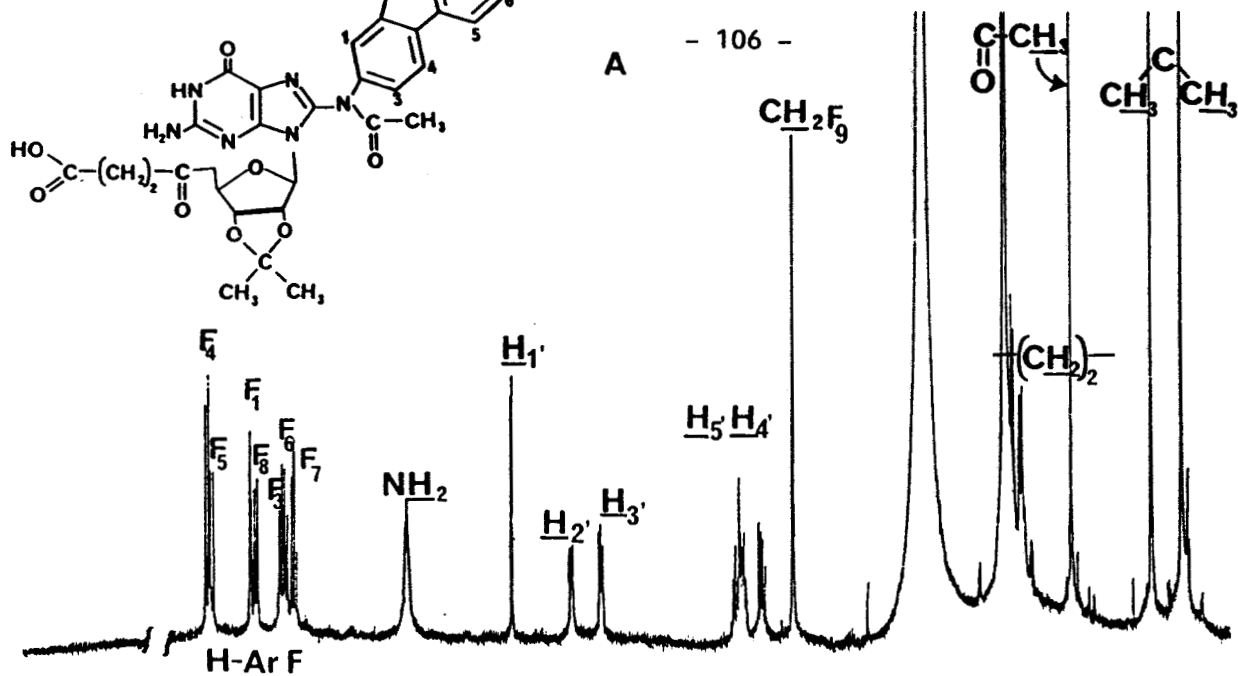
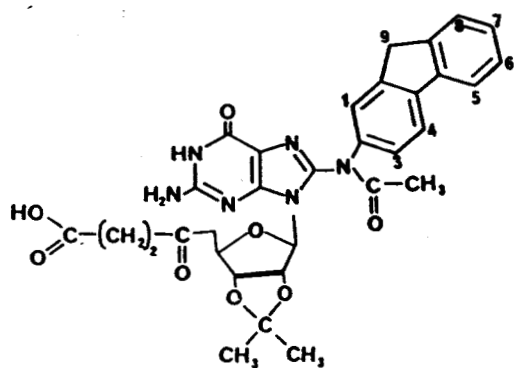
De plus en nous basant sur la littérature et sur l'interprétation du produit 28, nous pouvons dire que le mélange est constitué approximativement de 50 % de chacun des isomères 29a et 29b.

d. Le produit 30 :

Nous observons la disparition du proton porté par le C₈ de la guanine, et aucun nouveau signal n'apparaît dans le spectre de RMN du proton à 400 MHz.

Par ailleurs le spectre est tout à fait comparable à celui publié par F.E. EVANS (51) pour le produit décrit sous l'abréviation dGMP-C₈-AAF.

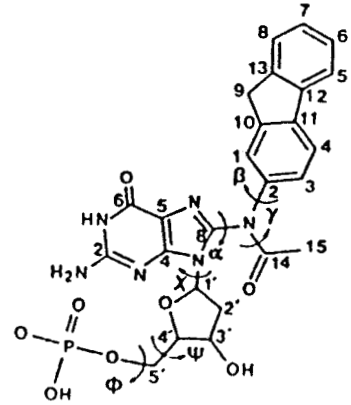
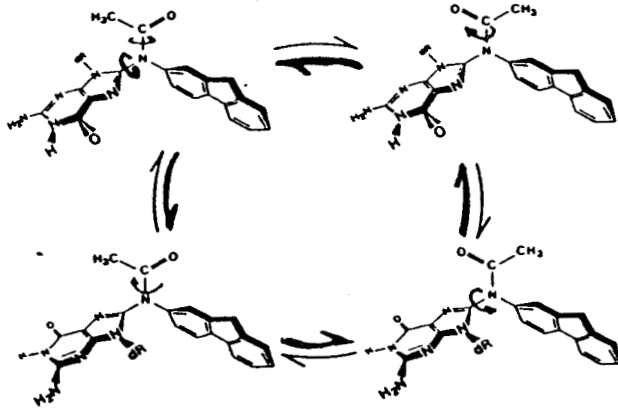
Ces éléments nous confirment la fixation du N-acétylamino-2 fluorène sur le C₈ de la guanine.



BU
LILLE

Schéma 29: Spectre de RMN du proton du produit 30 à 25°C (C), 60°C (B) et 80°C (A) (DMSO d_6 , 400 MHz).

Nous notons également pour ce dernier produit l'existence de problèmes conformationnels liés à la température et interprétés selon F.E. EVANS (51) par l'existence des quatre rotamères suivants :



dGMP-C₈-AAF



PARTIE EXPERIMENTALE

- o - o - o - o - o -

INDICATIONS GENERALES

La purification des produits a été effectuée par chromatographie sur gel de silice Kieselgel 60 (0,063-0,20 mm) MERCK.

Leur pureté a été vérifiée par Chromatographie sur couche mince (C.C.M., gel de silice F₂₅₄ MERCK).

Les analyses par chromatographie liquide haute performance (CLHP) ont été faites sur un appareil WATERS équipé de deux pompes M 6000, un injecteur universel U6K, deux détecteurs UV M440 (254 et 280 nm) et un programmeur de gradient M660. Nous avons utilisé des colonnes de phase inverse : radial-pack μ -Bondapack C₁₈ et μ -Bondapack C₁₈ (WATERS).

Les études solvolytiques réalisées à 40^o ± 0,5°C ont été faites dans un bain thermostaté : Polystat 22 (BIOBLOCK).

Les points de fusion ont été pris sur un appareil TOTOLI.

Les spectres infra-rouge (IR) ont été enregistrés sur les spectromètres PERKIN-ELMER 237 et 1320.

Les spectres ultra-violet (UV) ont été enregistrés sur des spectromètres BECKMAN DB-GT et DU-7 et PERKIN LAMBDA 15 UV/Vis.

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

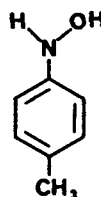
Les spectres de résonance magnétique nucléaire RMN¹H ont été enregistrés sur les spectromètres BRUKER WP 60 et AM 400 à transformée de Fourier. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport à l'héxaméthyl-disiloxane pris comme référence interne. Les spectres sont décrits avec les abréviations : s = singulet ; s.d = singulet dédoublé ; d = doublet ; d.d = doublet de doublet ; t = triplet ; q = quadruplet ; m = multiplet. Les constantes de couplage sont données en Hertz.

Les spectres de RMN¹³C : "off résonance" ont été enregistrés sur les appareils BRUKER : WP 80 (à 20 MHz) et AM 400 (à 100 MHz).

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

1. DERIVES DES AMINES AROMATIQUES :

a. N-HYDROXY AMINO-4 TOLUENE 6 :



On ajoute sous atmosphère d'azote, à une suspension de zinc en poudre (5,25 g ; 80,3 mmol) dans l'éthanol à 50 % (14 cm³) du p-nitrotoluène 5 (5,00 g ; 43,0 mmol.). On y verse goutte à goutte une solution de chlorure d'ammonium (2,50 g ; 43,0 mmol.) dans l'eau (14 cm³) ; la réaction est exothermique.

La solution est ensuite filtrée sur célite, le précipité de chlorure de zinc est lavé avec du chlorure de méthylène. On sépare la phase organique, qui est concentrée jusqu'à obtention de cristaux. Après une nuit à basse température (-20°C), les cristaux blancs sont filtrés et lavés avec de l'éther de pétrole. Le rendement est de 70 % (3,70 g ; 30,1 mmol.).

F = 98°C ; (Litt. : 93-94°C (45)).

IR (Nujol) : 3305 ; 1610 ; 1530 ; 1425 cm⁻¹.

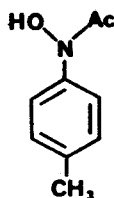
UV (CHCl₃) λ_{max} (ε) : 246 (7995) nm.

SM (impact électronique) ; M = 123 ; m/e : 123 (49 ; M⁺) ; 106 (100 ; M⁺-H₂O) ; 77 (59 ; bz).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 2,10 (3H, s, CH₃) ; 6,89 (2H, d, H₂ et H₆ Ar Tol) ; 6,97 (2H, d, H₃ et H₅ ArTol) ; 8,10 (1H, d, J = 2,5 Hz, N-OH).

RMN¹³C (20 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 18,23 (CH₃-Tol) ; 111,45 (C₃ et C₅) ; 126,10 (C₁) ; 126,84 (C₂ et C₆) ; 147,68 (C₄).

b. (N-HYDROXY N-ACETYL)AMINO-4 TOLUENE 7 :



Un mélange de 6 (10,00 g ; 81,0 mmol.) et de Et₃N (15 cm³) dans le THF (180 cm³) est refroidi dans un bain de glace. La réaction s'effectue sous barbotage d'azote. On y ajoute goutte à goutte une solution de chlorure d'acétyle dans le THF (1/2,5 ; 60 cm³). La réaction est suivie par CCM (éluant : éther pétrole/éther éthylique 1/9). Le mélange est filtré, on lave le précipité de chlorhydrate de Et₃N avec du THF. Le filtrat est refroidi dans un bain de glace ; sous barbotage d'azote, on ajoute de la soude 4N (160 cm³) pour obtenir un pH = 13. On lave la phase alcaline aqueuse avec de l'éther éthylique avant de l'acidifier avec de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à pH = 1. Le produit est extrait avec du chlorure de méthylène. La phase organique est lavée, séchée et concentrée sous pression réduite ; le produit existe sous forme d'huile, il cristallise dans l'éther de pétrole. Le rendement est de 88 % (12 g ; 71,3 mmol.).

F = 75°C.

IR (Nujol) : 1655 ; 1620 ; 1515 ; 1470 cm⁻¹.

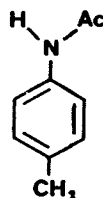
UV (CHCl₃) λ_{max} (ε) : 257 (8002) nm.

SM (impact électronique) ; M = 165 ; m/e : 165 (29 ; M⁺) ; 148 (3 ; M⁺-OH) ; 123 (25 ; 6) ; 106 (34 ; M⁺-(CH₃CO+OH)) ; 77 (12 ; bz) ; 42 (100 ; CH₃CO).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 2,05 (3H, s, CO-CH₃) ; 2,17 (3H, s, CH₃-Tol) ; 7,24 (2H, d, H₂ et H₆ ArTol) ; 7,44 (2H, d, H₃ et H₅ ArTol) ; 10,50 (1H, s, N-OH).

RMN¹³C (20 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 18,41 (CH₃-Tol) ; 20,29 (CH₃-CO) ; 118,73 (C₃ et C₅) ; 126,73 (C₂ et C₆) ; 131,88 (C₁) ; 137,33 (C₄) ; 167,32 (CO).

c. N-ACETYLAMINO-4 TOLUENE 13 :



Un mélange d'amino-4 toluène 14 (1,00 g ; 10 mmol.) et de Et_3N (3 cm^3) dans le THF (50 cm^3) est refroidi dans un bain de glace. On ajoute goutte à goutte un mélange de chlorure d'acétyle dans du THF (15 cm^3 , 50 cm^3). Le mélange est agité 30 mn à température ambiante avant filtration. On rince le précipité avec de l'éther éthylique. Après avoir ajouté une solution saturée de bicarbonate de soude au filtrat, on laisse agiter 30 mn à température ambiante. On extrait la phase organique avec une solution aqueuse de soude 0,1N ($3 \times 200 \text{ cm}^3$). On fait précipiter le produit 13 en ajoutant de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à $\text{pH} = 3$.

Le produit 13 est isolé sous forme de cristaux blancs, après cristallisation dans un mélange chlorure de méthylène/éther de pétrole (1/3). On obtient 1,27 g (8,5 mmol.) de 13, le rendement est de 85 %.

F = 152°C .

IR (Nujol) : 3350-3280 ; 1675 ; 1610 ; 1575 cm^{-1} .

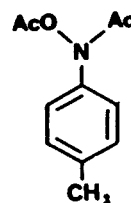
UV (CHCl_3) λ_{max} (ϵ) : 251 (10700) nm.

SM (impact électronique) ; M = 149 ; m/e : 149 (31 ; M^+) ; 107 (100 ; $\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{CO}$) ; 91 (2,7 ; $\text{M}^+ - \text{NHCH}_3\text{CO}$) ; 77 (11,4 ; bz).

RMN^1H (60 MHz ; $\text{DMSO } d_6$) : δ ppm = 1,95 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-CON}$) ; 2,18 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-Tol}$) ; 7,08 (2H, d, H_2 et H_6 ArTol) ; 7,33 (2H, d, H_3 et H_5 ArTol) ; 9,75 (1H, s, N-H).

RMN^{13}C (20 MHz ; $\text{DMSO } d_6$) δ ppm : 18,46 ($\text{CH}_3\text{-Tol}$) ; 21,97 ($\text{CH}_3\text{-CO}$) ; 117,14 (C_3 et C_5) ; 127 (C_2 et C_6) ; 129, 84 (C_1) ; 134,88 (C_4) ; 165,97 (CO).

d. (N-ACETOXY N-ACETYL)AMINO-4 TOLUENE 12 :



On ajoute goutte à goutte du chlorure d'acétyle ($0,58 \text{ cm}^3$; $7,9 \text{ mmol.}$) à un mélange de 7 ($1,00 \text{ g}$; $6,0 \text{ mmol.}$) et de Et_3N ($1,1 \text{ cm}^3$) dissous dans du benzène (15 cm^3) ; on refroidit le tout par un bain de glace. On laisse ensuite 30 mn sous agitation à température ambiante. Le précipité formé est filtré et lavé avec de l'éther éthylique. Le filtrat est évaporé sous pression réduite. Le produit 12 est une huile ; toute tentative de cristallisation a échoué. Le rendement est de 93% ($1,15 \text{ g}$; $5,58 \text{ mmol.}$).

IR (Nujol) : 1795 ; 1695 ; 1510 ; 1375 ; 860 ; 830 cm^{-1} .

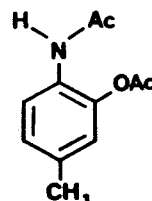
UV (EtOH), λ_{max} (ϵ) : $227 (9022) \text{ nm.}$

SM (impact électronique) ; $M = 207$; m/e : $208 (63 ; M^+ + 1)$; $165 (27 ; 7)$; $148 (100 ; M^+ - \text{CH}_3\text{CO}_2)$; $123 (7 ; 6)$; $105 (3 ; M^+ - (\text{CH}_3\text{CO}_2 + \text{CH}_3\text{CO}))$.

RMN¹H (60MHz ; DMSO-d_6) : $\delta \text{ ppm} = 1,96 (3\text{H, s, NCO-CH}_3)$; $2,10 (3\text{H, s, CH}_3\text{-Tol})$; $2,31 (3\text{H, s, NOCO-CH}_3)$; $7,33 (4\text{H, m, H ArTol})$.

RMN¹³C (20MHz ; DMSO d_6) : $\delta \text{ ppm} = 15,99 (\text{CH}_3\text{-COO})$; $18,59 (\text{CH}_3\text{-Tol})$; $19,26 (\text{CH}_3\text{-CO})$; $123,82 (\text{C}_1)$; $127,7 (\text{C}_2, \text{C}_3, \text{C}_5 \text{ et } \text{C}_6)$; $134,79 (\text{C}_4)$; $166,11 (\text{CO-N et CO-ON})$.

e. N-ACETYL AMINO-4 ACETOXY-3 TOLUENE 27 :



On dissout le dérivé 12 ($1,70 \text{ g}$; $8,2 \text{ mmol}$) dans du trifluoroéthanol (55 cm^3). Le mélange est porté à reflux sous atmosphère d'azote pendant 16 h . La solution est ensuite évaporée sous pression réduite : on

obtient un mélange de produits. La purification se fait par séparation sur colonne de silice : le produit 27 est élué par un mélange chlorure de méthylène/éthanol (95/5). C'est une poudre blanche. Il est cristallisé dans un mélange chlorure de méthylène/éther de pétrole (1/3) ; le rendement est de 41 % (0,69 g ; 3,4 mmol.).

F = 151-154°C.

IR (Nujol) : 2770 ; 1740 ; 1695 ; 1595 ; 1525 ; 1465 ; 1380 cm^{-1} .

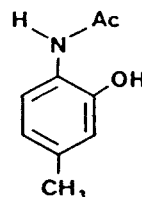
UV (EtOH) λ_{max} (ϵ) : 237 (13,543) nm.

SM (impact électronique) ; M = 207 ; m/e : 207 (4 ; M^+) ; 165 (6 ; $\text{M}^+ - \text{COCH}_3$) ; 147 (17 ; $\text{M}^+ - \text{CH}_3\text{COOH}$) ; 123 (100 ; $\text{M}^+ - 2(\text{CH}_3\text{CO})$) ; 105 (5 ; $\text{M}^+ - (\text{CH}_3\text{CO}_2 + \text{CH}_3\text{CO})$) ; 94 (11 ; PhOH).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d_6) : δ ppm = 1,97 (3H, s, NCO-CH_3) ; 2,21 (6H, s, OCO-CH_3 et $\text{CH}_3\text{-Tol}$) ; 6,87 (1H, s, H_6 ArTol) ; 6,94 (1H, d, $J=8,07$, H_2 ou H_3 ArTol) ; 7,65 (1H, d, H_3 ou H_2 ArTol) ; 9,22 (1H, s, N-H).

RMN¹³C (20 MHz ; DMSO d_6) : δ ppm = 18,29 ($\text{CH}_3\text{-Tol}$) ; 19,10 (CO-CH_3) ; 21,45 (OCO-CH_3) ; 121,22 (C_2 ou C_5) ; 121,90 (C_5 ou C_2) ; 124,19 (C_6) ; 125,98 (C_1) ; 131,98 (C_3) ; 139,64 (C_4) ; 166,28 (CO-N).

f. N-ACETYLAMINO-4 HYDROXY-3 TOLUENE 26 :



Après avoir dissous le dérivé 27 (0,2 g ; 0,96 mmol) dans du dioxanne (45 cm^3), on ajoute une solution de soude 0,1N (10 cm^3). Le mélange réactionnel est agité 2h30 à température ambiante, avant d'être acidifié avec une solution d'acide chlorhydrique 1N jusqu'à pH = 6. On extrait le produit avec du chlorure de méthylène. Après cristallisation dans l'éther éthylique, on obtient un solide blanc avec un rendement de 50 % (0,08 g ; 0,48 mmol.).

F = 165-168°C.

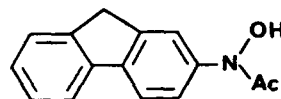
IR (KBr) : 3280 ; 3080 ; 1645 ; 1600 ; 1550 ; 1420 ; 950 ; 860 cm^{-1} .

UV (EtOH) λ_{max} (ϵ) : 285 (47186) ; 278 (1202) ; 245 (10459) nm.

SM (impact électronique) ; M = 165 ; m/e = 165 (18 ; M⁺) ; 123 (100 ; M⁺-CH₃CO) ; 106 (19 ; M⁺-(CH₃CO + OH)) ; 94 (14 ; phOH) .

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) δ ppm = 2,00 (3H, s, N-CO-CH₃) ; 2,13 (3H, s, CH₃-Tol) ; 6,53 (1H, d, J=8,2 Hz, H₂ ou H₃ ArTol) ; 6,60 (1H, s, H₆ ArTol) ; 7,41 (1H, d, J=8,2Hz, H₂ ou H₃ ArTol) ; 9,24 (1H, s, N-H) ; 9,64 (1H, OH).

g. (N-HYDROXY N-ACETYL)AMINO-2 FLUORENE 2 :



Le nitro-2 fluorène 15 (0,213 g ; 1 mmol.) est solubilisé dans du THF (25 cm^3) sous atmosphère d'azote. On refroidit le mélange dans un bain de glace avant d'ajouter successivement du Pd/C à 5 % (0,05 g) et de l'hydrate d'hydrazine (0,2 cm^3) goutte à goutte afin que la température du mélange n'excède pas 5°C. Après 1h d'agitation dans le bain réfrigérant, on ajoute de la Et₃N (0,3 cm^3) puis du chlorure d'acétyle dissous dans du THF (1,5 cm^3 ; 5 cm^3) ; la température du milieu ne doit pas dépasser 10°C. La solution est ensuite agitée 30 mn à température ambiante sous atmosphère d'azote, puis filtrée sur célite. Le précipité est lavé avec de l'éther éthylique. On ajoute au filtrat une solution saturée de bicarbonate de sodium ; le mélange est agité 30 mn à température ambiante et à l'abri de la lumière. Le produit contenu dans la phase organique est ensuite extrait avec une solution de soude 0,1N (100 cm^3 en 6 à 7 fois). La phase alcaline est lavée par de l'éther éthylique. On fait précipiter le produit 2 par addition d'acide chlorhydrique concentré (le pH de la solution est égal à 3). On récupère le produit par filtration ; après cristallisation dans un mélange chlorure de méthylène/éther de pétrole (1/5) on obtient une poudre jaune pâle ; le rendement est de 82 % (0,239 g ; 0,82 mmol).

F = 148-149 ; (Litt. : 147-150°C (32)).

IR (KBr) : 3160-3144 ; 2900 ; 1640 ; 1620 ; 1485 ; 1450 ; 1430 ; 1400 ; 830 ; 770 cm^{-1} .

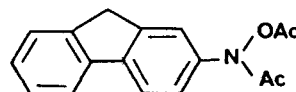
UV (EtOH) λ_{max} (ϵ) : 314 (15293) ; 302 (20701) ; 290 (24423) ; 281 (24132).

SM (impact électronique) ; M = 239 ; m/e = 239 (13 ; M^+) ; 223 (56 ; M^+-0) ; 197 (12 ; $\text{M}^+-\text{CH}_3\text{CO}$) ; 181 (100 ; $\text{M}^+-\text{(CH}_3\text{CO+OH)}$) ; 165 (23 ; F).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d_6) : δ ppm = 2,17 (3H, s, NCO-CH_3) ; 3,87 (2H, s, CH_2F_9) ; 7,20 à 7,90 (7H, m, HArF) ; 10,60 (1H, s, OH).

RMN¹³C (20 MHz ; DMSO d_6) : δ ppm = 20,47 (CO-CH_3) ; 34,59 (CH_2F_9) ; 115,70 (CF_1) ; 117,64 (CF_4 et CF_5) ; 117,76 (CF_3) ; 123,04 (CF_8) ; 124,43 (CF_7) ; 124,79 (CF_6) ; 135,58 (CF_2) ; 138,66 (CF_{11} et CF_{12}) ; 141,09 (CF_{13} ou CF_{10}) ; 141,21 (CF_{10} ou CF_{13}) ; 168 ($\text{CH}_3\text{-CO}$).

h. (N-ACETOXY N-ACETYL)AMINO-2 FLUORENE 4 :



On dissout le dérivé 2 (0,10 g ; 0,42 mmol.) dans de la pyridine (0,35 cm^3), on y ajoute de l'anhydride acétique (0,062 cm^3). Le mélange est agité 30 mn à température ambiante. Le produit précipite par addition d'eau froide (2 cm^3). On filtre le produit 4 qui se trouve sous forme de cristaux blancs. Le rendement est de 70 % (0,081 mg ; 0,29 mmol.).

F = 107-110°C (Litt. : 108-109°C (40)).

IR (KBr) : 1780 ; 1675 ; 1485 ; 1455 ; 1420 ; 840 ; 775 cm^{-1} .

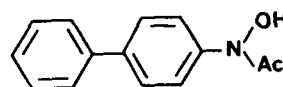
UV (EtOH) λ_{max} (ϵ) : 358 (594) ; 302 (32206) ; 275 (47405) nm.

SM (impact électronique) ; M = 281 ; m/e = 281 (19 ; M⁺) ; 239 (38 ; 2) ; 223 (52,5 ; M⁺-CH₃COO) ; 179 (88 ; M⁺-(CH₃COOH + CH₃CO)) ; 165 (17,4 ; F) ; 152 (24,3 ; C₁₂H₈) ; 43 (100 ; CH₃CO).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 2,10 (3H, s, NCO-CH₃) ; 2,20 (3H, s, NOCO-CH₃) ; 3,91 (2H, s, CH₂F₉) ; 7,20 à 8,10 (7H, m, H ArF).

RMN¹³C (20 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 16,13 (OCO-CH₃) ; 19,41 (NCO-CH₃) ; 34,45 (CH₂F₉) ; 118,38 (CF₁, CF₄ et CF₅) ; 120,79 (CF₃) ; 123,13 (CF₈) ; 124,88 (CF₇) ; 125,25 (CF₆) ; 135,75 (CF₂) ; 137,94 (CF₁₁ ou CF₁₂) ; 139,26 (CF₁₂ ou CF₁₁) ; 141,52 (CF₁₃ ou CF₁₀) ; 141,96 (CF₁₀ ou CF₁₃) ; 164,59 (CO-ON) ; 166,19 (CO-N).

i. (N-HYDROXY N-ACETYL)AMINO-4 BIPHENYLE 23 :



On utilise la méthode décrite pour l'obtention du dérivé 2. On utilise le nitro-4 biphenyle 24 (0,199 g ; 1 mmol.) ; après cristallisation dans le chlorure de méthylène/éther éthylique (1/4) on obtient des cristaux blancs. Le rendement est de 81 % (0,183 g ; 0,81 mmol.).

F = 142-144°C (Litt. : 143-146 (32)).

IR (KBr) : 2810-2795 ; 2170-2120 ; 1645 ; 1635 ; 1605 ; 1515 ; 1485 ; 1455 ; 1420 ; 925 ; 910 ; 845 cm⁻¹.

UV (EtOH) λ_{max} (ε) : 278 (26425) nm.

SM (impact électronique) ; M = 227 ; m/e = 227 (20 ; M⁺) ; 211 (52,1 ; M⁺-O) ; 185 (36,8 ; M⁺-CH₃CO) ; 169 (100 ; M⁺-(CH₃CO+OH)).

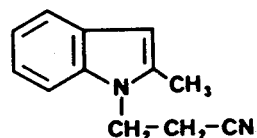
RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) δ ppm = 2,17 (3H, s, CO-CH₃) ; 7,30 à 7,66 (9H, m, H Ar-BP) ; 10,61 (1H, s, N-OH).

RMN¹³C (20 MHz ; DMSO d₆) δ ppm = 20,41 (N-CO-CH₃) ; 118,43 (C₃ et C₅) ; 124,31 (C₂ et C₆ ou C'₂ et C'₆) ; 124,43 (C'₂ et C'₆ ou C₂ et C₆) ; 125,16 (C'₄) ; 126,85 (C'₃ et C'₅) ; 134,06 (C₄) ; 137,45 (C₁ ou C'₁) ; 139,03 (C'₁ ou C₁) ; 167,74 (CO-N-).

2. DERIVES DE L'INDOLE ET DE LA GUANOSINE :

a. DERIVES DE L'INDOLE :

1. (CYANO-2 ETHYL)-1 METHYL-2 INDOLE 9a :



Dans l'acrylonitrile fraîchement distillé (3,3 cm³ ; 64,0 mmol.) on dissout le méthyl-2 indole 8 (3,9 g ; 29,0 mmol.) ; on ajoute de la potasse en poudre (0,2 g ; 3,5 mmol.) mise en suspension dans du benzène anhydre (15 cm³). Le mélange est agité 1h à température ambiante puis 1h à reflux ; on filtre le précipité lorsque la solution est revenue à température ambiante. On concentre le filtrat sous pression réduite. L'huile obtenue contient plusieurs produits. Le dérivé 9a est isolé par chromatographie sur colonne de silice (élution : éther de pétrole/éther éthylique : 1/1). Le produit est sous forme de cristaux blancs, le rendement est de 66 % (3,5 g ; 42,24 mmol.).

F = 87-88°C (Litt. : 84°C (33)).

IR (Nujol) : 2270 ; 1580 ; 1525 ; 1450 cm⁻¹.

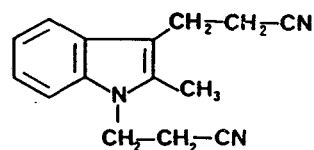
UV (CHCl₃) λ_{max} (ε) : 288 (5900) ; 282 (8000) ; 277 (7900) ; 247 (5600) nm.

SM (impact électronique) ; M = 184 ; m/e : 184 (45 ; M⁺) ; 144 (100 ; M⁺-CH₂CN) ; 115 (12 ; indole).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 2,40 (3H, s, CH₃) ; 2,87 (2H, t, J=6,1Hz, CH₂-CH₂-CN) ; 4,38 (2H, t, J=6,1Hz, N-CH₂-CH₂CN) ; 6,20 (1H, s, C₃H) ; 6,89 à 7,57 (4H, m, H ArInd).

RMN¹³C (20 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 10,17 (CH₃) ; 15,93 (CH₂-CN) ; 36,10 (CH₂-N) ; 98,20 (C₃) ; 107,28 (C₇) ; 117,22 (C₄ et CN) ; 118,25 (C₅) ; 125,7 (C₂) ; 134,0 (C₈ ou C₉) ; 134,01 (C₉ ou C₈).

2. DI(CYANO-2 ETHYL)-1,3 METHYL-2 INDOLE 9b :



Le dérivé 9b est isolé par chromatographie sur colonne de silice (élution : éther éthylique) à partir du brut réactionnel précédent.

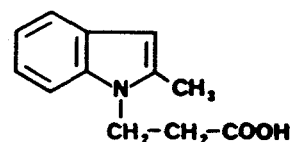
F = 146°C.

IR (Nujol) : 2290 ; 1520 ; 1480 cm⁻¹.

SM (impact électronique) ; M = 237 ; m/e : 237 (33 ; M⁺) ; 197 (100 ; M⁺-CH₂-CN) ; 152 (12 ; M⁺-2 CH₂CN).

RMN¹H (60MHz ; CDCl₃) : δ ppm = 2,40 (3H, s, C₂-CH₃) ; 2,65 (4H, t, 2CH₂-CH₂-CN) ; 3,01 (2H, m, C₃-CH₂-CH₂CN) ; 4,32 (2H, t, N-CH₂-CH₂CN) ; 7,06 à 7,51 (4H, m, H ArInd).

3. ACIDE [(METHYL-2 INDOLYL)-1]-3 PROPIONIQUE 10 :



On ajoute le produit 9a (1,8 g ; 9,8 mmol.) à une solution aqueuse de potasse à 15 % (10 cm³). Le mélange est porté à reflux pendant 3h. Lorsque la solution est revenue à la température ambiante, on filtre le précipité, puis on acidifie le filtrat avec de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à

l'obtention d'un précipité. Le produit 10 est cristallisé dans un mélange chlorure de méthylène/éther de pétrole (1/5). On obtient une poudre blanche ; le rendement est de 85 % (1,6 g ; 8,33 mmol.).

F = 113°C (Litt. : 111-112°C (33)).

IR (Nujol) : 2800 à 2500 ; 1730 ; 1520 ; 1480 cm^{-1} .

UV (CHCl_3), λ_{max} (ϵ) : 293 (4760) ; 282 (5658) ; 247 (4356) nm.

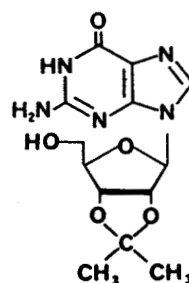
SM (impact électronique) ; M = 203 ; m/e = 203 (83 ; M^+) ; 144 (100 ; $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{COOH}$) ; 131 (13 ; $\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) ; 115 (13 ; indole).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d_6) : δ ppm = 2,40 (3H, s, $\text{C}_2 - \text{CH}_3$) ; 2,70 (2H, t, J=7,3Hz, $-\text{CH}_2 - \text{COOH}$) ; 4,35 (2H, t, J=7,3 Hz, $\text{N} - \text{CH}_2 -$) ; 6,20 (1H, s, $\text{C}_3 - \text{H}$) ; 6,90 à 7,40 (4H, m, H ArInd) ; 12,31 (1H, s, COOH).

RMN¹³C (20 MHz ; DMSO d_6) : δ ppm = 10,17 (CH_3) ; 34,04 ($\text{CH}_2 - \text{N}$) ; 42,89 ($\text{CH}_2 - \text{COOH}$) ; 97,71 (C_3) ; 107,22 (C_7) ; 116,92 (C_6) ; 117,1 (C_4) ; 118,07 (C_5) ; 125,7 (C_2) ; 134,06 (C_8 ou C_9) ; 134,42 (C_9 ou C_8) ; 170,23 (COOH).

b. DERIVES DE LA GUANOSINE :

1. 0,0'-ISOPROPYLIDENE-2',3' GUANOSINE 21 :



Un mélange de guanosine sèche 20 (7,31 g ; 25,8 mmol.), d'acide p-toluène sulfonique (5,37 g ; 30,96 mmol.) dans de l'acétone distillée (300 cm^3) et du diméthoxypropane (25,3 cm^3 ; 206,4 mmol.) est fortement agité à température ambiante jusqu'à ce que la solution devienne limpide (5 h). On concentre alors la solution et on la verse dans de l'eau (200 cm^3) contenant de l'ammoniaque (2 cm^3). Après une nuit à 4°C on filtre le produit précipité : c'est une poudre blanche ; le rendement est de 80 % (6,25 g ; 20,64 mmol.).

F > 200°C (décomposition).

IR (KBr) : 3410 ; 3340 ; 3000 ; 2950 ; 2880 ; 1730 ; 1700 ; 1650 ; 1600 ; 1540 ; 1385 cm^{-1} .

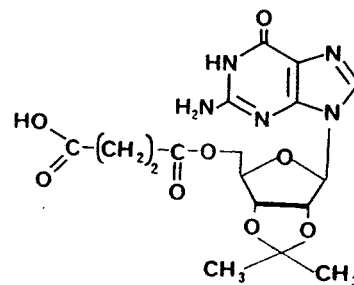
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) : 346 (103) ; 254 (11305) nm.

SM (impact électronique) ; M = 323 ; m/e = 323 (2 ; M⁺) ; 151 (100 ; guanine) ; 135 (6,3 ; ribose).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 1,24 (3H, s, CH₃) ; 1,44 (3H, s, CH₃) ; 3,47 (2H, t, J_{5',-4'}=5,3Hz, H'₅) ; 4,07 (1H, m, J_{4',-3'}=2,90Hz, H'₄) ; 5,03 (2H, m, J_{3',-4'}=2,90Hz et J_{2',-1'}=2,5Hz, H'₂ et H'₃) ; 5,88 (1H, d, J_{1',-2'}=2,5, Hz, H'₁) ; 6,47 (2H, s élargi, C₃-NH₂) ; 7,88 (1H, s, C₈-H) ; 10,68 (1H, s, N₁-H).

RMN¹³C (20 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 23,21 (CH₃) ; 25,03 (CH₃) ; 59,63 (C'₅) ; 7,19 (C'₂) ; 81,60 (C'₃) ; 84,59 (C'₄) ; 86,49 (C'₁) ; 111,01 ((CH₃)₂-C) ; 114,73 (C₅) ; 133,86 (C₈) ; 148,67 (C₄) ; 151,67 (C₂) ; 154,73 (C₆).

2. ACIDE [0,0' ISOPROPYLIDINE-2',3' O-CARBOXY-5' GUANOSYL]-3 PROPANOIQUE 22 :



On solubilise le dérivé 21 (2,0 g ; 6,19 mmol.) dans de la DMF (180 cm^3), on ajoute de l'anhydride succinique (1,23 g ; 12,38 mmol.) et de la diméthylaminopyridine (1,13 g ; 9,26 mmol.). Le mélange est agité pendant 4 h sous atmosphère d'azote à 90°C. Puis la solution est concentrée et l'huile obtenue est précipitée par addition de chlorure de méthylène. Après une nuit d'agitation à température ambiante, on isole le précipité. Le produit 22 est purifié par chromatographie sur colonne de silice (chlorure de méthylène/méthanol : 85/15 + 1% d'acide acétique). Le rendement est de 60 % (1,5 g ; 3,71 mmol.).

F = 150 - 155°C.

IR (KBr) : 3410 ; 3330 ; 3000 ; 2950 ; 1730 ; 1695 ; 1685 ; 1600 ; 1530 ; 1485 cm^{-1} .

UV (EtOH) λ_{max} (ϵ) : 324 (74) ; 255 (12782) nm.

SM (impact électronique ; 260°C) ; M = 423 ; m/e : 323 (21) ; 306 (21-OH) ; 280 (20) ; 151 (guanine) ; 43 (CH_3CO^+).

RMN¹H (400MHz ; DMSO d_6) : δ ppm = 1,26 et 1,46 (6H, 2s, $\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$) ; 2,45 (4H, m, $\text{O-CO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COO-}$) ; 4,09 et 4,21 (3H, m, H'_4 et $2\text{H}'_5$) ; 5,07 (1H, dd, $J_{3',-2'}=6,2\text{Hz}$, $J_{3',-4'}=3,2\text{Hz}$, H'_3) ; 5,19 (1H, dd, $J_{2',-3'}=6,2\text{Hz}$, $J_{2',-1'}=2\text{Hz}$, H'_2) ; 5,96 (1H, d, $J_{1',-2'}=2\text{Hz}$, H'_1) ; 6,60 (2H, s élargi, NH_2) ; 7,81 (1H, s, $\text{C}_8\text{-H}$) ; 10,45 (1H, s élargi, N-H).

RMN¹³C (100 MHz ; DMSO d_6) : δ ppm = 23,29 et 25,0 ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$) ; 26,77 et 27,0 ($\text{-OCO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}$) ; 62,10 (C'_5) ; 78,98 (C'_2) ; 81,61 (C'_3) ; 82,17 (C'_4) ; 86,27 (C'_1) ; 111,83 ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$) ; 114,88 (C_5) ; 134,08 (C_8) ; 148,50 (C_4) ; 151,75 (C_2) ; 154,77 (C_6) ; 170,0 (OCO) ; 171,1 (O-CO).

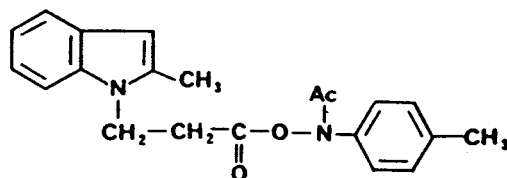
Analyse : $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_8 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Calc. % : C : 46,26 H : 5,25 N : 15,87

Tr. % : 46,12 4,97 15,79.

3. REACTIONS DE COUPLAGE :

a. [N-[(METHYL-2 INDOLYL)-1]-3 PROPIONYLOXY
N-ACETYL] AMINO -4 TOLUENE 11 :



Le dérivé 10 (0,203 g ; 1 mmol.) est dissous dans du THF (10 cm³), puis refroidi dans un bain de glace-sel à -20°C. On ajoute à la solution agitée par un courant d'azote successivement de la N-méthylmorpholine (0,21 cm³ ; 2 mmol.) et du chloroformiate d'isobutyle (0,23 cm³ ; 2 mmol.). Après 15 minutes d'agitation on peut additionner le produit 7 (0,165 g ; 1 mmol.), puis le bain réfrigérant est enlevé. Lorsque la température de la solution est voisine de la température ambiante, le THF est évaporé. Le précipité obtenu est dissous dans du chlorure de méthylène (10 cm³). La phase organique est lavée avec une solution saturée de bicarbonate de soude (5 cm³), puis d'acide chlorhydrique 1N (5 cm³) et enfin avec de l'eau (2 fois 5 cm³). La phase organique est ensuite séchée et concentrée. L'huile obtenue précipite après quelques heures à -20°C. On obtient un précipité blanc. Le rendement est de 80 % (280 mg ; 0,8 mmol.).

F = 93-94°C.

IR (Nujol) : 1790 ; 1705 ; 1565 ; 1515 ; 1475 cm⁻¹.

UV (CHCl₃) : λ_{max} (ε) : 293 (8158) ; 285 (9046) ; 280 (8972) ; 247 (12606) nm.

SM (impact électronique, 130°C) ; M = 350 ; m/e = 350 (5 ; M⁺) ; 306 (3 ; M⁺-CH₃CO) ; 203 (21 ; 10) ; 185 (6 ; 10-H₂O) ; 165 (0,2 ; 7) ; 158 (21 ; 10-CO₂) ; 149 (36 ; 7-O) ; 144 (100 ; 10-CH₂COO) ; 131 (13 ; 8) ; 107 (60 ; tol-N).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 1,83 (3H, s, CO-CH₃) ; 2,25 (3H, s, CH₃-Tol) ; 2,31 (3H, s, C₂-CH₃) ; 2,93 (2H, t, J=7,7Hz, N-CH₂-COON) ; 4,37 (2H, t, J = 7,7 Hz, NCH₂-CH₂) ; 6,11 (1H, s, C₃-H) ; 6,85 à 7,45 (4H, m, H ArInd) ; 7,18 (4H, s, H ArTol).

RMN¹³C (20MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 10,14 (CH₃-Ind) ; 18,61 (CH₃-Tol) ; 19,47 (CH₃-CO) ; 29,70 (CH₂-N) ; 35,98 (CH₂-COO) ; 98,09 (C₃-Ind) ; 107,29 (C₇-Ind) ; 117,22 (C₄ et C₆-Ind) ; 118,24 (C₅-Ind) ; 125,83 (C₁-Tol et C₂-Ind) ; 127,7 (C₂, C₃, C₅ et C₆-Tol) ; 134,00 (C₈ ou C₉-Ind) ; 134,44 (C₉ ou C₈-Ind et C₄-Tol) ; 166,9 (OCO).

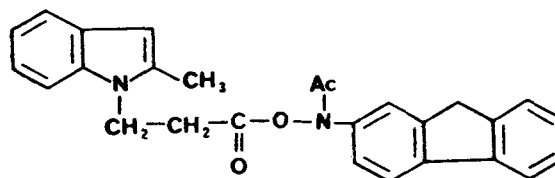
Analyse : C₂₁H₂₂N₂O₃

Calc. % : C : 71,98 H : 6,33 N : 7,99

Tr. % : 71,74 6,29 7,61.

b. N- (METHYL-2 INDOLYL)-1 -3 PROPIONOXY

N-ACETYL AMINO -2 FLUORENE 16 :



Le produit 16 est préparé selon la méthode utilisée pour le dérivé 11. On utilise les produits : 10 (0,203 g ; 1 mmol.) et 2 (0,139 g ; 1 mmol.). Après cristallisation dans le chlorure de méthylène/éther de pétrole (1/4), on obtient une poudre blanche (0,339 mg ; 0,8 mmol.) : le rendement est de 80 %.

F = 120-125°C.

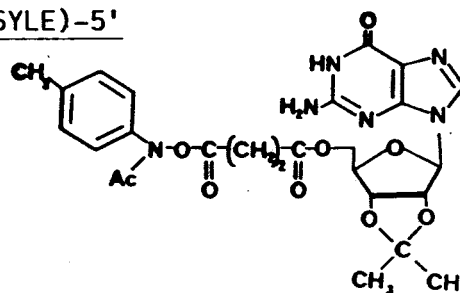
IR (KBr) : 3060 ; 2920 ; 1780 ; 1680 ; 1550 ; 1480 ; 1470 ; 1460 ; 1425 ; 970 ; 885 ; 840 cm⁻¹.

UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) = 302 (20821) ; 290 (28106) ; 275 (36666) nm.

SM (impact électronique) ; M = 424 ; m/e = 424 (11 ; M⁺) ; 385 (1 ; M⁺-CH₃CO) ; 239 (28 ; 2) ; 203 (6 ; 10) ; 197 (70 ; 2-CH₃CO) ; 180 (20 ; 2-(CH₃CO+O)) ; 185 (8 ; 10-H₂O) ; 159 (6 ; 10-COOH) ; 144 (100 ; 10-CH₂COOH) ; 130 (36 ; 8) ; 115 (41 ; Indole).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 1,9 (3H, s, CH₃-CO) ; 2,32 (3H, s, C₂-CH₃) ; 2,97 (2H, t, J=6,8Hz, CH₂-CO-) ; 3,87 (2H, s, CH₂F₉) ; 4,40 (2H, t, J=6,8Hz, N-CH₂-) ; 6,11 (1H, s, C₃-H) ; 6,85 à 7,95 (11H, m, 4H-ArInd et 7H-ArF).

c. SUCCINATE DE (0,0'-ISOPROPYLIDENE-2',3' GUANOSYLE)-5'
ET DE (N-ACETYL N-TOLYL-4 HYDROXYLAMINE) 17 :



On solubilise le produit 22 (0,211 g ; 0,5 mmol.) dans de la DMF (5 cm³). Puis le mélange est refroidi par un bain de glace-sel à -20°C et agité par barbotage d'azote. On ajoute alors de la méthylmorpholine (0,109 cm³ ; 2 éq.) et après 5 minutes de l'isobutylchloroformiate (0,129 cm³ ; 2 éq.). Après 10 à 15 minutes on ajoute le produit 7 (0,082 g ; 0,5 mmol.). On enlève le bain réfrigérant et le mélange est agité sous atmosphère d'azote jusqu'à ce qu'il soit revenu à température ambiante. On évapore à sec sous pression réduite. L'huile obtenue est solubilisée dans du chlorure de méthylène (10 cm³). La phase organique est lavée successivement avec : de l'eau, une solution de soude 0,1N, une solution d'acide chlorhydrique 1N et de l'eau. On sèche la phase organique avant de la concentrer, et on fait précipiter le produit avec de l'éther éthylique. On obtient 0,108 g (0,32 mmol.) soit un rendement de 63 %.

F = 160-165°C (décomposition).

IR (KBr) : 3420 ; 3320 ; 3120 ; 3000 ; 2960 ; 1790 ; 1740 ; 1710-1690 ; 1610 ; 1530 ; 1510 ; 1490 ; 865 ; 830 cm⁻¹.

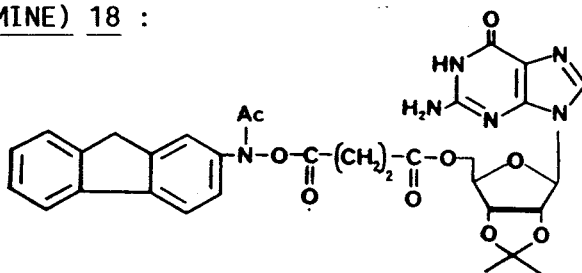
UV (EtOH) : λ_{\max} (ϵ) : 276 (10093) ; 248 (18151) nm.

SM (impact électronique, 170°C) ; M=570 ; m/e = 306 (21-OH) ; 305 (21-H₂O) ; 280 (20) ; 247 (7 + COCH₂CH₂CO) ; 205 (247-COCH₃) ; 165 (7) ; 151 (Guanine) ; 123 (6) ; 43 (CH₃CO⁺).

RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 1,26 et 1,46 (6H, 2s, CH₃-C-CH₃) ; 1,94 (3H, s, CH₃-CO) ; 2,25 (3H, s, CH₃-Tol) ; 2,65 (4H, m, OCO-CH₂-CH₂-COO) ; 4,16 (3H, m, H'₄ et 2H'₅) ; 5,13 (2H, m, H'₂ et H'₃) ; 5,95 (1H, s, H'₁) ; 6,48 (2H, s élargi, NH₂) ; 7,24 (4H, s, H ArTol) ; 7,80 (1H, s, C₈-H) ; 10,62 (1H, s élargi, N-H).

Aucune analyse correcte n'a pu être obtenue.

d. SUCCINATE DE (0,0'-ISOPROPYLIDENE-2',3'GUANOSYLE)-5' ET DE (N-ACETYL N-FLUORENYL-2 HYDROXYLAMINE) 18 :



On synthétise le produit 18 en utilisant le protocole décrit pour le dérivé 17. On part des produits 22 (0,2115 g ; 0,5 mmol.) et 2 (0,1195 g ; 0,5 mmol.). Après cristallisation dans un mélange chlorure de méthylène/éther éthylique (1/5) on récupère des cristaux blancs : le rendement est de 65 % (0,210 g ; 0,32 mmol.).

F = 176-180°C.

IR (KBr) : 3420 ; 3130 ; 2940 ; 1785 ; 1730 ; 1690 ; 1600 ; 1530 ; 1490 cm⁻¹.

UV (EtOH) λ_{max} (ε) : 346 (644) ; 302 (18802) ; 274 (35537) nm.

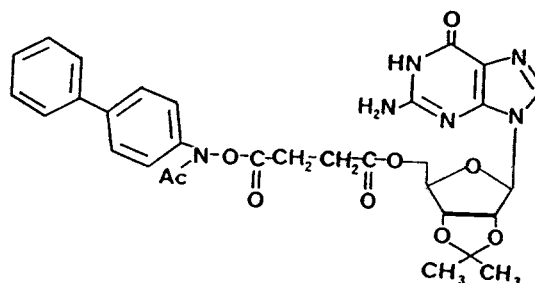
SM (impact électronique, 180°C) ; M=644 ; m/e = 321 (2 + COCH₂CHCO) ; 279 (321-COCH₃) ; 221 (2 - H₂O) ; 180 (2 - AcOH) ; 151 (guanine).

RMN¹H (400 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 1,25 et 1,45 (6H, 2s, CH₃-C-CH₃) ; 2,00 (3H, s, CH₃-CON) ; 2,6 (4H, m, 2-CH₂) ; 3,92 (2H, s, CH₂F₉) ; 4,1 (1H, m, H'₄) ; 4,2 (1H, m, 2H'₅) ; 5,2 et 5,07 (2H, m d, H'₂ et H'₃) ; 5,91 (1H, s, H'₁) ; 6,6 (2H, s, NH₂) ; 7,28 (1H, t, J₇₋₆=7,1Hz, H₇ ArF) ; 7,34 (1H, t, J₆₋₇=7,1Hz, H₆ ArF) ; 7,40 (1H, d élargi, J₃₋₄=7,9Hz, H₃ ArF) ; 7,54 (1H, d, J₈₋₇=7,4Hz, H₈ ArF) ; 7,61 (1H, s, H₁ ArF) ; 7,86 et 7,88 (3H, m, H₄ et H₅ ArF et C₈H) ; 10,78 (1H, s, N-H).

Analyse : C₃₂H₃₂N₆O₉, 3,5H₂O :

Calc. % : C : 54,31 H : 5,55 N : 11,88
Tr. % : 54,56 5,58 11,75.

e. SUCCINATE DE (0,0'-ISOPROPYLIDENE-2',3' GUANOSYLE)-5' ET DE (N-ACETYL N-BIPHENYL-4 HYDROXYLAMINE) 19 :



On prépare le composé 19 en suivant le protocole mis au point pour obtenir le produit 17. En prenant les produits 22 (0,211 g ; 0,5 mmol.) et 23 (0,113 g ; 0,5 mmol.), on obtient après précipitation 0,22 g de produit (0,35 mmol.) soit un rendement de 70 %.

F = 152-155°C.

IR (KBr) : 3370 ; 3290 ; 3080 ; 2950 ; 2910 ; 1765 ; 1710 ; 1670 ; 1585 ; 1510 ; 1465 cm⁻¹.

UV (EtOH) : λ max (ε) = 259 (3253) nm.

SM (impact électronique, 190°C) ; M = 632 ; m/e = 310 (13+COCH₂CH₂CO) ; 267 (310-CH₃CO) ; 239 (267-CO) ; 227 (23) ; 209 (23 - H₂O) ; 185 (23 - COCH₂).

RMN¹H (400MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 1,25 et 1,45 (6H, 2s, CH₃-C-CH₃) ; 2,03 (3H, s, CH₃-CON) ; 2,63 (4H, m, CO-CH₂CH₂-CO) ; 4,09 (1H, q, J=5,3Hz, H'₄) ; 4,19 (2H, m, 2H'₅) ; 5,06 (1H, m, H'₃) ; 5,18 (1H, d, J=6Hz, H'₂) ; 5,95 (1H, s, H'₁) ; 6,52 (2H, s élargi, NH₂) ; 7,32 (1H, t, J_{4'-3'}=7,3Hz, H'₄ ArBP) ; 7,41 (2H, t, J_{3'-2'}=7,5Hz, H'₃ et H'₅ ArBP) ; 7,48 (2H, d, J_{2'-3'}=7,5Hz, H'₂ et H'₆ ArBP) ; 7,61 (2H, d, J₂₋₃=7,5Hz, H₂ et H₆ ArBP ou H₃ et H₅ ArBP) ; 7,66 (2H, d, J₅₋₆=8Hz, H₃ et H₅ ArBP ou H₂ et H₆ ArBP) ; 7,79 (1H, s, C₈-H).

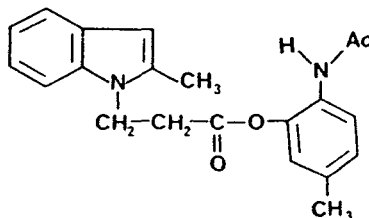
Analyse : C₃₁H₃₂N₆O₉, 2H₂O :

Calc. % : C : 55,68 H : 5,43 N : 12,57

Tr. % : 55,91 5,33 12,51.

4. PRODUITS DE REARRANGEMENT

a. [N[(METHYL-2 INDOLYL)-1]-3 PROPIONOXY]-3
N-ACETYLAMINO-4 TOLUENE 25 :



VOIE 1 :

Les produits 10 (0,203 g ; 1 mmol.) et 26 (0,165 g ; 1 mmol.) sont dissous dans du chlorure de méthylène (15 cm³), on y ajoute alors Et₃N (0,202 g ; 2 mmol.) et du benzotriazol-1-yloxytris diméthylamino-phosphonium hexafluorophosphate (BOP) (0,442 g ; 1 mmol.). Le mélange est agité à température ambiante pendant 24 heures. L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie liquide haute performance. La solution organique est alors lavée avec une solution d'acide chlorhydrique 2N puis des solutions saturées de bicarbonate de sodium et chlorure de sodium. Le produit 25 est purifié par chromatographie sur plaque préparative de silice (éluant : chlorure de méthylène/méthanol 9/1).

VOIE 2 :

On solubilise le produit 11 (0,8 g ; 2,28 mmol.) dans du trifluoroéthanol (75 cm³). Le mélange est dégazé puis porté à reflux sous atmosphère d'azote pendant 3 jours. L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie liquide haute performance. On évapore à sec la solution contenant en majorité le produit 25. Il est obtenu après chromatographie sur colonne de silice (acétate d'éthyle/éthanol : 7/3) puis par élution sur plaque préparative de silice (acétate d'éthyle/éther éthylique : 4/6).

On cristallise le produit dans un mélange chlorure de méthylène/éther de pétrole (1/4). Le rendement est de 12 % (0,096 g ; 0,27 mmol.).

F = 144-147°C.

IR (KBr) : 3300 ; 3260 ; 3200 ; 2995 ; 1760 ; 1665 ; 1605 ; 1535 ; 1500 ; 1480 ; 1475 ; 1405 cm⁻¹.

UV (EtOH) : λ_{\max} (ϵ) = 376 (167), 322 (182), 281 (10857), 275 (10894) nm.

SM (impact électronique 175°C) ; M = 350 ; m/e = 350 (25 ; M⁺), 308 (3 ; M⁺-CH₃CO) ; 203 (4, 10) ; 185 (9 ; 10-H₂O) ; 165 (9,2 ; 26) ; 158 (5 ; 10-CO₂) ; 144 (61 ; 10-CH₂COOH) ; 131 (16,0 ; 8) ; 123 (100 ; 26-CH₃CO) ; 106 (11,5, Tol-NH).

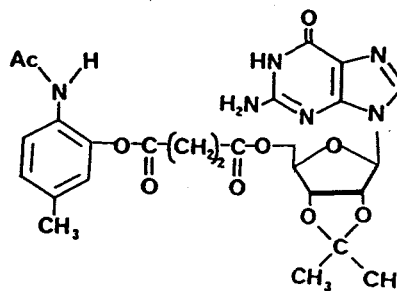
RMN¹H (60 MHz ; DMSO d₆) : δ ppm = 2,11 (3H, s, CO-CH₃) ; 2,20 (3H, s, CH₃-Tol) ; 2,36 (3H, s, C₂-CH₃) ; 2,68 (2H, t, J=7Hz, -CH₂-COO-) ; 4,33 (2H, t, J=7Hz, N-CH₂-) ; 6,13 (1H, s élargi, C₃-H) ; 6,85 (1H, s, H₆-ArTol) ; 6,96 à 7,65 (6H, m, 4H-ArInd et 2H-ArTol) ; 9,2 (1H, s élargi, N-H).

Analyse : C₂₆H₃₀N₆O₉

Cal. % : C : 71,98 H : 6,33 N : 7,99

Tr. % : 72,43 6,27 8,09.

b. SUCCINATE DE (0,0'-ISOPROPYLIDENE-2',3' GUANOSYLE)-5' ET DE ((METHYL-5 N-ACETYLAMINO-4) PHENYLE) 28 :



VOIE 1 :

Le produit 17 (150 mg ; 0,26 mmol.) est solubilisé dans de l'hexafluoroisopropanol (HFIP) (15 cm³). La solution est portée à reflux pendant 12 h. Elle est ensuite évaporée et le produit est récupéré après chromatographie sur colonne de silice (avec un mélange de chlorure de méthylène/méthanol : 95/5).

VOIE 2 :

On solubilise le produit 22 (211,5 mg ; 0,5 mmol.) et le produit 26 (82,5 mg ; 0,5 mmol.) dans de la DMF (7,5 cm³), puis on ajoute Et₃N (0,139 cm³), du BOP (221 mg ; 0,5 mmol.). On laisse agiter 5h à température ambiante. La solution est ensuite évaporée à sec, et l'huile obtenue est solubilisée dans du chlorure de méthylène.

La phase organique est lavée avec une solution d'acide chlorhydrique 2N, puis avec une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium et enfin avec une solution de chlorure de sodium. On isole le produit par chromatographie sur colonne de silice (avec un mélange : chlorure de méthylène/méthanol : 95/5). Le rendement est de 10 % (28,5 mg ; 0,05 mmol.).

F > 200°C.

IR (KBr) : 3450 ; 2970 ; 2940 ; 2870 ; 1715 ; 1700 ; 1640 ; 1610 ; 1530 ; 1490 cm⁻¹.

UV (EtOH) : λ_{\max} (ϵ) = 276 (10087), 248 (2081).

SM (impact électronique, 250°C) ; M = 570 ; 205 (61, 26 + (COCH₂CHCO)-CH₃CO) ; 165 (12 ; 26) ; 160 (20 ; 206-CHCO) ; 151 (20 ; guanosine) ; 147 (20 ; 160-CH₃) ; 123 (100 ; 26-CH₃CO) ; 106 (15 ; Tol-N) ; 43 (47 ; CH₃CO).

RMN¹H (400 MHz ; DMSO d₆ à 33°C) : δ ppm = 1,25 et 1,45 (6H, 2s, CH₃-C-CH₃) ; 1,95 et 2,18 (3H, m et s, CO-CH₃) ; 2,19 (3H, d, CH₃-Tol) ; 2,52-2,62 et 2,78 (4H, 3 m, CH₂-CH₂) ; 4,11 et 4,23 (3H, 2m, H'₄ et 2H'₅) ; 5,06 (1H, m, H'₃) ; 5,18 (1H, m, H'₂) ; 5,95 (1H, m, H'₁) ; 6,43 (2H, s élargi, NH₂) ; 6,83 (1H, s d, H₆-ArTol) ; 6,93 (1H, dd, H₃ ou H₂ ArTol) ; 7,62 (1H, dd, H₂ et H₃-ArTol) ; 7,79 (1H, s, d, C₈-H) ; 9,04 et 9,27 (1H, 2s, N-H) ; 10,54 (1H, s élargi, N-H).

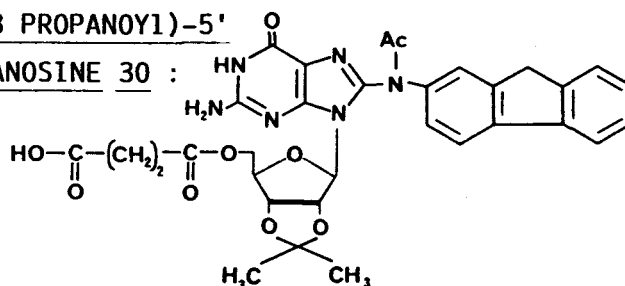
Analyse : C₂₆H₃₀N₆O₉, 2H₂O

Calc. % : C : 51,48 H : 5,65 N : 13,85

Tr. % : 51,83 5,46 13,19.

c. 0,0'-ISOPROPYLIDENE-2',3' (CARBOXY-3 PROPANOYL)-5'

N-ACETYL N-(FLUORENYL-2) AMINO-8 GUANOSINE 30 :



Le produit 18 (0,4 g ; 0,62 mmol.) est solubilisé dans un mélange acétone (350 cm³) tampon carbonate/bicarbonate (230 cm³ ; pH = 9,1, 60/40 v/v). La solution, sous atmosphère d'azote, est chauffée dans un bain d'huile à 40°C. Au bout de 4h, on filtre le mélange. La solution est lavée avec du chlorure de méthylène. Puis la phase aqueuse est acidifiée jusqu'à un pH inférieur à 3 ; on extrait alors le produit avec du chlorure de méthylène. Le produit 30 est isolé par chromatographie sur colonne de silice (mélange : chlorure de méthylène/méthanol : 84/16) avec un rendement de 30 % (estimé par Chromatographie liquide haute performance).

F = 190-194°C.

IR (KBr) : 2940 ; 1740 ; 1700 ; 1650 ; 1540 ; 1490 ; 1460 cm^{-1} .

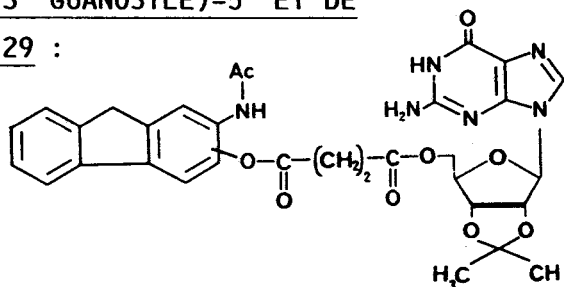
UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) = 302 (20886) ; 277 (39509) nm.

SM (F.A.B. ; thioglycérol + 1 % AcOH ; ion positif) ; M=644 ; m/e = 645 ($\text{M}^+ + 1$).

SM (impact électronique, 240°C) ; M = 644 ; m/e = 526 (30 - $\text{HOOCH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) ; 484 (526 - COCH_3) ; 372 (526 - (0,0'-isopropylidène-2',3' ribofuranose)) ; 330 (372- COCH_3) ; 151 (guanosine).

RMN^1H (400 MHz ; $\text{DMSO } d_6$ à 80°C) : δ ppm = 1,22 et 1,42 (6H, 2s, $\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$) ; 1,98 (3H, s, $\text{CH}_3\text{-CO}$) ; 2,41 (4H, m, $\text{OCO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}$) ; 3,87 (2H, s, CH_2F_9) ; 4,07 et 4,21 (3H, 2m, H'_4 et $2\text{H}'_5$) ; 5,16 (1H, dd, H'_3) ; 5,35 (1H, d, H'_2) ; 5,76 (1H, d, H'_1) ; 6,47 (2H, s élargi, NH_2) ; 6,52 (1H, td, $J_{7-6}=7,3\text{Hz}$, $J_{6-5}=7,4\text{Hz}$, $\text{H}_6\text{-ArF}$) ; 6,58 (1H, t élargi, $J_{6-7}=7,3\text{Hz}$, $\text{H}_7\text{-ArF}$) ; 6,62 (1H, d, $\text{H}_3\text{-ArF}$) ; 6,78 (1H, d, $J_{8-7}=7,4\text{Hz}$, $\text{H}_8\text{-ArF}$) ; 6,82 (1H, sd, $\text{H}_1\text{-ArF}$) ; 7,08 (1H, d, $J_{5-6}=7,4\text{Hz}$, $\text{H}_5\text{-ArF}$) ; 7,11 (1H, d, $J_{4-3}=7,4\text{Hz}$, $\text{H}_4\text{-ArF}$)

d. SUCCINATE DE (0,0'-ISOPROPYLIDÈNE-2',3' GUANOSYLE)-5' ET DE (N-ACETYLAMINO-4) FLUORENYL -1 ou 3 29 :



On dissout le produit 18 (0,13 g ; 0,202 mmol.) dans du chlorure de méthylène (10 cm^3). Après 27 h à reflux sous atmosphère d'azote, il y a disparition totale du produit 18 et formation du produit 29 de façon majoritaire. On l'isole par chromatographie sur colonne de silice (mélange : chlorure de méthylène/éthanol : 94/6) avec un rendement de 40 % (Chromatographie liquide haute performance).

F = 176-180°C.

IR (KBr) : 3340 ; 3000 ; 2950 ; 1740 ; 1690 ; 1605 ; 1535 ; 1490 ; 1460 ; 1430 cm^{-1} .

UV (EtOH) : λ_{max} (ϵ) = 302 (18623) ; 275 (38067) nm.

SM (F.A.B. ; thioglycérol + 1 % AcOH ; ion positif) ; M = 644 ; m/e = 667 ($\text{M}^+\text{+Na}$) ; 645 ($\text{M}^+\text{+1}$).

SM (impact électronique, 150°C) ; M = 644 ; m/e = 321 ($\underline{2}$ + COCH_2CHCO) ; 279 ($321 - \text{COCH}_3$) ; 239 ($\underline{2}$) ; 197 ($\underline{2} - \text{COCH}_3$) ; 180 ($\underline{2} - (\text{COCH}_3 + \text{OH})$) ; 151 (guanine).

RMN¹H (400MHz ; DMSO d_6 à 25°C) : δ ppm = 1,28 et 1,49 (6H, 2m, $\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$) ; 2,07-2,3 et 2,34 (3H, 3s, $\text{CH}_3\text{-CO-N-}$) ; 2,60-2,65-2,72 et 2,91 (4H, 4m, $\text{OCO-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COO}$) ; 3,70 et 3,88 (2H, 2sd, CH_2F_9) ; 4,19 et 4,29 (3H, 2m, H'_4 et $2\text{H}'_5$) ; 5,14 (1H, m, H'_3) ; 5,23 (1H, m, H'_2) ; 6,01 (1H, m, H'_1) ; 6,55 (2H, s élargi, NH_2) ; 7,28 à 8,07 (6H, m, H-ArF) ; 7,93 (1H, sd, $\text{C}_8\text{-H}$) ; 9,23-9,33-9,48 et 9,55 (1H, 4s, Ac-N-H) ; 10,73 (1H, s élargi, $\text{N}_1\text{-H}$).

Analyse : $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_9, 3,5\text{H}_2\text{O}$:

Calc. % :	C : 54,31	H : 5,55	N : 11,88
Tr. % :	54,14	5,54	11,86.

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

- o - o - o - o - o -

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

1. J.A. MILLER, *Cancer Research*, (1970), 30, 559.
2. E. SAGE, Thèse d'Etat, (1970), Orléans.
3. H.A.J. SCHUT, A. CASTONGUAY, *Drug Metabolism Rev.*, (1984), 15, 753.
4. E. KRIEK, J.G. WESTRA, In "Chemical Carcinogens and DNA", (ed. P.L. Grover), C.R.C Press. Boca. Raton, Fla., (1979), 2, p. 3.
5. J.W. CRAMER, J.A. MILLER, E.C. MILLER, *J. Biol. Chem.*, (1960), 235, 885.
6. B. SINGER, D. GRUNBERGER, In "Molecular Biology of Mutagens and Carcinogens", Plenum Press, N.Y., (1983), p. 132.
7. C.M. KING, B. PHILLIPS, *Science*, (1968), 159, 1351.
8. J.R. DE BAUN, E.C. MILLER, J.A. MILLER, *Cancer Research*, (1970), 30, 577.
9. E.C. MILLER, P.D. LOTLIKAR, J.A. MILLER, B.W. BUTLER, C.C. IWING, J.T. HILL, *Mol. Pharmacol.*, (1968), 4, 147.
10. B. SINGER, D. GRUNBERGER, In "Molecular Biology of Mutagens and Carcinogens", Plenum Press, N.Y., (1983), p. 161.
11. E. KRIEK, J.A. MILLER, W. JUHL, E.C. MILLER, *Biochemistry*, (1967), 6, 177.
12. J.D. SCRIBNER, N.K. NAIMY, *Cancer Research*, (1973), 33, 1159.
13. V.C. MARHEVKA, N.A. EBNER, R.D. SCHON, P.E. HANNAH, *J. Medicin. Chem.*, (1985), 28, 18.
14. E. KRIEK, J.G. WESTRA, In "Chemical Carcinogens and DNA", (ed. P.L. GROVER), C.R.C. Press, Boca. Raton, Fla., (1979), 2, p. 13.

15. E. KRIEK, J.G. WESTRA, *Carcinogenesis*, (1980), 1, 459.
16. P. RIO, B. MALFOY, E. SAGE, M. LENG, *Env. Perspect.*, (1983), 49, 117.
17. a) J.W. GORROD, D. MANSON, *Xenobiotica*, (1986), 16, 933.
b) H.G. NEUMANN, *J. Cancer Res. Chim. Oncol.*, (1986), 112, 100.
c) H.G. BELAND, F.F. KADLUBAR, *Environmental Health Perspectives*, (1985), 62, 19.
d) N.K. SCRIBNER, J.D. SCRIBNER, *Chem. Biol. Interact.*, (1979), 26, 47.
e) R. FRANZ, M.G. NEUMANN, *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, (1986), 332, 23.
18. B. SINGER, D. GRUNBERGER, In "Molecular Biology of Mutagens and Carcinogens", Plenum Press, N.Y., (1983), p. 199.
19. R.P. FUCHS, M.P. DAUNE, *Biochemistry*, (1974), 13, 4435.
20. I.B. WEINSTEIN, D. GRUNBERGER, In "Model Studies in Chemical Carcinogenesis", (ed. P. Tso' et J. De Paolo), Part A, M. DEKKER, N.Y., (1974), p. 214.
21. a) E. SAGE, M. LENG, *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, (1980), 77, 4597.
b) R.M. SANTELLA, D. GRUNBERGER, A. NORDHEIM, A. RICH, *Biochem. Biophys. Research Comm.*, (1982), 106, 1226.
22. J.D. SCRIBNER, J.A. MILLER, E.C. MILLER, *Cancer Research*, (1973), 30, 1570.
23. a) P.G. GASSMAN, *Accounts Chem. Research*, (1970), 3, 26.
b) P.G. GASSMAN, J.E. GRANRUD, *J. Amer. Chem. Soc.*, (1984), 106, 1498.
24. a) M. NOVAK, M. PELECANOU, L. POLLACK, *J. Amer. Chem. Soc.*, (1986), 108, 112.
b) M. NOVAK, A. ROY, *J. Org. Chem.*, (1985), 50, 571.
c) M. PELECANOU, M. NOVAK, *J. Amer. Chem. Soc.*, (1985), 107, 4499.
d) M. NOVAK, A. ROY, *J. Org. Chem.*, (1985), 50, 4884.
e) M. NOVAK, M. PELECANOU, A. ROY, A. ANDRONICO, F. PLOUDRE, T. OLEFIROWIEZ, T. CURTIN, *J. Amer. Chem. Soc.*, (1984), 106, 5623.

25. L. HORNER, M. STEPPAN, *Annalen*, (1957), 606, 24.
26. G. GALLIANI, B. RINDONE, *Nouv. J. Chim.*, (1983), 7, 151.
27. T. OHTA, K. SHUDO, T. OKAMOTO, *Tetrahedron Letters*, (1978), 23, 1986.
28. a) G. UNDERWOOD, R. KIRSCH, *J.C.S. Chem. Comm.*, (1985), p. 136.
b) G. UNDERWOOD, C. DAVIDSON, *J.C.S. Chem. Comm.*, (1985), p. 555.
c) G. UNDERWOOD, R. KIRSCH, *Tetrahedron Letters*, (1985), 26, 147.
d) E. SCOTT, G. UNDERWOOD, R. KIRSCH, *Tetrahedron Letters*, (1984), 25, 499.
29. J.F. CONSTANT, *Thèse d'Etat*, (1986), Lille.
30. D.L. JOHNSON, T.M. REID, M.S. LEE, C.M. KING, L.J. ROMANO, *Biochemistry*, (1986), 25, 449.
31. A. RISING, *Ber.*, (1904), 37, 43.
32. J.G. WESTRA, *Carcinogenesis*, (1981), 2, 335.
33. A.P. TARENT'EV, A.N. KOST, V.A. SMIT, *Zhur. Obshechi Khim.*, (1955), 25, 1959.
34. J.R. VAUGHAN, R.L. OSATO, *J. Amer. Chem. Soc.*, (1951), 73, 5553.
35. a) N.F. ALBERTSON, *Org. Reactions*, (1962), 12, 205.
b) M. BODANSZKY, V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. Chem. Soc.*, (1959), 81, 5688.
36. G.W. ANDERSON, J.E. ZIMMERMAN, F.M. CALLAHAN, *J. Amer. Chem. Soc.*, (1967), 89, 5012.
37. E. BAMBERGER, A. RISING, *Annalen*, (1901), 316, 280.
38. A. WOHL, *Ber.*, (1894), 27, 1432.
39. H. GILMAN, J.E. KIRBY, *J. Amer. Chem. Soc.*, (1926), 48, 2190.
40. Y. YOST, H.R. GUTMANN, R.E. RYDELL, *Cancer Research*, (1975), 35, 447.

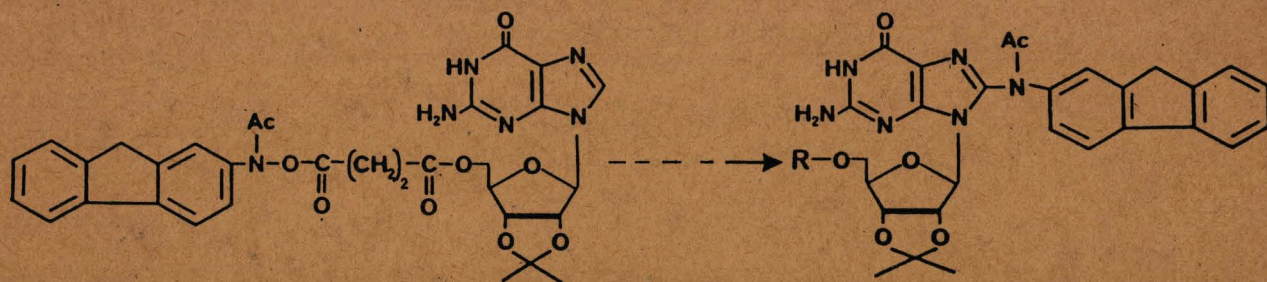
41. A. HAMPTON, J. Amer. Chem. Soc., (1961), 83, 3640.
42. B.L. GAFFNEY, L.A. MARKY, R.A. JONES, Tetrahedron, (1984), 40, 3.
43. I. RICO, A. LATTES, Nouv. J. Chim., (1984), 8, 429.
44. B. CASTRO, G. EVIN, C. SELVE, R. SEYER, Synthesis, (1977), p. 413.
45. M.A. IORIO, A. MAZZEO-FARINA, L. SENECA, L. BONIFORTI, Biomed. Mass Spectrometry, (1985), 12, 30.
46. W.E. STEWARD, T.H. SIDDALL, Chem. Rev., (1970), 70, 517.
47. D. BARTON, W.D. OLLIS, In "Comprehensive Organic Chemistry", Pergamon Press, (ed. I.O. Sutherland), Liverpool, 2, p. 989.
48. T.H. SIDDALL, W.E. STEWART, J. Mol. Spectroscopy, (1967), 24, 290.
49. a) H. KESSLER, A. RIEKER, Annalen, (1967), 708, 57.
b) H. KESSLER, A. RIEKER, Z. Naturforsch., (1967), 22, 456.
50. H. KESSLER, Tetrahedron, (1967), 24, 1857.
51. a) F.E. EVANS, D.W. MILLER, R.A. LEVINE, J. Amer. Chem. Soc., (1984), 108, 396.
b) F.E. EVANS, R.A. LEVINE, J. Biomol. Structure and Dynamics, (1986), 3, 923.
c) F.E. EVANS, D.W. MILLER, R.A. LEVINE, J. Biomol. Structure and Dynamics, (1986), 3, 935.



Le N-acétylamino-2 fluorène (AAF), cancérigène chimique, réagit sur le DNA par fixation covalente sur les nucléosides et plus particulièrement sur le C₈ et le N₂ de la guanine. Ces produits observés et isolés "in vitro" et "in vivo" ne sont obtenus qu'en très faibles quantités.

Notre travail consiste à synthétiser en grande quantité ce type de composés par voie chimique. Les réactions intermoléculaires faites entre les nucléosides et les métabolites de l'AAF sont peu satisfaisantes, la réaction majoritaire étant une réaction d'hydrolyse. Nous proposons donc une nouvelle voie de synthèse : celle-ci consiste en la préparation de molécules modèles dans lesquelles le nucléoside (guanosine) et le cancérigène ultime sont reliés par une chaîne souple hydrolysable (possibilité d'empilement des 2 noyaux aromatiques).

Dans le cas de l'AAF, la molécule modèle, peut dans des conditions solvolytiques précises, donner le produit de fixation sur le C₈ de la guanine avec un rendement de 30 %.



MOTS CLES : CANCEROGENESE CHIMIQUE ; AMINES AROMATIQUES ; AMINO-2 FLUORENE ; CANCEROGENE ULTIME ; IONS "ACYL NITRENIUM" ; ACIDE HYDROXAMIQUE.

