

50376
1990
41

508

50376
1990
41

N° d'ordre: 502

THESE

présentée à

L' UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE-FLANDRES-ARTOIS

pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : CHIMIE ORGANIQUE

par

Chantal PALACIN-SAUBADU

PHOTOSENSIBILISATION MEDICAMENTEUSE : ETUDE PHOTOCHIMIQUE ET SPECTROSCOPIQUE (PHOTO-C.I.D.N.P.) DES PROCESSUS PRIMAIRES LORS DE PHOTOREACTIONS DE SULFAMIDES.



Soutenue le 19 Janvier 1990 devant la Commission d'Examen :

Mme	N.	FEBVAY-GAROT	Président
Mme	N.	PAILLOUS	Rapporteur
M.	H.	BOUAS-LAURENT	Rapporteur
	A.	LABLACHE-COMBIER	Examineur
	J.	MARKO	Examineur
	G.	VERMEERSCH	Examineur

ΣΟΚΡΑΤΗΣ τῶν κύκνων
δοκῶ φαυλότερος ὑμῖν εἶναι τὴν μαντικὴν , οἱ ἐπειδὴν αἰσθων-
ται ὅτι δεῖ αὐτοὺς ἀποθανεῖν, ἄδοντες καὶ ἐν τῷ πρόσθεν
χρόνῳ, τότε δὴ πλείστα καὶ μάλιστα ἄδουσι, γεγηθότες ὅτι
μέλλουσι παρὰ τὸν θεὸν ἀπιέναι οὐπὲρ εἰσι θεράποντες.

A Mairaine

A mes Parents

A mon Frère grand, à Vanessa et Corinne

A Patrick

A Amore

A Alexandre

A mes beaux-parents

A Antoine, Anne-Yane, Karine,
Emilie.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Physique de la Faculté de Pharmacie de Lille sous la direction de Madame le Professeur N. FEBVAY-GAROT.

Madame N. FEBVAY-GAROT me fait aujourd'hui l'honneur de présider le jury de cette thèse. Je tiens à lui exprimer toute mon estime et mon plus profond respect, tant pour l'accueil qui m'a été réservé au laboratoire, que pour l'intérêt porté à la réalisation de ce travail.

Monsieur le Professeur A. LABLACHE-COMBIER, après m'avoir initié à la Photochimie Organique m'a honoré de sa confiance en me proposant le sujet de cette thèse. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance pour ses précieux conseils et ses encouragements constants.

Madame N. PAILLOUS, Directeur de Recherches C.N.R.S. a bien voulu accepter de juger cette thèse. Je la prie de croire en ma respectueuse considération.

Monsieur le Professeur H. BOUAS-LAURENT m'a enseigné la Chimie Organique. Aujourd'hui, il me fait le grand honneur de juger ce travail. Je lui exprime mes plus vifs remerciements pour la marque d'intérêt qu'il porte à mes recherches.

Monsieur le Professeur G. VERMEERSCH et J. MARKO, Maître de Conférences ont suivi avec un grand intérêt le déroulement de cette thèse. Leurs conseils judicieux et nos discussions fructueuses ont contribué à l'aboutissement de ce mémoire. Je les remercie très sincèrement.

Je tiens tout particulièrement à exprimer ma reconnaissance à :

- A. COUTURE, Chargé de Recherches C.N.R.S. qui n'a jamais ménagé son temps pour s'intéresser à mon travail et dont les conseils me furent très utiles,
- Monsieur le Professeur J.M. AUBRY dont la disponibilité et l'extrême bienveillance sont au moins égales à ses compétences.

Je ne saurais oublier tous ceux qui m'ont aidée dans la réalisation de ce travail :

- C. VACCHER et P. BERTHELOT, Maîtres de Conférences et N. FLOUQUET (Laboratoire de Pharmacie Chimique : Monsieur le Professeur M. BEBAERT) sans qui les analyses chromatographiques HPLC n'auraient pas été possibles,

- J.P. CATTEAU, P. LAGAND et A. BENSIMAN pour la mise en oeuvre du programme utilisé dans ce mémoire,

- B. LACROIX pour la réalisation des spectres de masse et de l'étude chromatographique en phase vapeur,

- V. DESENCLOS qui a assuré avec beaucoup de gentillesse la reproduction des figures et schémas de cette thèse.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Introduction	1
Chapitre I : LA POLARISATION NUCLEAIRE DYNAMIQUE INDUITE PHOTOCHEMIQUEMENT	3
I - Introduction	3
II - Le mécanisme par paire radicalaire	4
1. Le spectre de C.I.D.N.P.	4
2. Le mécanisme par paire radicalaire	4
3. Le mélange S-T ₀	5
III - Les règles de KAPTEIN	6
1. L'effet net	7
2. L'effet de multiplet	8
3. Mélange de l'effet net et de l'effet de multiplet	9
4. Réarrangement des radicaux	10
5. Conclusion	10
IV - Développements récents de la photo-C.I.D.N.P.	11
1. La photo-C.I.D.N.P. résolue dans le temps	
2. La photo-C.I.D.N.P. bidimensionnelle	
V - Conclusion	13
Références bibliographiques	15
Chapitre II : LA PHOTSENSIBILISATION PAR LES SULFAMIDES	18
I - Intérêt thérapeutique des sulfamides	
1. Historique	18
2. Mode d'action des sulfamides	19
3. Les effets indésirables : la photosensibilisation	-
II - Les mécanismes de la photosensibilisation	
1. Les effets de la lumière	20

2. Les mécanismes de la photosensibilisation	21
a) La réaction phototoxique	22
b) La réaction photoallergique	23
c) Les moyens d'investigation en photosensibilisation	24
III - Les réactions de la photosensibilisation	
1. Les états excités	24
2. Les réactions photochimiques directes	25
3. Les réactions de photosensibilisation	
a) Le mécanisme de type I	26
b) Le mécanisme de type II	27
IV - Conclusion	28
Références bibliographiques	30
Chapitre III : ETUDE PHOTO-C.I.D.N.P. DES SULFAMIDES	34
I - Photochimie des sulfamides	
1. Principaux résultats en photochimie	34
2. Etude de l'interaction protéine-sulfanilamide	
a) Identification de l'interaction protéine-sulfanilamide	40
b) Etude C.I.D.N.P.	41
II - Etude photo-C.I.D.N.P. ¹H du sulfanilamide et du sulfacétamide	42
1. Le sulfanilamide	
a) Etude dans D ₂ O	42
b) Influence du pH et de la concentration	43
c) Etude dans les solvants organiques	-
d) Piégeage des radicaux par le tétrachlorure de carbone	44
e) Piégeage des radicaux par d'autres halogénométhanés	-
2. Le sulfacétamide	45
a) Etude dans D ₂ O	
b) Etude dans le méthanol et l'acétonitrile	46
c) Piégeage des radicaux par le tétrachlorure de carbone	-
3. Les mécanismes réactionnels	46

a) Le schéma réactionnel	-
b) Les règles de KAPTEIN	49
c) Calcul des constantes de couplage hyperfin et des densités de spin des radicaux impliqués	52
4. Etude photo-C.I.D.N.P. du carbutamide et du tolbutamide	52
a) Le carbutamide	53
b) Le tolbutamide	54
5. Conclusion	54
III - Etude des sulfamides comportant un noyau pyrimidine	55
1. Etude photo-C.I.D.N.P. de la sulfadiazine et de ses homologues	
a) La sulfadiazine	55
b) La sulfamérazine et la sulfaméthazine	57
2. Interprétation des résultats obtenus	59
a) Les mécanismes réactionnels	-
b) Application des règles de KAPTEIN	60
3. Conclusion	62
IV - Etude photo-C.I.D.N.P. des autres sulfamides	63
1. Les résultats	64
2. Conclusion	65
V - Etude photo-C.I.D.N.P. de l'interaction entre différents sulfamides et des substrats biologiques	66
1- Les résultats	67
2- Discussion	69
VI - Conclusion	69
Références bibliographiques	73

Chapitre IV : ETUDE PHOTOCHEMIE DE LA SULFAMERAZINE	78
I - Photochimie de la sulfamérazine	
1. Evolution du spectre U.V. de la sulfamérazine	78
2. Irradiation de la sulfamérazine et de ses dérivés dans la sonde R.M.N.	79
II - Séparation des photoproduits issus de l'irradiation de la sulfamérazine	80
1. Mode opératoire	-
2. Les résultats	-
3. Séparation des photoproduits	82
a) Séparation sur plaques de silice	-
b) Séparation par CLHP	84
III - Conclusion	85
Références bibliographiques	86
CHAPITRE V : PARTIE EXPERIMENTALE	90
I- Enregistrement des spectres de photo-C.I.D.N.P.	
1. Le dispositif d'irradiation lumineuse	90
2. L'enregistrement des spectres ¹ H	91
II- Les produits	91
1. Les sulfamides	
2. Les photoproduits	92
3. Les bases des acides nucléiques et les acides aminés	
4. Les solvants	
5. Les filtres	
III- Méthodologies et mesures	93
1. Etudes chromatographiques	
2. Obtention des spectres de Masse	-
3. Obtention des spectres U.V.	-
4. Calculs des densités électroniques	94
References bibliographiques	95
CONCLUSION GENERALE	96

INTRODUCTION

Cette thèse est le résultat d'une collaboration entre les laboratoires de Chimie Organique Physique de l'Université des Sciences et Techniques de Lille (Lille I - Professeur A. Lablache-Combier) et de Physique de la Faculté de Pharmacie de Lille (Lille II - Professeur N. Febvay-Garot).

Elle a été en grande partie réalisée dans ce dernier laboratoire dont l'axe de recherche principal est l'application d'une technique dérivée de la R.M.N., la Polarisation Nucléaire Dynamique Induite Photochimiquement (Photo-C.I.D.N.P.) à l'étude du comportement photochimique de médicaments photosensibilisants et de leurs mécanismes de réaction.

L'intérêt de la photochimie des molécules médicamenteuses étudiées réside dans leurs propriétés photosensibilisantes. Ces dernières peuvent se révéler néfastes (phototoxicité, photoallergie, ...) et/ou bénéfiques (photochimiothérapie où le traitement associe le médicament et la lumière).

Les modes d'action de ces substances restent mal connus et les différents résultats publiés sont souvent controversés.

Notre travail est une contribution à la connaissance des processus primaires des photoréactions d'une série de médicaments - les sulfamides- , grâce à l'apport "classique" de la photo-C.I.D.N.P. qui permet :

la mise en évidence du caractère radicalaire de certaines réactions,

l'identification de nouveaux photoproduits,

l'étude du comportement du médicament seul et en présence de modèles de substrats biologiques , qui constituent des cibles d'attaque privilégiées dans l'organisme, i.e. les acides aminés et les bases des acides nucléiques,

l'établissement d'un mécanisme réactionnel.

Nous avons alors entrepris une étude photochimique globale de l'un des sulfamides étudiés.

Après un rappel des bases théoriques du phénomène de photo-C.I.D.N.P., qui développe les aspects essentiels de la théorie de la paire radicalaire (RPM), cette thèse aborde les différents mécanismes du phénomène de photosensibilisation induit par des sulfamides. Le troisième chapitre expose les résultats que nous avons obtenus par photo-C.I.D.N.P. avec les sulfamides, après avoir fait le point sur les connaissances actuelles en photochimie pour cette famille de composés. La dernière partie est consacrée à la caractérisation des photoproduits, ceci par diverses techniques d'analyse - spectroscopiques et chromatographiques.

CHAPITRE I

LA POLARISATION NUCLEAIRE DYNAMIQUE INDUITE PHOTOCHEMIQUEMENT

I- INTRODUCTION

Ces dernières années, la chimie des radicaux libres¹ s'est beaucoup développée, tant par les techniques de résonance magnétique que par l'intérêt des biologistes vis à vis de l'incidence des radicaux libres sur le vieillissement de la peau.

La R.P.E., résonance paramagnétique électronique², la R.M.N., résonance magnétique nucléaire et les phénomènes correspondants de polarisation induite photochimiquement constituent des méthodes de choix dans l'investigation des mécanismes radicalaires.

En particulier, la polarisation nucléaire dynamique induite photochimiquement ou photo-C.I.D.N.P. se rapporte aux différents processus qui induisent lors de réactions photochimiques en phase liquide, un déséquilibre des populations des états de spin nucléaire dans les produits formés et dans les réactifs. Ces déséquilibres se traduisent sur les spectres R.M.N. par des signaux présentant des intensités inhabituelles. De même, les radicaux intermédiaires présentent un déséquilibre des états de spin électronique : on parle alors de polarisation électronique dynamique induite photochimiquement ou C.I.D.E.P..

Les premiers spectres de C.I.D.N.P. sont observés en 1967 par BARGON, FISCHER et JOHNSON^{3a,b} et indépendamment par WARD et LAWLER⁴. C'est en 1969, que CLOSS⁵ d'une part, KAPTEIN et OOSTERHOFF^{6a,b} d'autre part, proposent une théorie afin d'expliquer ce phénomène: c'est le mécanisme par paire radicalaire ou R.P.M.^{7a,b}. Ce modèle est basé sur le fait que les réactions au sein d'une paire radicalaire peuvent être perturbées par des interactions magnétiques entre les radicaux.

II - LE MECANISME PAR PAIRE RADICALAIRE : le R.P.M.

1- Le spectre de C.I.D.N.P.

L'enregistrement de spectres R.M.N. de systèmes qui sont le siège de réactions radicalaires - thermiques ou photochimiques - montre des transitions d'intensités inhabituelles appelées polarisations. Ces polarisations sont dues à des perturbations dans les populations des états de spin nucléaire des différents produits : c'est le phénomène de C.I.D.N.P. .

Par exemple, les effets caractéristiques observés pour un quadruplet du premier ordre se résument ainsi (schéma 1) :

- l'effet net : toutes les raies du multiplet sont soit en émission (E), soit en absorption exaltée (A).

- l'effet de multiplet : certaines raies du multiplet sont en émission , d'autres en absorption . On note AE ou EA suivant que les raies en absorption se trouvent à champ faible ou à champ fort.

- différents mélanges de ces deux effets : A + AE par exemple .

2- Le mécanisme par paire radicalaire : le R.P.M.

La théorie proposée en 1969 admet que les polarisations observées en C.I.D.N.P. proviennent de réactions radicalaires dont l'intermédiaire central est une paire radicalaire . Par ailleurs, elle suppose que les interactions entre deux électrons non appariés d'une paire de radicaux sont faibles . La nature des produits obtenus dépend essentiellement de l'évolution de cette paire.

a- Formation de la paire radicalaire

Par absorption d'un photon, la molécule précurseur M à l'état fondamental S_0 passe à l'état excité singulet $^1M^*$. La formation de la paire radicalaire peut provenir :

(i) d'une décomposition unimoléculaire.

(ii) d'une réaction bimoléculaire entre le réactif $^1M^*$ et un substrat : il s'agit d'une paire radicalaire créée à l'état singulet que l'on note paire S, dans les deux cas (i) et (ii) . Avant que ne se forme la paire radicalaire, $^1M^*$ par passage intersystème peut passer à l'état excité triplet $^3M^*$ qui conduira alors à une paire radicalaire à l'état triplet : c'est la paire T .

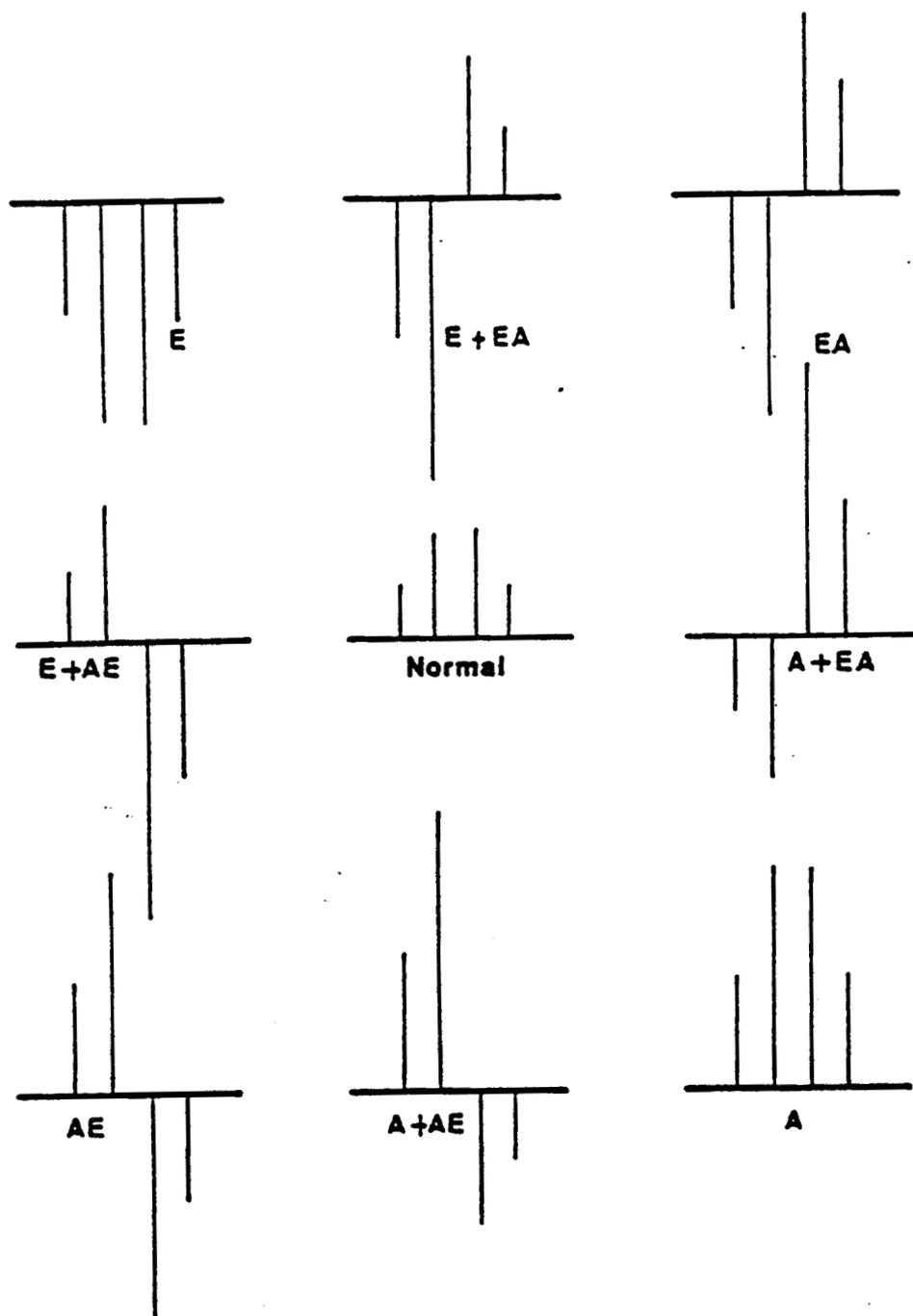


Schéma 1

Exemples d'effets de C.I.D.N.P. apparaissant sur un quartet du premier ordre : effet net (A ou E), effet de multiplet (EA ou AE) et mélange des deux .

Ces paires radicalaires S ou T sont appelées paires géminées singulet ou triplet car elles sont engendrées par la création simultanée de deux radicaux.

(iii) d'une rencontre aléatoire de deux radicaux libres diffusants créés séparément . Cette paire non géminée est appelée paire "au hasard" ou paire F .

Le schéma 2 représente ces différentes voies de formation .

b- Formation des produits

Suivant l'évolution de la paire radicalaire, on observe la formation de deux types de produits .

D'une part, la paire radicalaire peut redonner le produit de départ ou former de nouveaux composés par recombinaison ou dismutation des radicaux . Les réactions correspondantes sont dites "de cage" et donnent naissance à des produits de cage .

D'autre part, il peut y avoir séparation de la paire en radicaux libres diffusants qui peuvent être piégés par un substrat S-X, dont le solvant, ou conduire à des dimères donnant dans ces deux cas des produits de fuite.

Remarque :

La paire notée F a les mêmes caractéristiques qu'une paire T . En effet, la durée de vie de l'état triplet est élevée et est comparable au temps nécessaire à la séparation diffusive de la paire géminée suivie de la rencontre des deux radicaux libres pour donner une paire F .

D'autre part, l'état singulet est un état liant : il doit donc conduire à des produits de cage. L'état triplet, quant à lui est répulsif et doit conduire à des produits de fuite. Or, dans toute réaction radicalaire, on observe les deux types de produits, quelle que soit la multiplicité de la paire à sa naissance, ce qui prouve qu'il y a passage de l'état T à l'état S et inversement.

En considérant les paramètres magnétiques des couples de radicaux, le mélange S-T₀ permet d'expliquer ce phénomène.

3- Le mélange S-T₀

Dans un couple de radicaux, l'orientation des deux spins électroniques peut correspondre soit à un état triplet -état dégénéré- avec une résultante du moment angulaire de spin égale à un, soit à un état singulet avec un spin résultant égal à zéro . Dans un champ magnétique, la dégénérescence de l'état triplet est levée par effet ZEEMAN et on obtient les trois sous-états triplets :

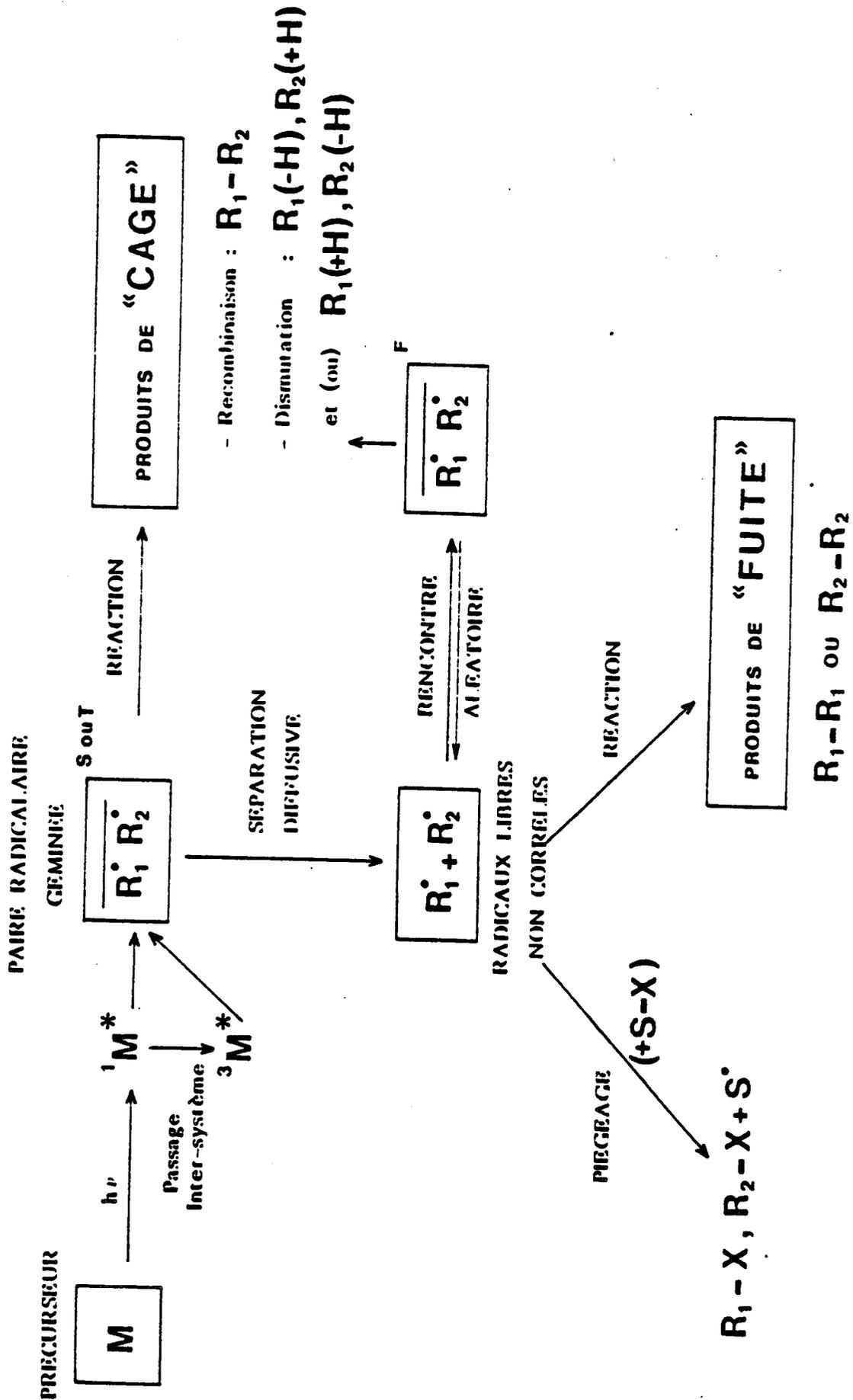


Schéma 2
Le mécanisme des réactions radicalaires.

T_{+1} , T_0 , T_{-1} , différenciés par la composante z du spin résultant (figure 1-a). La figure 1-b représente les énergies des états S et T d'une paire radicalaire placée dans un champ magnétique, en fonction de la distance de séparation des radicaux.

Si le champ magnétique est élevé - cas du spectromètre de R.M.N. utilisé -, T_{+1} et T_{-1} sont fortement éloignés si bien que le passage de S à T est principalement assuré par l'interconversion S- T_0 , à partir d'une distance $r=r_0$. Ces états S et T_0 ne diffèrent que par la phase des spins s_1 et s_2 de chaque radical de la paire.

Les mélanges S- T_{+1} et S- T_{-1} , qui résultent d'un basculement des spins s'observent eux, à champ faible.

Ainsi, le mélange S- T_0 explique qu'une paire radicalaire formée à partir d'un état S (ou T) peut être convertie en un état triplet T (ou S) et conduire indifféremment à des produits de cage ou à des produits de fuite.

III- LES REGLES DE KAPTEIN

KAPTEIN ^{8,9} a énoncé deux règles simples qui permettent de prévoir qualitativement la nature de la transition observée sur un spectre de R.M.N. (A ou E ou AE ...).

Placé dans un champ magnétique, le vecteur spin électronique est animé d'un mouvement de précession autour de l'axe du champ.

La fréquence de ce mouvement est donnée par l'équation de LARMOR

$$\omega_i (v) = \mu_B \cdot H_0 \cdot g_i + \sum a_j m_j \quad (1)$$

μ_B : magnéton de Bohr

H_0 : champ magnétique appliqué

g_i : facteur de LANDE du radical i déterminé par R.P.E.

a_j : constante de couplage hyperfin électron/noyau

m_j : nombre quantique magnétique du noyau observé

Pour qu'il y ait passage de S à T au niveau de la paire radicalaire, il doit exister une différence entre les fréquences ω_i et ω_j des spins de chacun des noyaux i et j des deux radicaux. D'après (1), cette différence va dépendre de deux facteurs :

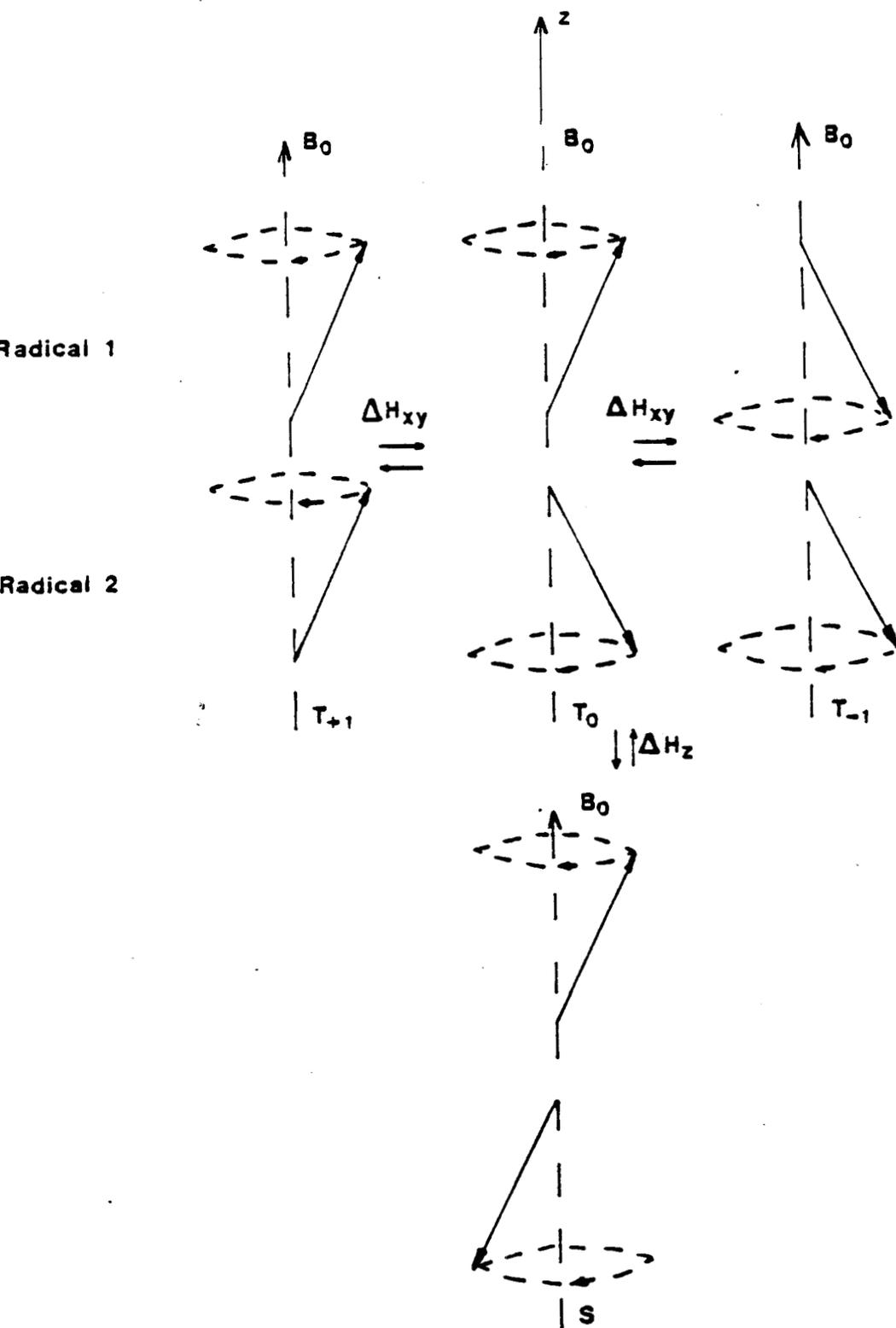


Figure 1a

Représentation vectorielle des configurations de spin triplet et singlet d'une paire radicalaire placée dans un champ magnétique.

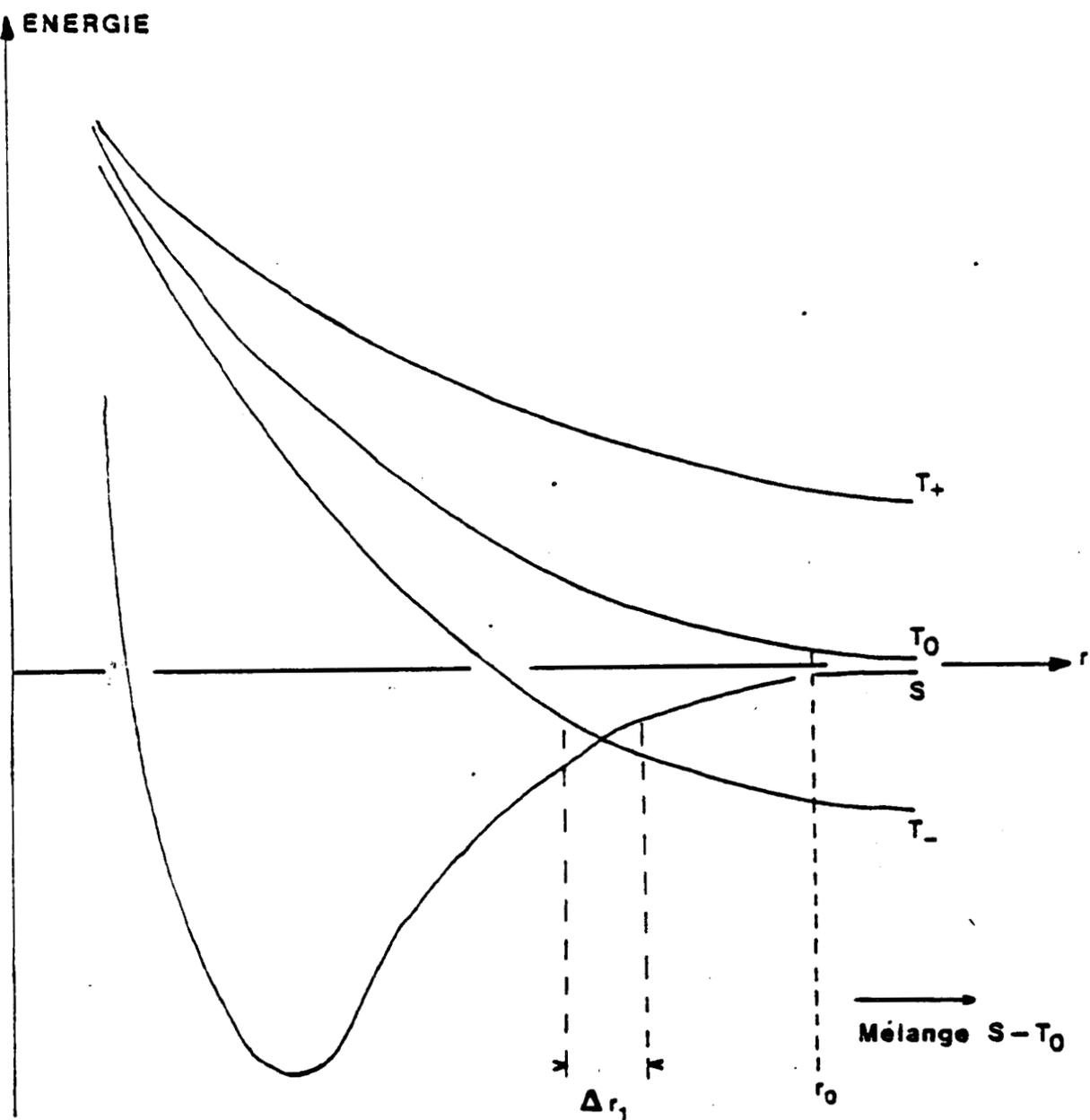


Figure 1b
 Energies des états S et T d'une paire radicalaire
 placée dans un champ magnétique
 en fonction de la distance de séparation r des radicaux.

$\Delta g = g_i - g_j$: différence des facteurs de LANDE
 $\Sigma a_i m_i - \Sigma a_j m_j$: différence des interactions hyperfines
 électron/noyau

Deux cas sont à envisager : l'effet net et l'effet de multiplet .

1- L'effet net^{10a,b}

Prenons comme exemple une paire radicalaire à un seul proton :
 $R_1 H \cdot R_2 \cdot$ créée dans un état S . On suppose $g_1 - g_2 < 0$ et $a_H < 0$. Les
 fréquences de précession ont pour valeur :

$$\omega_1 = \mu H_0 g_1 + a_H m$$

$$\omega_2 = \mu H_0 g_2$$

$$\Delta\omega = \omega_1 - \omega_2 = \mu H_0 (g_1 - g_2) + a_H m$$

Suivant la valeur de m , $\omega_1 - \omega_2$ sera plus ou moins grand et les paires
 radicalaires auront un caractère S ou T plus ou moins marqué .

Si m prend la valeur $-1/2$, $\Delta\omega$ est diminuée : la paire garde son caractère
 singulet plus longtemps et a une plus grande probabilité de recombinaison . Par
 conséquent, l'état $(-1/2)$ possède la population la plus forte dans le produit de
 recombinaison, ce qui se traduit par une raie R.M.N. en émission (E) pour ce
 produit .

Les radicaux possédant $m = +1/2$ acquerront plus vite un caractère triplet
 conduisant à des produits de fuite $R_1 H X$: on observe dans ce cas une raie R.M.N.
 en absorption exaltée (A) . La figure 2 montre ces polarisations .

KAPTEIN a ainsi résumé ces considérations. Le signe de l'effet net (Γ_n)
 pour un noyau i situé sur un radical dépend du produit des signes de différents
 paramètres :

si $\Gamma_n = +$: Absorption exaltée

$$\Gamma_n = \mu \cdot \epsilon \cdot \Delta g \cdot a_i$$

si $\Gamma_n = -$: Emission

Les paramètres sont définis en fonction de la nature des précurseurs (μ), des
 produits (ϵ) et de celle des radicaux de la paire ($\Delta g, a_i$) :

μ : multiplicité du précurseur

- + pour un précurseur T ou une paire F
- pour un précurseur S

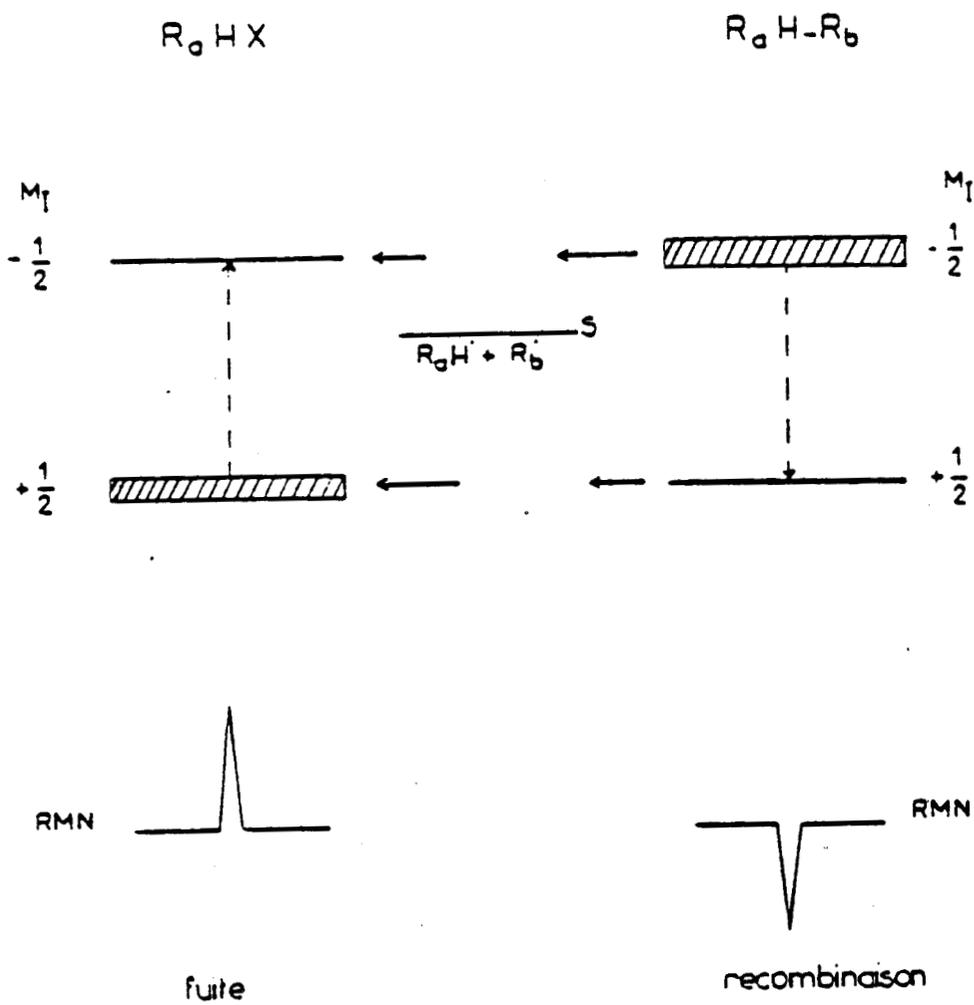


Figure 2

Recombinaison et fuite à partir de la paire $R_aH \cdot R_b \cdot S$:

Les états de spin nucléaire sont peuplés dans des proportions différentes entraînant des spectres R.M.N. en émission et en absorption.

ϵ : type de produit

- + pour un produit de cage
- pour un produit de fuite

2- L'effet de multiplet

Le cas le plus simple pour étudier l'effet de multiplet est celui de la paire radicalaire $R_a H_1 H_2 \cdot R_b \cdot$ contenant seulement deux protons couplés.

Supposons qu'elle soit créée dans un état S, que g_a et g_b soient identiques et que a_{H1} et $a_{H2} > 0$.

La différence entre les fréquences de précession vaut :

$\Delta\omega = a_{H1} m_1 - a_{H2} m_2$ et ne dépend plus des facteurs de LANDE. Pour le radical $R_a H_1 H_2 \cdot$ on distingue 4 états de spin nucléaire. Les différences des fréquences de précession pour les quatre paires radicalaires sont données par les équations suivantes :

$$|\Delta\omega_{++}| = |\Delta\omega_{--}| = 1/2 (a_{H1} - a_{H2})$$

$$|\Delta\omega_{+-}| = |\Delta\omega_{-+}| = 1/2 (a_{H1} + a_{H2})$$

La conséquence de ces différences de vitesse dans le mélange S-T₀ est que les niveaux intérieurs (-+) et (+-) du produit de recombinaison sont préférentiellement peuplés, ce qui se traduit par un effet de multiplet de type AE dans le spectre R.M.N. correspondant.

Pour le produit de fuite, on obtient la population complémentaire des états de spin nucléaire i.e., un effet de multiplet opposé de type EA. La figure 3 représente les niveaux de spin nucléaire du produit de recombinaison $R_a H_1 H_2 - R_b$ et du produit de fuite $R_a H_1 H_2 X$. On a considéré la constante de couplage de spin nucléaire (ordre des niveaux) $J_{1,2}$ positive.

La deuxième règle de KAPTEIN, relative à l'effet de multiplet s'établit comme suit :

$$\Gamma_m = \mu \cdot \epsilon \cdot a_i \cdot a_j \cdot J_{i,j} \cdot \sigma_{i,j}$$

Si le signe du produit est positif, le signal est EA.

Si le signe du produit est négatif, le signal est AE.

Aux paramètres précédemment décrits dans la règle de l'effet net, s'ajoutent :

$J_{i,j}$: constante de spin nucléaire

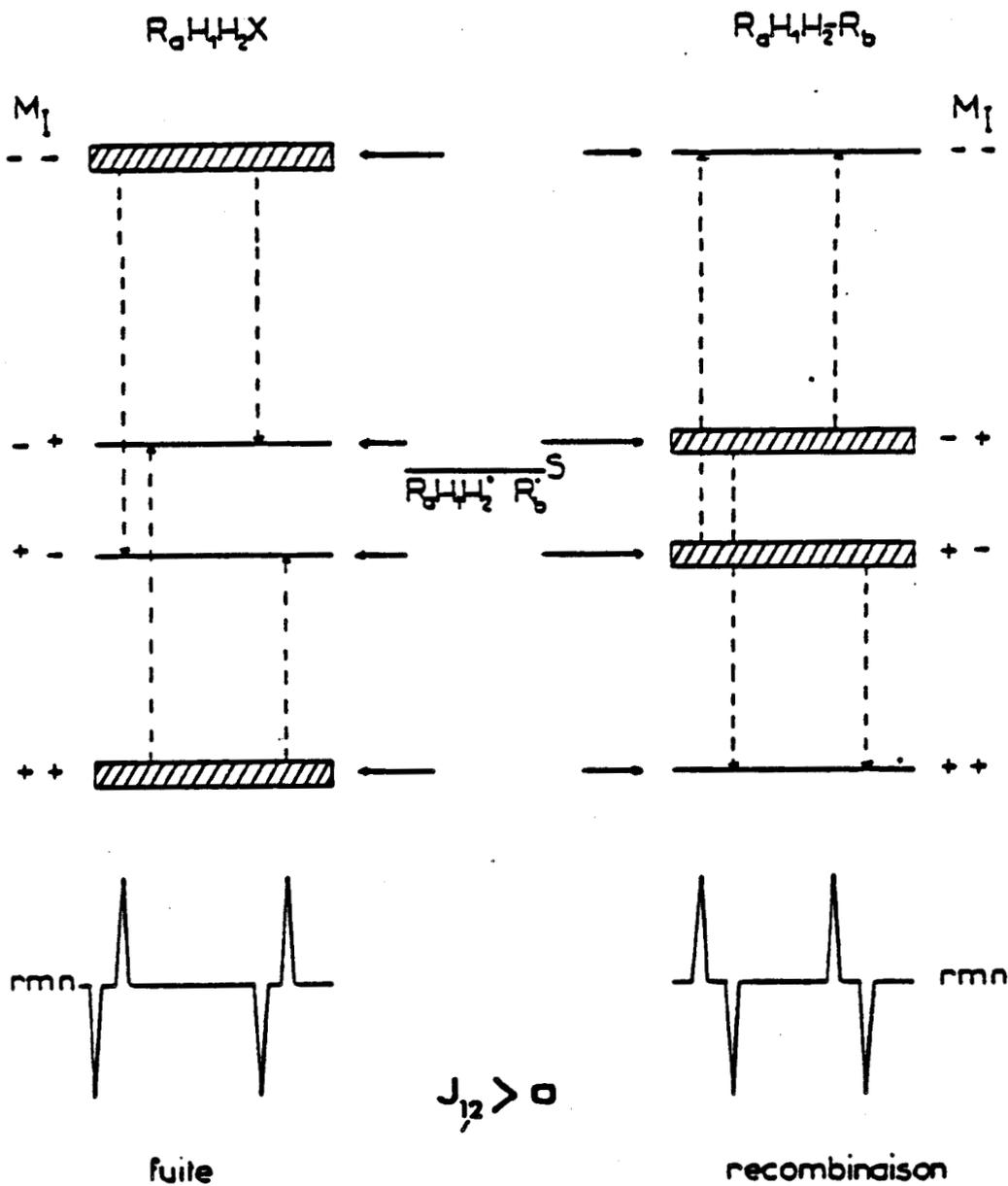


Figure 3

Niveaux d'énergie d'un système à deux spins nucléaires et spectres R.M.N. des produits de fuite et de recombinaison de la paire $R_aH_1H_2 \cdot R_b \cdot S$

$\sigma_{i,j}$: relatif à la position des deux noyaux i et j _____
 + : s'ils sont situés sur le même radical. Ex : $R_a H_1 H_2 \bullet R_b \bullet$
 - : s'ils sont situés sur deux radicaux différents. Ex : $R_a H_1 \bullet R_b H_2 \bullet$

Le changement de signe de l'un des paramètres entraîne l'inversion de la polarisation observée .

La règle de l'effet net et celle de l'effet de multiplet sont utilisées pour obtenir facilement des informations à partir des spectres de C.I.D.N.P., (i) sur la multiplicité des précurseurs, (ii) sur le type de produits formés (cage , fuite), (iii) sur les valeurs relatives et les signes des paramètres magnétiques (g, a_H), des radicaux intermédiaires. On peut ainsi corrélérer un mécanisme réactionnel à un spectre polarisé .

Toutefois, il faut préciser que ces règles ne sont valables que dans le cas de réactions se déroulant dans un champ magnétique élevé, tel que celui d'un spectromètre de R.M.N. et pour des spectres du premier ordre. Ces règles peuvent être étendues à des spectres de type AB pour lesquels $J_{1,2}$ est du même ordre de grandeur que $|\omega_1 - \omega_2|$. Par contre, on ne peut les utiliser pour des spectres $A_n B$ où les effets du second ordre deviennent importants .

3- Mélange de l'effet net et de l'effet de multiplet

Dans le cas de paires radicalaires comportant plusieurs noyaux magnétiques (avec $g_1 \neq g_2$), on peut observer différentes combinaisons des effets nets et des effets de multiplet .

CLOSS et al.¹¹ ont proposé pour interpréter ces spectres que les polarisations résultaient de la combinaison d'un effet net pur et d'un effet de multiplet pur, pondérés par des coefficients de mélange. D'autre part, le phénomène de relaxation sélective des spins nucléaires peut parfois atténuer ou même annuler totalement la polarisation de certains noyaux due à l'effet de multiplet .

C'est ce que l'on observe dans un système où sont couplés un groupe CH et un groupe CH_2 ¹² : le temps de relaxation beaucoup plus court de CH_2 par rapport à CH provoque l'annulation de certains effets . Un exemple est donné sur la figure 4 pour un produit de type $R CH_2 CH R' R''$ formé à partir de la paire $RCH_2 \bullet \bullet CHR'R''$: la polarisation nette au niveau du CH_2 est supprimée .

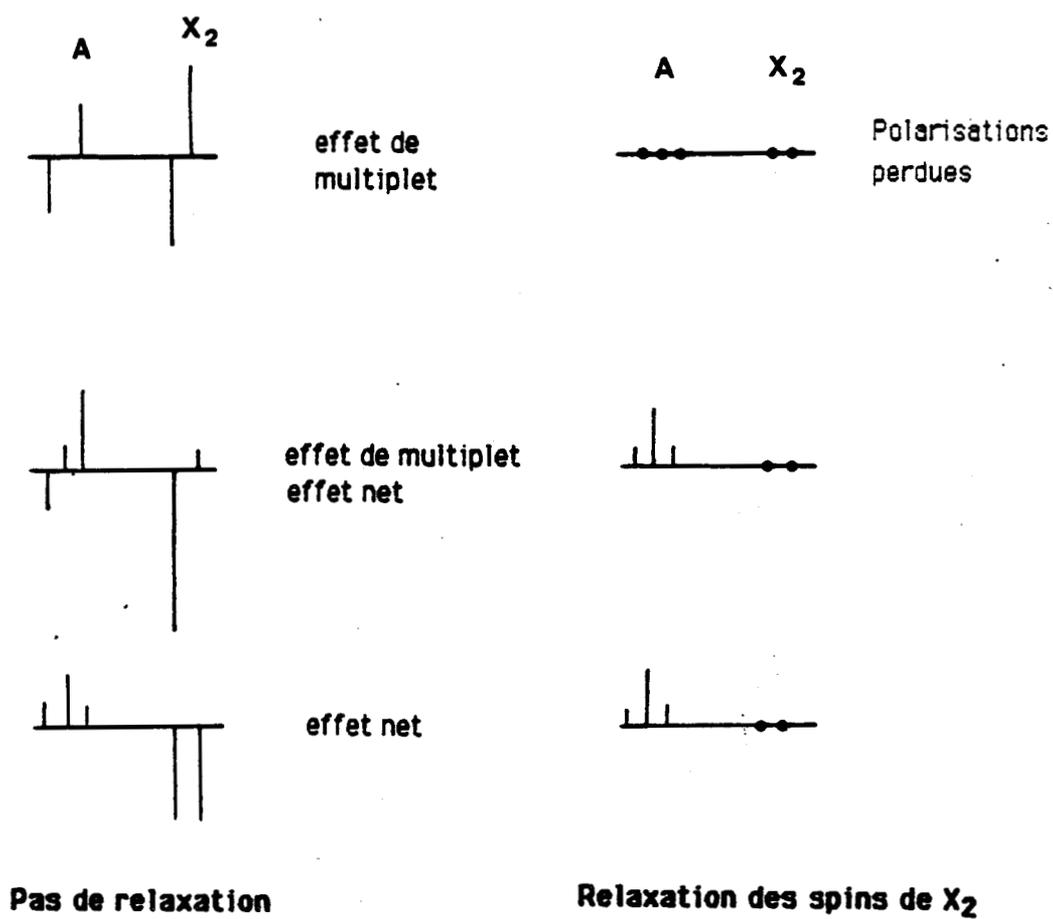


Figure 4
Combinaison des effets nets et de multiplet et
influence de la relaxation de spin nucléaire

4- Réarrangement des radicaux : effet de mémoire et effet coopératif

Le mélange S-T₀ a une durée de 10⁻⁹-10⁻⁷ s , temps suffisamment long pour que l'un des radicaux de la paire - ou les deux - se réarrange en un nouveau radical, sans toutefois affecter les états des spins nucléaires ou électroniques de la paire .

En effet, cette transformation se déroule sur un temps de 10⁻¹³-10⁻¹² s (tableau 1) . La paire ainsi créée peut conduire à la formation de nouveaux produits . Ce phénomène constitue l'effet de substitution de paire¹³ et comprend l'effet de mémoire et l'effet coopératif .

L'effet de mémoire¹⁴ permet d'expliquer l'observation d'effets nets à partir de paires radicalaires symétriques . La paire radicalaire formée est composée de radicaux identiques, ce qui donne une valeur nulle à la différence des facteurs de LANDE : on ne devrait pas observer de polarisations nettes pour les produits dérivant de cette paire . Or, l'étude de la décarboxylation du radical RCOO • a montré qu'il existait des effets nets pour une paire symétrique . Ces polarisations sont dues à l'effet de Δg de la paire initiale asymétrique, effet qui persiste lors de la naissance de la seconde paire, et qui se manifeste dans les produits de recombinaison provenant des deux radicaux identiques (schéma 3) . La prévision de la nature de ces polarisations se fait en considérant les paramètres de la paire asymétrique .

Ce modèle ne permet pas, toutefois, d'expliquer tous les faits observés et DEN HOLLANDER a introduit l'effet coopératif¹⁵ . Il faut alors considérer plusieurs paires radicalaires et faire , non pas la somme des effets qu'elles entraînent, mais appliquer les règles de KAPTEIN en prenant la résultante de chacun des paramètres magnétiques des différentes paires concernées .

5-Conclusion

Pour un noyau donné, l'application des règles de KAPTEIN permet de prévoir aisément le signe de la polarisation observée ou inversement d'après celle-ci, de déterminer par exemple la multiplicité des précurseurs et la nature de l'état excité mis en jeu . On peut alors établir un mécanisme réactionnel et caractériser les intermédiaires radicalaires .

Bien que le proton ¹H soit le plus couramment étudié, de nombreux ouvrages rapportent des expériences de C.I.D.N.P. avec des noyaux tels le ¹³C, ³¹P, ¹⁵N, ¹⁹F, ²H .

PROCESSUS	ECHELLE DE TEMPS (s)
Agitation moléculaire (petites molécules et radicaux).	10^{-13} à 10^{-11}
Recombinaison primaire (trop rapide pour la CIDNP)	10^{-11} - 10^{-10}
Recombinaison secondaire	10^{-10} - 10^{-7}
Mélange S-T	10^{-9} - 10^{-8}
Relaxation Spin-Spin électronique (T_2)	10^{-6} - 10^{-5}
Relaxation Spin-Réseau Nucléaire dans les radicaux (T_{1R})	10^{-5} - 10^{-3}
Relaxation Spin-Réseau Nucléaire dans les produits diamagnétiques (T_{1N})	1 - 100

Tableau 1
Echelle de temps des principaux processus intervenant en C.I.D.N.P.

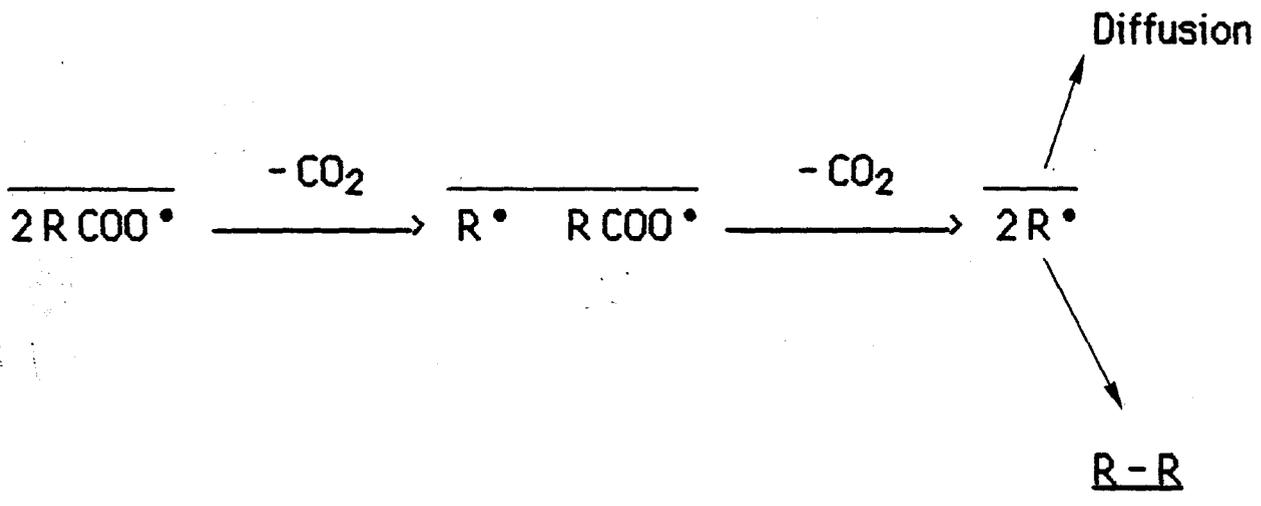


Schéma 3
 Evolution d'une paire radicalaire symétrique expliquant
 l'effet de mémoire.

IV- DEVELOPPEMENTS RECENTS DE LA PHOTO-C.I.D.N.P.

L'étude des systèmes biologiques constitue le domaine d'application privilégié de la photo-C.I.D.N.P. Celle-ci a vu ses limites reculer grâce au développement de techniques nouvelles: la photo-C.I.D.N.P. résolue dans le temps et la photo-C.I.D.N.P. bidimensionnelle. Elles ont permis, en particulier, l'étude des interactions de substances photosensibilisantes (voir chapitre II) avec des cibles biologiques privilégiées : les bases des acides nucléiques et les protéines^{16,17}.

KAPTEIN a ainsi pu mettre en évidence des réactions de transfert de charge -transfert de proton ou d'électron- et d'arrachement d'hydrogène entre les flavines et certains acides aminés aromatiques¹⁸ -tyrosine, histidine, tryptophane-. Ces réactions ont permis de déterminer la nature des interactions sensibilisateur-substrat.

1- La photo-C.I.D.N.P. résolue dans le temps

Les spectres C.I.D.N.P. en irradiation continue sont en général des fonctions complexes des constantes de vitesse des réactions, des concentrations des réactifs, des temps de relaxation des diverses espèces intervenant. De nombreuses informations potentiellement accessibles sur des réactions cycliques¹⁹ peuvent être perdues du fait de l'annulation partielle ou totale des effets. C'est le cas, lors de l'irradiation continue d'un sensibilisateur comme la flavine en présence d'un acide aminé : seul l'acide aminé présente des polarisations.

La figure 5 représente les réactions qui peuvent affecter les intensités des effets de C.I.D.N.P. lors de l'interaction photosensibilisateur-substrat²⁰. L'absence d'effets de C.I.D.N.P. au niveau du sensibilisateur est due, en partie, au temps de relaxation des radicaux : les radicaux obtenus à partir du sensibilisateur ont un temps de relaxation plus long que ceux dérivant des acides aminés. Les effets de C.I.D.N.P. correspondants peuvent s'annihiler par des réactions de cage (éq. 4a) et de fuite (éq. 4b) ou être perturbés par des réactions d'échange (éq. 5) ou de dismutation (éq. 6).

On résout la plupart de ces problèmes en utilisant la photo-C.I.D.N.P. résolue dans le temps²¹, qui permet d'obtenir un spectre avec un temps de résolution de quelques μ s. Le principe en est le suivant : l'échantillon est irradié par un éclair laser émettant dans la bande d'absorption du

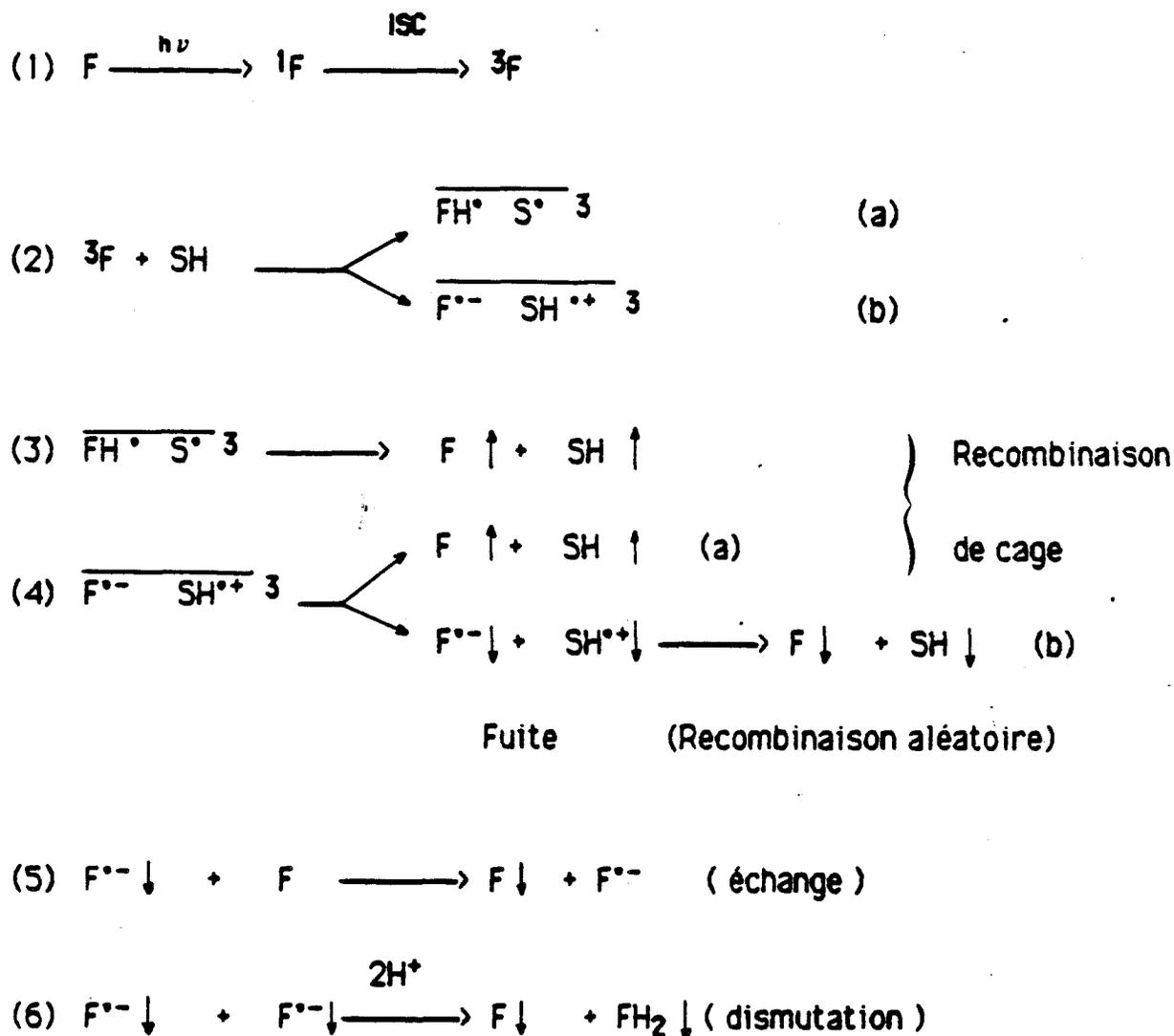


Figure 5

Réactions pouvant affecter les intensités des effets de C.I.D.N.P. lors de l'interaction photosensibilisateur (F) - substrat (SH).

Les flèches \uparrow et \downarrow correspondent respectivement aux polarisations de cage et de fuite.

sensibilisateur . Après un temps τ_1 court (10^{-5} - 10^{-7} s), on envoie une impulsion de radio fréquence et on enregistre le F.I.D. résultant . On répète cette séquence, cette fois sans irradiation, après un temps τ_2 suffisant pour permettre la relaxation des spins . En faisant la différence de ces deux F.I.D., on obtient un spectre de C.I.D.N.P. ne montrant que les signaux polarisés . Le schéma 4 représente cette séquence d'impulsion . Ainsi, en faisant varier τ_1 , on peut étudier la dépendance des intensités des signaux de C.I.D.N.P. en fonction du temps et séparer les différentes voies réactionnelles .

La première application de cette technique à des molécules d'intérêt biologique a permis à CLOSS et SITZMANN²² de déterminer les valeurs relatives des constantes de couplage hyperfin des radicaux cations de la chlorophylle et de quelques-uns de ses dérivés. De plus, en étudiant la photooxydation de dérivés chlorophylliens par les quinones, ils ont montré qu'une réaction d'échange (figure 5, éq. 5) était responsable de l'absence de polarisations et du phénomène d'élargissement des raies -broadening- au niveau de ces sensibilisateurs .

KAPTEIN et coll.²⁰ ont montré par une étude cinétique liée à l'intensité des polarisations que, lors des réactions des flavines avec un acide aminé, l'impossibilité d'observer des polarisations sur les flavines était principalement due à la réaction de dismutation des radicaux flavines (fig. 5, éq. 6) . De même, ils ont pu mettre en évidence les contributions respectives des réactions de transfert d'électron et d'arrachement d'hydrogène (fig. 5, éq. 2a-2b) au cours de la photoréduction d'une flavine par le nicotinamide adénine dinucléotide (NADH)²³.

La photo-C.I.D.N.P. résolue dans le temps constitue un atout précieux dans l'étude mécanistique des réactions : elle permet surtout de simplifier les spectres -ce qui est indispensable lorsqu'on étudie des molécules biologiques-, d'étudier la cinétique d'une réaction, de révéler certaines réactions non décelables à l'état stationnaire .

2- La photo-C.I.D.N.P. bidimensionnelle

La photo-C.I.D.N.P. a également été utilisée dans l'étude conformationnelle des protéines en solution : les polarisations obtenues au niveau de certains résidus peuvent donner des informations sur leur mobilité et leur orientation au sein de la protéine²⁵. Leurs spectres de C.I.D.N.P. sont complexes et présentent parfois des phénomènes de polarisation transverse ou "cross polarization"²⁴.

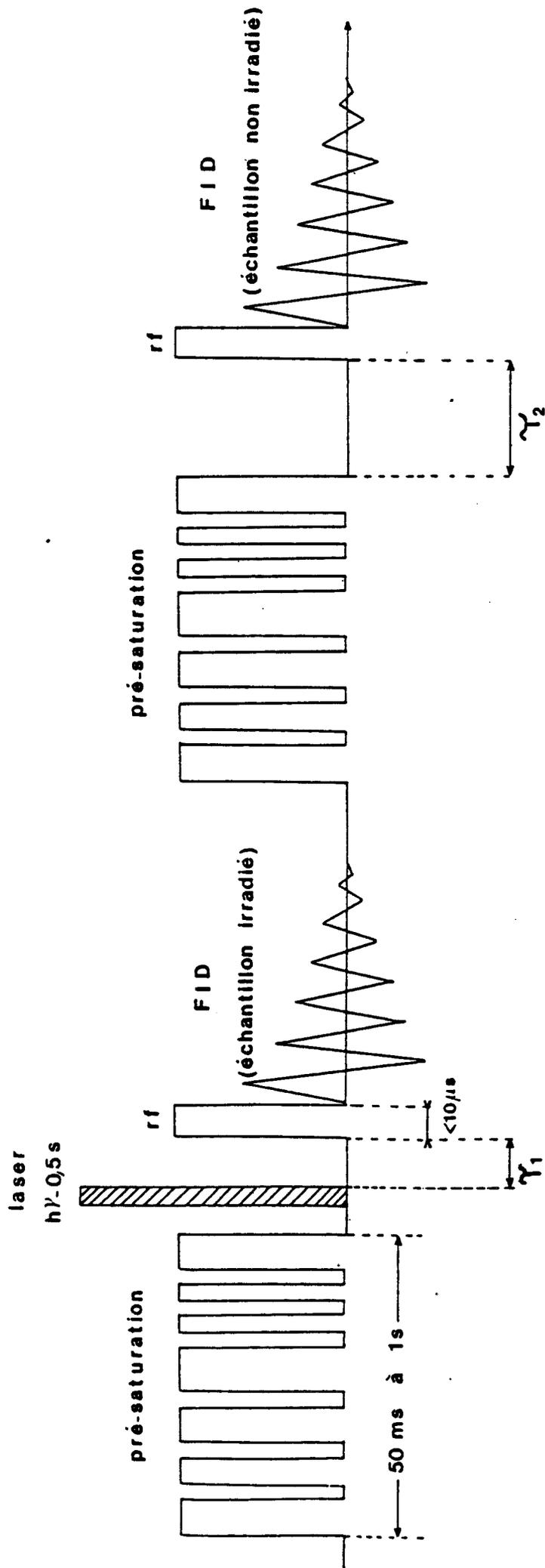


Schéma 4

Séquences d'impulsions caractérisant les expériences de photo-C.I.D.N.P. résolue dans le temps.

La "cross polarization" met en évidence un mécanisme de relaxation dipolaire transverse dans lequel un noyau ou groupe de noyaux transfère ses polarisations à un autre, initialement non polarisé. L'efficacité du transfert dépend des distances internucléaires, de l'agitation moléculaire et de nombreux paramètres physico-chimiques : la complexation avec le sensibilisateur, les concentrations, le pH, la température qui modifient l'environnement de chaque résidu.

Deux techniques ont permis de mettre en évidence ces phénomènes de polarisation transverse : une technique de R.M.N. monodimensionnelle basée sur la méthode par différence de spectres²⁵ et surtout la photo-C.I.D.N.P. bidimensionnelle²⁶.

SCHEEK et al.^{27a,b} ont ainsi couplé la photo-C.I.D.N.P. et la spectroscopie de R.M.N.-2D en utilisant différentes séquences impulsionnelles : la C.I.D.N.P. COSY et la C.I.D.N.P. NOESY^{28,29}. Du fait de leur dissymétrie, les spectres bidimensionnels obtenus permettent directement de mettre en évidence les protons des différents résidus sujets au transfert de polarisation. Ainsi, ces méthodes ont pour but d'obtenir une meilleure résolution des spectres et de corréler rapidement les protons responsables et sujets au transfert de polarisation. En R.M.N. monodimensionnelle, il est nécessaire de faire une double irradiation pour obtenir ces résultats.

La C.I.D.N.P.- bidimensionnelle permet ainsi de mettre en évidence des phénomènes indirects -le transfert de polarisation- et par là-même, de caractériser les différentes interactions entre résidus à la surface des protéines.

V- CONCLUSION

La meilleure compréhension des mécanismes responsables de la polarisation magnétique fait de la C.I.D.N.P., associée à la technique conventionnelle de spectrométrie R.P.E., un puissant outil d'investigation des réactions des états excités et des radicaux libres, en photochimie organique et en photobiologie. Elle fournit aussi des renseignements sur les caractéristiques et la structure des intermédiaires ainsi que sur le mécanisme de leurs interactions.

La photo-C.I.D.N.P. a l'avantage sur la R.P.E. de renseigner sur les produits mêmes de la réaction et non pas seulement sur les radicaux intermédiaires.

Cependant, il est souvent intéressant de coupler les deux techniques afin de caractériser les radicaux.

L'importance des facteurs d'exaltation fait de la C.I.D.N.P. une technique très sensible. Toutefois, il faut rester très prudent quant aux intensités des polarisations observées. En effet, il est important de savoir dans quelles proportions une réaction donnée se fait par la voie radicalaire. Dans certains cas, il arrive que des réactions secondaires donnent lieu à des polarisations plus importantes que la réaction principale³⁰. La prévision des exaltations des intensités spectrales est délicate³¹, voire impossible du fait de la variation des interactions d'échange lors de la durée de vie du couple de radicaux.

De plus, le pouvoir de haute résolution de la R.M.N. permet de détecter *in situ*, certains produits difficiles à isoler par des méthodes conventionnelles, soit en raison de la complexité du milieu, soit en raison de leur instabilité. Les nouvelles techniques qui se sont développées, comme la photo-C.I.D.N.P. résolue dans le temps et la photo-C.I.D.N.P. bidimensionnelle ont trouvé leur application dans l'étude mécanistique des réactions de type I (cf. chap. II), intervenant dans les systèmes sensibilisateur-substrat biologique.

Ainsi, la photo-C.I.D.N.P. constitue une méthode de choix dans l'étude des processus radicalaires, en particulier ceux de la photosensibilisation à laquelle est consacré le deuxième chapitre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- M.A. PATHAK, T.B. FITZPATRICK et J.A. PARRISH
"Principes de Médecine Interne"- T.R. HARRISON (Ed) Vol. 1 p. 273 (1982)
- 2- R.W. FESSENDEN et R.H. SCHULLER
J. Chem. Phys. 39, 2147 (1963)
- 3- a) J. BARGON, H. FISCHER et U. JOHNSON - Z. Naturforsch 22a, 1551(1967)
b) J. BARGON et H. FISCHER - Ibid., 1556 (1967)
- 4- H.R. WARD et R.G. LAWLER
J. Amer. Chem. Soc. 89, 5518 (1967)
- 5- G.L. CLOSS
J. Amer. Chem. Soc. 91, 4552 (1969)
- 6- R. KAPTEIN et J.L. OOSTERHOFF
a) Chem. Phys. Letters 4, 195 (1969)
b) Ibid., 4, 214 (1969)
- 7- a) "Chemically Induced Magnetic Polarization" -
Eds L.T. MUUS, P.W. ATKINS, K.A. Mc LAUHLAN et J.B. PEDERSEN
Vol.34 (D. Reidel, Dordrecht, Pays-Bas), (1977)
b) Chemically Induced Magnetic Polarization -
Eds A.R. LEPLEY et G.L. CLOSS (WILEY- Interscience), (1973)
- 8- R. KAPTEIN
J. Amer. Chem. Soc. 94, 6251 (1972)
- 9- R. KAPTEIN
a) J. Chem. Soc. Chem. Commun. , 732 (1971)
b) Thèse Chap. VIII, Université de LEIDEN (1971)
- 10- a) S. CAPLAIN - Thèse d'état ès Sciences Physiques, LILLE (1980)
b) G. VERMEERSCH- Thèse d'état ès Sciences Physiques, LILLE (1982)
- 11- G.L. CLOSS et A.D. TRIFUNAC
J. Amer. Chem. Soc. 92, 2186 (1970)
- 12- K. MÖLLER et G.L. CLOSS
J. Amer. Chem. Soc. 94, 1002 (1972)
- 13- R. KAPTEIN
J. Amer. Chem. Soc. 94, 6262 (1972)

- 14- R. KAPTEIN, J. BROKKEN-ZIJP et F.J.J. DE KANTER
J. Amer. Chem. Soc. 94, 6280 (1972)
- 15- J.A. DEN HOLLANDER
Chem. Phys. 10, 167 (1975)
- 16- H.D. ROTH
Mol. Photochem. 5, 91 (1973)
- 17- R.KAPTEIN, K. DIJKSTRA et K. NICOLAY
Nature, 274, 293 (1978)
- 18- R. KAPTEIN dans "Advances in Free Radical Chemistry"
Ed G.H. WILLIAMS, Elek Science, Londres, Vol 5 p. 319 (1975)
- 19- M. LAÜFER et H. DREESKAMP
J. Magn. Resonance 60, 357-365 (1984)
- 20- P. J. HORE et R. KAPTEIN
"N.M.R. Spectroscopy : New Methods and applications"; p. 285-318
Ed. G.C. LEVY, Amer. Chem. Soc., Washington D.C. (1982)
- 21- B. BLÜMICH
Mol. Phys. 51 (5), 1283-1291 (1984)
- 22- G.L. CLOSS et E.V. SITZMANN
J. Amer. Chem. Soc. 103, 3217 (1981)
- 23- P.J. HORE, A. VOLBEDA, K. DIJKSTRA et R. KAPTEIN
J. Amer. Chem. Soc. 104, 6262 (1982)
- 24- G.L. CLOSS et M.S. CZEROPSKI
Chem. Phys. Lett. 45, 115 (1977)
- 25- F. MÜLLER, C.G. VANSCHAGEN et R. KAPTEIN
"Flavins and Flavoproteins", p. 385. Eds T.P. SINGER, ELSEVIER-
Amsterdam (1976)
- 26- A. DE MARCO, A.M. PETROS, M. LLINÀS, R. KAPTEIN et R. BOELENS
Biochim. Biophys. Acta 994, 121 (1989)
- 27- R.M. SCHEEK, S. STOB, R. BOELENS, K. DIJKSTRA et R. KAPTEIN
a) Faraday Discuss. Chem. Soc. 78, 245 (1984)
b) J. Amer. Chem. Soc. 107, 705 (1985)
c) Isr. J. Chem. 28, 319 (1988)
- 28- S. STOB, R.M. SCHEEK, R. BOELENS et R. KAPTEIN
FEBS Lett. 239 (1), 99 (1989)
- 29- B.D. RAY, R.M. SCHEEK, M.D. KEMPLE, F.G. PRENDERGAST et B.D. NAGESWARA
RAO
Eur. J. Biochem. 178, 705 (1989)

30- B. BLANK et H. FISCHER

Helv. Chim. Acta 54, 905 (1971)

31- S. SCHÄUBLIN, A. WOKAUN, R.R. ERNST

J. Mag. Resonance 27, 273 (1977)

CHAPITRE II

LA PHOTSENSIBILISATION PAR LES SULFAMIDES

I- INTERET THERAPEUTIQUE DES SULFAMIDES

1- Historique

Le début du siècle a vu le développement de la chimie thérapeutique, en particulier celle des sulfamides. Jusqu'alors, seules des substances produites par des organismes vivants étaient utilisées comme agents thérapeutiques.¹

Les premiers succès de la chimie thérapeutique sont enregistrés dans des affections à trypanosomes -maladie du sommeil- ou à plasmodes -malaria-. Toutefois, les infections à bactéries résistent à tout traitement.

C'est en 1935 que des chercheurs mettent au point le para-aminophényl sulfamide par réduction d'un colorant azoïque : le chlorhydrate de sulfonamido-4 diamino-2',4' azobenzène². Ce sulfamide comportant des fonctions amines libres se révèle actif aussi bien *in vitro* que *in vivo* : il permet d'enrayer des infections staphylococciques. A partir de là, les sulfamides sont considérés comme des agents thérapeutiques à part entière. Pionniers dans le domaine de l'antiseptie interne, ils sont utilisés pour leurs propriétés bactériostatiques, et un peu plus tard pour leur action hypoglycémiant. Cependant, le traitement se révèle délicat car ils présentent des effets secondaires³ non négligeables :

- agressifs pour le tube digestif, ils donnent lieu à des accidents graves de lithiase rénale en raison de leur fâcheuse tendance à cristalliser.
- ils induisent des réactions de photosensibilisation.

Si au moment de l'apparition des antibiotiques de fermentation, les prescriptions de sulfamides sont moins fréquentes, ils conservent à l'heure actuelle des indications thérapeutiques spécifiques : par exemple, dans les pays en voie de développement où leur stabilité permet de conserver leur efficacité sous des climats difficiles, et dans les applications vétérinaires.

La structure des sulfamides est caractérisée par un noyau phényle associé à un groupe sulfonamide sur lequel est fixé un substituant R' : la nature du groupe R', alkyle ou aryle permet de distinguer les différents sulfamides

(tableau 1). Le tableau 2 regroupe les indications thérapeutiques de ces molécules.

2- Mode d'action des sulfamides

La diversité des molécules de sulfamides ne doit pas masquer leur remarquable homogénéité chimique et bactériologique^{4a,b,c}. En effet, ils ont tous :

- une structure de base commune, le para-aminobenzène sulfonamide
- une activité purement bactériostatique par un mécanisme de type antimétabolique
- un spectre large et commun à toutes les molécules.

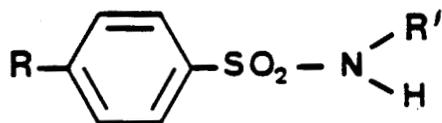
Certaines propriétés pharmacologiques comme la bonne diffusion, l'inactivation hépatique, et l'élimination rénale sont communes à tous les sulfamides. Ce sont donc les différences qui portent sur la vitesse de leur élimination qui restent la base de la classification usuelle (tableau 3).

Le mode d'action des sulfamides dans l'organisme est relié à la présence d'une molécule au niveau des bactéries : l'acide para-aminobenzoïque (P.A.B.A.). Cette molécule est indispensable à la croissance des bactéries et à leur multiplication. En effet, les enzymes à acide folique sont essentielles pour la biosynthèse des purines, elles-mêmes indispensables à la production d'A.D.N. L'acide folique, caractérisé par le motif P.A.B.A. est un cofacteur responsable du transport de radicaux monocarbonés. Par suite de leur grande similitude de structure, le sulfamide se fixe à la place du P.A.B.A. sur le site actif de l'enzyme responsable de la synthèse de l'acide folique : la synthèse ultérieure des purines se trouve bloquée, celle de l'A.D.N. perturbée, et par là-même la croissance de la bactérie.

3- Les effets indésirables : la photosensibilisation

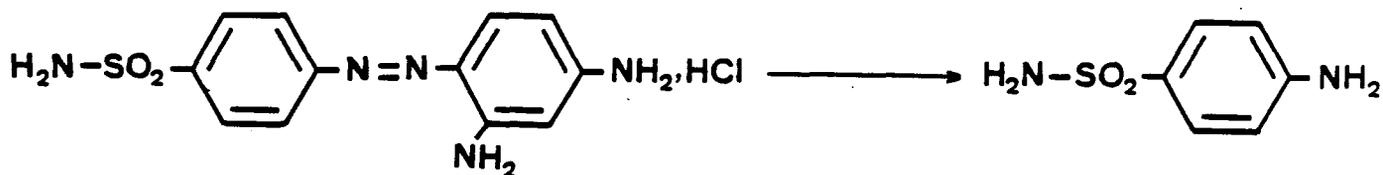
L'inconvénient majeur des sulfamides est d'induire des réactions de photosensibilisation⁵. EPSTEIN⁶, en 1937, fut le premier à remarquer que le sulfanilamide, chef de file de la série des sulfamides entraînait à la fois des réactions photoallergiques et phototoxiques, dont les mécanismes sont fondamentalement différents^{7,8,9}.

STORCK¹⁰ a montré que des injections intradermiques de sulfanilamide induisaient non seulement une réponse phototoxique rapide de type érythémateux, mais aussi un urticaire retardé qui se manifeste pour des doses



R	R'	Nomenclature officielle	Nom usuel
NH ₂	- H	p-amino benzène sulfonamide	SULFANILAMIDE
NH ₂	- COCH ₃	N1 Acétyl amino-4 benzène sulfonamide	SULFACETAMIDE
NH ₂		Amino-4 N-(pyrimidinyl-2) benzène sulfonamide	SULFADIAZINE
NH ₂		Amino-4 N-(méthyl-4 pyrimidinyl-2) benzène sulfonamide	SULFAMERAZINE
NH ₂		Amino-4 N-(diméthyl-4,6 pyrimidinyl-2) benzène sulfonamide	SULFAMETHAZINE
NH ₂	-CONH(CH ₂) ₃ CH ₃	Butyl-1 sulfanilyl-3 urée	CARBUTAMIDE
CH ₃	-CONH(CH ₂) ₃ CH ₃	Butyl-1 (p-tolyl sulfonyl)-3 urée	TOLBUTAMIDE
NH ₂		Amino-4 N-(thiazolyl-2) benzène sulfonamide	SULFATHIAZOLE
NH ₂		Amino-4 N-(pyridinyl-2) benzène sulfonamide	SULFAPYRIDINE
NH ₂		Amino-4 N-(diméthyl-2,6 pyrimidinyl-4) benzène sulfonamide	SULFISOMIDINE
NH ₂		Amino-4 N-(diméthyl-4,5 oxazol-2-yl) benzène sulfonamide	SULFAMOXOLE
NH ₂		Amino-4 N-(diméthoxy-5,6 pyrimidinyl-4) benzène sulfonamide	SULFADOXINE

Tableau 1: Les sulfamides



Obtention du sulfanilamide par réduction du chlorhydrate de sulfonamido-4 diamino-2' 4' azobenzène.

Maladies infectieuses	Infections urinaires	Sulfamides <ul style="list-style-type: none"> • retard • semi-retard • à élimination rapide Association Sulfamide / Triméthoprime
Maladies parasitaires	Paludisme Toxoplasmose	Sulfadiazines
Affections endocriniennes	Diabète sucré	Sulfonylurées (hypoglycémiants)

Tableau 2
Indications thérapeutiques des sulfamides

Sulfamides	Demie-vie	Nom usuel
à élimination rapide	$T_{1/2} < 8 \text{ h}$	Sulfisomidine
à élimination semi-retard	$8 < T_{1/2} < 24 \text{ h}$	Sulfamérazine Sulfamoxole Sulfadiazine
locaux	non absorbés	Sulfanilamide Sulfacétamide

Tableau 3
Classification des sulfamides selon leur demi-vie.

faibles de médicament et pour une faible intensité lumineuse. De nombreux autres sulfamides -hypoglycémisants ou diurétiques- ont été incriminés à l'origine d'une dermatose photoallergique¹¹. Ainsi, une peau traitée par des sulfamides, puis exposée à la lumière, présente des dermatites bulleuses à différents degrés, tels les érythèmes et les eczéma.

Les formes les plus sévères et souvent mortelles d'intoxication par les sulfamides, en présence de lumière, constituent les toxidermies bulleuses avec nécro-épidermolyse qui regroupent deux types de syndrome : le syndrome de STEVENS-JOHNSON^{12,13} et le syndrome de LYELL¹⁴. LYELL, qui a décrit en 1956 le syndrome du même nom, impliquait la responsabilité des sulfamides, en particulier les sulfamides à longue action. L'aspect clinique est caractéristique: le patient présente un aspect "d'ébouillanté" avec de vastes lambeaux d'épidermolyse. Le syndrome de STEVENS-JOHNSON est caractérisé par un érythème polymorphe, pour lequel la production élevée de pigment mélanique au niveau du derme est responsable de séquelles pigmentaires tenaces.

Enfin, il faut souligner le rôle des plurimédications dans le phénomène de photosensibilisation. Il est fréquent depuis les années 60, d'associer un sulfamide à un autre agent bactériostatique : la triméthoprine^{15,4b} ou [(Triméthoxy-3,4,5 phényl)- méthyl]-5 diamine-2,4 pyrimidine. Cette association qui a pour but d'accroître l'activité bactériostatique du sulfamide, se révèle comme un facteur aggravant des réactions phototoxiques et photoallergiques.

Cette photosensibilisation induite par les sulfamides reste pour le dermatologue délicate à traiter car, si les mécanismes moléculaires et les cibles tissulaires commencent à être mieux connus, les mécanismes physiopathologiques sont moins bien identifiés.

II- LES MECANISMES DE LA PHOTOSENSIBILISATION

1- Les effets de la lumière

Les êtres humains ayant subi leur évolution à la lumière du soleil, la lumière naturelle a toujours été reconnue comme douée de propriétés favorisant la bonne santé.

Différents récepteurs de notre organisme, comme la peau et les vaisseaux sanguins, sont sensibles aux radiations électromagnétiques du

spectre solaire. La peau, par exemple, permet la synthèse de la vitamine D à partir de précurseurs tels les stérols et après exposition aux rayons ultra-violet : c'est un remède connu depuis longtemps contre le rachitisme¹⁶. Cependant, la lumière peut aussi être responsable de douleurs, de lésions, de nécroses des cellules cutanées : la modification de l'acide désoxyribonucléique (ADN) est à l'origine de cancers cutanés¹⁷.

Au cours des vingt dernières années, un intérêt accru vis-à-vis des réactions cutanées après exposition à la lumière est apparu. Ceci est dû en partie, à des résultats d'études démographiques qui montrent que les régions du corps exposées au soleil développent plus fréquemment des carcinomes que les zones non exposées, et à l'utilisation généralisée de certains médicaments, dont les sulfamides¹⁸ et les phénothiazines¹⁹, qui perturbent les réponses cutanées à la lumière solaire.

Les effets de la lumière peuvent ainsi se révéler néfastes - photosensibilisation- ou bénéfiques -photothérapie-. En effet, le développement des travaux dans le domaine récent de la photobiologie a ouvert la voie à une nouvelle discipline : la photomédecine, qui permet le traitement de tumeurs résistantes aux thérapies classiques. En fonction de la présence d'un photosensibilisateur, on distingue :

- la photothérapie²⁰, où seule la lumière est utilisée.
- la photochimiothérapie²¹, où un photosensibilisateur est associé à l'action de la lumière.

2- Les mécanismes de la photosensibilisation

La photosensibilisation cutanée se traduit par une réaction anormale de la peau à la lumière. Les molécules qui en sont la cause peuvent être exogènes comme les médicaments (les sulfamides) ou les produits cosmétiques, ou endogènes -intervention de métabolites-²².

La photosensibilisation cutanée d'origine médicamenteuse^{23,24} ne fait intervenir, en général, qu'une partie du spectre solaire : les rayons ultra-violet de type B (U.V.B) et de type A (U.V.A), dont les longueurs d'onde couvrent respectivement les domaines 290-320 nm et 320-380 nm .

Les médicaments responsables d'intolérance cutanée agissent par l'intermédiaire de deux mécanismes :

- la phototoxicité^{25,26}, où l'interaction peau-lumière met en jeu uniquement des processus physico-chimiques.

- la photoallergie, lorsque la substance photoactivée présente dans la peau se combine aux protéines cutanées, pour devenir un photoantigène capable de faire réagir les cellules immuno-compétentes du sujet^{27,28}.

Le schéma 1 montre les différences entre réaction phototoxique et photoallergique.

a- La réaction phototoxique

Une réponse phototoxique survient chez tous les individus, à condition que la substance photosensibilisante soit à bonne concentration et le rayonnement efficace à dose suffisante.

Elle apparaît dès la première exposition, et est strictement localisée aux régions exposées. L'aspect clinique habituel est celui d'un érythème (coup de soleil) exagéré, plus ou moins œdémateux. D'un point de vue histologique, l'atteinte est épidermique avec des "sunburn cells". Certaines réactions phototoxiques ne s'observent qu'en présence d'oxygène moléculaire : elles sont appelées réactions photodynamiques. A l'inverse, bon nombre de réactions peuvent se dérouler en absence d'oxygène.

On distingue principalement deux types de mécanisme de la phototoxicité : l'un direct, où l'état excité du sensibilisateur réagit avec le substrat biologique ; l'autre indirect dans lequel intervient une autre molécule - photoproduit ou espèce active de l'oxygène- (cf. schéma 2).

Le mécanisme direct comprend :

- les réactions d'addition du photosensibilisateur dans un état excité avec le substrat biologique.
- les réactions de fragmentation, conduisant à des radicaux instables du photosensibilisateur.
- les réactions de photoionisation, qui donnent naissance à des radicaux ions et à des électrons.
- les réactions de photooxydation de type I (cf. § III).

Le mécanisme indirect comprend :

- les réactions qui conduisent à la formation de photoproduits stables dérivant du composé phototoxique.
- les réactions de photooxydation de type II (cf. § III).

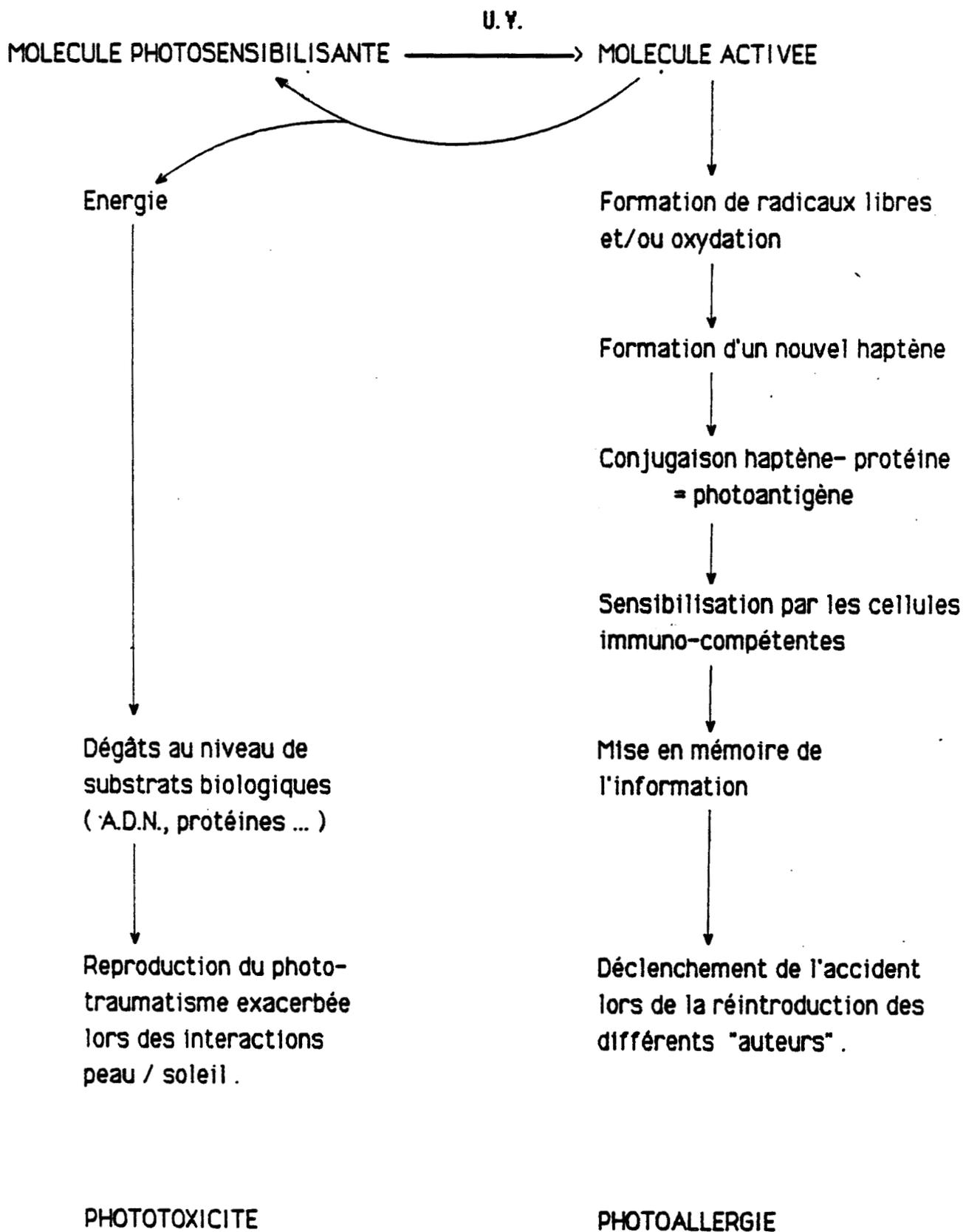


Schéma 1
Les mécanismes de la photosensibilisation .

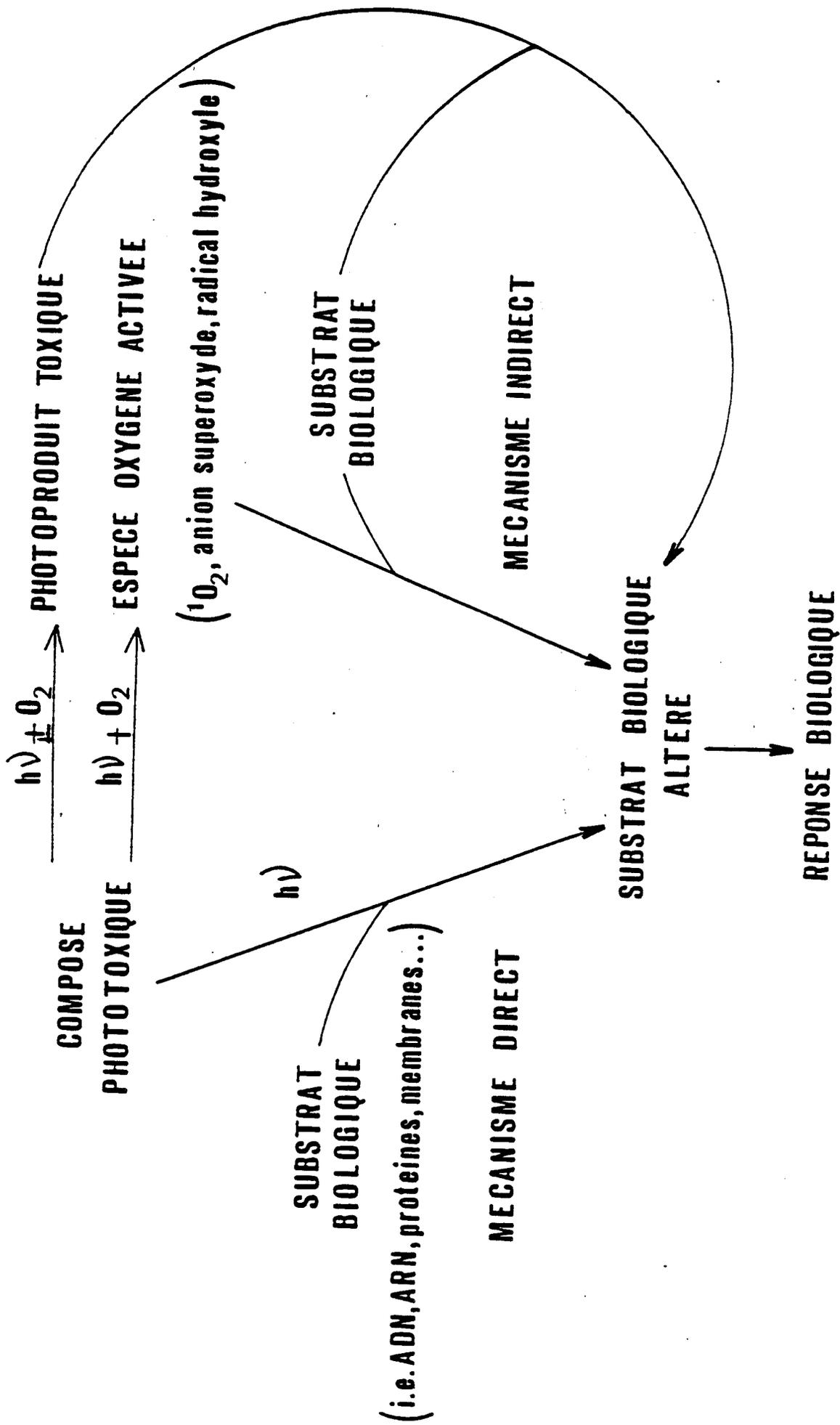


Schéma 2

Mécanismes de phototoxicité

b- La réaction photoallergique

La réaction photoallergique ne survient que chez les sujets préalablement sensibilisés, après un temps de latence d'au moins 48 heures.

Le déclenchement de la réaction est indépendant de la dose du produit responsable et de celle du rayonnement reçu. Les lésions apparues sur les régions découvertes peuvent secondairement s'étendre aux parties couvertes et l'aspect clinique est celui d'un eczéma aigu ou souvent chronique. Les lésions ont tendance à s'aggraver après chaque nouvelle application ou administration du produit. Histologiquement on constate, à l'inverse de la réaction phototoxique, peu de lésions épidermiques mais un infiltrat lymphoplasmocytaire dermique périvasculaire.

Le risque de la photoallergie est le passage à la chronicité, les lésions devenant indépendantes de tout contact avec la substance photosensibilisante.

Il est admis que la photoallergie aux médicaments dépend d'une réaction antigène-anticorps ou d'une réaction d'hypersensibilité retardée où les lymphocytes servent de médiateurs. L'énergie lumineuse absorbée va déclencher une réaction photochimique entre le médicament et les protéines de la peau : soit le médicament agit comme un groupement hapténique qui s'associe directement à une protéine cutanée pour former un photoantigène, soit ce groupement hapténique est altéré par l'énergie absorbée avant de réagir avec la protéine, et de même former un photoantigène.

Cette distinction entre photoallergie et phototoxicité est en pratique soumise à de très nombreuses interférences dans les deux sens : un médicament peut déclencher une réaction complexe faisant intervenir les deux types de réponse biologique. D'autre part, il est difficile d'incriminer la nature du rayonnement dans le type de réponse photoinduite. En effet, il existe des résultats conflictuels concernant le spectre d'action de la phototoxicité du sulfanilamide²⁹. LJUNGGREN rapporte que sur trois études faites sur l'homme, deux ont montré une phototoxicité due aux U.V.B et une aux U.V.A. .

Toutefois, il est certain qu'une radiation non ionisante est absorbée en présence de la molécule photosensibilisante pour produire une réaction photochimique et entraîner une réponse biologique.

c- Les moyens d'investigation en photosensibilisation

La complexité de ces phénomènes nécessite la participation d'équipes de chercheurs interdisciplinaires : chimistes, photochimistes, biologistes, dermatologues. Ils ont pour but entre autres de mettre au point des tests permettant d'évaluer le degré de phototoxicité ou de photoallergie de médicaments photosensibilisants, aussi bien *in vitro* que *in vivo*^{30,31}.

En effet, les méthodes d'investigation en photosensibilisation sont nombreuses :

- *in vivo* : les photopatchtests³² conduits sur l'homme ou le cobaye mesurent le pouvoir photoallergisant ou phototoxique d'un médicament en application cutanée par simple lecture de la réponse biologique : érythème, œdème... Les photopatchtests au sulfanilamide se révèlent positifs. De même, les photointradermoréactions (photo-I.D.R.)³³, qui ont l'avantage d'éliminer le rôle de la barrière cutanée, mesurent la phototoxicité d'un médicament.

- *in vitro* : on distingue, parmi d'autres, les tests de photohémostase³⁴, les tests de transformation lymphoblastique (T.T.L.)³⁵ basés sur la modification de l'activité cellulaire, et les tests de photoinactivation de virus ou de bactéries³⁶.

Cependant, l'étude des mécanismes de la photosensibilisation *in vivo* est rendue délicate par la difficulté de transposer les résultats obtenus *in vitro*, du fait de la modélisation des systèmes.

III- LES REACTIONS DE LA PHOTOSENSIBILISATION

Les réactions chimiques photoinduites sont provoquées par l'absorption sélective de radiations électromagnétiques par des groupements chimiques appelés chromophores. Ces chromophores peuvent être normaux mais anormalement accumulés -c'est le cas des porphyrines-, ou anormaux -les médicaments-.

1- Les états excités³⁷

Au cours d'une réaction photosensibilisée, la première étape est l'absorption d'un photon ($h\nu$) par le photosensibilisateur dans son état S_0 . Cette

molécule passera dans un état excité singulet $^1S^*$, caractérisé par une énergie élevée et une brève durée de vie (10^{-9} à 10^{-6} s).

La désactivation de $^1S^*$ ou perte de l'énergie pour revenir à l'état fondamental, se déroule de différentes façons : le retour de $^1S^*$ vers S_0 peut se faire, soit par conversion interne (C.I.) -processus non radiatif-, soit par émission de fluorescence -processus radiatif-. Une autre voie de désactivation de $^1S^*$ est le passage intersystème (C.I.S.) : ce processus peuple un état excité triplet $^3S^*$, d'énergie plus faible que $^1S^*$ et de plus longue durée de vie (10^{-3} à 10^{-1} s). La désactivation de $^3S^*$ se fera ensuite non radiativement par C.I.S. ou par émission de phosphorescence -processus radiatif-.

L'importance de cet aspect est que l'apport d'énergie et la modification de la distribution électronique dans les états excités confèrent au chromophore une réactivité chimique absente à l'état fondamental. L'état triplet $^3S^*$ est le plus souvent à l'origine des réactions photochimiques, et en raison de sa plus longue durée de vie, a une probabilité plus élevée de réagir avec d'autres molécules avant le retour à l'état fondamental.

2- Les réactions photochimiques directes

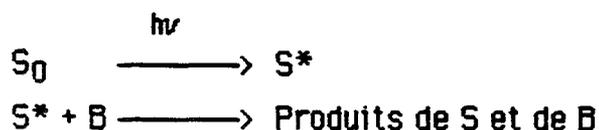
On distingue deux types de réactions :

- seul le sensibilisateur intervient



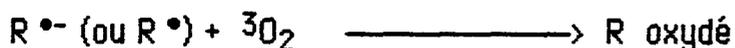
C'est le cas des réactions de réarrangement moléculaire, d'isomérisation, de cyclisation et de dégradation. L'état excité peut être singulet ou triplet, et ces réactions peuvent se dérouler en plusieurs étapes, via des intermédiaires radicalaires.

- le sensibilisateur S et une molécule B interviennent

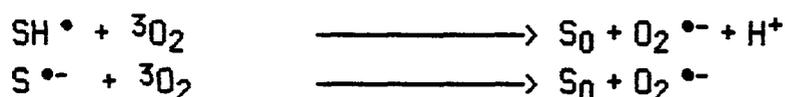


L'exemple le plus fréquent est la réaction d'addition dans laquelle l'état excité de S est l'état triplet.

Les espèces radicalaires formées sont alors susceptibles d'évoluer chimiquement : on observe, en particulier, une réaction d'oxydation par l'oxygène moléculaire dont l'état fondamental est un état triplet.

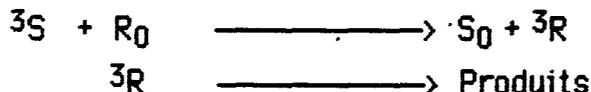


Au cours de cette réaction, le photosensibilisateur peut être régénéré par réaction avec l'oxygène moléculaire pour donner une espèce très réactive : le radical anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, selon les schémas :



b- Le mécanisme de type II

Le mécanisme de type II met en jeu un transfert d'énergie du photosensibilisateur excité vers un substrat qui se trouve à l'état fondamental:



Le substrat qui passe à l'état excité peut éventuellement subir des réactions chimiques. Le transfert d'énergie nécessite que le niveau énergétique de l'état excité du substrat soit inférieur à celui du photosensibilisateur.

La réaction la plus fréquente, appelée réaction photodynamique de type II fait intervenir l'état triplet du photosensibilisateur et l'état fondamental de l'oxygène:



L'oxygène à l'état excité -état singulet- est très réactif et peut oxyder un grand nombre de substrats³⁸ :



IV- CONCLUSION

La phototoxicité et la photoallergie sont des phénomènes induits par la lumière et par la prise simultanée d'un médicament photosensibilisant.

Le photobiologiste a ainsi individualisé différents tableaux cliniques de photosensibilité cutanée, et pour en comprendre la physio-pathologie, il doit :

- déterminer les longueurs d'onde en cause (le tableau 4 regroupe les maxima d'absorption de quelques sulfamides³⁹).
- identifier le chromophore responsable, souvent mal connu, qui peut être un photoproduit, un métabolite et non la molécule mère.
- établir le mécanisme en précisant les cibles moléculaires et les altérations intra-cellulaires et tissulaires.

Les faits exposés montrent combien la compréhension des mécanismes de la photosensibilisation est peu aisée, et bien que la transposition des résultats obtenus *in vitro* soit toujours délicate *in vivo*, les éléments qu'ils fournissent sont indispensables au photobiologiste. Ainsi, diverses techniques physico-chimiques permettent d'analyser la réactivité physico-chimique de molécules organiques et de connaître les mécanismes fondamentaux responsables du phénomène de la photosensibilisation :

- l'étude globale de la réaction photochimique⁴⁰ permet l'identification des photoproduits.
- la spectrofluorimétrie⁴¹ mesure la fluorescence, la phosphorescence ainsi que les rendements quantiques.
- la photolyse éclair⁴² étudie de manière quantitative les états excités de courte durée de vie.
- la détection des espèces activées de l'oxygène⁴³ utilise des capteurs spécifiques afin de mettre en évidence l'ion superoxyde et l'oxygène singulet au cours de l'irradiation d'un composé phototoxique.
- la résonance paramagnétique électronique (R.P.E.)⁴⁴ identifie des intermédiaires réactionnels radicalaires.
- la **photo-C.I.D.N.P.**^{45,46} autorise l'étude de photoréactions radicalaires du type transfert de charge ou d'atome. Elle permet de détecter *in vitro* la dégradation d'un médicament sous irradiation lumineuse, d'étudier les radicaux formés intermédiairement

Ainsi l'observation d'effets de C.I.D.N.P. au cours de photoréactions de médicaments photosensibilisants permet :

- la mise en évidence du caractère radicalaire de certaines réactions.

Sulfamides	λ_{\max} (nm)	ϵ
Sulfanilamide	258	18900
Sulfacétamide	256	16200
Sulfadiazine	240	2200
	260	
Sulfamérazine	245	15800
Sulfaméthazine	242	15100
	300	6900
Tolbutamide	229	13500
	263	700
Sulfathiazole	257	15800
	283	19600
Sulfapyridine	238	9700
Sulfisomidine	262	
Chlorothiazide	279	4000

Tableau 4
Paramètres photophysiques de quelques sulfamides d'après 39 .

- l'identification de nouveaux photoproduits.
- l'établissement d'un mécanisme réactionnel.
- l'étude du comportement du médicament seul et en présence de modèles de substrats biologiques, qui constituent des cibles d'attaque privilégiées dans l'organisme : les amino-acides et les bases des acides nucléiques (ADN et ARN). Elle mettra en évidence **les mécanismes réactionnels de type I**. Le lecteur intéressé par l'utilisation de cette technique dans l'étude de médicaments photosensibilisants pourra consulter les références 47 a,b et 48 a,b.

Ainsi, nous nous proposons dans le troisième chapitre d'étudier par photo-C.I.D.N.P. les mécanismes réactionnels mis en jeu lors de l'irradiation de sulfamides.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- J.L. WITCHITZ
"Bactériologie Médicale"- Ed L. LE MINOR et M. VERON, p. 192
Flammarion Médecine Sciences (1984)
- 2- M. JULIA
Les Sulfamides- L'actualité Chimique- pp. 31-37 (1986)
- 3- H.S. SCHUTTA et L. JOHNSON
J. Pediat. 75 (6), 1070-1079 (1969)
- 4- "Précis de thérapeutique"- Eds J.F. MONSALLIER, A CARLI et J.F. DHAINAUT
a) A. PHILIPPON, G.PAUL et P. NEVOT p. 237
b) J. LAPIERRE p. 287-292
- 5- K. SCHWARZ et M. SPECK
Dermatol. 114, 232 (1957)
- 6- S. EPSTEIN
J. Invest. Dermatol. 2, 43 (1939)
- 7- H.F. BLUM
Ibid. 4, 159 (1941)
- 8- E.A. EMMET
Photochem. Photobiol. 38, 429 (1979)
- 9- B.K. SINHA, J.T. ARNOLD et C.F. CHIGNELL
Ibid. 35, 413 (1982)
- 10- H. STORCK
Arch. Dermatol. 91, 46 (1965)
- 11- J.H. EPSTEIN et B.U. WINTROUB
Drugs 30, 42 (1985)
- 12- G.M.L. TAYLOR
S. Afr. Med. J. 42, 501 (1968)
- 13- K. KAUPPINEN
Acta Dermato-Venereol. 52, Suppl. 68, 66 (1972)
- 14- A. BERTOZF, V.VINCENT et J.-C. EVREUX
Soc. Med. Leg 1, 186 (1968)
- 15- I. CHANARIN et J.M. ENGLAND
Brit. Med. J. 1, 651 (1972)

- 16- M.A. PATHAK et J.H. EPSTEIN
"Dermatology in General Medecine"- T.B. FITZPATRICK et al. (Eds),
New-York (1971)
- 17- M.A. PATHAK, T.B. FITZPATRICK et J.A. PARRISH
"Principes de Médecine Interne"- T.R. HARRISON (Ed), Vol. 1, p. 273
(1982)
- 18- R.B. AMSTRONG et L.C. HARBER
"Cutaneous Toxicity"- V.A. DRILL et P. LAZAR (Eds), Raven Press
New-York (1984)
- 19- J. MARKO
Thèse d'état ès Sciences Physiques, Lille (1986)
- 20- G. MAUDUIT, J.L. PEYRON, P. THOMAS et J. BAZEX
Les Nouvelles Dermatologiques 5, Suppl. 3, 211 (1986)
- 21- J.D. SPIKES
"Primary Photoprocesses in Biology and Medecine"- Eds R.V.
BENSASSON, G. JORI, E.J. LAND et T.G. TRUSCOTT, Plenum Press Vol. 85,
p. 209 (1985)
- 22- D. LE NOUEN
Thèse de Doctorat, Chap. II, Lille (1988)
- 23- M. JEANMOUGIN
Biochimie 68 (6), 891 (1986)
- 24- R.P. MASON et C.F. CHIGNELL
Pharmacol. Rev. 33, 189 (1982)
- 25- J. MEYNADIER et S. PEDAILLES
Les Nouvelles Dermatologiques, Photobiologie 5, 189 (1986)
- 26- P.S. FRIEDMANN
Photobiochem. Photobiophys. Suppl. 463 (1987)
- 27- J.D. SPIKES
"The Science of Photobiology"- Ed. K.C. SMITH, p. 87- Plenum Press
New- York (1977)
- 28- J.H. EPSTEIN
Ibid. p. 175
- 29- B. LJUNGGREN
Photodermatol. 3, 26 (1986)
- 30- L.C. HARBER, R.B. AMSTRONG, H. ICHIKAWA
J.N.C.I. 69 (1), 237 (1982)
- 31- H. ICHIKAWA, R. B. AMSTRONG et L. C. HARBER
J. Invest. Dermatol. 76, 498 (1981)

- 32- M. JEANMOUGIN
Les Nouvelles Dermatologiques 5 Suppl.3 , 204 (1986)
- 33- J.L. PEYRON et S. PEDAILLES
Ibid., 208 (1986)
- 34- B. GOY-BEAUCOUSIN, P.THOMAS, J.L. BOCQUET et H. BERGOEND
Ibid., 195 (1986)
- 35- W.L. MORISON, D.J. McAULIFFE, J.A. PARRISH et K. J. BLOCH
J. Invest. Dermatol. 78, 460 (1982)
- 36- D. AYERBECK, E. BISAGNI, J.P. MARQUET, P. VIGNY et F. GABORIAU
Photochem. Photobiol. 30, 547 (1979)
- 37- M. KOIZUMI, S. KATO, M. MATAGA, T. MATSUURA et Y. USUI
"Photosensitized Reactions"- Chap. I. Kadakudojin Pub. Japon (1978)
- 38- M.A. RODGERS
"Primary Photoprocesses in Biology and Medecine"- Ed. R.V.
BENSASSON et Coll.- Plenum Press New-York, Vol. 85 p. 181 (1985)
- 39- T.J. SIEK
J. Forensic Sci. 19 (2), 193 (1974)
- 40- J. PAWLACZYK et W. TUROWSKA
Acta Polon. Pharm. 33(4), 507 (1976)
- 41- R.B. CUNDALL et A. GILBERT
"Photochemistry"- Ed. NELSON Great Britain p. 70 (1970)
- 42- T.G. TRUSCOTT
Photobiochem. Photobiophys. Suppl. ,109 (1987)
- 43- J.C. BEANI, R. GAUTRON et P. AMBLARD
Les Nouvelles Dermatologiques 5, Suppl. 3, 192 (1986)
- 44- A.G. MOTTEN et C.F. CHIGNELL
Photochem. Photobiol.37 (1), 17 (1983)
- 45- J. MARKO, G. VERMEERSCH, N. FEBVAY-GAROT et A. LABLACHE- COMBIER
Bull. Soc. Pharm. Lille 40, 19-43 (1984)
- 46- J. MARKO, G. VERMEERSCH, N. FEBVAY-GAROT et A. LABLACHE-COMBIER
Photochem. Photobiol. 42, 213 (1985)
- 47- a) D. LE NOUEN
Thèse de Doctorat, Lille (1988)
b) D. LE NOUEN, J. MARKO, G. VERMEERSCH, N. FEBVAY-GAROT, A. LABLACHE-
COMBIER, M. PERREE-FAUVET et A. GAUDEMER
Photochem. Photobiol. 49 (1), 1(1989)

48- a) A. FILALI

Thèse de Doctorat, Lille (1987)

b) G. VERMEERSCH, A. FILALI, J. MARKO, J.P. CATTEAU et A. COUTURE

J. Photochem. Photobiol. B : Biology, 4, 85 (1989)

CHAPITRE III

ETUDE PHOTO-C.I.D.N.P. DES SULFAMIDES

Afin d'expliquer l'activité photobiologique indésirable des sulfamides, divers travaux^{1,2,3} relatifs au comportement photochimique de ce type de médicaments ont été entrepris, tout particulièrement sur la molécule la plus photosensibilisante de la série : le sulfanilamide⁴.

Nous rappellerons tout d'abord les principales conclusions dans ce domaine, puis nous exposerons nos résultats, en précisant l'apport de la photo-C.I.D.N.P. dans l'approche du comportement photochimique de solutions aqueuses de sulfamides, seuls ou en présence de divers substrats biologiques.

I- PHOTOCHEMIE DES SULFAMIDES

1- Principaux résultats en photochimie

Bien que le sulfanilamide et le sulfacétamide soient connus depuis longtemps comme photosensibilisateurs⁵, il n'y a que peu d'information sur leur photochimie. Les premières observations relatives à la stabilité photochimique des sulfamides ont été faites en 1940⁶ : des solutions aqueuses de divers sulfamides stockées à la lumière^{7a,b} ⁸ en présence d'oxygène de l'air, développent une intense coloration qui est attribuée à un phénomène d'oxydation.

OTTENBERG et FOX⁹ en 1938 ont rapporté que l'irradiation U.V. de solutions aqueuses de sulfanilamide affectait le groupe aminé du noyau aromatique, comme le montre la diminution de la réaction de diazotation du produit.

D'autres chercheurs (TOMSKI¹⁰, ROSENTHAL et BAUER¹¹, LEVITAN¹², PAWLACZYK et TUROWSKA¹³) ont mis en évidence que les solutions aqueuses de sulfanilamide soumises à l'irradiation U.V. devenaient couleur marron avec apparition d'un précipité brun. ROSENTHAL et BAUER¹¹ ont pu identifier à la fois

de l'ammoniaque et du sulfate d'ammonium dans le "surnageant" de solutions de sulfanilamide irradiées.

SHINN et al.¹⁴ ont suggéré la formation d'hydroxy-4 aminobenzène sulfonamide; ils n'ont toutefois pas réellement isolé et identifié ce photoproduit.

D'autre part, PAWLACZYK et TUROWSKA¹⁵ ont constaté, au cours de l'irradiation de sulfanilamide avec une lampe à mercure basse pression, la formation de 19 produits de décomposition, l'évolution de la photolyse étant suivie par chromatographies phase gazeuse et couche mince. Parmi ces photoproduits, ils ont identifié^{16, 17} (cf. schéma 1) l'aniline (1), la benzidine (2), l'acide sulfanilique (3), le sulfate d'ammonium (4), le disulfamoyl-4,4' azobenzène (5), l'hydroxy-4 amino benzène sulfonamide (6). En comparant les spectres U.V. et visible avant et après la réaction de photolyse de solutions aqueuses de sulfanilamide, d'aniline, d'acide sulfanilique et de benzène sulfonamide, ils ont conclu que les produits colorés formés au cours des réactions photochimiques étaient dus à la présence d'amines aromatiques.

REISCH et NIEMEYER¹⁸ en 1972 ont obtenu par irradiation U.V. durant quinze jours d'une solution éthanolique de sulfanilamide, du nitro-4 benzène sulfonamide (a), du disulfamoyl-4,4' azobenzène (b), du N-(sulfamoyl-4) phényl uréthane (c) et du méthyl-2 sulfonamide-6 quinoline (d), ces deux derniers produits étant formés par réaction avec le solvant. Les formules chimiques de ces composés sont regroupées dans le schéma 2.

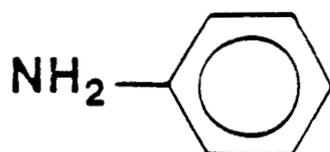
Bien que SCHWARTZ et SPECK¹⁹ aient proposé initialement que l'hydroxy-4 aminobenzène sulfonamide était l'espèce responsable dans la photoallergie induite par le sulfanilamide, des études plus récentes²⁰ ont montré que tous les patients sensibilisés ne réagissaient pas à cette molécule.

FROLOV et al.²¹ en 1985 ont montré que lorsqu'un sulfamide est irradié en présence d'un dérivé aromatique donneur d'électron (diméthoxy-1,4 benzène) et d'un réducteur (Na BH_4), un transfert d'électron a lieu entre le donneur et le sulfamide accepteur. On obtient ainsi l'amine correspondante par rupture radicalaire, même si le rendement est faible.

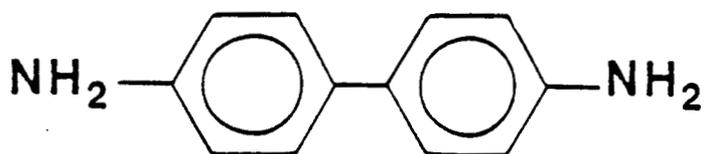
PORTELLA et al.^{22a,b} ont rapporté que des amines peuvent être régénérées en solution étherée, par photolyse du sulfamide correspondant : une rupture homolytique de la liaison $\text{SO}_2 - \text{N}$ se produit, suivie d'une capture d'hydrogène dans le milieu (schéma 3).

Le sulfanilamide peut prendre part à des réactions d'échange²³ avec des nucléophiles selon le schéma suivant :

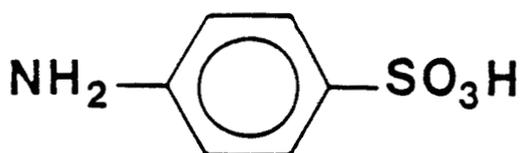
①



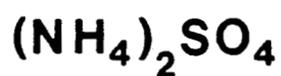
②



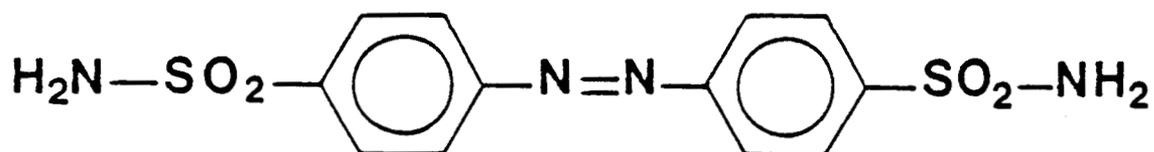
③



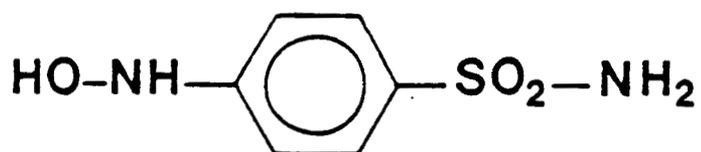
④



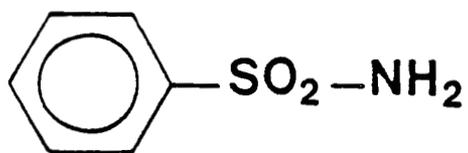
⑤



⑥



⑦



SCHEMA 1

Produits identifiés après irradiation
de solutions aqueuses de sulfanilamide

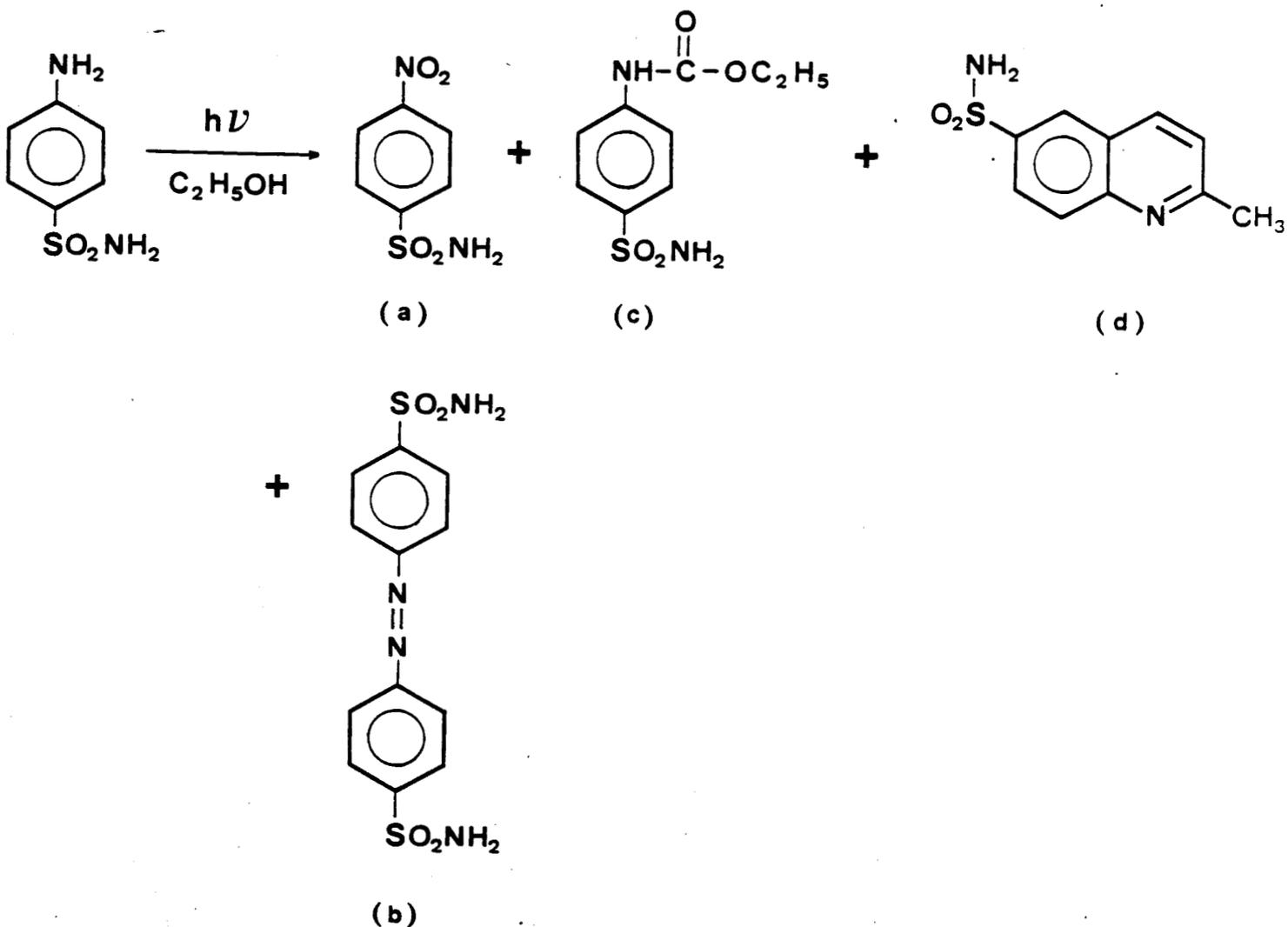


Schéma 2

Produits obtenus après irradiation de solution éthanolique de sulfanilamide.

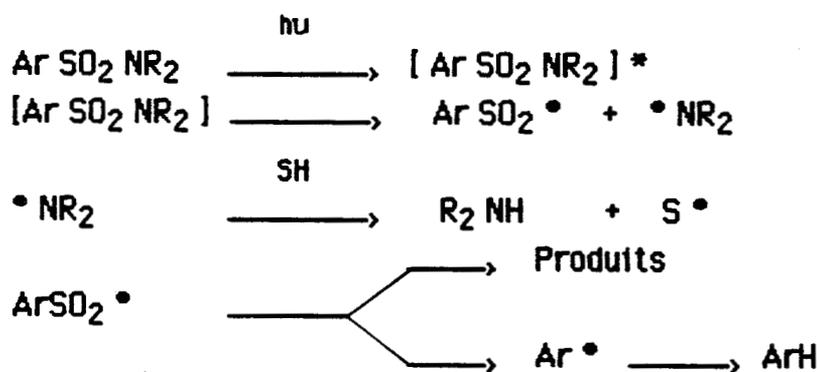
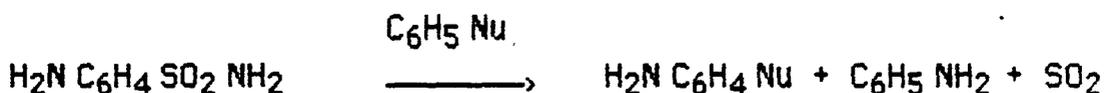


Schéma 3

Rupture homolytique de la liaison $\text{SO}_2 - \text{N}$



Nu = CN, NO₂, CH₃O

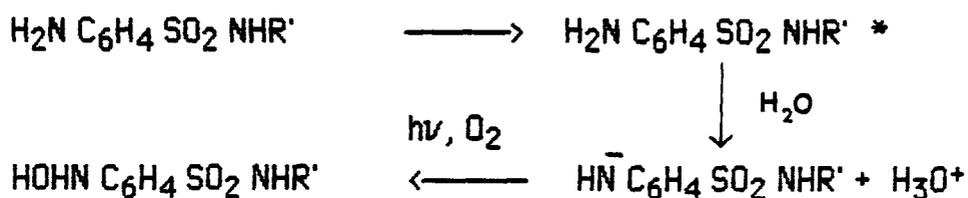
La rupture de la liaison entre le carbone du cycle aromatique et le soufre conduisant à ces deux types de produits est due à la compétition entre photoélimination de SO₂NH₂ et photosubstitution.

CLARKE²⁴ rapporte que lors de la décomposition du sulfacétamide, les photoproduits obtenus sont probablement issus des voies réactionnelles suivantes :

- (1) une hydrolyse du sulfacétamide en sulfanilamide, suivie d'une oxydation en azobenzène-4,4' disulfonamide et / ou azoxybenzène-4,4' disulfonamide.
- (2) une oxydation directe du sulfacétamide en azobenzène-4,4' di(N-acétylsulfonamide) et / ou azoxybenzène-4,4' di(N-acétylsulfonamide).
- (3) une combinaison des deux mécanismes (1) + (2).

AHMAD²⁵ a également montré que l'irradiation sous azote de solution aqueuse de sulfacétamide conduit à la formation de sulfanilamide, d'azobenzène-4,4' disulfonamide, d'acide sulfanilique, d'azoxybenzène-4,4' disulfonamide, d'un produit bleu (C₃₀H₂₅O₂N₅), des acides azo- et azoxybenzène-4,4' disulfonique. Il propose un mécanisme réactionnel dans lequel la première étape est la transformation de sulfacétamide en sulfanilamide; la dégradation de ce dernier en divers photoproduits résulte de réactions photochimiques primaires suivies de réactions secondaires. GOYAL et al.²⁶ confirme la formation de ces dérivés azo, au cours d'une étude relative à l'oxydation électrochimique du sulfacétamide.

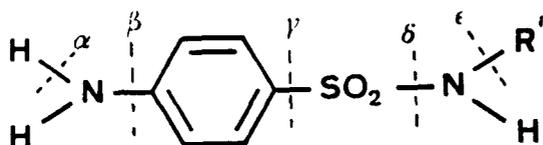
Afin d'élucider le mécanisme de photosensibilisation *in vivo*, SANNIEZ et PILPEL²⁷ ont entrepris l'étude de la photodécomposition de sulfamides, en l'occurrence le sulfanilamide et le sulfathiazole, au niveau d'une interface huile - eau, par analogie avec l'interface lipide - eau au niveau de la paroi cellulaire. La méthode consiste à déposer une couche d'hydrocarbures sur une solution aqueuse de sulfanilamide, et d'irradier le système avec une source U.V. (290-320 nm) moyenne pression. Ils ont observé que la formation de photoproduits diminuait considérablement la valeur de la tension superficielle, avec une variation de pH de 5,4 à 3,8 unités pour la solution aqueuse de sulfanilamide. Le principal produit de décomposition est le p-hydroxyaminobenzène sulfonamide.



R = H Sulfanilamide

R =  Sulfathiazole

En 1969, HARBER et BAER²⁸ ont suggéré que les intermédiaires réactionnels des réactions de photosensibilisation sont des radicaux libres, dont les réarrangements conduisent à différents produits. Grâce à cette information, des progrès ont été faits : les résultats obtenus en R.P.E. par CHIGNELL^{29a,b} 30, 31, qui utilise une technique de piégeage de radicaux³², permettent d'établir les diverses ruptures homolytiques des sulfamides irradiés en solution aqueuse. Le schéma 4 montre les différents radicaux obtenus lors de la photolyse de sulfamides.



Le type de coupure ($\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon$) dépend de la nature du groupe R, du pH de la solution, de la forme acido-basique du sulfamide en solution et de la longueur d'onde d'irradiation. On obtiendra ainsi différents radicaux centrés sur l'azote, sur le soufre et sur le carbone.

Parmi les sulfamides, le sulfanilamide ($pK_a = 10,4$) produit la plus grande variété de radicaux libres : on observe des ruptures α, β, γ et δ . Aucune technique n'a pu mettre en évidence un produit issu d'une rupture en ϵ . En règle générale, la coupure en α intervient pour un pH plus élevé et une longueur d'onde d'irradiation plus grande que pour celle en β .

Pour le sulfacétamide ($pK_a = 5,4$), la technique de piégeage des radicaux a mis en évidence des ruptures en α (formation de H^\bullet et $^\bullet\text{NH C}_6\text{H}_4 \text{SO}_2 \text{NH CO CH}_3$), β ($^\bullet\text{NH}_2$ et $^\bullet\text{C}_6\text{H}_4 \text{SO}_2 \text{NH CO CH}_3$) et δ ($\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \dot{\text{S}}\text{O}_2$ et

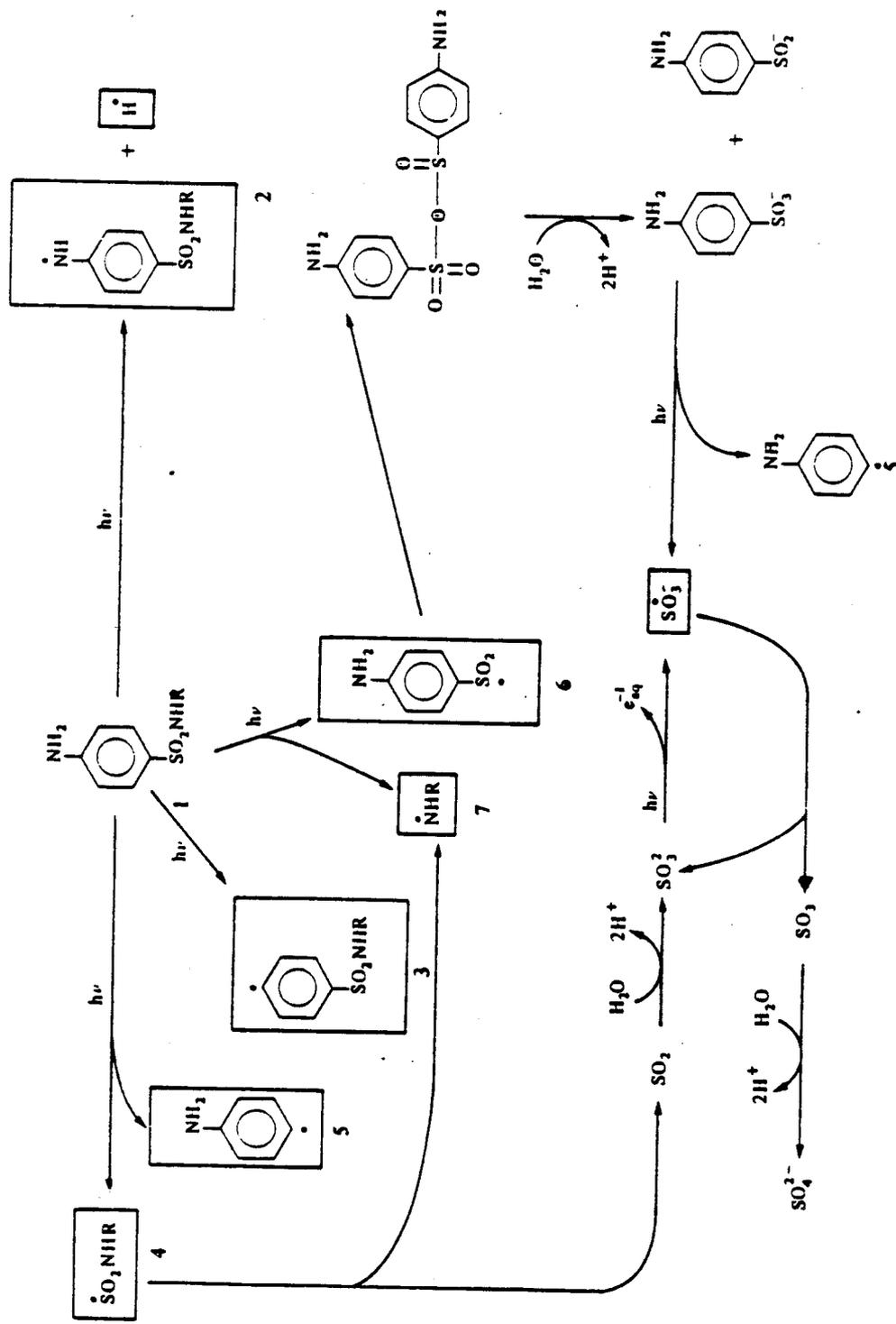


Schéma 4 : Les différents modes de rupture lors de la photolyse de sulfamides.

Les radicaux encadrés ont été piégés à partir du sulfanilamide. D'après CHIGNELL^{3,6}

• NH CO CH₃), tandis que, ni les radicaux issus d'une rupture en γ , ni le radical SO₃^{•-} n'ont été détectés. CHIGNELL et al.³⁰ en ont déduit que la présence du substituant acétyle inhibe la rupture en γ .

PAWLACZYK et TUROWSKA¹⁷ ont rapporté que l'irradiation U.V. de solutions aqueuses de sulfacétamide donnait naissance à 18 produits de décomposition. Parmi ceux-ci, le sulfanilamide, l'acide sulfanilique et le dioxyde de soufre ont été identifiés. Ces produits sont respectivement issus de coupure de la molécule initiale en ϵ , δ , γ et δ .

Ces résultats contradictoires avec ceux de CHIGNELL montrent que la rupture de la liaison SO₂ NH - R' est possible lorsque R' = CO CH₃.

Dans le cas de la sulfadiazine, seuls les produits issus d'une rupture en α sont détectés. Cependant, l'apparition d'une faible quantité du radical SO₃^{•-} implique une rupture en γ , δ ou un mécanisme dont la première étape ne fait pas intervenir une rupture homolytique en γ ou en δ . GUPTA et al.³³ ont également montré que les espèces intermédiaires qui conduisent à des produits d'oxydation auraient une structure de type acide sulfanilique. L'analyse du spectre U.V. après exposition à la lumière a mis en évidence la disparition du cycle pyrimidine de la molécule.

CHIGNELL et al.³⁰ ont remarqué que, lorsqu'un groupe attracteur d'électrons (SO₂ NH₂, COOH, NO₂) occupe une position para par rapport à un groupe amino, c'est le groupe amino qui est perdu au cours de la photolyse du sulfamide correspondant. L'effet inductif négatif de ces groupes favorise la formation du radical phényle.

Le sulfathiazole et le tolbutamide sont parmi les sulfamides les composés les moins photoréactifs. Le seul radical piégé par ces mêmes auteurs avec une solution aqueuse de sulfathiazole est SO₃^{•-} : il pourrait provenir d'un produit secondaire, issu d'une rupture homolytique en γ ou en δ . Cependant, en raison d'une forte diminution de pH au cours de l'irradiation et de la précipitation de photoproduits, la présence d'autres radicaux libres a pu être masquée.

D'après DÜRR et al.³⁴, l'irradiation de sulfathiazole dans l'éther donne de l'aniline (produit majoritaire) et de l' amino-2 thiazole à l'état de traces. Quant au tolbutamide en solution aqueuse³⁰, la rupture en δ de la molécule donne naissance au radical centré sur l'azote, bien que CH₃ C₆H₄ SO₂ n'ait pu être piégé. Le deuxième radical obtenu est H[•] qui provient d'une rupture en α au niveau du méthyle. Aucun autre produit secondaire n'a été observé. WEISS et al.³⁵ ont constaté que la rupture en γ du tolbutamide dissous dans du méthanol

ou de l'éther est possible : ils ont détecté du toluène, du diméthyl-4,4' biphényle et la n-butylurée.

Dans le méthanol en présence d'oxygène, l'irradiation du tolbutamide ne donne, ni le toluène, ni son dimère, suggérant ainsi que le mécanisme d'inhibition est de type chimique plutôt que physique. A la différence du carbutamide, aucune luminescence n'est observée pour le tolbutamide.

Les produits obtenus au cours de l'irradiation de carbutamide dépendent des conditions de l'expérience, en particulier du solvant. En effet, CHIGNELL et al.³⁰ ont piégé des radicaux issus de rupture en α , β et δ pour des solutions aqueuses de carbutamide, tandis que WEISS et al.³⁵ rapportent que l'aniline et la n-butylurée sont les produits principaux résultant de la photolyse du carbutamide dans le méthanol, et que trois photoproduits supplémentaires n'ont pas été identifiés. La n-butylurée serait formée à partir du radical $\cdot \text{NHR}'$ - rupture en δ - et l'aniline à partir du radical issu d'une rupture en γ .

Ces différences s'expliquent en considérant la nature du solvant. Les produits d'irradiation formés dans une solution alcoolique ne peuvent être raisonnablement comparés à ceux obtenus dans une solution aqueuse : les radicaux centrés sur le carbone, produits par l'irradiation du méthanol peuvent réagir avec le sulfamide de départ ou avec l'un de ses photoproduits. De plus, seule la forme neutre du carbutamide existe dans le méthanol, tandis que l'anion est présent dans l'eau dans des conditions basiques.

L'irradiation de sulfapyridine dans le méthanol conduit à la formation d'aniline, d'acide sulfanilique, d' amino-2 pyridine, et en quantité moindre, de sulfanilamide. Le tableau 1 rassemble les photoproduits obtenus lors de l'irradiation de différents sulfamides.

Peu de travaux précisent les valeurs énergétiques des états singulet ou triplet des sulfamides. Le niveau d'énergie E_S de l'état singulet de sulfamides comportant une chaîne alkyle est compris entre 73 et 103 kcal mol⁻¹. Dans le cas de la sulfapyridine, E_S est de 90,2 kcal mol⁻¹ et la valeur du rendement quantique de fluorescence est de 0,0028³⁵.

L'étude de la photochimie de différents sulfamides par DÜRR et HAAS³⁴ montre qu'un groupe amino en para du groupe sulfonyl augmente fortement la stabilité photochimique de la molécule et que les N-arylsulfonamides font intervenir un état excité singulet, tandis que pour les alkylsulfonamides - carbutamide, tolbutamide - et le sulfathiazole, l'état excité serait l'état triplet.

Sulfamide		Carbutamide	Tolbutamide	Sulfathiazole	Sulfapyridine
Produits de coupure	R = R' =	NH ₂ CO NH C ₄ H ₉	CH ₃ CO NH C ₄ H ₉	NH ₂	NH ₂
R-C ₆ H ₄ -C ₆ H ₄ -R			*		
R-C ₆ H ₅		*	*	*	*
R-C ₆ H ₄ -SO ₃ H					*
R'-NH ₂		*	*	*	*
R-C ₆ H ₄ -SO ₂ -NH ₂					*
SO ₂					*

Tableau 1

Influence sur la photolyse de la nature du substituant fixé sur le groupe sulfonamide.

2- Etude de l'interaction protéine-sulfanilamide

a- Identification de l'interaction protéine-sulfanilamide

Bien que les radicaux libres soient les agents alkylants potentiels des acides nucléiques et des protéines³⁶, leurs relations avec la photosensibilisation restent obscures. Cependant, les radicaux libres peuvent induire une peroxydation lipidique³⁷ et les radicaux sulfonés aromatiques sont connus pour s'additionner aux oléfines³⁸, formant ainsi des radicaux centrés sur le carbone.

GILBERT et MARRIOT³⁹ rapportent que le radical cation ammonium $\text{NH}_4^{\bullet+}$ réagit rapidement avec les thiols pour donner différents produits d'oxydation et que la formation de SO_2 serait impliquée dans le processus de phototoxicité - comme l'ont suggéré WEISS³⁵ et indépendamment LJUNGGREN et MÖLLER⁴⁰. MURPHY⁴¹ a montré que le sulfanilamide inactivait le virus de la mosaïque du tabac en présence de lumière, suggérant ainsi que le dommage créé sur les acides nucléiques peut jouer un rôle dans la phototoxicité du médicament.

Quant à la réponse photoallergique du sulfanilamide, elle résulte de façon probable d'une liaison covalente entre une protéine et les radicaux photoinduits.

SINHA et al.⁴² ont constaté que le sulfanilamide se liait à des macromolécules cellulaires, sous irradiation U.V. En particulier, la liaison photoinduite entre le sulfanilamide et les acides nucléiques (ADN et ARN) résulte d'une rupture et d'un pontage de l'acide, en milieu anaérobie. Le sulfanilamide est ainsi lié à l'acide nucléique de façon irréversible, par une liaison covalente. De la même manière, l'irradiation de sulfanilamide et d'albumine de sérum humain induit une liaison covalente entre le médicament et la protéine, avec une augmentation simultanée du pontage de la protéine.

Grâce à la comparaison des spectres de fluorescence des molécules avant et après irradiation, BEC et al.⁴³ ont mis en évidence la modification de l'albumine de sérum de boeuf, lorsque celle-ci est irradiée en présence de sulfanilamide. Ils ont, en outre, identifié au niveau de la protéine, le site actif responsable de la liaison : il s'agit du résidu cystéine qui en présence du sulfanilamide ou un de ses photoproduits donne naissance à un photoproduit. La quantité de médicament liée à la molécule d'albumine détermine l'importance de cette liaison.

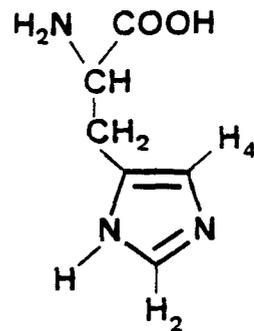
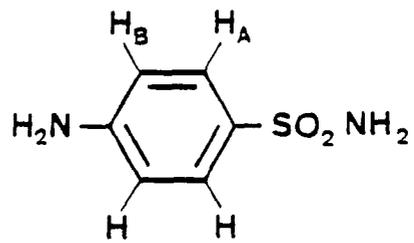
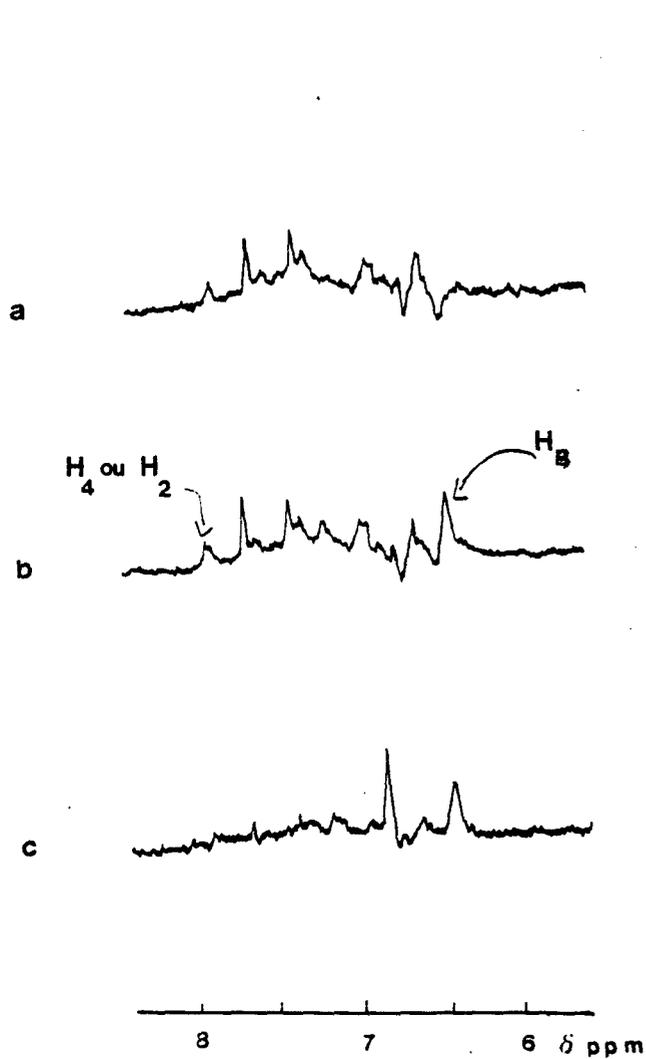
b- Etude C.I.D.N.P. de l'interaction protéine-sulfanilamide

Les résultats obtenus par KAPTEIN et WYETH⁴⁴ en 1980 montrent que la photo-C.I.D.N.P. permet d'obtenir des informations relatives au site de liaison entre une protéine et son ligand. En effet, la photo-C.I.D.N.P. a été utilisé avec succès dans l'étude de nombreux systèmes biologiques, mais son application vis-à-vis des interactions protéine-ligand n'avait auparavant jamais été réalisée.

Ce genre d'étude a été menée avec le sulfanilamide et une enzyme : l'anhydrase carbonique humaine B. La comparaison entre le spectre de photo-C.I.D.N.P. de la protéine seule et celui obtenu en présence d'un ligand permet d'identifier les sites de liaison de celle-ci. Le résidu concerné ne sera alors plus polarisé dans le second spectre, ou moins intensément selon son degré de participation à l'interaction.

L'expérience est représentée sur la figure 1. Les protons en ortho du NH_2 (H_B) du sulfanilamide sont polarisés (A) à 6,81 ppm. Si la solution irradiée contient un mélange équimolaire enzyme / sulfanilamide, apparaît un nouveau signal à 6,41 ppm (A) qui est attribué aux protons H_B du sulfanilamide lié à l'enzyme. Cette polarisation est due en partie à la liaison entre le sulfanilamide prépolarisé non lié avec l'anhydrase carbonique, au cours d'un équilibre d'échange lent. Cette expérience montre aussi qu'un résidu histidine est impliqué dans la liaison photoinduite : le signal en absorption à 7,86 ppm est attribué au proton H_2 ou H_4 de l'histidine et la liaison du sulfanilamide avec l'histidine explique la différence de déplacement chimique entre le ligand libre et le ligand engagé dans la liaison.

L'intérêt de ces études est limité par la diversité des photoproduits obtenus et dans de nombreux cas, leur identification se révèle délicate. Toutefois, ces résultats nous permettent d'envisager l'utilisation de la technique de photo-C.I.D.N.P. dans l'étude *in vitro* de photoréactions de sulfamides. Cette technique peut permettre d'une part, d'obtenir une meilleure compréhension des processus radicalaires - mécanisme de type I - de la photoréaction, d'autre part, d'identifier les photoproduits éventuellement responsables du mécanisme de la photosensibilisation. Ce dernier point est très important, car à l'heure actuelle, on ne sait qui de la molécule mère ou de ses photoproduits est impliqué dans la photoallergie et dans la phototoxicité.



histidine

Figure 1 : Modification du spectre C.I.D.M.P. de l'anhydrase carbonique humaine B (HCA) en fonction de la quantité de sulfanilamide.

a- HCA seule

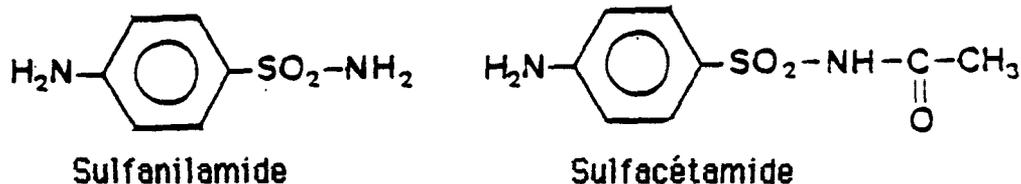
b- HCA en présence de 1,3 mM, c- de 2,5 mM de sulfanilamide.

D'après KAPTEIN.⁴⁴

Ces spectres représentent en fait la différence entre le spectre R.M.N. et le spectre enregistré sous irradiation lumineuse

II- ETUDE PHOTO-C.I.D.N.P. ^1H DU SULFANILAMIDE ET DU SULFACETAMIDE

Commercialisés en France respectivement sous les noms de Albexan, Prontosil-album⁴⁵, ... et Albucid, Antebor⁴⁶, le sulfanilamide et le sulfacétamide se présentent sous forme d'une poudre blanche sensible à la lumière.



L'étude photo-C.I.D.N.P. du proton a été menée dans différents solvants : l'eau deutérée et des solvants organiques deutérés comme le méthanol ou l'acétonitrile. Dans la mesure du possible, nous avons réalisé les expériences dans l'eau, afin de mieux corrélérer les résultats aux faits observés *in vivo*.

Pour chaque molécule étudiée, les signaux font l'objet d'un tableau et un spectre C.I.D.N.P. est représenté entièrement.

Légendes des figures :

Spectre A: spectre R.M.N. enregistré avant et après irradiation.

Spectre B: spectre C.I.D.N.P. i.e. enregistré au cours d'une irradiation.

Légendes des tableaux :

δ (ppm) : glissement chimique exprimé en partie par million, par rapport au

- TMS (tétraméthylsilane) pour les solvants organiques
- TSPA-d4 (sel de sodium de l'acide triméthylsilyl-3 tétradeutéro- 2,2,3,3 propionique) pour l'eau.

Polarisations : A Absorption exaltée

AE Absorption / Emission

E Emission

EA Emission / Absorption

Multiplicité des raies : s singulet , d doublet , m multiplet

t triplet , q quadruplet

Intensité des signaux : F forte , f faible

1- Le sulfanilamide

a- Etude dans D_2O

Le spectre d'une solution aqueuse de sulfanilamide ($5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) soumise à une irradiation lumineuse montre des polarisations sur le produit de départ. De

plus, on observe des raies supplémentaires qui appartiennent à un ou plusieurs composés formés au cours de la photoréaction. Le tableau 2 regroupe ces résultats et la figure 2 montre le spectre C.I.D.N.P. du sulfanilamide.

Si l'irradiation n'est pas trop longue (< 3 min), le spectre obtenu après extinction de la source lumineuse est identique au spectre de départ. Dans le cas contraire, on constate une consommation du produit, sans toutefois déceler des photoproduits accumulés en fin de réaction.

Les produits polarisés sont au nombre de deux : l'aniline para-deutérée et le dimère de l'aniline, la benzidine . Cette dernière présente des polarisations sur les deux types de protons H_A (E) et H_B (A) dont les déplacements chimiques respectifs se situent à 7,50 ppm et à 6,95 ppm. Ces photoproduits sont caractérisés, par comparaison avec les spectres R.M.N. d'échantillons authentiques enregistrés dans les mêmes conditions. Dans le cas de la p-deutéro aniline, l'attribution des signaux des protons H_A a été faite par comparaison avec l'aniline. Nous avons également observé une coloration (jaune) de la solution, au cours de l'irradiation : cet effet persiste après l'irradiation.

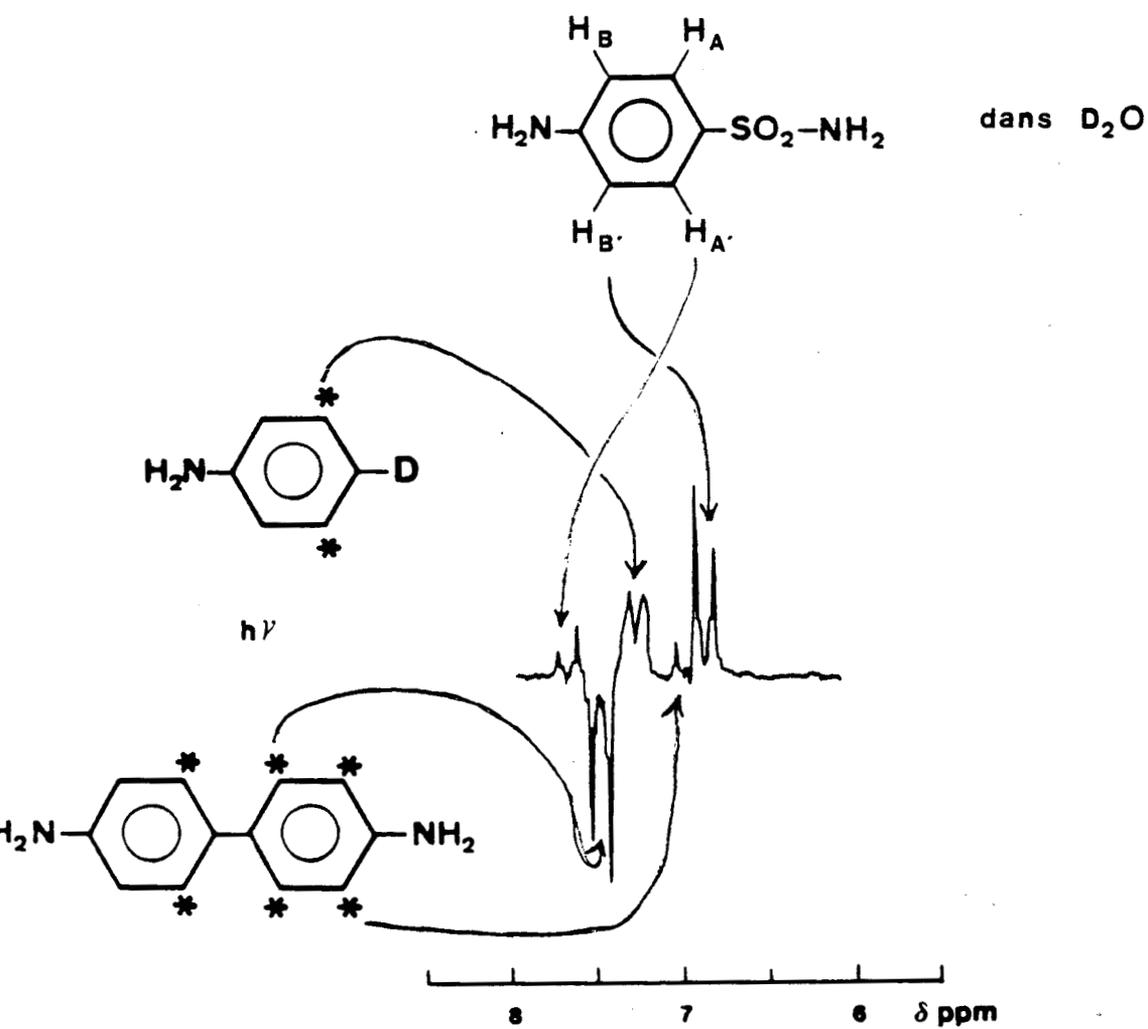
b- Influence du pH et de la concentration

Le comportement photochimique du sulfanilamide dans l'eau a été étudié en fonction du pH de la solution. Le spectre C.I.D.N.P. d'une solution aqueuse de sulfanilamide ($pK_a = 10,4$) de pH = 3 est identique à celui obtenu avec une solution de pH = 11. Ces solutions sont respectivement obtenues par adjonction de DCl et de NaOD dans le milieu. Le pH n'a d'influence, ni sur l'intensité, ni sur la nature des polarisations.

Lorsque la concentration en sulfanilamide augmente (au delà de 10^{-2} M), les effets de C.I.D.N.P. diminuent sensiblement.

c- Etude dans les solvants organiques : méthanol et acétonitrile

Les polarisations observées lorsqu'on utilise de l'acétonitrile ou du méthanol sont de même nature que celles obtenues dans l'eau. Toutefois, avec le méthanol, les polarisations sont de plus forte intensité et lorsque la concentration augmente, l'intensité des signaux diminue.



avant irradiation

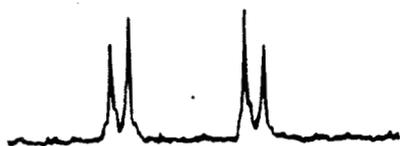


Figure 2 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. du sulfanilamide en solution aqueuse.

Produits	Protons	δ (ppm)	Multiplicité	Polarisation
SULFANILAMIDE	H _A	7,65	d	E
	H _B	6,85	d	E (f)
BENZIDINE	H _A	7,45	d	E
	H _B	6,95	d	A
ANILINE p-DEUTEREE	H _A	7,25	m	A

Tableau 2: Polarisations observées au cours de l'irradiation du sulfanilamide dans D₂O.

Produits	Protons	δ (ppm)	Multiplicité	Polarisation
SULFANILAMIDE	H _A	7,65	d	E
SULFANILYLE TRICHLORO METHANE	H _A	7,90	d	A
	H _B	7,12	d	E
?		6,92	d	E

Tableau 3: Polarisations observées au cours de l'irradiation du sulfanilamide dans CD₃CN en présence de CCl₄.

d- Piégeage des radicaux par le tétrachlorure de carbone

Le tétrachlorure de carbone est fréquemment utilisé en photo-C.I.D.N.P. pour piéger des radicaux formés en solution^{47,48}, ce qui permet de les identifier et de préciser le mode de formation des produits auxquels ils donnent naissance.

La figure 3 montre les spectres R.M.N. ^1H obtenus avant et pendant irradiation d'une solution de sulfanilamide dans CD_3CN en présence de CCl_4 . Le sulfanilamide est en partie polarisé ($\text{H}_A - \text{E}$) et trois nouveaux doublets apparaissent (cf. tableau 3). Deux de ces doublets - $\delta = 7,90$ et $\delta = 7,12$ ppm - sont attribués au sulfanilyltrichlorométhane, grâce à des calculs d'incrémentations et des expériences de double irradiation. En effet, la littérature donne 7,90 ppm comme déplacement chimique des protons H_A du chlorure de tosylé^{49a} (solvant : CDCl_3) et 7,73 ppm pour ceux du fluorure de sulfanilyle^{49b}. Si l'on applique une radiofréquence de découplage correspondant à la fréquence de résonance du doublet à 7,12 ppm ($\nu = 570$ Hz) durant l'enregistrement du spectre de C.I.D.N.P., la modification du spectre provient du doublet à 7,90 ppm, qui apparaît alors sous forme d'un singulet en absorption exaltée. Le phénomène est aussi net, lorsque la fréquence de découplage concerne la fréquence de résonance du proton H_A . Ceci indique que ces deux signaux sont couplés et appartiennent donc à un seul et même composé.

Le deuxième produit formé, représenté par le doublet en émission à $\delta = 6,92$ ppm n'est pas identifié. Toutefois, on peut affirmer que ce n'est pas de la p-chloroaniline - comme on aurait pu s'y attendre - , par comparaison avec le spectre R.M.N. d'un échantillon authentique ($\delta (\text{H}_A) = 7,05$ ppm ; $\delta (\text{H}_B) = 6,59$ ppm). La formation de p-chlorobenzènesulfonamide est également exclue, puisque l'adjonction de celui-ci dans le milieu n'a pas entraîné une superposition de ses signaux ($\delta (\text{H}_A) = 7,85$ ppm ; $\delta (\text{H}_B) = 7,54$ ppm) avec le doublet à 6,92 ppm.

e- Piégeage des radicaux par d'autres halogénométhanés

Une expérience d'irradiation du sulfanilamide dans CD_3CN en présence de CCl_3Br a été envisagée, afin de faire la différence entre les produits substitués par le chlore et ceux substitués par le brome.

Le spectre C.I.D.N.P. est rigoureusement identique à celui obtenu dans l'acétonitrile avec CCl_4 : on observe toujours la formation de sulfanilyl-

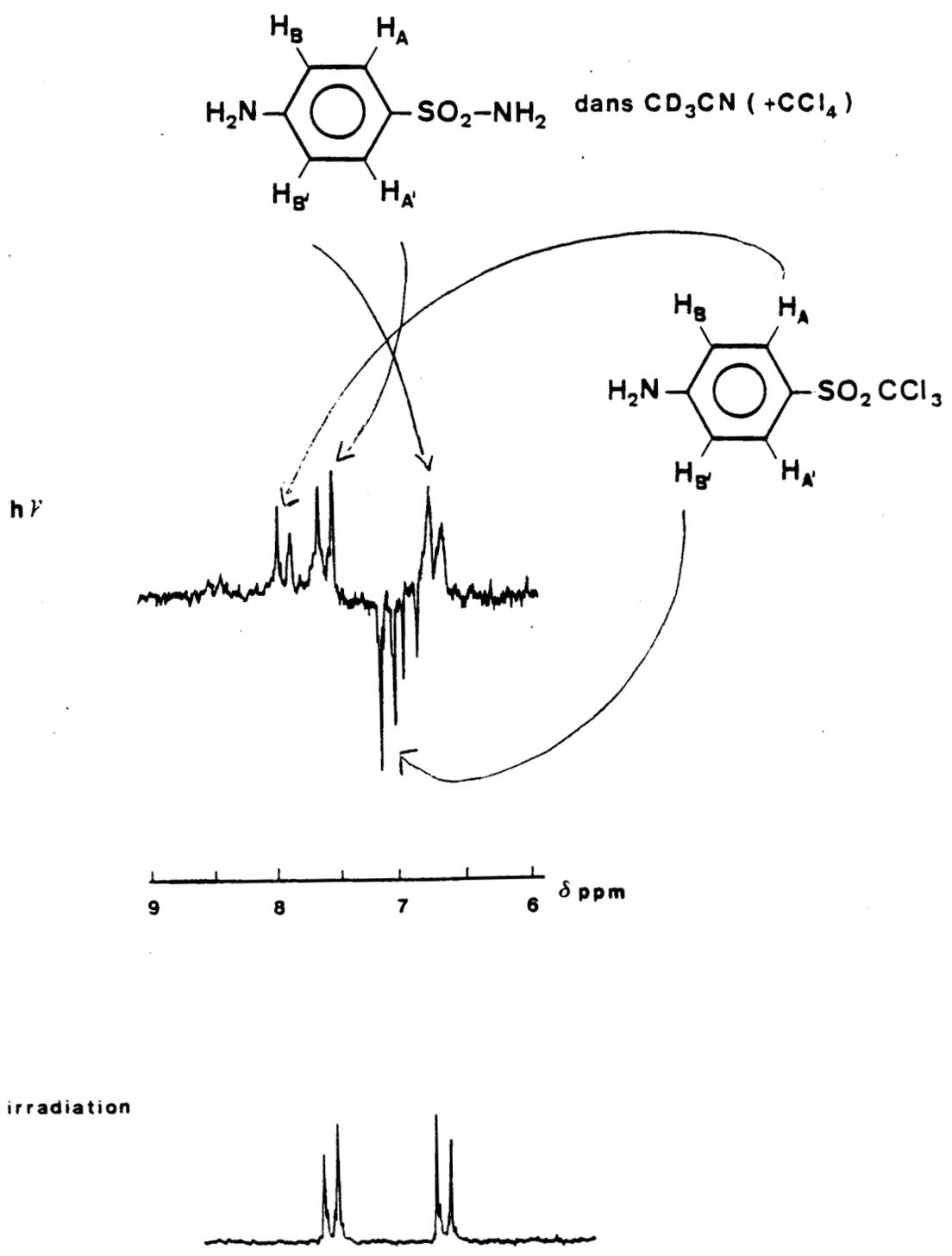


Figure 3 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. du sulfanilamide dans CD_3CN en présence de CCl_4 .

trichlorométhane et la présence du doublet à 6,92 ppm. Cette expérience confirme que les radicaux sont piégés par le radical trichlorométhyle.

2- Le sulfacétamide

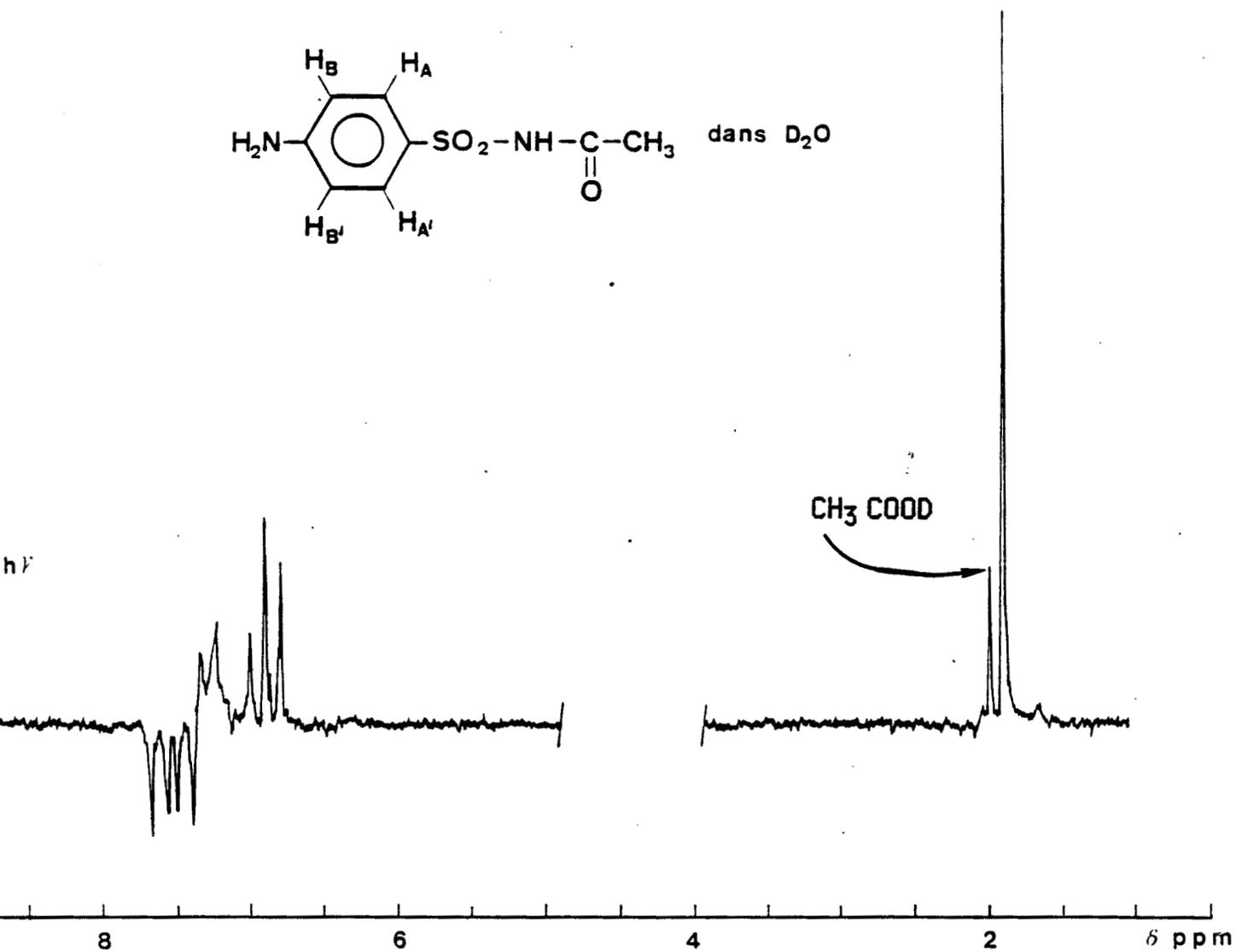
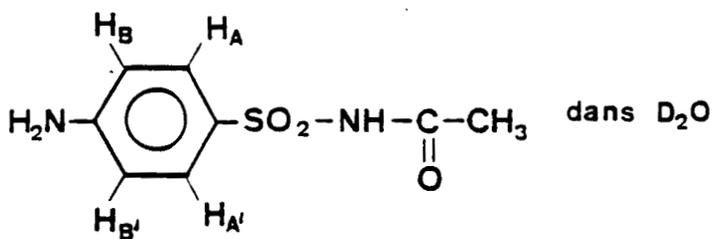
L'étude photo-C.I.D.N.P. ^1H du sulfacétamide est conduite de la même manière que celle du sulfanilamide.

a- Etude C.I.D.N.P. dans D_2O

Le spectre C.I.D.N.P. d'une solution de sulfacétamide (10^{-3} M) dans D_2O est pratiquement identique à celui obtenu avec le sulfanilamide, comme le montre la figure 4.

Les protons aromatiques du sulfacétamide sont polarisés, tandis que le méthyle porté par la fonction carbonyle ne l'est pas. Comme précédemment, les produits formés sont l'aniline p-deutérée et la benzidine. Il apparaît de plus, un signal à 2 ppm en absorption exaltée que l'on peut attribuer au groupement méthyle de l'acétamide ou de l'acide acétique. Ces différentes polarisations sont présentées dans le tableau 4. L'accumulation de ce dernier photoproduit dans la solution, après extinction de la source lumineuse, n'a toutefois pas permis son identification avec certitude : l'adjonction dans le milieu d'acétamide ou bien d'acide acétique entraîne, en raison d'une modification de pH de la solution, un léger déblindage de tous les signaux (+ 0,08 ppm), de telle sorte que la lecture du spectre de R.M.N. ne permet pas de favoriser l'un des deux photoproduits. De plus, les déplacements chimiques des signaux des protons méthyliques de l'acétamide et ceux de l'acide acétique ne présentent qu'une différence de 0,05 ppm en milieu basique.

L'influence du pH est ici considérée : les polarisations les plus intenses sont obtenues avec une solution aqueuse de sulfacétamide ($\text{pK}_a = 5,4$) de pH basique (pH = 11,5) et aucun effet n'est observé pour une solution acide (pH = 5). Si l'on utilise des solutions plus concentrées, au delà de 10^{-3} M, les effets de C.I.D.N.P. sont fortement diminués, voire nuls. Une explication peut être fournie en considérant les spectres U.V. de cette molécule en fonction du pH⁵⁰. Ainsi, en milieu basique son maximum d'absorption se situe à 256 nm, alors qu'il est de 215 nm en milieu acide. Ceci aurait pour effet de diminuer les polarisations en milieu acide.



avant irradiation



Figure 4 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. du sulfacétamide en solution aqueuse.

Produits	Protons	δ (ppm)	Multiplicité	Polarisation
SULFACETAMIDE	H _A	7,65	d	E
	CH ₃	1,91	s	?
BENZIDINE	H _A	7,45	d	E
ANILINE	H _A	7,25	m	A
ACIDE ACETIQUE	CH ₃	2,00	s	A

Tableau 4: Polarisations observées au cours de l'irradiation du sulfacétamide dans D₂O.

Produits	Protons	δ (ppm)	Multiplicité	Polarisation
SULFACETAMIDE	H _A	7,70	d	E
SULFANILYLE TRICHLORO METHANE	H _A	7,90	d	A
	H _B	7,12	d	E
CHLORURE D'ACETYLE	CH ₃	2,67	s	A
?		6,93	d	E
		8,50	q	A/E

Tableau 5: Polarisations observées au cours de l'irradiation du sulfacétamide dans CD₃CN en présence de CCl₄.

b- Etude C.I.D.N.P. dans le méthanol et l'acétonitrile

Les spectres de C.I.D.N.P. obtenus lorsque le sulfacétamide est dissous dans le méthanol ou dans l'acétonitrile montrent de faibles polarisations. L'eau reste le meilleur solvant pour acquérir des informations sur la structure des produits issus de la dégradation photochimique du sulfacétamide.

c- Piégeage des radicaux par le tétrachlorure de carbone

La figure 5 montre les polarisations obtenues lors de l'irradiation du sulfacétamide dans CD_3CN en présence de CCl_4 .

Les polarisations des protons aromatiques du sulfacétamide ne sont visibles qu'en partie (protons H_A). Quant au méthyle, son signal est masqué par les protons de l'acétonitrile.

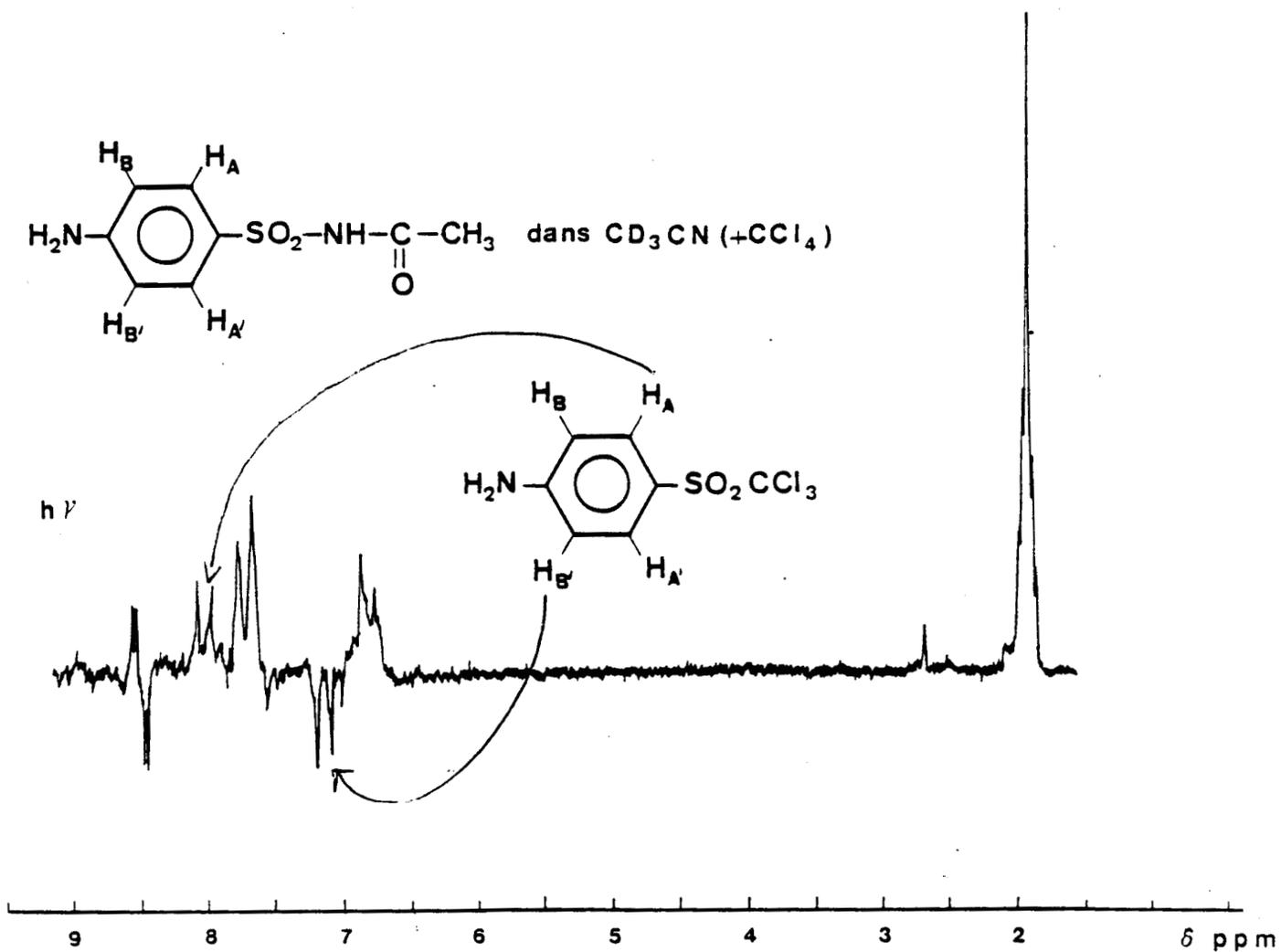
Par contre, de nouvelles polarisations apparaissent (cf. tableau 4). On y distingue les signaux du sulfanilyltrichlorométhane. Le doublet à $\delta = 2,67$ ppm correspond au chlorure d'acétamide ou au chlorure d'acétyle. Le doublet à 6,93 ppm (E) - également obtenu avec le sulfanilamide - et le quadruplet à 8,50 ppm (A/E) ne sont pas attribués : ce dernier dû à un effet de multiplet ne peut s'expliquer que par la présence d'un proton couplé à un CH_3 . Le chlorure d'acétamide serait alors responsable de cet effet. Le fait que l'on ne voit pas d'effet de multiplet sur les protons méthyliques s'explique par la faible polarisation obtenue sur ces derniers.

3- Les mécanismes réactionnels

Les polarisations observées avec le sulfanilamide et le sulfacétamide en solution aqueuse ou organique permettent d'établir un mécanisme réactionnel de type radicalaire pour la photolyse, qui fait intervenir différentes coupures de la molécule initiale. Celui-ci est proposé dans les schémas 5, 6, 7.

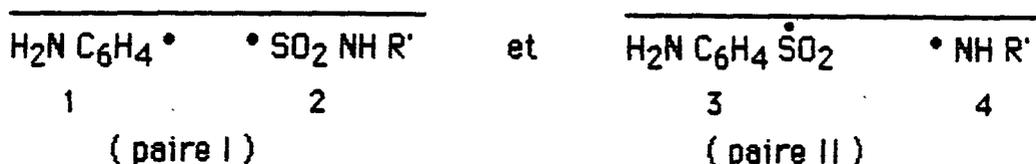
a- Le schéma réactionnel

La molécule de sulfamide (schéma 5) irradiée passe à l'état excité singulet puis par passage intersystème à l'état triplet. Elle donne alors naissance à deux paires radicalaires, l'une issue d'une coupure en γ de la molécule (paire I), l'autre issue d'une coupure en δ (paire II).

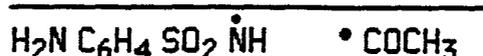


avant irradiation

Figure 5 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. du sulfacétamide dans CD_3CN en présence de CCl_4 .



Pour le sulfacétamide (schéma 6), il se forme une paire supplémentaire qui provient d'une coupure de la molécule en ϵ (paire III) :



La recombinaison au sein de la paire des deux radicaux 1 et 2 redonne le sulfamide de départ : le sulfanilamide ou le sulfacétamide. Après séparation diffusive des deux radicaux, l'aniline serait formée par arrachement de deutérium par le radical 1 à D_2O . Par contre, on n'observe pas d'effets de C.I.D.N.P. au cours de la recombinaison des radicaux 3 et 4, en raison de la durée de vie trop courte du radical $\cdot \text{NH}_2$. L'association de deux radicaux $\text{NH}_2 \text{C}_6\text{H}_4 \cdot$ conduit à la formation de benzidine mais ces deux radicaux proviennent de voies réactionnelles distinctes (paires I et II) comme le montre l'application de la règle de KAPTEIN (cf. § b). Après séparation diffusive hors de leur paire respective, les radicaux 1 et 3 forment une paire de fuite (II₁) qui par perte de SO_2 conduit à la formation d'une paire symétrique (II₂). La recombinaison des deux radicaux identiques dans cette dernière paire permet d'obtenir la benzidine.

Dans le cas du sulfacétamide, les paires responsables de la formation des photoproduits sont de même type que celles décrites pour le sulfanilamide. La paire (I) conduit à l'aniline p-deutérée et à $\text{CH}_3 \text{CO NH SO}_3\text{D}$. Seuls les protons de l'aniline sont polarisés, les protons méthyliques de $\text{CH}_3 \text{CO NH OD}$ et de $\text{CH}_3 \text{CO NH SO}_3\text{D}$ étant trop éloignés du site radicalaire pour être polarisés par cette voie. La formation de benzidine s'explique comme dans le cas du sulfanilamide et fait intervenir les paires I et II. Après la formation de la paire (II), on pourrait envisager un piégeage des radicaux $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \dot{\text{S}}\text{O}_2$ et $\cdot \text{NHCOCH}_3$ respectivement par OD et par D conduisant ainsi à l'acide sulfanilique et à l'acétamide. Or, aucun signal polarisé n'est attribué à l'acide sulfanilique, dont le déplacement chimique des protons H_A se situe à 7,80 ppm et celui des protons H_B à 7,28 ppm, pour un échantillon authentique en solution aqueuse. Cependant, AHMAD²⁵ avait observé la formation d'acide sulfanilique au cours de l'irradiation de sulfanilamide et de sulfacétamide : d'après nos résultats, il semble que la formation de ce photoproduit ne fait pas intervenir cette voie là. Ceci nous permet alors d'éliminer la voie de piégeage du radical $\cdot \text{NHCOCH}_3$ par

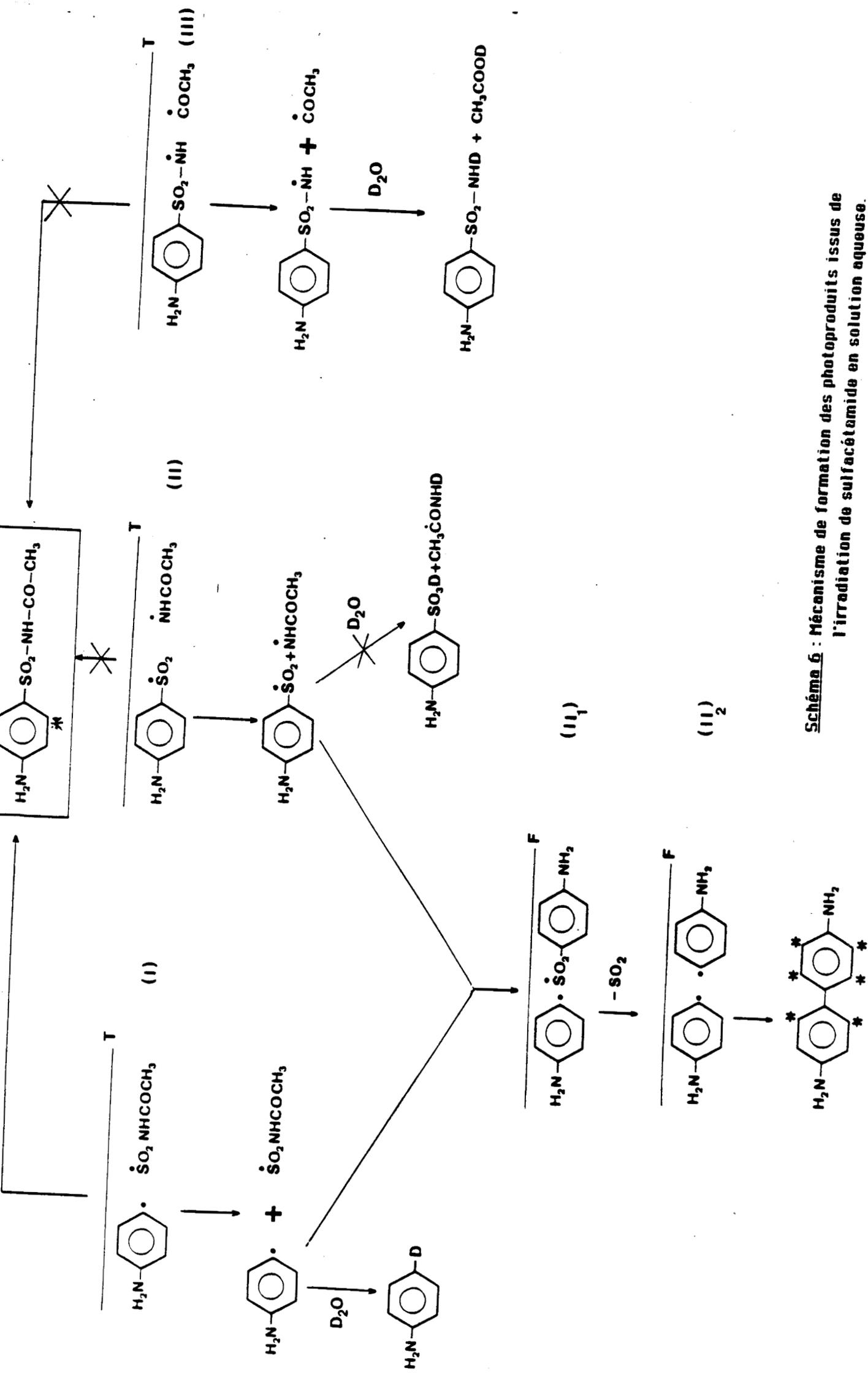


Schéma 6 : Mécanisme de formation des photoproduits issus de l'irradiation de sulfacétamide en solution aqueuse.

un deutérium, et par conséquent l'intervention du chlorure d'acétamide pour le signal à 2,67 ppm.

Enfin, la troisième paire mise en jeu conduirait après séparation des radicaux hors de la paire, par piégeage avec le solvant à l'acide acétique et, comme l'ont suggéré PAWLACZYK et TUROWSKA¹⁷ au sulfanilamide. Ce dernier ne montre aucune polarisation, vraisemblablement en raison de l'éloignement du site radicalaire par rapport aux protons aromatiques. L'acide acétique, d'après ce mécanisme est polarisé. Tout comme avec la paire II, la recombinaison des deux radicaux n'induit pas d'effet de C.I.D.N.P. sur le sulfacétamide.

Ces paires radicalaires qui se sont formées dans l'eau, sont aussi présentes dans le mélange acétonitrile / CCl_4 : ceci montre que la nature du solvant n'a pas d'influence sur le type de coupure (γ , δ , ϵ) du sulfamide au cours de l'irradiation comme le montre le schéma 7. Les radicaux issus de la paire (I) sont piégés dans l'acétonitrile, par le tétrachlorure de carbone : le radical $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \cdot$ qui conduisait précédemment à l'aniline serait piégé par $\cdot\text{CCl}_3$ et non par $\text{Cl} \cdot$, comme l'atteste l'absence de polarisations de la p-chloroaniline. Nous avons alors pensé que le doublet en émission à 6,92 ppm correspondait aux protons H_A de la trichlorométhylaniline. Cependant, la littérature donne un déplacement chimique de 7,35 ppm pour un proton situé en ortho d'un groupe CF_3 (produit : α, α, α -trifluoro-p-toluidine, solvant : CDCl_3), lequel présente pratiquement les mêmes effets électroniques que CCl_3 . En admettant qu'une différence de déplacement chimique soit imputable à la nature du solvant utilisé, celui-ci ne peut justifier de 0,45 ppm d'écart. Le tétrachlorure de carbone permet également de piéger les radicaux issus de la paire II : on obtient ainsi le sulfanilyltrichlorométhane dont les protons H_A et H_B sont polarisés, par piégeage de $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \dot{\text{S}}\text{O}_2$ par le radical trichlorométhyle, aussi bien pour le sulfanilamide que pour le sulfacétamide. Ce dernier conduit à un deuxième photoproduit issu d'un piégeage par $\cdot\text{Cl}$: le chlorure d'acétamide. Cependant, la polarisation observée à 2,67 ppm ne peut raisonnablement lui être attribuée, en raison de l'éloignement des protons méthyliques par rapport au site portant l'électron libre. La troisième paire radicalaire créée à l'état triplet, obtenue au cours de l'irradiation du sulfacétamide conduit à des produits de piégeage par CCl_4 : le radical centré sur le carbone, piégé par le chlore conduit au chlorure d'acétyle dont les protons méthyliques sont polarisés en absorption et le radical centré sur l'azote forme intermédiairement une paire avec $\cdot\text{CCl}_3$ pour conduire à $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \text{SO}_2 \text{NH CCl}_3$.

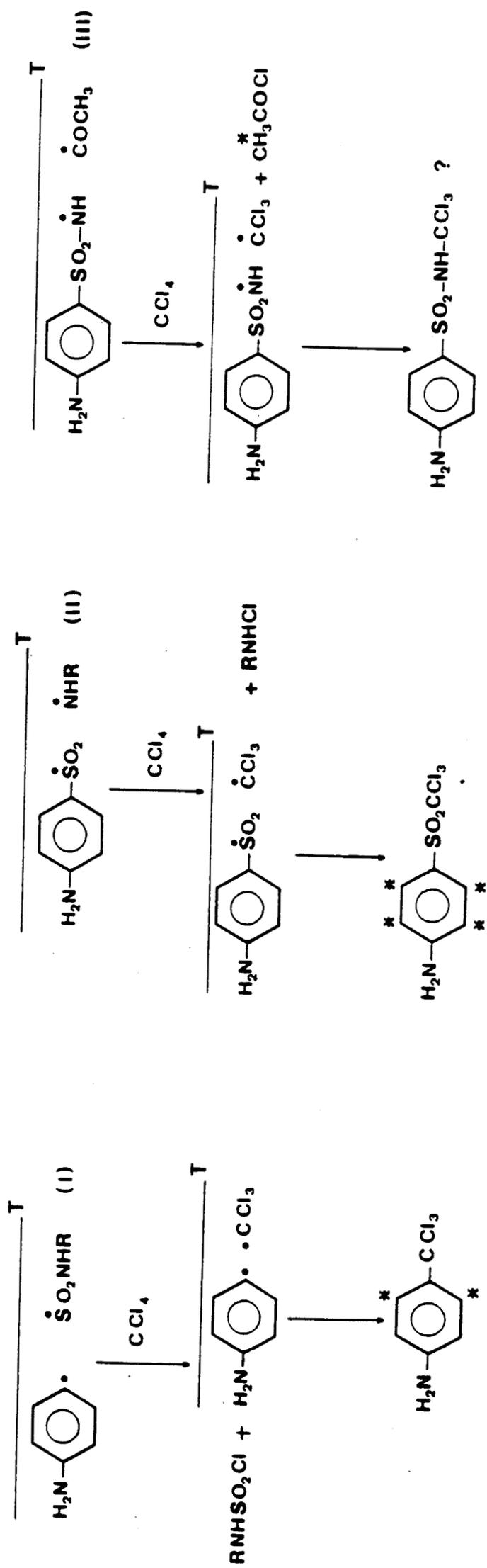
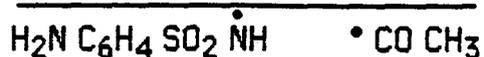


Schéma 7 : Piégeage des différentes paires radicalaires par CCl_4 dans l'acétonitrile.

L'utilisation de tétrachlorure de carbone nous permet de confirmer l'intervention de la paire



que l'on n'observe pas dans le cas du sulfanilamide, et que la formation d'aniline se fait lors d'une réaction de fuite.

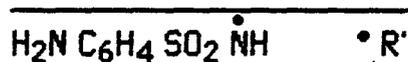
En conclusion, le sulfanilamide et son homologue acétylé, irradiés dans l'eau et dans $\text{CD}_3\text{CN} / \text{CCl}_4$ donnent naissance à deux paires radicalaires communes.

Seule,



engendre des effets de C.I.D.N.P. sur le sulfamide de départ.

Le sulfacétamide fait intervenir une troisième paire, quel que soit le solvant utilisé :



D'après ces résultats, le solvant utilisé ne modifie pas la nature de la paire créée. Par contre, on observe une coupure de la molécule entre l'azote du groupe sulfonamide et son substituant R' - comme l'ont constaté PAWLACZYK et TUROWSKA avec la transformation de sulfacétamide en sulfanilamide - , lorsque le sulfamide porte un substituant R' autre que l'hydrogène.

Nous avons donc appliqué la technique de photo-C.I.D.N.P. à différents sulfamides, afin d'étudier l'influence du substituant R' sur le mécanisme de la photolyse. Mais auparavant, nous allons établir les règles de KAPTEIN pour les photoproduits obtenus et déterminer l'état excité de la molécule mis en jeu.

b- Les règles de KAPTEIN

En appliquant la règle de KAPTEIN relative à l'effet net, on peut établir la multiplicité du précurseur à partir des polarisations expérimentales, dans la mesure où tous les autres paramètres sont connus

$$\Gamma_n = \mu \cdot \epsilon \cdot \Delta g \cdot a_H$$

μ : multiplicité du précurseur

ϵ : nature du produit (cage ou fuite)

a_H : constante de couplage hyperfin du proton considéré

Δg : différence des facteurs de LANDE des 2 radicaux de la paire

La comparaison des polarisations observées avec les polarisations calculées pour les produits de départ et les photoproduits fait l'objet du tableau 6.

(i) Pour le sulfanilamide $\Gamma_n (H_A)_{obs.} = E$
 $\Gamma_n (H_A)_{calc.} = \mu \cdot \epsilon \cdot - \cdot + \longrightarrow - \mu \cdot \epsilon = -$

La valeur de Δg est négative d'après $g (Ph \bullet) = 2,0025 \ 52$
 $g (Ph \dot{S}O_2) = 2,0044 \ 53$

La constante de couplage hyperfin a_H a été trouvée positive, aussi bien pour H_A que pour H_B (les calculs correspondants sont développés dans le paragraphe 5). D'autre part, le sulfanilamide étant un produit de cage - formé par recombinaison des 2 radicaux -, ϵ est positif. On en déduit la multiplicité du précurseur : $\mu > 0$. L'état réactif du sulfamide excité est donc l'état triplet.

(ii) L'aniline est un produit de fuite, par conséquent, $\epsilon < 0$. $\Delta g < 0$ et $a_{HA} > 0$ impliquent pour les protons H_A , $\Gamma_n = +$, ce qui est en accord avec la polarisation observée (A).

(iii) Dans le cas de la benzidine, la formation du photoproduit s'expliquerait par l'intervention d'une paire radicalaire symétrique



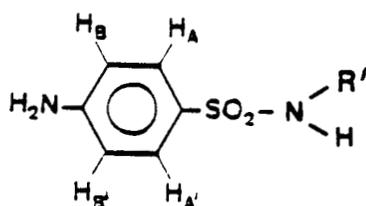
Cette paire composée de radicaux identiques confère une valeur nulle à la différence des facteurs de LANDE : on ne doit pas observer de polarisations résultant d'un effet net pour les produits dérivant de cette paire, mais celles résultant d'un effet de multiplet. Or le fait que l'on observe un effet net prédominant indique que le précurseur est une paire radicalaire dissymétrique. Les réactions proposées dans le schéma 5 permettent d'expliquer la formation de benzidine : il faut ainsi tenir compte des deux voies de coupure (γ et δ).

Ce mécanisme tient compte de l'effet de mémoire proposé par KAPTEIN (cf. Chapitre I), i.e. l'effet de Δg de la paire dissymétrique (II₁) persiste lors de la formation de la paire symétrique (II₂).

Le signal observé pour le proton H_A de la benzidine est de l'émission. Les paramètres relatifs à la paire radicalaire (2) présentent les signes et valeurs suivants : $\mu > 0$

$$g (Ph \dot{S}O_2) = 2,0044 ; g (H_2N Ph \bullet) = 2,0025 \ 52.$$

Deux cas sont alors à envisager, car la recombinaison se fait à partir de $H_2N C_6H_4 \bullet$ et de $H_2N C_6H_4 \dot{S}O_2$: les polarisations observées résultent de la somme des deux effets. Dans le premier cas, a_{HA} est positif et



			Paramètres					
Solvants	Produits	Protons	μ	ϵ	Δg	a_H	Γ_n	$\Gamma_{\text{observée}}$
D ₂ O	Sulfamide	H _A	+	+	-	+	-	E
	Aniline	H _A	+	-	-	+	+	A
	Benzidine	H _A	+	+	-	+	- *	E
			et +	+	+	-	- *	
		H _B	+	+	+	+	+	A
Acide acétique	CH ₃	+	-	-	+	+	A	
CD ₃ CN + CCl ₄	Sulfanyle trichloro méthane	H _A	+	+	-	-	+	A
		H _B	+	+	-	+	-	E
	Chlorure d'acétyle	CH ₃	+	-	-	+	+	A

Tableau 6: Comparaison des polarisations observées avec celles calculées grâce à la règle de l'effet net.

R' = H, CO CH₃

* selon le radical à partir duquel on considère la formation du dimère :

Ar $\dot{S}O_2$ ou Ar •

$g(\text{H}_2\text{N Ph}^\bullet) - g(\text{H}_2\text{N Ph SO}_2^\bullet) < 0$, par conséquent $\Gamma(\text{H}_A) = + . \epsilon . - . + = -$
 $\longrightarrow \epsilon > 0$. Dans le second, $g(\text{H}_2\text{N Ph SO}_2^\bullet) - g(\text{H}_2\text{N Ph}^\bullet)$ est > 0 et $a_{\text{H}_A} < 0$
 soit $\Gamma(\text{H}_A) = + . \epsilon . + . - = - \longrightarrow \epsilon > 0$. De ce fait, la benzidine est un produit de
 cage. Nous observons également une polarisation, plus faible sur le proton H_B
 (A) : le calcul de la polarisation donne alors $\Gamma(\text{H}_B) = + . \epsilon . + . + \longrightarrow \epsilon > 0$.

Les valeurs des constantes de couplage hyperfin des protons sont attribuées de la manière suivante :

- les protons H_A et H_B du radical $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4^\bullet$ présentent tous deux des constantes de couplage positive
 par analogie avec le radical phényle⁵⁴ : ceci est par ailleurs confirmé par des calculs INDO développés
 ultérieurement,

- celles du radical $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \text{SO}_2^\bullet$ sont déterminées comparativement à celles de $\text{C}_6\text{H}_5 \dot{\text{C}}\text{H}_2$ ⁵⁵ qui
 présentent une alternance des signes par rapport à l'atome porteur de l'électron libre : négative pour
 le carbone directement lié au soufre, positive pour les carbones en position ortho et par conséquent,
 négative pour les protons H_A et positive pour les proton H_B .

(iv) Le mécanisme proposé est en faveur de l'acide acétique plutôt que de
 l'acétamide, en ce qui concerne la polarisation à 2,00 ppm (schéma 6). C'est un
 produit de fuite. Nous avons alors : $\mu > 0, \epsilon < 0$

$$g(\bullet \text{CO CH}_3) = 2,0007 \text{ }^{56}$$

$$2,0035 < g(\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \text{SO}_2 \text{NH}^\bullet) < 2,0045 \text{ }^{57} \longrightarrow \Delta g < 0$$

$$a_{\text{H}} > 0 \text{ }^{58}$$

$$\longrightarrow \Gamma(\text{CH}_3) = + . - . - . + = +$$

L'effet observé sur le méthyle est bien de l'absorption.

(v) Dans le cas du chlorure d'acétyle formé dans l'acétonitrile en présence de
 CCl_4 , les paramètres présentent les signes suivants : $\mu > 0, \epsilon < 0, \Delta g < 0$ et
 $a_{\text{H}} > 0$ soit $\Gamma(\text{CH}_3) = + . - . - . + = +$. La prévision de la polarisation par la règle
 de l'effet net est en accord avec l'effet observé (A).

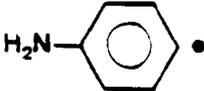
(vi) Le sulfanilyltrichlorométhane présente une caractéristique si on le
 compare à la plupart des photoproduits : les protons aromatiques H_A et H_B
 montrent tous deux une polarisation - pour le radical $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4^\bullet$, seul le proton
 H_A est polarisé -, de signe opposé et de même intensité. Ce photoproduit est un
 produit de recombinaison de la paire et $\Delta g < 0$: le facteur g de $\bullet \text{CCl}_3$ égal à
 2,0091⁵⁹ est supérieur à celui de la plupart des radicaux libres. La prévision
 des polarisations donne $\Gamma(\text{H}_A) = + . + . - . - = +$ et $\Gamma(\text{H}_B) = + . + . - . + = -$, ce qui
 est en accord avec les polarisations observées. Le fait que les effets de
 C.I.D.N.P. des protons H_A et H_B soient opposés montre bien que le radical qui a
 donné naissance au sulfanilyltrichlorométhane possède une distribution
 électronique différente de celle de $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4^\bullet$.

L'application de la première règle de KAPTEIN nous permet d'établir que
 l'état excité du sulfanilamide et du sulfacétamide, qui a donné naissance aux

différentes paires radicalaires est son état triplet. De même elle précise la nature des paires radicalaires qui donnent naissance aux photoproduits.

c- Calcul des constantes de couplage hyperfin et des densités de spin des radicaux impliqués.

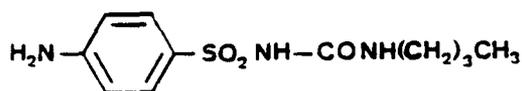
L'utilisation des règles de KAPTEIN fait intervenir pour le radical considéré un paramètre a_H , constante de couplage hyperfin du proton, qui n'était pas connu. Afin de lever cette indétermination, nous avons entrepris le calcul théorique des constantes de couplage hyperfin des différents atomes de la molécule dérivée du radical.

Ce calcul est effectué pour le radical  par la méthode I.N.D.O. développée par POPLÉ et BEVERIDGE⁶⁰. Celle-ci suppose connue la géométrie du radical : nous avons utilisé les données cristallographiques publiées sur l'aniline⁶¹, et avons transformé les coordonnées atomiques de la maille en coordonnées cartésiennes⁶². Le tableau 7 rassemble les valeurs des constantes de couplage hyperfin pour les différents atomes du radical

Ces résultats montrent que les densités de spin les plus élevées correspondent aux protons présentant un effet de C.I.D.N.P. importants (H_A). Les protons du cycle aromatique ont des constantes de couplage hyperfin de même signe : positives. Toutefois, on remarque une différence importante entre les constantes des deux types de protons : celles relatives aux protons H_B et H_B' ne représentent qu'un quart de la valeur de celles de H_A et H_A' . Par conséquent, les polarisations sur les protons H_B et H_B' seront plus faibles que celles observées pour les protons H_A et H_A' . A l'inverse des protons, les carbones du cycle présentent une alternance des signes : positif pour C_3, C_5, C_7 et négatif pour C_2, C_4, C_6 .

4- Etude photo-C.I.D.N.P. du carbutamide et du tolbutamide

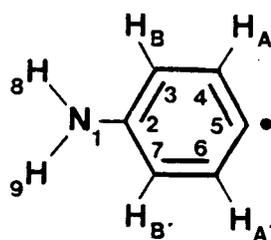
Le carbutamide, principe actif de divers médicaments - Invénol, Oranil, Alentin, ...- est un hypoglycémiant photosensibilisant⁶³. Le groupe R' porté par la fonction sulfonamide est ici un groupement butylurée :



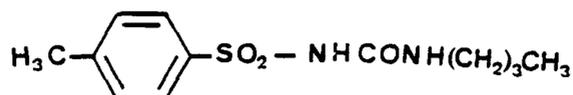
Atome	Constante de couplage hyperfin
N ₁	-0,2
C ₂	-2,5
C ₃	11,4
C ₄	-3,6
C ₅	164,1
C ₆	-3,6
C ₇	11,4
H _B	4,5
H _A	16,7
H _A '	16,7
H _B '	4,5
H ₈	-0,9
H ₉	-0,9

Tableau 7

Valeur des constantes de couplage hyperfin des protons du radical



Un autre sulfamide hypoglycémiant comporte un substituant butylurée : il s'agit du tolbutamide - commercialisé sous les noms de Rastinon, Dolipol, Diasulfon, ... - , connu pour être le moins photosensibilisant des sulfamides⁶⁴. Sa structure ne diffère du carbutamide que par le remplacement de la fonction amine par un méthyle :



L'étude photo-C.I.D.N.P. de ces deux sulfonylurées permettra d'évaluer :

- d'une part, l'influence d'une chaîne alkyle sur le mécanisme de la photolyse, par comparaison avec le sulfanilamide.
- d'autre part, le rôle de la fonction amine en para du groupe sulfonamide.

a- Le carbutamide

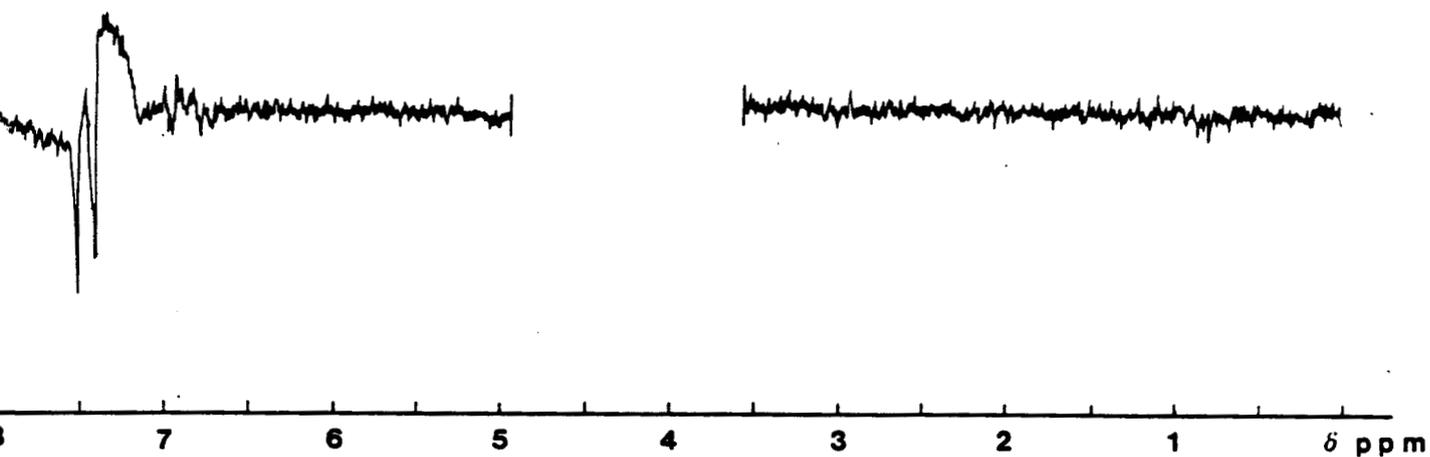
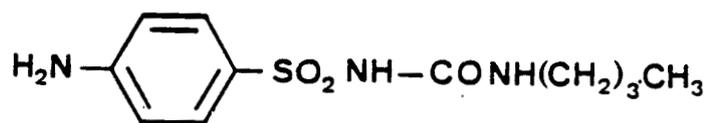
L'étude photo-C.I.D.N.P. du carbutamide en solution aqueuse montre que son comportement photochimique est identique à celui du sulfanilamide.

Seuls les protons aromatiques du carbutamide sont polarisés (E), les protons de la chaîne butyle ne montrant aucun effet de C.I.D.N.P.. Les nouveaux signaux correspondent aux produits formés au cours de la photoréaction : soit la benzidine et l'aniline (cf. tableau 8). Le spectre C.I.D.N.P. du carbutamide est représenté sur la figure 6.

Si l'on utilise de l'acétonitrile ou du méthanol deutéré, les polarisations sont faibles, bien que la solution se colore en jaune. Par contre, dans l'acétonitrile en présence de CCl_4 , le spectre C.I.D.N.P. du carbutamide (voir figure 7) est identique à celui du sulfanilamide enregistré dans les mêmes conditions : on observe, en particulier la formation d'un adduit entre le radical $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \dot{\text{S}}\text{O}_2$ et le radical $\cdot \text{CCl}_3$. Le doublet en émission à 6,93 ppm correspondrait éventuellement à la trichlorométhylaniline (cf discussion 3-b-vii). Aucune polarisation due aux protons de la chaîne aliphatique n'est détectée.

Le comportement similaire du carbutamide et du sulfanilamide nous permet d'expliquer la formation des adduits par le mécanisme proposé dans le schéma 5 : les paires radicalaires mises en jeu sont





ant irradiation

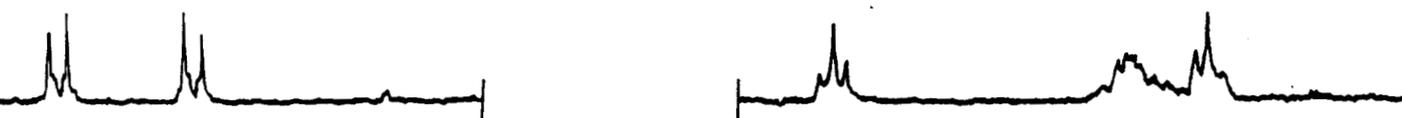
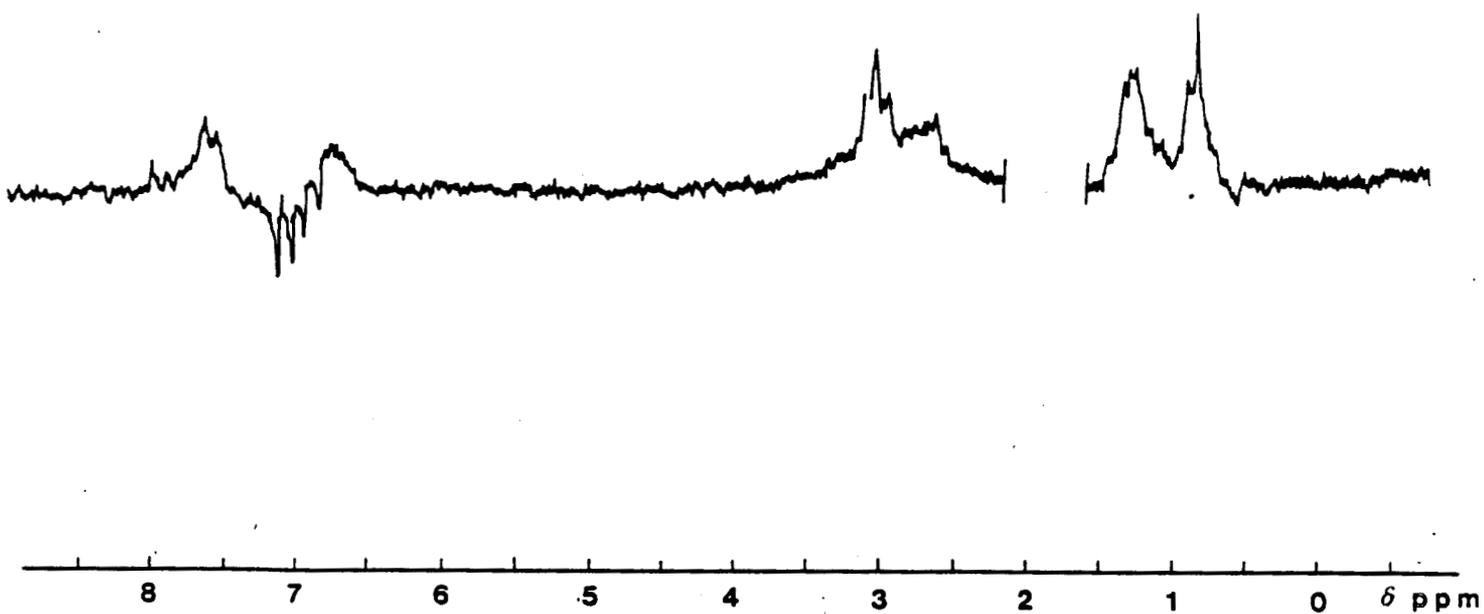
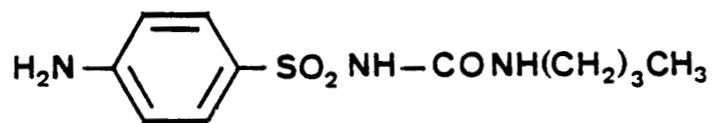


Figure 6 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. du carbutamide en solution aqueuse.

Produits	Protons	δ (ppm)	Multiplicité	Polarisation
CARBUTAMIDE	H _A	7,66	d	E
	H _B	6,85	d	E
BENZIDINE	H _A	7,45	d	E
ANILINE	H _A	7,25	m	A

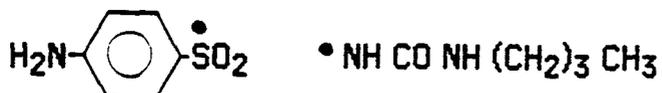
Tableau 8: Polarisations observées au cours de l'irradiation de carbutamide dans D₂O.



ant irradiation



Figure 7 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. du carbutamide dans CD₃CN en présence de CCl₄.



Elles sont formées par rupture homolytique du carbutamide dans un état excité triplet.

b- Le tolbutamide

A la différence du carbutamide, le tolbutamide ne donne aucun effet de C.I.D.N.P. sur les protons aromatiques, aussi bien en solution aqueuse que dans le méthanol et l'acétonitrile. De même, l'adjonction de tétrachlorure de carbone ne modifie pas le spectre R.M.N. d'une solution de tolbutamide dans CD_3CN .

Ce comportement traduit l'absence de radicaux intermédiaires -ils n'ont pu être piégés par CCl_4 - et explique l'importance de la fonction amine sur le cycle aromatique pour obtenir des coupures homolytiques de la molécule initiale. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par R.P.E.³⁰, qui montraient la faible photoréactivité du tolbutamide pour donner des radicaux libres, bien que WEISS et al.³⁵ aient mis en évidence la formation de toluène et de n-butylurée au cours de l'irradiation du tolbutamide dans le méthanol ou dans l'éther.

5- Conclusion

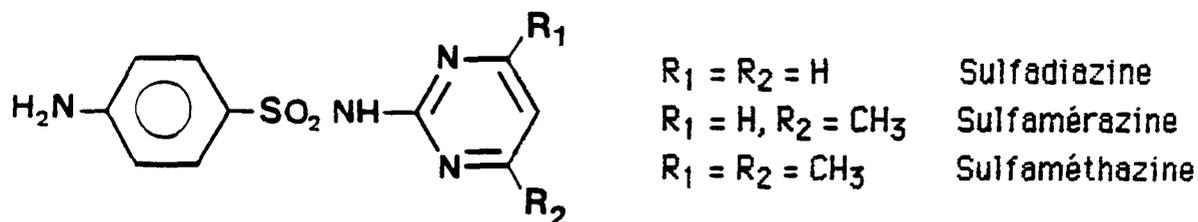
L'étude photo-C.I.D.N.P. de sulfamides à chaîne alkylée confirme le caractère radicalaire du mécanisme de la photoréaction, et met en évidence la formation de nouveaux photoproduits, résultant d'une part d'une coupure entre les groupements phényle et sulfonamide (γ), d'autre part entre le soufre et l'azote (δ) pour le sulfanilamide. Dans le cas du sulfacétamide, aux coupures précédentes s'ajoute celle entre l'azote et le substituant acétyle (ϵ).

L'étude du tolbutamide révèle également l'importance de la fonction amine en para du groupe sulfonamide, pour ce qui est de la photoréactivité d'un point de vue radicalaire de ce type de composés.

III- ETUDE PHOTO-C.I.D.N.P. DES SULFAMIDES COMPORTANT UN NOYAU PYRIMIDINE

Le substituant fixé sur le groupe sulfonamide peut être de type alkyle (H, COCH_3 , ...) ou de type aryle, comme pour la sulfadiazine et ses dérivés mono et diméthylé - la sulfamérazine et la sulfaméthazine -, qui possèdent un noyau pyrimidine.

Ces trois molécules sont des médicaments antibactériens réputés photosensibilisants⁶⁵ :



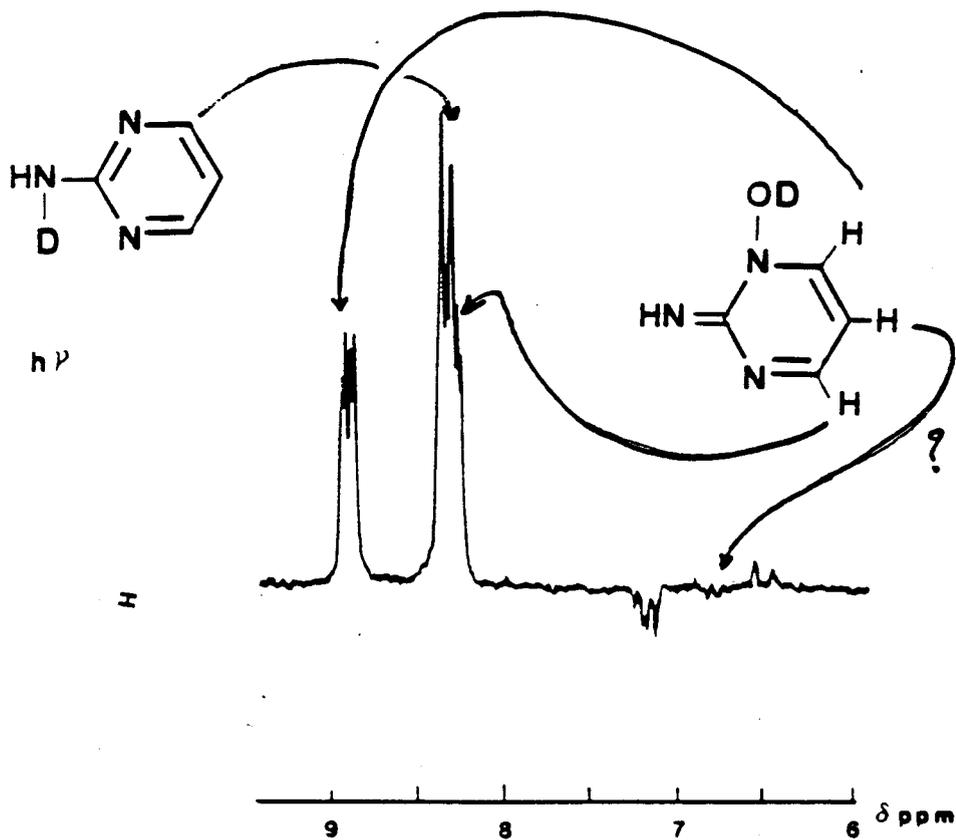
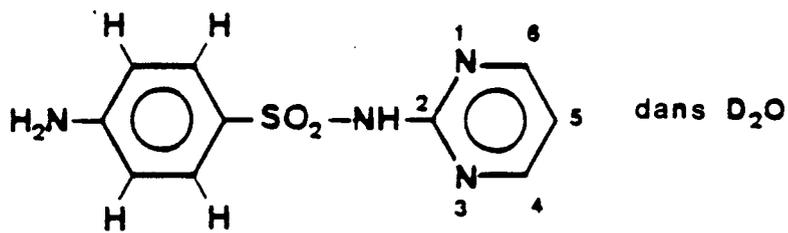
Nous avons entrepris l'étude photo-C.I.D.N.P. de la sulfadiazine et de ses dérivés dans les mêmes conditions que pour le sulfanilamide. Nous les avons irradiés dans l'eau, l'alcool, l'acétonitrile mais nous avons principalement retenu les résultats dans l'eau, afin de pouvoir comparer les mécanismes primaires de la photoréaction de chacun des dérivés, dans le solvant le plus proche des conditions biologiques.

1- Etude photo-C.I.D.N.P. de la sulfadiazine et de ses homologues

a- La sulfadiazine

Bien que peu soluble dans l'eau, la sulfadiazine soumise à une irradiation lumineuse donne un spectre C.I.D.N.P. très fourni et caractéristique (figure 8). On observe essentiellement des polarisations relatives à de nouveaux photoproduits, les signaux des protons de la sulfadiazine disparaissant au cours de l'irradiation. Les nouveaux signaux ont la particularité d'être très intenses et indépendants du pH du milieu. En effet, la nature et l'intensité des polarisations ne sont pas affectées par une modification de pH : l'expérience montre qu'un spectre C.I.D.N.P. pris à $\text{pH} = 4$ est identique à celui pour lequel $\text{pH} = 11$. Ces polarisations sont résumées dans le tableau 9.

L'influence de la valeur de l'angle de flip de l'impulsion R.M.N. a été ici considérée : les spectres de C.I.D.N.P. de la solution aqueuse de sulfadiazine enregistrés avec un angle soit de 90° , soit de 20° , ne montrent aucune



avant irradiation

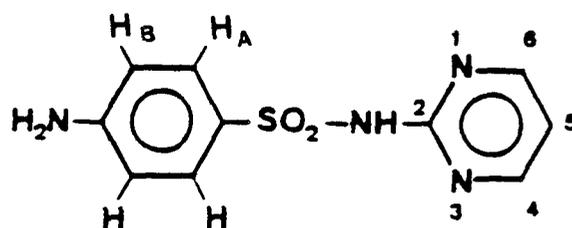


Figure 8 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. de la sulfadiazine en solution aqueuse.

Produits	Protons	δ (ppm)	Multiplicité	Polarisation
AMINO (D)-2 PYRIMIDINE (I)	H ₄ -H ₆	8,32	d	A (F)
	H ₅	6,80	m	E (f)
(II)	H ₄	8,29	m (4 raies)	A (F)
	H ₆	8,90	m (4 raies)	A (F)
?		7,14	m	E (f)
BENZIDINE	H _A	7,45	d	E (f)
?		6,47	d	A (f)

Tableau 9: Polarisations observées au cours de l'irradiation de sulfadiazine dans l'eau.

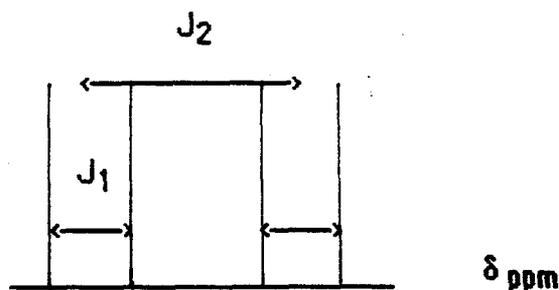
Numérotation des atomes sur le cycle pyrimidine :



modification. Ceci met en évidence que toutes les polarisations observées correspondent à des effets nets. Dans le cas de couplage spin-spin homonucléaire, ERNST et al.⁶⁶ ont montré que, si l'effet net n'est pas affecté par la valeur de l'angle de flip, l'effet de multiplet est par contre partiellement masqué pour des angles supérieurs à 26 ° et même totalement supprimé à 90 °. Ceci est particulièrement intéressant lorsqu'il existe une superposition des deux effets (net et multiplet) et s'applique à des systèmes faiblement couplés.

Les signaux sont ainsi attribués :

- l' amino-2 pyrimidine : les protons H₄-H₆ présentent des polarisations très intenses, comparées à celle du proton H₅. Son identification a été faite par comparaison avec le spectre R.M.N. d'un échantillon authentique.
- un deuxième produit (que nous n'avons pu isoler - cf. chapitre IV -) est également visible : il est constitué de deux doublets dédoublés, l'un à 8,90 ppm l'autre à 8,29 ppm - dont une raie est masquée par l' amino-2 pyrimidine -. Ces deux massifs sont caractérisés par de faibles constantes de couplage : Le premier massif par les constantes J₁ = 2,1 Hz et J₂ = 4,6 Hz, le deuxième massif par les constantes J₁ = 2,1 Hz et J₂ = 6,5 Hz. Ces valeurs sont données avec une précision de 0,1 Hz.



Des expériences de découplage ont montré que ces deux signaux étaient couplés. Par conséquent, ils appartiennent à un même produit. La multiplicité de ces signaux n'est pas due à un phénomène inhérent à la technique de photo-C.I.D.N.P. : en effet, tous les produits s'accumulent au cours de la photoréaction (voir chapitre IV) et l'on retrouve ces deux doublets dédoublés sur le spectre de R.M.N. enregistré après 20 min d'irradiation. Leurs déplacements chimiques correspondent à des protons H₄-H₆ portés par un cycle pyrimidine⁶⁷. De plus, lorsque le proton H₄ du cycle pyrimidine est substitué par un méthyle, la suppression du couplage H₄-H₆ fait que les signaux sont représentés par deux doublets : il y a donc une corrélation entre le comportement photochimique de la sulfadiazine et celui de la molécule méthylée. Ceci nous permet de conclure que le produit a une structure dissymétrique.

Il pourrait s'agir de :

- la dihydro-1,2 imino-2 hydroxy (OD)-1 pyrimidine dont la formule est représentée sur la figure 8. Ce produit est ainsi caractérisé : $\delta (H_4) = 8,29$ ppm; $\delta (H_6) = 8,90$ ppm; $J_{H_4,H_5} = 6,5$ Hz; $J_{H_5,H_6} = 4,6$ Hz; $J_{H_4,H_6} = 2,1$ Hz. Ce dernier couplage en méta s'explique par la structure dissymétrique de la molécule : le groupe OD porté par l'azote rend les protons H_4 et H_6 magnétiquement non équivalents. L'élément qui caractérise le spectre de C.I.D.N.P. de la sulfadiazine, comparé à celui de ses homologues, est la multiplicité des signaux (on observe pour chacun d'eux 4 raies) alors que le sulfamide monométhylé ne présente que deux doublets : cette étude est développée ci-après.

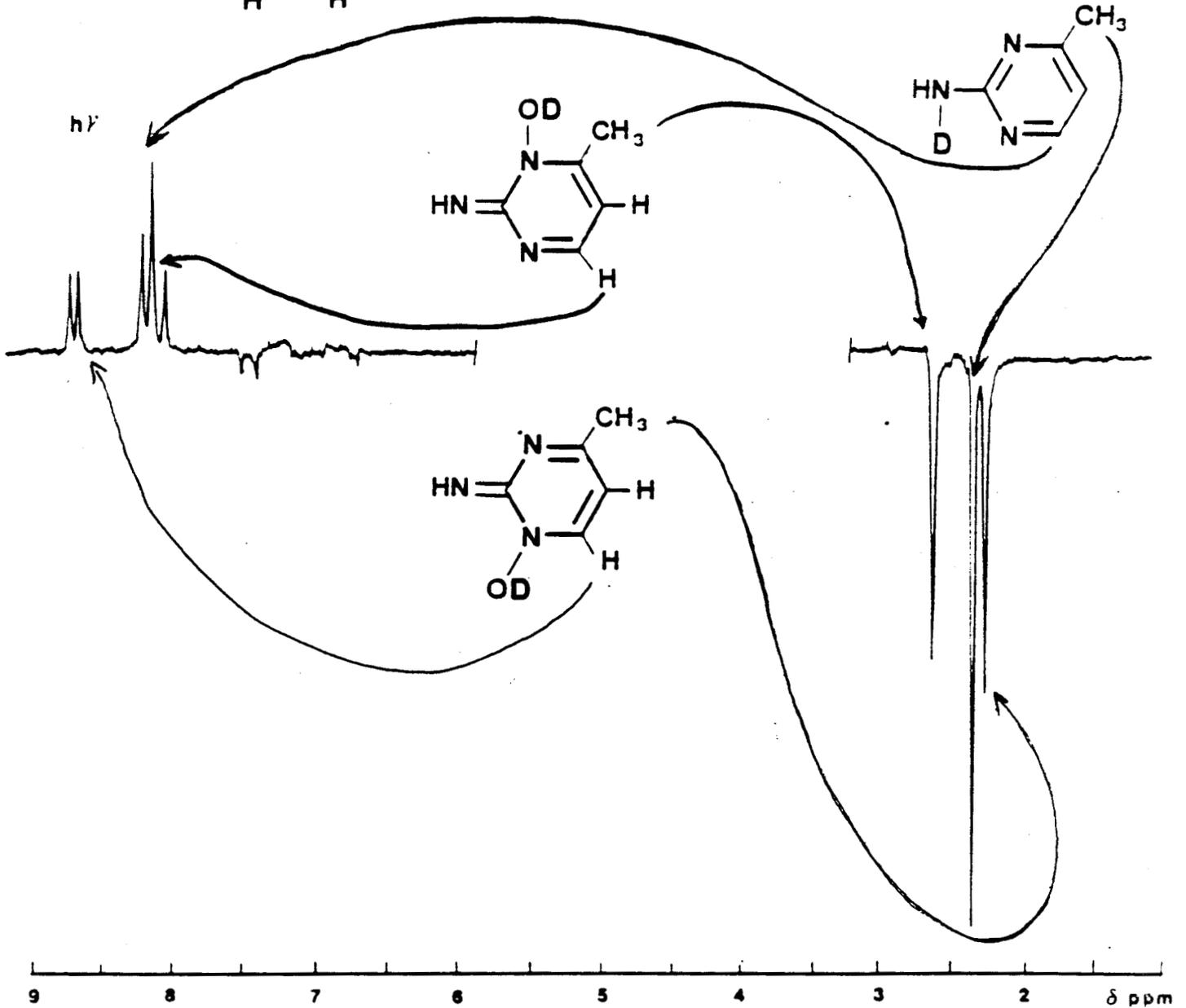
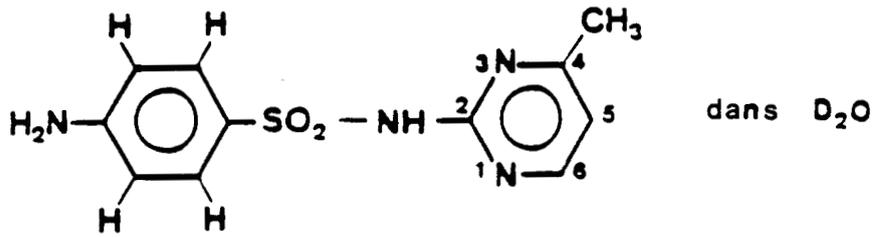
b- La sulfamérazine et la sulfaméthazine

Le spectre de C.I.D.N.P. de la sulfadiazine dans l'eau est complexe et ne comporte que des raies relatives à des protons aromatiques. L'étude de la sulfamérazine et de la sulfaméthazine, dont les protons 4 et 4 et 6 du cycle pyrimidine sont substitués par un méthyle doit donner des spectres plus simples, en raison de la suppression d'un couplage ($J_{H_4-H_6}$) dans le cas de la sulfamérazine, et de tous les couplages pour la sulfaméthazine.

Les spectres C.I.D.N.P. de solutions aqueuses de sulfamérazine et de sulfaméthazine ($5 \cdot 10^{-3}$ M) soumises à une irradiation lumineuse sont respectivement présentés sur les figures 9 et 10. Les fortes polarisations obtenues, présentées dans le tableau 10, proviennent uniquement de photoproduits et les signaux des produits de départ disparaissent.

Dans le cas de la sulfamérazine, à la différence du spectre photo-C.I.D.N.P. de la sulfadiazine, nous n'observons plus la faible constante de couplage de 2,1 Hz : les signaux se présentent en effet sous forme de deux doublets, l'un à 8,08 ppm, l'autre à 8,68 ppm. Leurs constantes de couplage respectives sont égales à 5,6 Hz et à 4,8 Hz. Les protons méthyliques présentent une émission très intense. Le fait qu'apparaissent de nouveaux signaux à 2,35 ; 2,61 et 2,25 ppm dans le cas de la sulfamérazine et 2,35; 2,54 et 2,18 ppm avec la sulfaméthazine montre que trois photoproduits méthylés se sont formés :

- l' amino (D)-2 méthyl-4 pyrimidine (I_a) et son homologue 4,6-diméthylé (I_b) dont les structures ont été déterminées par comparaison avec les spectres R.M.N. d'échantillons authentiques.



avant irradiation

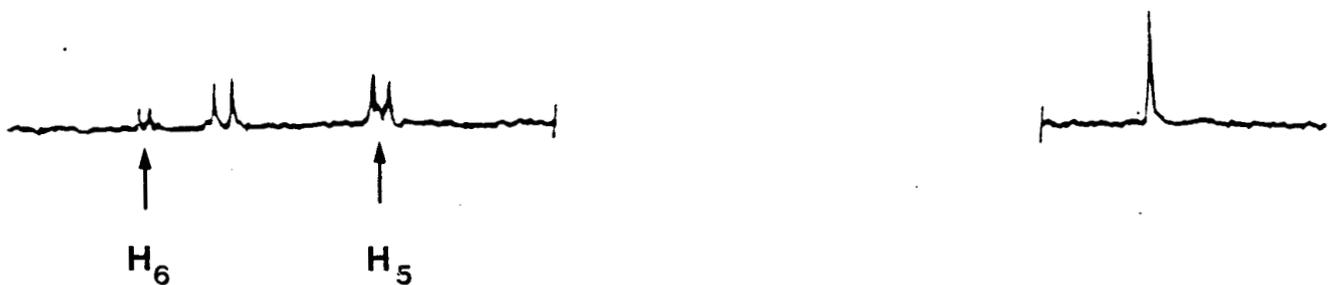
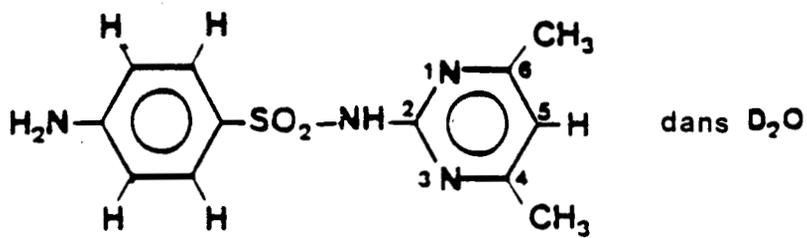
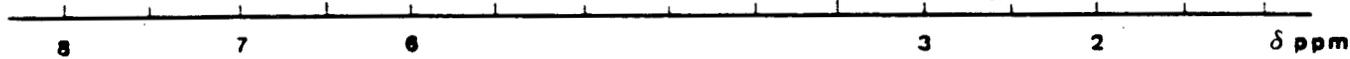
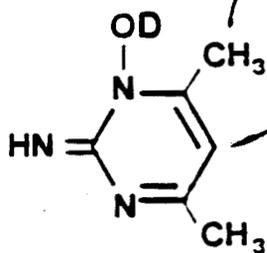
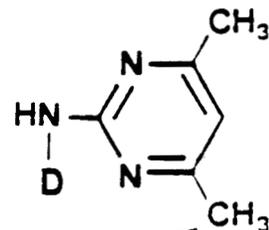


Figure 9 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. de la sulfamérazine en solution aqueuse.



hν



avant irradiation

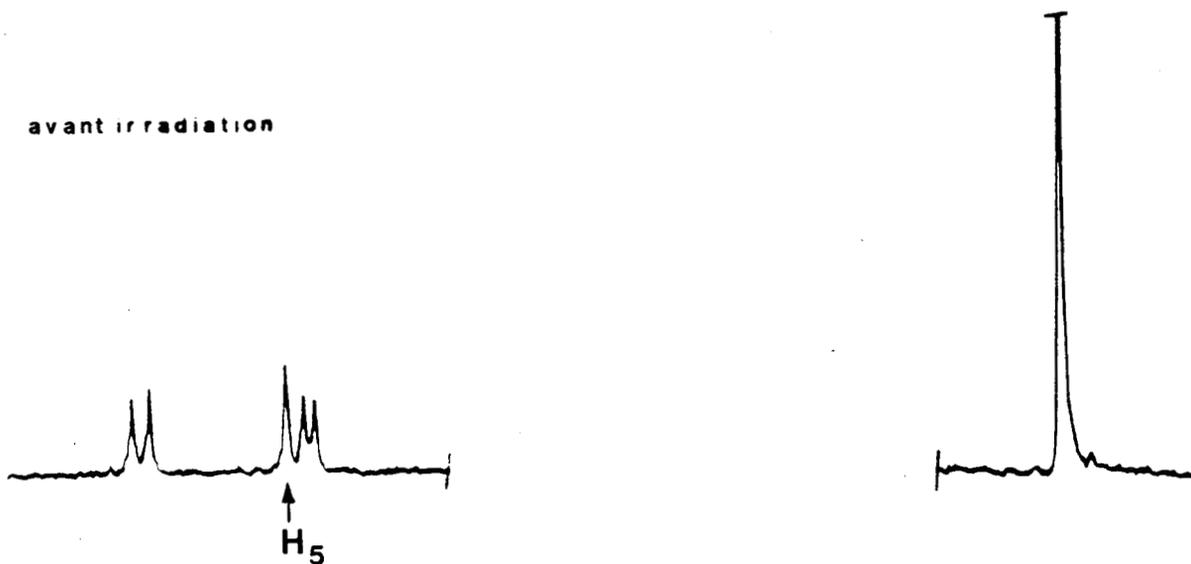
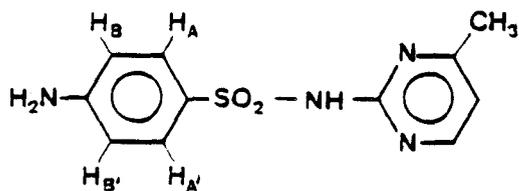


Figure 10 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. de la

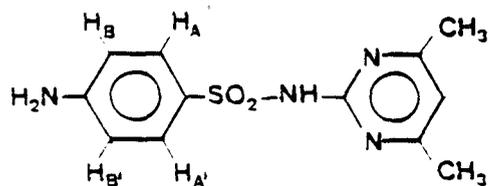
Produits	Protons	δ (ppm)	Multiplicité	Polarisation
AMINO (D)-2 METHYL-4 PYRIMIDINE (I)	<u>CH₃</u> H ₆ H ₅	2,35 <u>id.</u> 8,15 6,71	s d m	E (F) A (F) E (f)
(II) <u>(II) = (IV)</u>	<u>CH₃</u> H ₄	2,61 <u>2,54</u> 8,08 <u>2,18</u>	s d	E (F) A (F)
(IV)	<u>CH₃</u> H ₆	2,25 8,68	s d	E (F) A (F)
BENZIDINE	<u>H_A</u>	7,45 <u>id.</u>	d	E (f)

Tableau 10: Polarisations observées au cours de l'irradiation de la sulfamérazine et de la sulfaméthazine dans l'eau.

Les valeurs soulignées sont relatives aux effets obtenus dans le cas de la sulfaméthazine :
le substituant méthyl-4 est alors remplacé par diméthyl-4,6.



SULFAMERAZINE



SULFAMETHAZINE

- la dihydro-1,2 imino-2 hydroxy (OD)-1 méthyl-4 pyrimidine (II_a) et son homologue 4,6 diméthylé (II_b).
- la dihydro-1,2 imino-2 hydroxy (OD)-1 méthyl-6 pyrimidine (IV_a) et son homologue 4,6 diméthylé (IV_b).

Dans le cas de la sulfaméthazine, on constate que II_b est identique à IV_b.

Les photoproduits obtenus avec la sulfamérazine ou avec la sulfaméthazine sont tous caractérisés par une forte émission des protons méthyliques. Dans le cas où le carbone 6 du cycle pyrimidine n'est pas méthylé - la sulfadiazine -, on observe une forte absorption des protons H₆ (un doublet). Ceci confirme que les positions 4 et 6 du cycle pyrimidine sont particulièrement réactives; en effet, nous avons constaté qu'aucun effet de C.I.D.N.P. n'est relatif au proton 5 du cycle pyrimidine, sauf pour l' amino D-2 méthyl-4 pyrimidine pour laquelle la polarisation est faible ($\delta = 6,71$ ppm). De plus, les constantes de couplage des doublets à 8,08 ppm et à 8,68 ppm (4,8 et 5,6 Hz) sont du même ordre de grandeur que celle observée dans les couplages J_{H5-H6} des pyrimidines^{68, 69}.

Les effets de C.I.D.N.P. ne sont affectés ni par une modification du pH du milieu, ni par une variation de température. Au cours de l'enregistrement d'un spectre de C.I.D.N.P. la température du système est de 318 K. Nous avons enregistré un spectre à 353 K, afin de voir s'il existait des formes figées des photoproduits, en l'occurrence dues à des liaisons hydrogènes : aucun des signaux n'est perturbé.

Remarque :

Les spectres C.I.D.N.P. de solutions méthanoliques de sulfadiazine, de sulfamérazine et de sulfaméthazine présentent des polarisations identiques à celles décrites dans l'eau mais d'intensité beaucoup plus faibles. Par contre, dans l'acétonitrile aucun effet de C.I.D.N.P. n'est enregistré pour ces trois molécules.

2- Interprétation des résultats obtenus

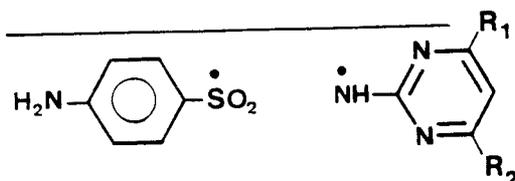
Ce sont les spectres de C.I.D.N.P. de la sulfadiazine et de ses dérivés obtenus en solution aqueuse qui contiennent le plus d'informations et qui permettent de proposer un mécanisme réactionnel pour la photoréaction. En particulier, ceux de la sulfamérazine et de la sulfaméthazine nous laissent envisager les hypothèses suivantes ; les produits méthylés ne peuvent provenir que de produits issus d'une coupure de la molécule :

- soit au niveau du groupe sulfonamide
- soit entre l'azote et le carbone du cycle pyrimidine.

a- Les mécanismes réactionnels

Le schéma 8 rend compte du mécanisme de formation des adduits proposés (I), (II) et (IV), au cours de l'irradiation de sulfamides comportant un noyau pyrimidine.

Après absorption de la lumière, le sulfamide passe à l'état excité singulet et par passage intersystème, on aboutit à l'état triplet de la molécule. La création de la paire radicalaire permettant l'observation des effets de C.I.D.N.P. peut s'expliquer essentiellement par une coupure du sulfamide entre les atomes de soufre et d'azote :



La paire de radicaux réagit ensuite par piégeage avec le solvant, conduisant aux produits (I), (II) et (IV). La possibilité d'obtenir des formes mésomères du radical centré sur l'azote fait que les trois photoproduits dérivent d'un même radical. En effet, avant que n'ait lieu le piégeage des radicaux de la paire par le solvant, le radical peut se réarranger et exister sous quatre formes distinctes (cf. schéma 9) pour lesquelles l'électron libre est porté successivement par l'azote extracyclique (radical I_P), l'azote 1 (II_P), le carbone 5 (III_P) et l'azote 3 (IV_P). La participation de l'eau est suggérée par la diminution de l'intensité du signal de HOD.

Ainsi, l'amino-2 pyrimidine et ses dérivés méthylés sont obtenus par piégeage du radical (I_P) avec un deutérium. Le piégeage des radicaux (II_P) et (IV_P) conduit en fonction de sa substitution à des molécules distinctes ou équivalentes : alors que pour la sulfadiazine et de la sulfaméthazine, le

$R_1 = R_2 = H$
 $R_1 = H, R_2 = CH_3$
 $R_1 = R_2 = CH_3$

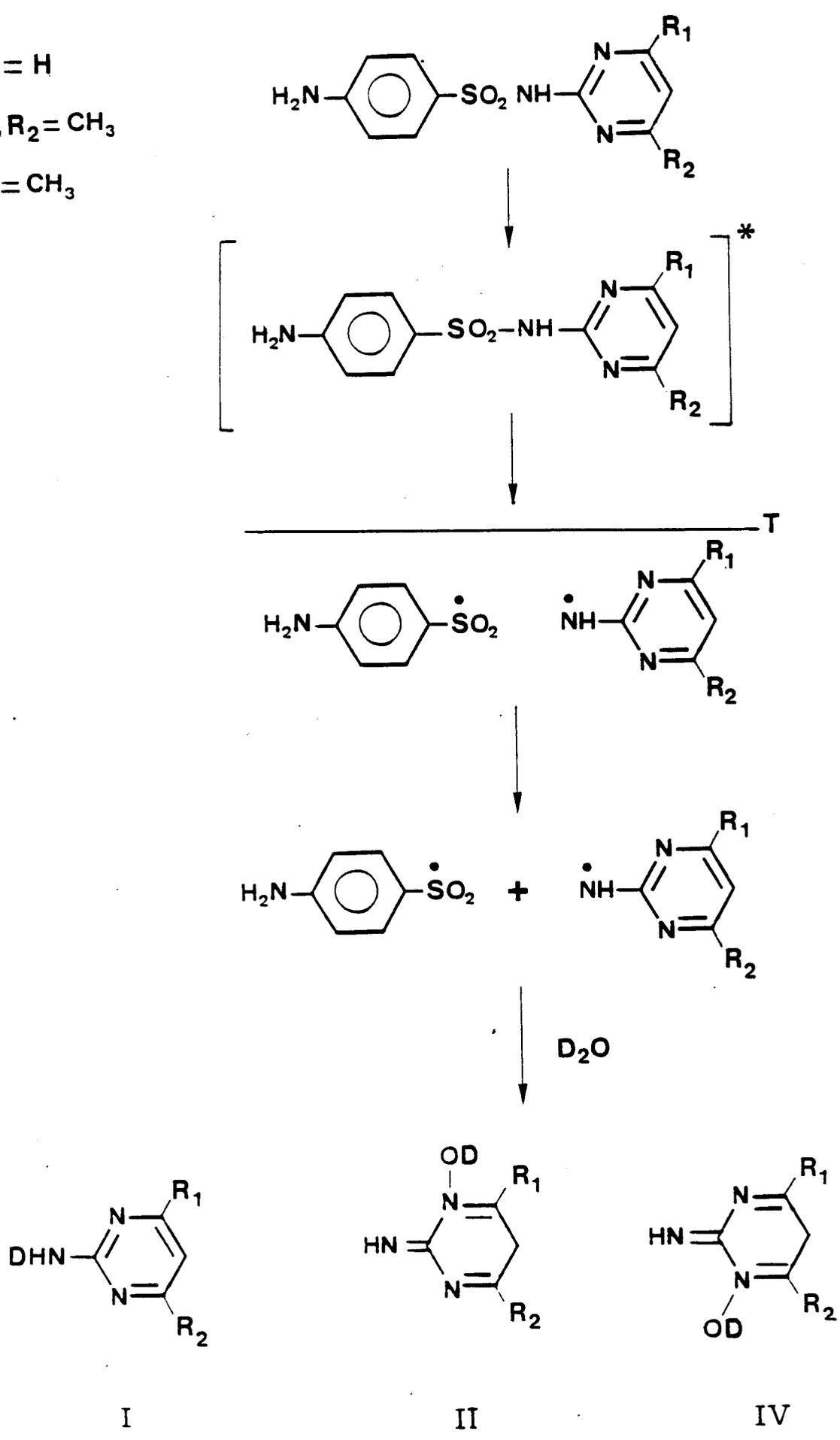


Schéma 8 : Mécanisme de formation des photoproduits issus de l'irradiation de la sulfadiazine, de la sulfamérozine et de la sulfaméthazine

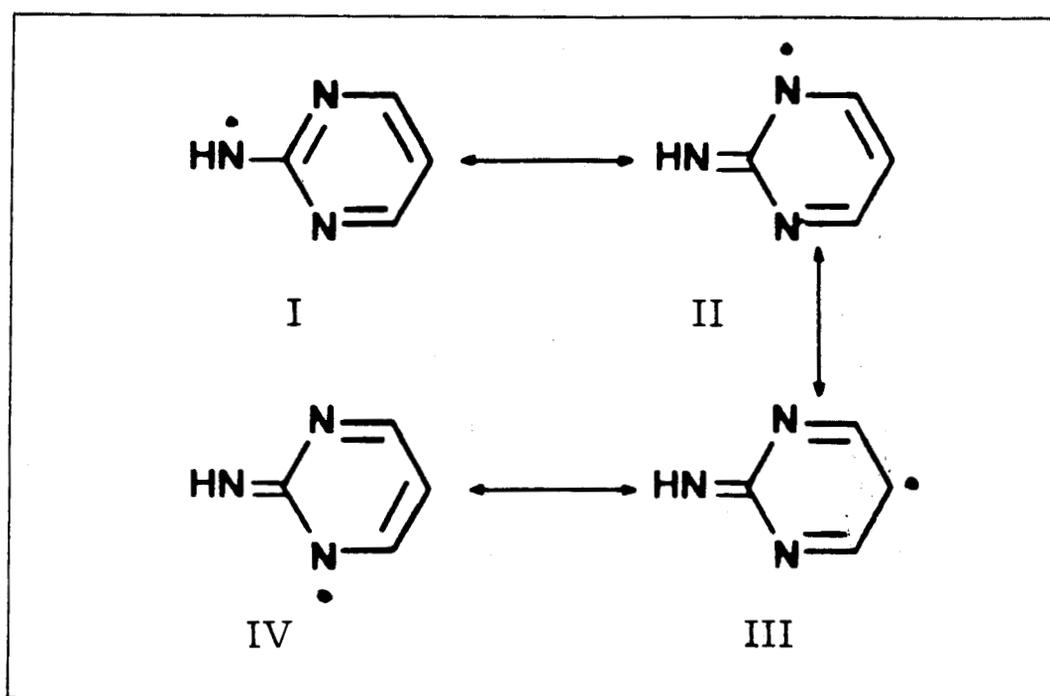


Schéma 9 :

Les différentes formes de résonance du radical amino-2 pyrimidyle.

piégeage de ces radicaux conduit en raison de leur symétrie à une seule molécule (cf. schéma 10), pour la sulfamérazine on distingue deux photoproduits l'un issu du piégeage du radical (II_R), l'autre du radical (IV_R).

Ces trois produits sont donc des produits de fuite. Quant au radical (III_R) centré sur le carbone 5, les spectres de photo-C.I.D.N.P. n'ont pas montré son intervention. Le fait que les sulfamides soumis à irradiation ne soient pas eux-mêmes polarisés indique que le mécanisme de la coupure (δ) de la molécule est irréversible, contrairement à la coupure (γ) observée au cours de l'irradiation du sulfanilamide.

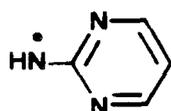
Outre ces produits de fuite, il s'est formé de la benzidine (H_A : $\delta = 7,45$ ppm) dont le signal est faible, comparé à ce que nous avons obtenu avec le sulfanilamide.

Il semble donc, que pour les sulfamides dont le NH est greffé sur la position 2 d'un cycle pyrimidine, la rupture de la molécule soumise à une irradiation lumineuse s'effectue principalement au niveau du groupe sulfonamide, i.e. entre le soufre et l'azote. Ceci est par ailleurs confirmé par la présence d'acide sulfanilique parmi les photoproduits (cf. chapitre IV). Les trois sulfamides étudiés se sont comportés d'un point de vue photochimique de la même manière : nous n'avons jamais observé d'effet dû à la pyrimidine (méthylée ou non) ou à l'hydroxy-2 pyrimidine. On peut à ce sujet avancer la plus grande stabilité du radical amino-2 pyrimidinyle en raison d'une délocalisation électronique plus importante, comparée à celle du radical pyrimidinyle.

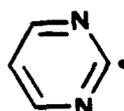
b- Application des règles de KAPTEIN

L'absence d'effet de multiplet dans les spectres précédemment décrits est attestée par leurs similitudes lorsqu'ils sont enregistrés avec une impulsion correspondant soit à un angle de flip de 90°, soit à un angle inférieur à 20°. En conséquence, tous les signaux observés relèvent de polarisations dues à un effet net.

Afin de préciser les valeurs des constantes de couplage hyperfin des protons mis en jeu, une étude identique à celle entreprise dans le cas du sulfanilamide a été menée. Nous avons effectué les calculs pour les deux radicaux suivants :



et



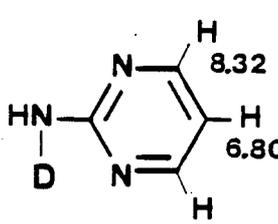
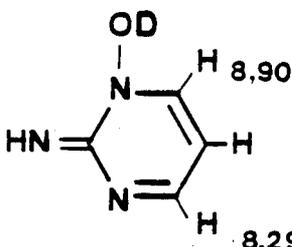
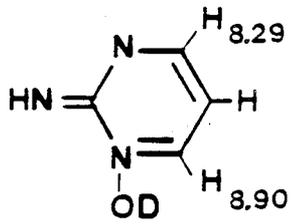
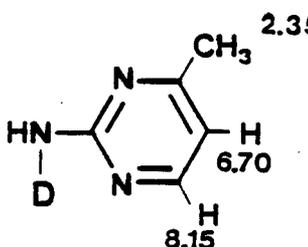
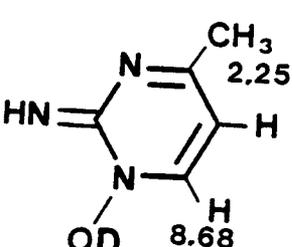
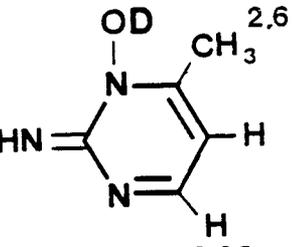
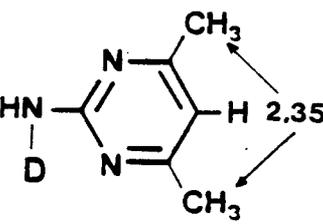
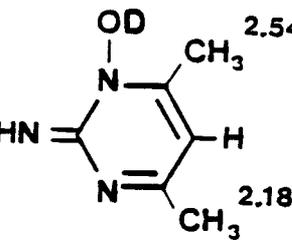
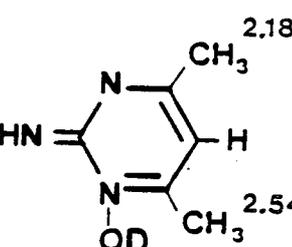
Piégeage des radicaux par le solvant sulfamide irradié	I	II	IV
Sulfadiazine	 <p>I</p>	 <p>II ≡ IV</p>	
Sulfamerazine	 <p>I_a</p>	 <p>II_a ≠ IV_a</p>	
Sulfamethazine	 <p>I_b</p>	 <p>II_b ≡ IV_b</p>	

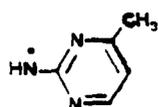
Schéma 10 : Photoproduits obtenus lors de l'irradiation de sulfamides comportant un cycle pyrimidine.

Pour cela, nous avons utilisé les données cristallographiques de l' amino-2 pyrimidine⁷⁰ et de la pyrimidine⁷¹ et après transformation des coordonnées atomiques de la maille en coordonnées cartésiennes, les résultats sont les suivants (cf. tableaux 11 et 12) :

- pour le radical dérivé de l' amino-2 pyrimidine, les constantes de couplage hyperfin les plus élevées correspondent aux protons H₄-H₆, qui présentent effectivement un effet de C.I.D.N.P. important comparé au proton H₅. Ces protons H₄-H₆ ont tous deux une constante de couplage hyperfin positive, tandis que cette dernière est négative pour H₅. Non seulement il y a alternance des signes pour les hydrogènes et pour les carbones, mais ces derniers présentent une constante de couplage hyperfin de signe inverse à celui des protons auxquels ils sont liés. L'absence de polarisation sur le proton H₅ des photoproduits issus de ce radical ne peut s'expliquer par ces calculs, puisque le proton H₅ présente la plus forte constante de couplage hyperfin en valeur absolue.

- pour le radical dérivé de la pyrimidine, les protons H₄, H₅ et H₆ ont une constante de couplage hyperfin de même signe : elle est positive. Les carbones correspondants C₄, C₅ et C₆ présentent une alternance de signe, respectivement positif, négatif et positif.

Dans le cas de la sulfamérazine et de la sulfaméthazine, intervient le radical



On considère alors, qu'il y a alternance des

signes des constantes entre le carbone du cycle et son substituant méthyle: les constantes des protons méthyliques ont ainsi une valeur négative.

Appliquons maintenant la règle de l'effet net aux photoproduits obtenus avec la sulfadiazine.

(i) l' amino (D)-2 pyrimidine

Le tableau 13 permet de comparer les polarisations calculées à celles observées sur un spectre de photo-C.I.D.N.P.. Ce produit provient d'une réaction de piégeage avec le solvant (produit de

fuite) : $\epsilon < 0$. D'après $g(\text{Ph SO}_2^\bullet) = 2,0054$ et $g(\text{Ph NH}^\bullet) = 2,0032$ ⁷², la différence Δg est négative. Nous avons $a_{\text{H}_4\text{-H}_6} > 0 \longrightarrow \Gamma_n(\text{H}_4\text{-H}_6) = \mu \dots$

$+ = + \mu \longrightarrow \mu$ est positif. La paire radicalaire mise en jeu intervient dans son état triplet. Le proton H₅ présente une faible polarisation en émission : $\Gamma_n(\text{H}_5)$

$= + \dots = -$.

(ii) la dihydro-1,2 imino-2 hydroxy (OD)-1 pyrimidine

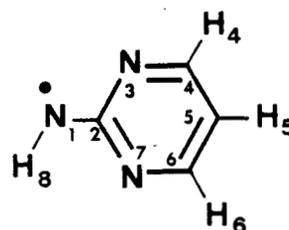
La prévision des polarisations des protons H₄ et H₆ donne $\Gamma_n(\text{H}_4) = \Gamma_n(\text{H}_6) =$

$+ \dots + = +$, ce qui est en accord avec la polarisation observée (A).

Atome	Constante de couplage hyperfin
N ₁	12,4
C ₂	-16,2
N ₃	4,1
C ₄	-8,2
C ₅	8,3
C ₆	-8,2
N ₇	4,1
H ₄	3,4
H ₅	-4,5
H ₆	3,4
H ₈	-15,7

Tableau 11

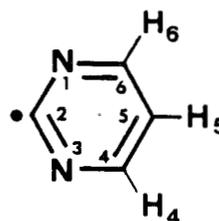
Valeurs des constantes de couplage hyperfin des atomes du radical



Atome	Constante de couplage hyperfin
C ₂	184,1
N ₃	17,5
C ₄	10,2
C ₅	-2,4
C ₆	10,6
N ₁	17,5
H ₄	3,1
H ₅	5,4
H ₆	3,1

Tableau 12

Valeurs des constantes de couplage hyperfin des atomes du radical



		Paramètres					
Produits	Protons	μ	ϵ	Δg	αH	Γn	$\Gamma_{\text{observée}}$
(I)	H ₄ -H ₆	+	-	-	+	+	A
	H ₅	+	-	-	-	-	E
	CH ₃	+	-	-	-	-	E
(II) et (IV)	CH ₃	+	-	-	-	-	E

Tableau 13

Calcul des polarisations pour les photoproduits résultant de l'irradiation de la sulfadiazine, de la sulfamérazine et de la sulfaméthazine.

Enfin, l'application de cette règle aux photoproduits issus de l'irradiation de la sulfamérazine et de la sulfaméthazine donne les résultats suivants :

(i) l'amino (D)-2 méthyl-4 pyrimidine est un produit de fuite : $\epsilon < 0$ et $\Delta g < 0$.

Pour les protons méthyliques, on en déduit $\Gamma_n(H) = \mu \cdot - \cdot - \cdot - = - \longrightarrow \mu > 0$.

La paire radicalaire intervient dans son état triplet.

Pour le proton H_6 , a_H est positif. le produit des signes est $\Gamma_n(H_6) = + \cdot - \cdot - \cdot + =$

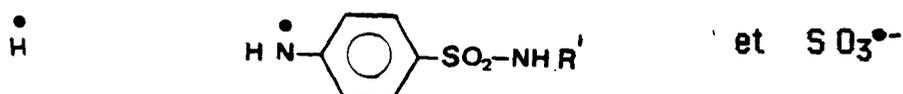
$+$ et la polarisation observée est bien de l'absorption exaltée. Le proton H_5 lui, présente de l'émission et a_{H_5} est de signe inverse à celui de H_6 : la règle est aussi vérifiée.

(ii) La structure des produits (II_g) et (IV_g) est compatible avec la règle de l'effet net. Tous deux présentent un méthyle en émission et comme $a_H < 0$, il vient $\Gamma_n(H) = -$. Leurs protons H_6 sont en absorption exaltée, le produit des signes doit donc être positif : $\Gamma_n(H_6) = + \cdot - \cdot - \cdot + = +$.

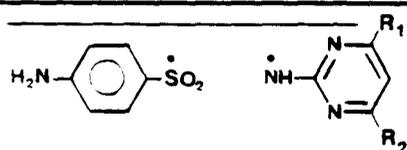
Les produits obtenus à partir de la sulfaméthazine ont un méthyle supplémentaire en position 6. Ce méthyle est symétrique par rapport à celui porté par le carbone 4; le signe des constantes de couplage hyperfin de ces protons est identique, elle est négative. Comme pour la sulfamérazine, les trois nouveaux signaux sont en émission. Pour chaque photoproduit, nous avons : $\mu > 0, \epsilon < 0, \Delta g < 0 \longrightarrow \Gamma_n(H)_{CH_3} = + \cdot - \cdot - \cdot - = - \longrightarrow E$. La règle de l'effet net est une fois de plus vérifiée.

3- Conclusion

L'étude C.I.D.N.P. 1H de la sulfadiazine et de ses dérivés nous permet d'une part, d'établir un mécanisme de type radicalaire pour la première étape de la photoréaction de ces médicaments, d'autre part de proposer la formation de nouveaux photoproduits : des amino et imino-pyrimidines. Seuls, CHIGNELL et al. avaient étudié par R.P.E. le mécanisme de photolyse de la sulfadiazine³⁰ : les radicaux qu'ils ont piégés à l'aide de capteurs sont de type



Ces radicaux ne sont pas décelables par photo-C.I.D.N.P. 1H , certains en raison de leur trop courte durée de vie, d'autres ne possèdent pas de proton dans leurs molécules. Les radicaux formés résulteraient principalement d'une coupure de la molécule entre le soufre et l'azote (coupure δ) pour donner la paire principale :



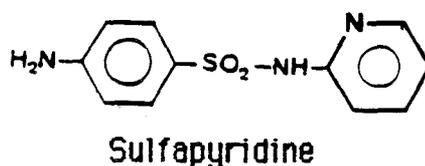
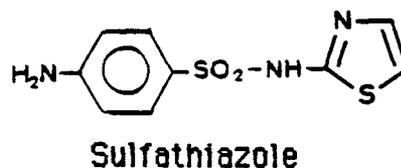
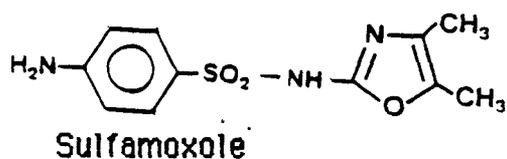
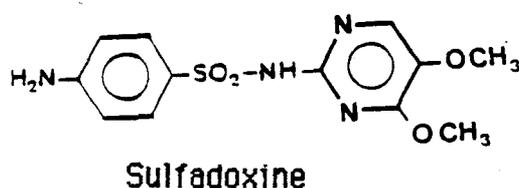
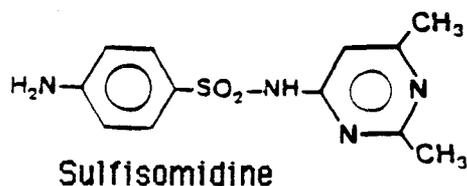
Les trois médicaments étudiés se comportent de la même manière :

- le ou les substituants méthyles portés par les carbones 4 ou 6 du cycle pyrimidine n'ont pas d'influence sur le processus mis en jeu.
- au niveau de la paire radicalaire, seul le radical aminopyrimidinyle induit des effets de C.I.D.N.P. . En effet, alors que nous avons détecté l'amino-2 pyrimidine, aucun signal n'est attribué à l'acide sulfanilique , et nous n'avons pas obtenu de photoproduits dérivant du radical pyrimidinyle.

Contrairement aux résultats obtenus avec le sulfanilamide, la perte du groupement SO_2 à partir du radical $\text{H}_2\text{N Ph SO}_2$ constitue ici une voie mineure, puisque le signal de la benzidine est très faible comparé à ceux qui proviennent des radicaux amino et iminopyrimidinyles. Notre étude photo-C.I.D.N.P. a mis en évidence la formation d'imino-pyrimidines, piégées in situ par le solvant et difficiles à isoler par d'autres techniques. Ainsi, l'irradiation d'une molécule de sulfamide dont le groupe sulfonamide est substitué par un cycle pyrimidine en position 2, induit préférentiellement la coupure de la molécule entre le soufre et l'azote - une coupure en δ - . Cette coupure est irréversible en raison de l'absence de polarisations sur le produit de départ.

IV- ETUDE PHOTO-C.I.D.N.P. DES AUTRES SULFAMIDES

Nous avons entrepris l'étude photo-C.I.D.N.P. d'autres sulfamides dans les mêmes conditions. Ces composés diffèrent essentiellement par la nature du substituant porté par le groupe sulfonamide : cycle à 6 chaînons avec un ou deux hétéroatomes, cycle à 5 chaînons avec deux hétéroatomes.



1- Les résultats

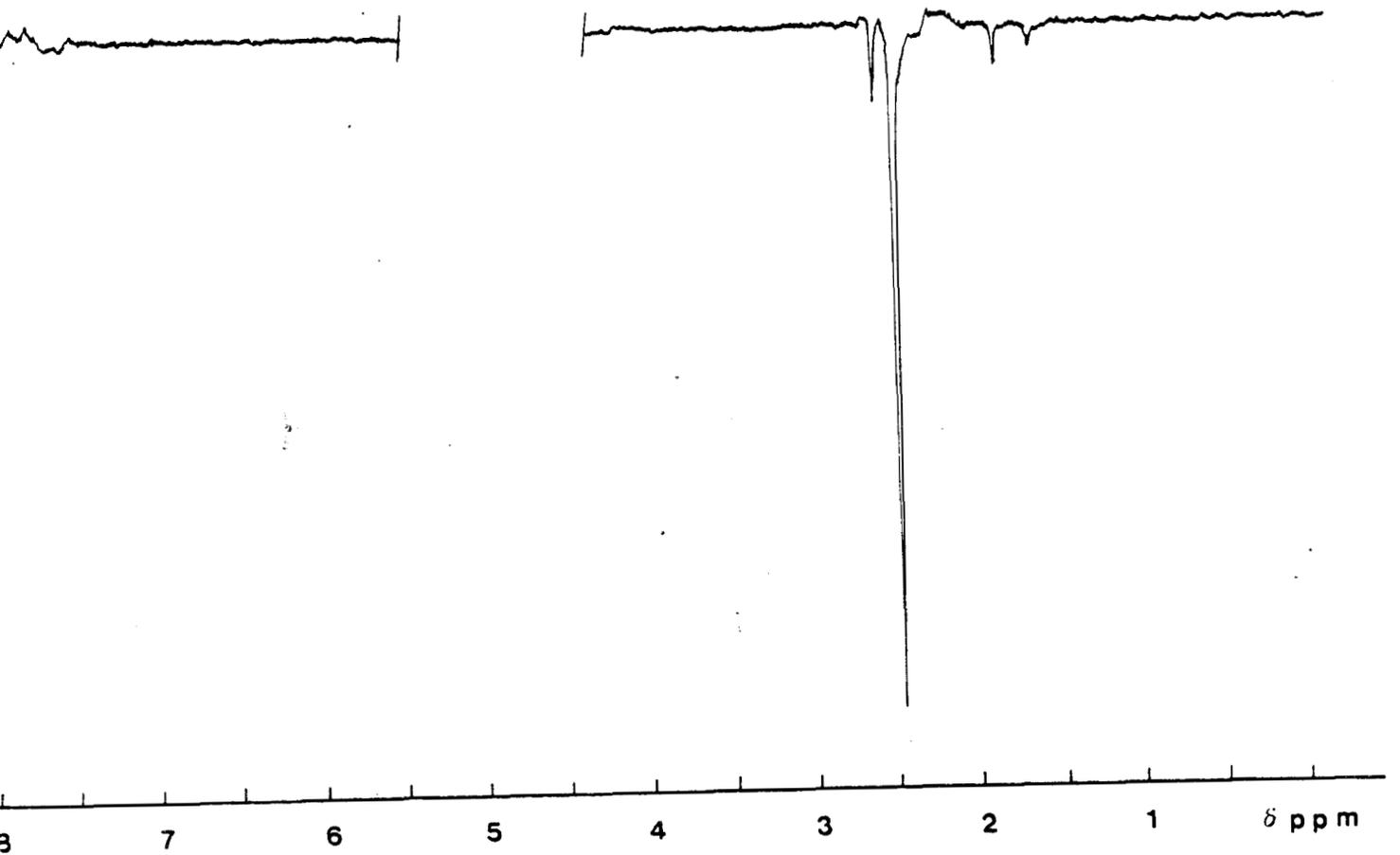
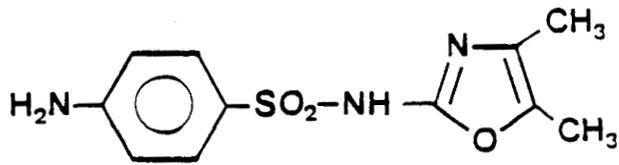
Nous les avons irradiés dans l'eau, l'alcool et l'acétonitrile. Comparés aux sulfamides étudiés jusqu'à présent, leurs spectres C.I.D.N.P. ne fournissent que peu d'informations. Ceci peut s'expliquer, en partie, par la faible solubilité de ces molécules dans l'eau.

Hormis le sulfamoxole dont le spectre est présenté sur la figure 11, aucune de ces molécules ne donnent d'effets de C.I.D.N.P., ni sur le cycle aromatique - phénomène que l'on observe pour la sulfamérazine entre autre-, ni sur le cycle comportant le ou les hétéroatomes. Aucun photoproduit n'est ainsi mis en évidence, quel que soit le solvant utilisé.

Le sulfathiazole avait particulièrement retenu notre attention, puisque DÜRR et al.³⁴ avaient détecté de l' amino-2 thiazole, toutefois à l'état de traces, lors de l'irradiation de ce sulfamide dans l'éther. Le fait que l'aniline constitue le produit photochimique majoritaire au cours de leur expérience, indique que la coupure du sulfathiazole se ferait préférentiellement entre le phényle et le groupe sulfonamide, comme pour les sulfamides à chaîne alkylée : sulfanilamide, sulfacétamide et carbutamide. Cependant, notre étude photo-C.I.D.N.P. n'a pas montré de formation d'adduits.

La sulfapyridine et la sulfadoxine comportent toutes deux un cycle aromatique à 6 chaînons avec respectivement un et deux atomes d'azote. L'irradiation de sulfapyridine dans le méthanol, d'après DÜRR, conduit entre autre, à l'aniline et à l' amino-2 pyridine. Ces produits n'ont pas été décelés par notre méthode de photo-C.I.D.N.P. Quant à la sulfadoxine, dont le groupe sulfonamide est porté par le carbone 4 du cycle pyrimidine, OPPENLÄNDER⁷³ a constaté que la photodégradation de cette molécule conduit à un mélange complexe de produits; il a isolé les produits de rupture de la liaison S-N, i.e. l' amino-4 diméthoxy-5,6 pyrimidine (avec un rendement de 29 %), à côté de traces d'acide sulfanilique. Aucun de ces photoproduits n'a été détecté par photo-C.I.D.N.P.. De plus, l'irradiation prolongée (10 à 15 min) d'une solution aqueuse de sulfadoxine n'a pas mis en évidence de photoproduits accumulés au cours de la réaction.

La sulfisomidine diffère de la sulfaméthazine par la position des méthyles sur le cycle pyrimidine (2 et 6) et par le type de carbone (4) lié au groupe sulfonamide. Contrairement à la sulfaméthazine, il n'y a pas de polarisations au niveau des méthyles.



int irradiation

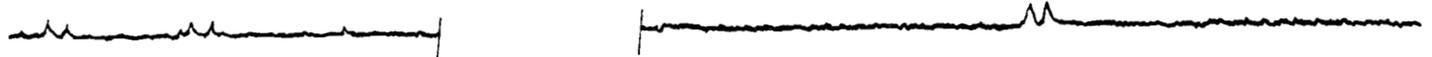


Figure 11 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. du sulfamoxole en solution aqueuse.

Seul le sulfamoxole présente des effets de C.I.D.N.P. : l'irradiation de sulfamoxole dans l'eau ou dans l'acétonitrile entraîne la formation d'intenses polarisations entre 1,5 et 2,6 ppm. En solution aqueuse, on constate :

- d'une part, la disparition des signaux du sulfamoxole - en particulier des méthyles dont les déplacements chimiques se situent à 2,06 ppm et à 1,96 ppm - d'autre part, l'apparition de 4 nouvelles raies en émission à $\delta = 1,66$ ppm; 1,87 ppm; 2,48 ppm et 2,60 ppm. L'intensité de ces raies est variable : la polarisation à 2,48 ppm est extrêmement forte comparée aux autres. Au vu de ces déplacements chimiques, ces signaux correspondent à deux photoproduits méthylés, dont l'un serait vraisemblablement l'amino-2 diméthyl-4,5 oxazole, par analogie avec les résultats obtenus avec les sulfamides à noyau pyrimidine. En effet, le signal à 2,48 ppm peut être attribué aux protons méthyliques en ortho de l'oxygène, celui à 2,60 aux protons méthyliques en ortho de l'azote. L'autre produit est vraisemblablement la dihydro-1,3 imino-2 hydroxy (OD)-3 diméthyl-4,5 oxazole. Ainsi, le comportement photochimique du sulfamoxole est voisin des sulfamides comportant un cycle pyrimidine.

2- Conclusion

A l'exception du sulfamoxole, ces sulfamides tous caractérisés par la présence d'un cycle lié au groupe sulfonamide, révèlent un comportement photochimique différent de celui de la sulfadiazine et de ses dérivés.

Pour les sulfamides qui ont un cycle à 6 chaînons, notre étude montre l'importance de la position de la liaison $\text{HN}-\text{C}$. En effet, si cette liaison met en jeu un carbone autre que le carbone 2 d'un cycle pyrimidine, nous n'observons ni effet de C.I.D.N.P., ni formation de photoproduits. De même, si le cycle ne contient qu'un seul atome d'azote, aucune position du cycle pyridine n'est polarisée. Lorsque la molécule de sulfamide possède un cycle à 5 chaînons, des effets sont observés si les deux hétéroatomes sont l'oxygène et l'azote en position -1,3, et non pas si l'oxygène est remplacé par un atome de soufre.

On ne doit pas pour autant conclure que ces sulfamides sont inactifs d'un point de vue photochimique; seulement, la structure des cycles est telle que les radicaux susceptibles d'être formés sont moins stables que pour les autres molécules de la série.

REMARQUE GENERALE A TOUS LES SULFAMIDES DE LA SERIE :

Nous avons également entrepris l'étude photo-C.I.D.N.P. ^{13}C des différents sulfamides; malheureusement elle n'a pas fourni d'informations susceptibles de confirmer les résultats obtenus par photo-C.I.D.N.P. ^1H .

Que les spectres soient enregistrés pour des solutions aqueuses ou dans l'acétonitrile, aucun effet de C.I.D.N.P. n'a été observé. Ceci s'explique en partie par la faible solubilité dans l'eau de ces molécules : l'utilisation d'une sonde ^{13}C nécessite des solutions plus concentrées que dans le cas du proton. De plus, la dégradation relativement rapide du produit de départ est incompatible avec la nécessité d'accumuler les spectres : la durée d'acquisition d'un spectre ^{13}C est plus importante que celle d'un spectre ^1H (1500 accumulations en moyenne, soit plus de 30 min d'irradiation). Bien que les sulfamides utilisés soient généralement plus solubles dans l'acétonitrile - voire dans le méthanol - ils n'ont pas montré de polarisations non plus dans ces solvants.

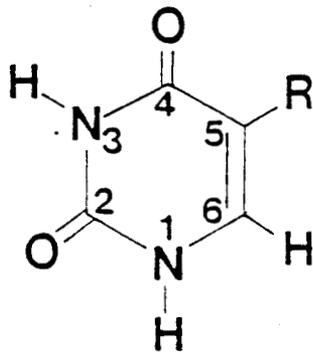
Le maximum d'absorption de ces molécules se situant en dessous de 300 nm, l'utilisation de tubes R.M.N. en quartz s'est révélée nécessaire, mais n'a pas permis, cependant, d'observer des polarisations.

V- ETUDE PAR PHOTO-C.I.D.N.P. DE L'INTERACTION ENTRE DIFFERENTS SULFAMIDES ET DES SUBSTRATS BIOLOGIQUES

SINHA⁴² et, indépendamment, PAILLOUS⁴³ ont montré que les cibles privilégiées dans l'organisme, concernées par les effets photobiologiques dus à des sulfamides sont les macromolécules cellulaires (ADN et protéines).

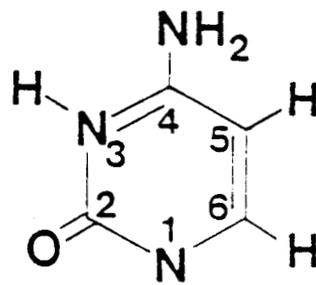
Leurs études ont porté essentiellement sur le sulfanilamide : il a été clairement établi qu'un résidu cystéine piègeait un des radicaux issus de l'irradiation du sulfanilamide. Bien que SINHA ait montré que le sulfanilamide se liait de manière covalente aux acides nucléiques, en présence de lumière, le mécanisme moléculaire conduisant à la formation d'un complexe sulfanilamide - ADN reste obscur : les sites d'attaque sur l'ADN, par conséquent les nucléobases concernées par la photoréaction ne sont pas identifiés.

Nous avons donc poursuivi notre étude dans ce domaine et utilisé différents acides aminés, ainsi que des bases (puriques et pyrimidiniques) constitutives des acides nucléiques. Leurs formules sont présentées sur la figure 12. Pour chaque sulfamide précédemment étudié, nous avons enregistré un spectre C.I.D.N.P. en présence des divers substrats biologiques.

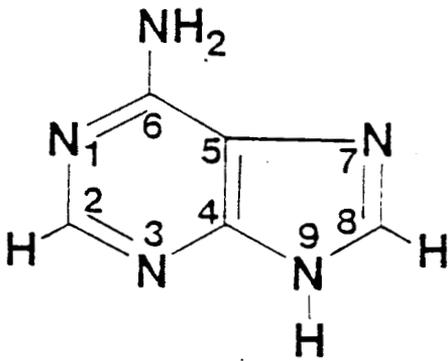


uracile : $R=H$

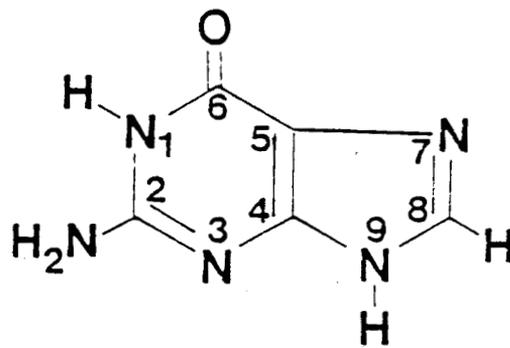
thymine : $R=CH_3$



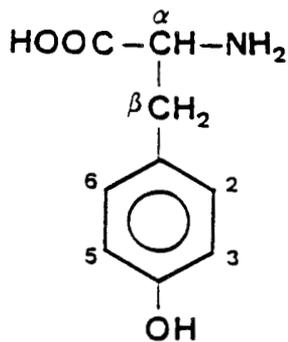
cytosine



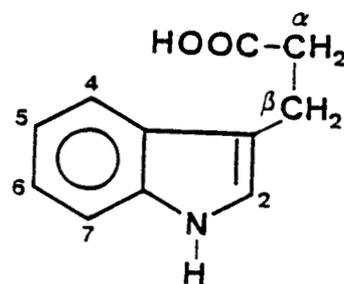
adenine



guanine



tyrosine



tryptophane

Figure 12 :

Formules des différentes bases et de quelques acides aminés.

1- Les résultats

Parmi les sulfamides utilisés, seuls deux d'entre-eux - le sulfanilamide et le tolbutamide induisent des effets de C.I.D.N.P. sur une des bases : l'adénine. En effet, hormis ces deux molécules et quelle que soit la combinaison sulfamide-base, nous n'avons observé aucun effet sur la base étudiée.

La figure 13 montre le spectre C.I.D.N.P. obtenu pour le couple sulfanilamide-adénine en solution aqueuse. Nous avons constaté une évolution des signaux pour les différents spectres enregistrés : alors que le premier spectre montre les signaux dus à la photoréaction du sulfanilamide avec D_2O , pour les suivants on observe, simultanément à la disparition de ces signaux, de l'absorption exaltée pour les protons H_2 (singulet à $\delta = 8,64$ ppm) et H_8 (singulet à $\delta = 8,70$ ppm) de l'adénine. Après extinction de la source lumineuse, le spectre est identique à celui obtenu avant irradiation : les signaux de l'adénine sont peu visibles car la concentration est faible.

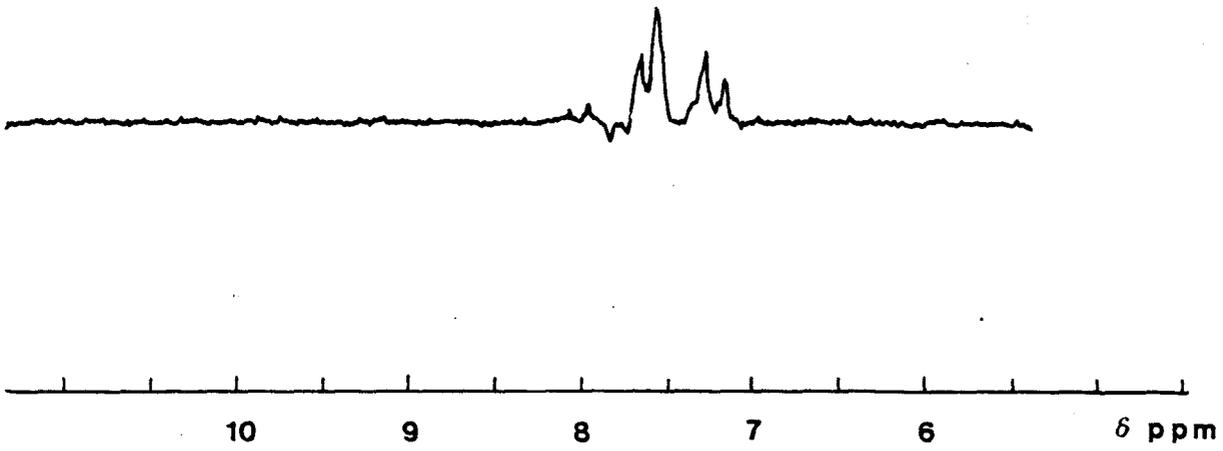
Par contre, si l'on ajoute de la guanine ou une des bases pyrimidiques dans une solution aqueuse de sulfanilamide, aucune polarisation relative à la base n'apparaît sur le spectre.

Le tolbutamide provoque également des polarisations sur l'adénine et non pas sur les autres bases. Le signe de ces polarisations est identique à celui observé avec le sulfanilamide mais leur intensité est plus importante. Il faut ici souligner le comportement particulier du tolbutamide lorsqu'il est irradié seul : alors que l'irradiation d'une solution aqueuse de sulfanilamide induit des polarisations sur des photoproduits, aucun effet de C.I.D.N.P. n'est enregistré au cours de l'irradiation du tolbutamide dans les mêmes conditions.

Nous avons également enregistré des spectres de C.I.D.N.P. de sulfamides en présence des acides aminés aromatiques : la tyrosine, son dérivé N-acétylé et le tryptophane. Dans le cas de la tyrosine, il est nécessaire de prendre quelques précautions. Le sulfanilamide, comme la plupart des sulfamides présente un maximum d'absorption inférieur à 300 nm (250 nm), longueur d'onde à laquelle absorbe la tyrosine. Sachant que cette dernière donne lieu à des effets de C.I.D.N.P. lorsqu'elle est irradiée seule, il est nécessaire de filtrer la longueur d'onde permettant l'excitation directe de l'acide aminé. Toutefois, l'utilisation d'un filtre ne transmettant que 10 % des longueurs d'onde situées vers 300 nm n'a pas permis d'obtenir des effets de C.I.D.N.P.

Ces études ont été également réalisées dans l'acétonitrile : les spectres de C.I.D.N.P. sont identiques à ceux obtenus dans l'eau.

h ν 1min



h ν 2min

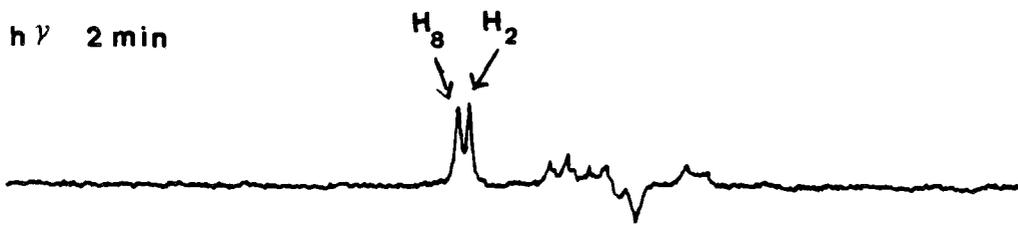
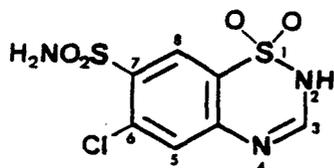


Figure 13 : Spectres de C.I.D.N.P. d'une solution aqueuse de sulfanilamide en présence d'adénine.

Les cibles biologiques que sont les acides aminés et les bases des acides nucléiques ont permis de réaliser, dans le cadre de thèses soutenues dans notre laboratoire, une étude comparative de diverses molécules dans des séries bien particulières (Phénothiazines, Furocoumarines⁷⁴, Quinolones⁷⁵). A la différence des résultats obtenus avec les sulfamides, les principales polarisations induites par l'irradiation de diverses phénothiazines, furocoumarines ou quinolones proviennent essentiellement de ces molécules et non de photoproduits.

Dans cette optique, nous nous sommes intéressés à un sulfamide qui présente une structure chimique différente de celle des sulfamides étudiés jusqu'alors : le chlorothiazide. Le groupe sulfonamide est ici porté par deux cycles aromatiques dont l'un comporte un atome de soufre et deux atomes d'azote.



Chlorothiazide
ou

Chloro-6, Sulfamoyl-7, 2-H, Benzothiadiazine-1,2,4 Dioxide-1,1.

Cette molécule est utilisée comme diurétique⁷⁶ et comme antihypertenseur⁷⁷ : elle constitue le principe actif d'un médicament, le DIURIL⁷⁸. C'est en 1958 que les premières observations relatives à la photosensibilisation due au chlorothiazide ont été faites^{79, 80} : quelques cas d'éruption cutanée, dont des photodermatites, des lésions purpurales sont enregistrés chez des patients traités. Paradoxalement, ce produit a été très peu étudié depuis les années 1960. Seuls, HARBER et al.⁸¹ ont montré que le phénomène de photosensibilisation relevait plutôt d'un mécanisme photoallergique que phototoxique, étant donné la rapidité de la réponse obtenue (quelques secondes).

Nous avons étudié dans un premier temps la photoréactivité du chlorothiazide seul en solution.

Ce dernier révèle un comportement photochimique particulier : le spectre d'une solution aqueuse de chlorothiazide soumise à une irradiation lumineuse montre uniquement des polarisations - intenses - sur le produit de départ. Celles-ci sont représentées sur la figure 14 et attribuées de la manière suivante :

- émission pour le proton H₅ (singulet à $\delta = 7,67$ ppm)
- absorption pour le proton H₈ (singulet à $\delta = 8,02$ ppm)

h ν

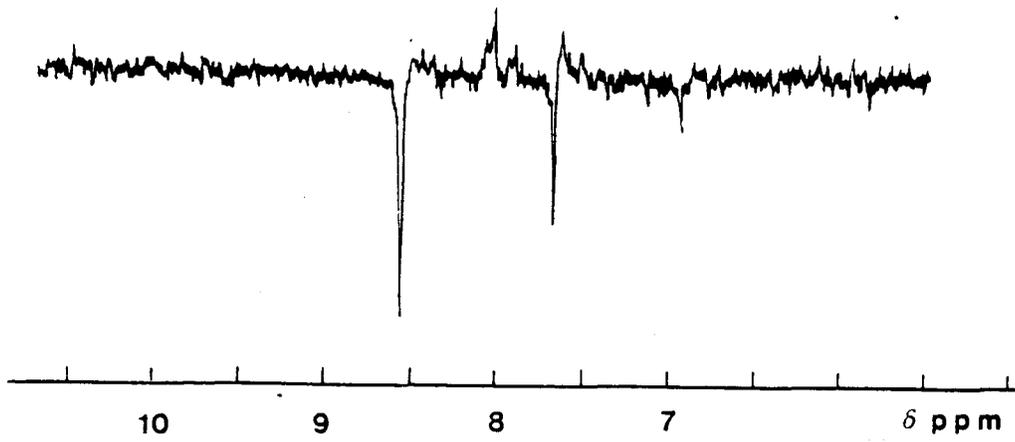


Figure 14 : Spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. de chlorothiazide en solution aqueuse.

h ν

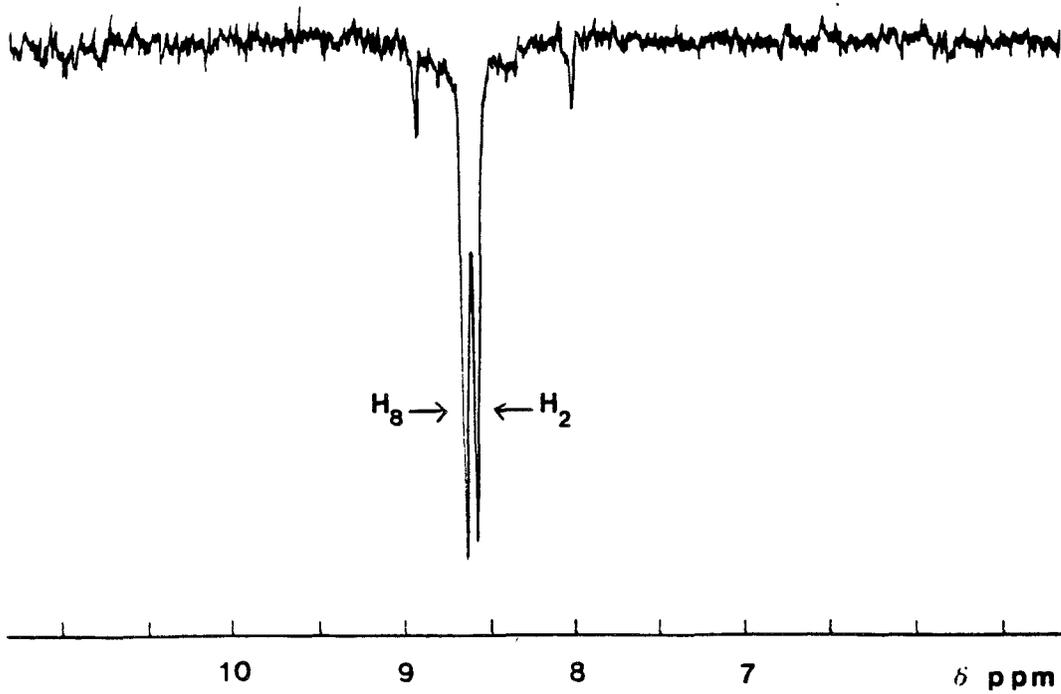


Figure 15 : Spectre de C.I.D.N.P. d'une solution aqueuse de chlorothiazide en présence d'adénine.

- émission pour le proton H₃ (singulet-à $\delta = 8,56$ ppm).

En solution aqueuse, l'irradiation du système chlorothiazide-base induit des effets de C.I.D.N.P. qui proviennent à la fois de la photoréactivité du chlorothiazide seul en solution et de son interaction avec la base. Le type de polarisations obtenues dépend essentiellement de la nature de la base. C'est en présence d'adénine que l'on obtient les effets les plus importants : aux polarisations décrites pour le chlorothiazide irradié seul, s'ajoutent d'intenses polarisations relatives aux protons de l'adénine (émission pour H₂ et H₈ respectivement à $\delta = 8,62$ ppm et à $\delta = 8,68$ ppm). La figure 15 montre le spectre C.I.D.N.P. obtenu avec l'adénine. Avec la thymine, on obtient des effets mais de moindre intensité : A pour -CH₃ ($\delta = 2,21$ ppm) et E pour H₆ ($\delta = 7,27$ ppm). Par contre, aucune polarisation n'est enregistrée en présence de cytosine, d'uracile ou de guanine.

2- Discussion

Les polarisations que nous observons sur certaines bases lorsqu'elles sont irradiées en présence de sulfamides tels le sulfanilamide, le tolbutamide et le chlorothiazide disparaissent après irradiation. Ces résultats suggèrent la possibilité d'un transfert de charge hautement réversible entre le sulfamide et la base, comme dans le cas des Phénothiazines et des Furocoumarines. Etant donné le manque d'homogénéité du comportement des sulfamides vis-à-vis des bases, il nous est difficile de les comparer entre-eux et d'en déduire une échelle de phototoxicité. Nous n'avons pas, dans le cadre de cette thèse poursuivi les travaux dans ce sens, d'autant plus que, pour réaliser une étude thermodynamique complète il faudrait connaître différents paramètres, actuellement inaccessibles : potentiels redox des différentes espèces mises en jeu, niveaux d'énergie des états triplets des sulfamides, ...

V- CONCLUSION

L'étude de la photoréaction de différents sulfamides à usage pharmaceutique nous a permis de mettre en évidence l'apport classique de la technique de photo-C.I.D.N.P. dans ce domaine.

L'un des mécanismes primaires de la photoréaction est de type radicalaire et l'état excité mis en jeu est l'état triplet. La photoréactivité des sulfamides semble influencée par la nature du substituant porté par le groupe

sulfonamide, et celui porté par le cycle phényle. Ainsi, notre étude permet de les classer en trois groupes :

- les sulfamides substitués par une chaîne alkyle.
- les sulfamides substitués par un cycle pyrimidine.
- les sulfamides substitués par un cycle autre que pyrimidine.

1- les sulfamides substitués par une chaîne alkyle

Nous avons pu détecter l'existence de deux types de composés au cours de la première étape de la dégradation d'une solution aqueuse de ce type de sulfamide, soumise à un rayonnement lumineux : l'aniline et la benzidine. Les radicaux correspondants font intervenir des coupures en partie réversible en γ et en δ de la molécule initiale : ils sont par ailleurs piégés dans l'acétonitrile, en présence de tétrachlorure de carbone. Le sulfacétamide met en jeu une coupure supplémentaire en ϵ . Seul le tolbutamide dans lequel le groupement amine est remplacé par un substituant méthyle, ne donne aucun photoproduit, ceci dans des conditions identiques.

2- les sulfamides substitués par un cycle pyrimidine

L'irradiation de la sulfadiazine et de ses homologues méthylés induit principalement une coupure en δ de la molécule. Alors que l'on détecte les photoproduits issus du radical centré sur l'azote - amino-2 et surtout imino-2 pyrimidines non décrites jusqu'alors-, aucune polarisation ne provient du radical centré sur le soufre, suggérant que la formation d'acide sulfanilique ne fait pas intervenir cette voie là.

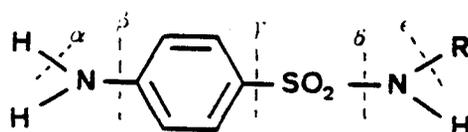
L'originalité de ces photoproduits vient du fait qu'ils sont tous issus d'un même radical- amino-2 pyrimidinyle - très stable dont les diverses formes mésomères sont piégées par le solvant. Il a été par ailleurs difficile de caractériser, par d'autres techniques, les produits qui en dérivent (cf. Chapitre IV).

Le substituant porté par le cycle pyrimidine n'a pas d'influence sur le type de coupure, puisqu'une corrélation a été établie entre les spectres de photo-C.I.D.N.P. des molécules non méthylée, mono et diméthylée.

3- les sulfamides substitués par un cycle autre que pyrimidine

L'irradiation de ces sulfamides n'a pas entraîné la formation de photoproduits, sauf dans le cas du sulfamoxole pour lequel le substituant est un cycle à 5 chaînons comportant deux hétéroatomes (azote et oxygène) : on évoque, comme précédemment une coupure de la molécule en δ pour expliquer les produits méthylés formés.

Il nous est difficile de comparer nos résultats avec ceux publiés dans la littérature, car peu de sulfamides ont été étudiés, quant à leur photochimie. Cependant, pour certains d'entre-eux nous pouvons confronter nos résultats à ceux obtenus par R.P.E. Le tableau ci-après met en évidence le type de coupure obtenu lors de l'irradiation de quelques sulfamides en solution aqueuse, par deux techniques : la photo-C.I.D.N.P. et la R.P.E. d'après CHIGNELL³⁰.



R'	photo-C.I.D.N.P.	R.P.E.
H	γ, δ	$\alpha, \beta, \gamma, \delta$
CO CH ₃	γ, δ, ϵ	α, β, δ
CO NH (CH ₂) ₃ CH ₃	γ, δ	α, β, δ
CH ₃ au lieu de NH ₂	/	$\alpha?, \delta$
pyrimidiny-2	δ	α, β
méthyl-4	δ	
diméthyl-4,6	δ	
thiazoly-2	/	SO ₃ ⁻ piégé

Il faut avant tout relativiser les données : dans ce tableau, nous reportons des coupures α, β mais la comparaison ne peut se faire pour celles-ci,

car en photo-C.I.D.N.P., de tels radicaux ont une durée de vie trop courte pour donner naissance à des polarisations.

Pour le sulfanilamide, mises à part les coupures α et β , la photo-C.I.D.N.P. et la R.P.E. mettent en évidence les mêmes types de coupure tandis que pour le sulfacétamide, notre technique montre deux coupures - γ et ϵ - non identifiées par la R.P.E. La coupure γ n'est également pas identifiée par R.P.E. dans le cas du carbutamide. Lorsque la fonction amine est remplacée par un méthyle, la photo-C.I.D.N.P. ne met en évidence aucune coupure de la molécule tandis que la R.P.E. montre une coupure en δ . C'est pour la sulfadiazine et ses dérivées que la photo-C.I.D.N.P. donne le plus d'information dans la mesure où la sulfamérazine et la sulfaméthazine n'ont à ce jour jamais été étudiées : seule intervient une coupure en δ , entre le soufre et l'azote.

En conclusion, la technique de photo-C.I.D.N.P. permet d'identifier les radicaux issus de l'irradiation lumineuse de différents sulfamides et présente l'avantage sur la R.P.E. de caractériser les photoproduits qui en dérivent. A l'inverse des résultats obtenus par CHIGNELL, nous n'avons vu aucune dépendance du mode de fragmentation de la molécule, d'une part avec la longueur d'onde excitatrice, d'autre part avec la nature du solvant pour le type de photoproduits observés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- K. AOKI, M. SHIMOTOGE et T. SAITO
J. Dermatol. 1, 99 (1974)
- 2- L. D'SOUZA, R.A. DAY
Science 160, 882 (1968)
- 3- W.L. MORISON, J.A. PARRISH et J.H. EPSTEIN
Photoimmunol. Arch. Dermatol. 115, 350 (1979)
- 4- W. BURCKHARDT
Dermatol. 83, 63 (1941)
- 5- M.A. PATHAK, T.B. FITZPATRICK et J.A. PARRISH
" Principes de Médecine Interne ", T.R. HARRISON (Ed). Vol. 1 p. 273 (1982)
- 6- G.V. JAMES
Biochem. J. 34, 636 (1940)
- 7- T.D. WHITTET
a) Pharm. J. 163, 177 (1949)
b) Ibid. 165, 309 (1950)
- 8- C.J. SWARTZ et J. AUTIAN
J. Amer. Pharm. 47 (7), 490 (1958)
- 9- R. OTTENBERG et C.L. FOX
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 38, 479 (1938)
- 10- H.W. TOMSKI
Pharm. J. 146, 101 (1941)
- 11- S.M. ROSENTHAL et H. BAUER
Science 91, 509 (1940)
- 12- N.I. LEVITAN
J. Amer. Chem. Soc. 65, 2265 (1943)
- 13- J. PAWLACZYK, W. TUROWSKA et K. NOWICKA
Acta Polon. Pharm. 32 (1), 53 (1975)
- 14- L.E. SHINN, E.R. MAIN et R.R. MELLON
Proc. Soc. Exp. Biol. 52, 736 (1939)
- 15- J. PAWLACZYK et W. TUROWSKA
Acta Polon. Pharm. 31 (1), 65 (1974)

- 16- J. PAWLACZYK et W. TUROWSKA
Acta Polon. Pharm. 31 (1), 70 (1974)
- 17- J. PAWLACZYCK, W. TUROWSKA et B. ROZNIAK
Ibid. 33, 87 (1976)
- 18- J. REISCH et D.H. NIEMEYER
Arch. Pharm. 305, 135 (1972)
- 19- K. SCHWARTZ et M. SPECK
Dermatol. 114, 232 (1957)
- 20- J.K. ROTHENSTEIN, K.SCHWARTZ, M. SCHWARTZ-SPECK et H. STORCK
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 29, 1 (1966)
- 21- A.N. FROLOV, O.V. KUL'BITSKAYA et A.V. ELTSOV
Zh. Org. Khim. SSSR 8 (2), 432 (1972)
- 22- A. ABAD, D. MELLIER, J.P. PETE et C. PORTELLA
a) Tetrahedron Lett. 47, 4555 (1971)
b) Ibid. 4559 (1971)
- 23- A.V. ELTSOV, O.V. KUL'BITSKAYA et A.N. FROLOV
Zh. Org. Khim. SSSR 8, 76 (1972)
- 24- P.A. CLARKE
Pharm. J. 194, 375 (1965)
- 25- T. AHMAD
Pharmazie 37, 559 (1982)
- 26- R.N. GOYAL, N.C. MATHUR et S. BHARGAVA
J. Electroanal. Chem. 247, 229 (1988)
- 27- W.H.K. SANNIEZ et N. PILPEL
J. Pharm. Sci. 69 (1), 5 (1980)
- 28- L.C. HARBER et R.L. BAER
dans " The Biologic Effects of Ultra-Violet Radiation " -Ed F. URBACH-
p. 519. -Pergamon Press- Oxford.
- 29- C.F. CHIGNELL, B. KALYANARAMAN, R.P. MASON et R.H. SIK
a) Photochem. Photobiol. 32, 563 (1980)
b) Ibid. 34, 147 (1981)
- 30- A.G. MOTTEN et C.F. CHIGNELL
Photochem. Photobiol. 37 (1), 17 (1983)
- 31- C.F. CHIGNELL
Environ. Health Perspect. 61, 133 (1985)
- 32- R.P. MASON et C.F. CHIGNELL
Pharmacol. Rev. 33 (4), 189 (1982)
- 33- J.L. GUPTA et H.C. MITAL
Indian J. Pharm. 27 (9) 251 (1964)

- 34- H.DÜRR, B. WEISS et F. GOLPASHIN
Arch. Pharm. 317, 906 (1984)
- 35- B. WEISS, H. DÜRR et J. HAAS
Angew. Chem. Int. Ed. 92, 648 (1980)
- 36- R.P. MASON
dans "Reviews in Biochemical Toxicology" .Vol. 1. (Eds : E. HODGSON, J.R. BEND et R.M. PHILPOT)- p. 151. New-York (1979)
- 37- R.P. MASON
dans "Free Radicals in Biology". Vol. 5. (Ed : W.A. PRYOR) p. 161. Academic Press, New-York (1982)
- 38- J.L. KICE
dans " Free Radicals " - Ed J.K. KOCHI -Vol. 2 p. 711-740.
- 39- B.C. GILBERT et P.R. MARRIOT
J. Chem. Soc. Perkin Trans. 11, 191 (1980)
- 40- B. LJUNGGREN et H. MÖLLER
Acta Dermato-venerereol. 58, 125 (1978)
- 41- T.M. MURPHY
Biochem.Biophys. Res. Commun. 65, 1108 (1975)
- 42- B.K. SINHA, J.T. ARNOLD et C.F. CHIGNELL
Photochem. Photobiol. 35, 413 (1982)
- 43- J.L. BEC, P. DELRIEU, G. ABRAYANEL et N. PAILLOUS
Photochem. Photobiol. 44 (1), 41 (1986)
- 44- R. KAPTEIN et P. WEITH
J.C.S. Chem. Commun. 538 (1980)
- 45- The Merck Index (10eme édition) - Ed M. WINDHOLZ - New-York (1983).
- 46- D. BLOOM
J. Med. 43, 1499 (1943)
- 47- J. MARKO
Thèse de 3ème cycle. Chap. III, Lille, (1977).
- 48- S. CAPLAIN
Thèse d'état ès Sciences Physiques, Chap. III, Lille (1980).
- 49- The Aldrich Library of N.M.R. Spectra
a) Vol. 10, 40 C
b) Vol. 10, 41 D
- 50- T. J. SIEK et R.J. OSIEWICZ
J. Forensic Sci. 20 (1), 525 (1975)
- 51- The Sadtler Handbook of Proton N.M.R. Spectra
Ed W.W. SIMONS, p. 213 (USA)

- 52- R.W. FESSENDEN et R.H. SCHULER
J. Chem. Phys. 39, 2147 (1963)
- 53- M. Mc MILLAN et W.A. WATERS
J. Chem. Soc. (B), 422 (1966)
- 54- P.H. KASAI, P.A. CLARK et E.B. WHIPPLE
J. Amer. Chem. Soc. 92, 2640 (1970)
- 55- G.F. LEHR et N.J. TURRO
Tetrahedron 37 (19), 3411 (1981)
- 56- J.E. BENNET, B. MILE et B. WARD
Chem. Commun. 13 (1969)
- 57- W.C. DANEN et C.T. WEST
J. Amer. Chem. Soc. 95, 5716 (1973)
- 58- J.A. DEN HOLLANDER, R. KAPTEIN et P.A. BRAND
Chem. Phys. Lett. 10, 430 (1971)
- 59- H. LEMAIRE
J. Chem. Phys. 559 (1967)
- 60- J.A. POPLÉ et D.L. BEVERIDGE
dans " Approximate Molecular Orbital Theory " Mc Graw-Hill Inc. (1970)
- 61- M. FUKUYO, K. HIROTSU et T. HIGUCHI
Acta Cryst. B 38, 640 (1982)
- 62- A. STREITWIESER
dans "Molecular Orbital Theory for Organic Chemists". Wiley and Sons
Inc., New-York (1961)
- 63- A. GREENWOOD
N. Engl. J. Med. 224,237 (1941)
- 64- R.G. FREEMAN, W. MURTISHAW et J.M. KNOX
J. Invest. Dermatol. 54 (2), 164 (1970)
- 65- J.A. PARRISH
dans "Dermatology in General Medecine" (Eds: T.B. FITZPATRICK) New-york,
Mac Graw-Hill (1979)
- 66- R.R. ERNST, A. SCHÄUBLIN et A. HÖHENER
J. Magn. Resonance 13, 196 (1974)
- 67- C. TEMPLE et J.A. MONTGOMERY
J. Org. Chem. 30, 826 (1965)
- 68- S. GRONOWITZ et R.A. HOFFMAN
Ark. Kemi 16, 459 (1960)
- 69- S. GRONOWITZ, B.NORRMAN, B. GESTBLUM, B. MATHIASSEN et R.A. HOFFMAN
Ark. Kemi 22, 65 (1964)

- 70- J. SCHEINBEIM et E. SCHEMPP
Acta Cryst. B 32, 607 (1976)
- 71- P.J. WEATLEY
Acta Cryst. 13, 80 (1960)
- 72- S. TERABE et K. KONAKA
J. Amer. Chem. Soc. 93, 4306 (1971)
- 73- T. OPPENLÄNDER
Chimia 42 (10), 331 (1988)
- 74- J. MARKO
Thèse d'état ès Sciences Physiques, Lille (1986)
- 75- A. FILALI
Thèse de Doctorat, Lille (1987)
- 76- M.A. PATHAK, T.B. FITZPATRICK, L.C. HARBER, M. SEJI et A. KUKITA
dans "Sunlight and Man" (Ed: M.A. PATHAK et al.), Univ. Tokyo Press, Tokyo
(1974)
- 77- M. MOSER et A.I. MACAULAY
Am. J. Cardiol. 3, 214 (1959)
- 78- J.R. ROGIN
Arch. Dermatol. 78, 504 (1958)
- 79- R.W. WILKINS
J. Amer. Med. 167, 801 (1958)
- 80- A.L. NORINS
Arch. Dermatol. 79, 592 (1959)
- 81- L.C. HARBER, A.M. LASHINSKY et R.L. BAER
N. Engl. J. Med. 261 (27), 1378 (1959)

CHAPITRE IV

ETUDE PHOTOCHEMIE DE LA SULFAMERAZINE

Bien que certains résultats mentionnent la nature des photoproduits formés au cours de l'irradiation de sulfanilamide¹, la photochimie des sulfamides comportant un noyau pyrimidine a été jusqu'à ce jour peu étudiée. En effet, seuls les travaux de R.P.E. conduits par CHIGNELL² traitent de ce sujet, sans toutefois s'intéresser à la nature des photoproduits formés au cours de l'irradiation de solutions aqueuses de sulfadiazine. A notre connaissance, aucune tentative d'identification de ces photoproduits n'a été réalisée, ni pour la sulfadiazine, la sulfamérazine ou la sulfaméthazine.

Nous avons donc entrepris l'étude photochimique de la sulfamérazine afin de corréliser ces résultats avec ceux obtenus par photo-C.I.D.N.P. Le choix de la sulfamérazine s'est révélé plus intéressant que celui de la sulfadiazine, en raison de la présence du méthyle sur le noyau pyrimidine qui simplifie le spectre R.M.N., notre but étant d'identifier la nature des photoproduits par cette technique.

1- PHOTOCHEMIE DE LA SULFAMERAZINE

1- Evolution du spectre U.V. de la sulfamérazine

La sulfamérazine en solution aqueuse ($5 \cdot 10^{-4}$ M) présente deux bandes d'absorption, l'une à 240 nm, l'autre à 260 nm. Nous avons constaté que l'irradiation d'un tel échantillon par une lampe Xénon-Mercure (ORIEL de puissance 200 Watts) modifiait de façon notable son spectre U.V. (cf. figure 1) et révélait l'apparition d'un nouveau photoproduit : en 15 min d'irradiation, on constate simultanément la disparition de la bande à 260 nm et l'apparition d'un maximum d'absorption à 292 nm, caractéristique d'une amino-2 pyrimidine. Si l'on prolonge de 15 min cette durée d'irradiation, le spectre U.V. n'évolue plus.

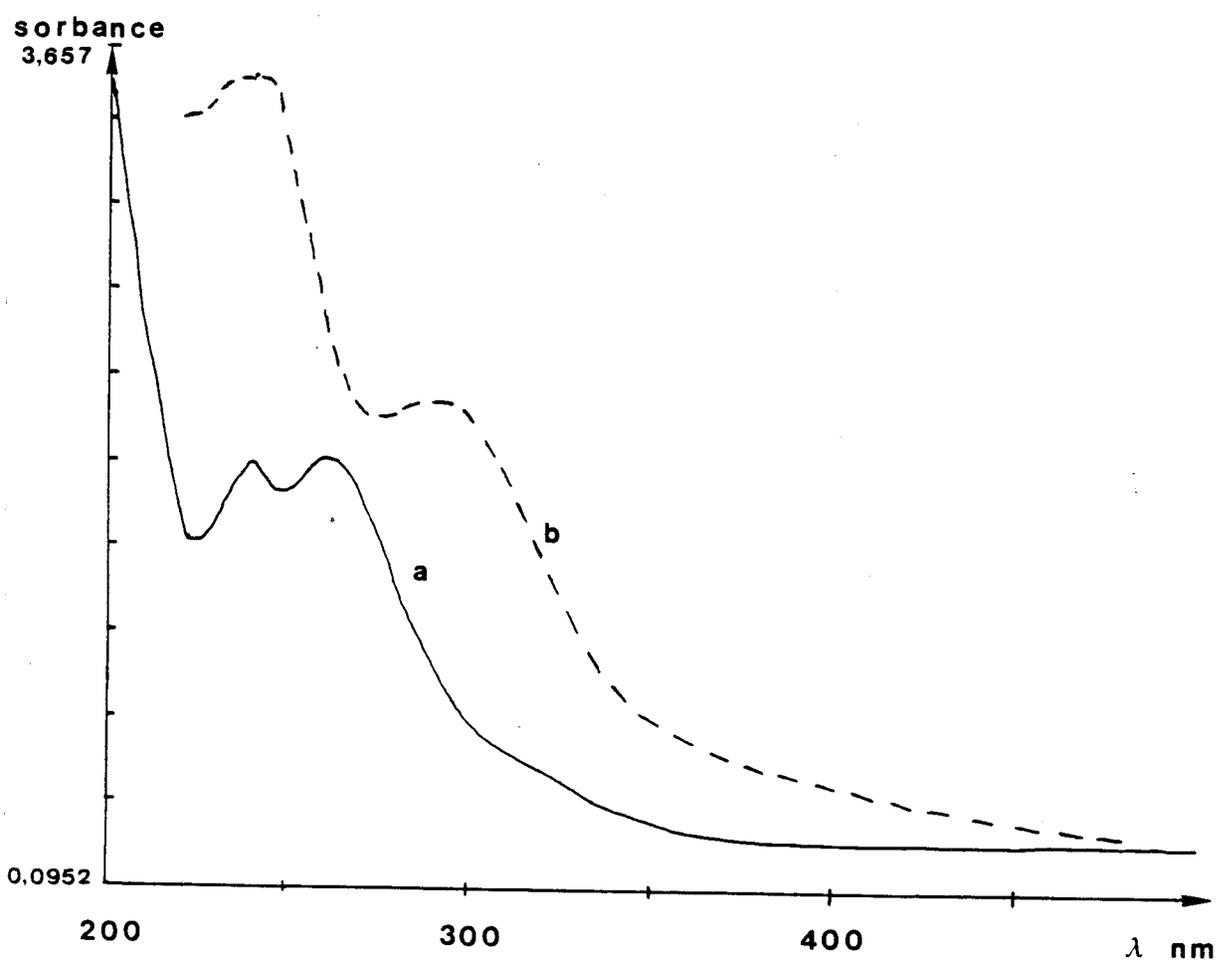


Figure 1
Modification du spectre U.V. d'une solution méthanolique de sulfamérazine : a- avant irradiation
b- après irradiation

2-Irradiation de la sulfamérazine dans la sonde R.M.N.

L'étude photo-C.I.D.N.P. présentée dans le chapitre précédent a montré un comportement identique de la sulfadiazine et de ses homologues. En effet, chaque molécule irradiée induit essentiellement la formation de trois photoproduits, dont l'amino-2 pyrimidine correspondante. Nous avons alors irradié divers échantillons avec le dispositif utilisé en photo-C.I.D.N.P..

Cette étude est tout d'abord réalisée avec une solution méthanolique de sulfamérazine ($5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$). Le choix du méthanol comme solvant est imposé par la difficulté d'éliminer l'eau en cours de manipulation (séparation, purification, ...) et par la plus grande solubilité des sulfamides dans ce solvant³, le seuil de solubilité restant malgré tout faible. Cet échantillon est irradié 15 min, temps au bout duquel on observe l'accumulation des produits qui correspondent aux polarisations obtenues dans le spectre de C.I.D.N.P..

La figure 2 représente un spectre R.M.N. enregistré après 15 min d'irradiation d'une solution méthanolique de sulfamérazine.

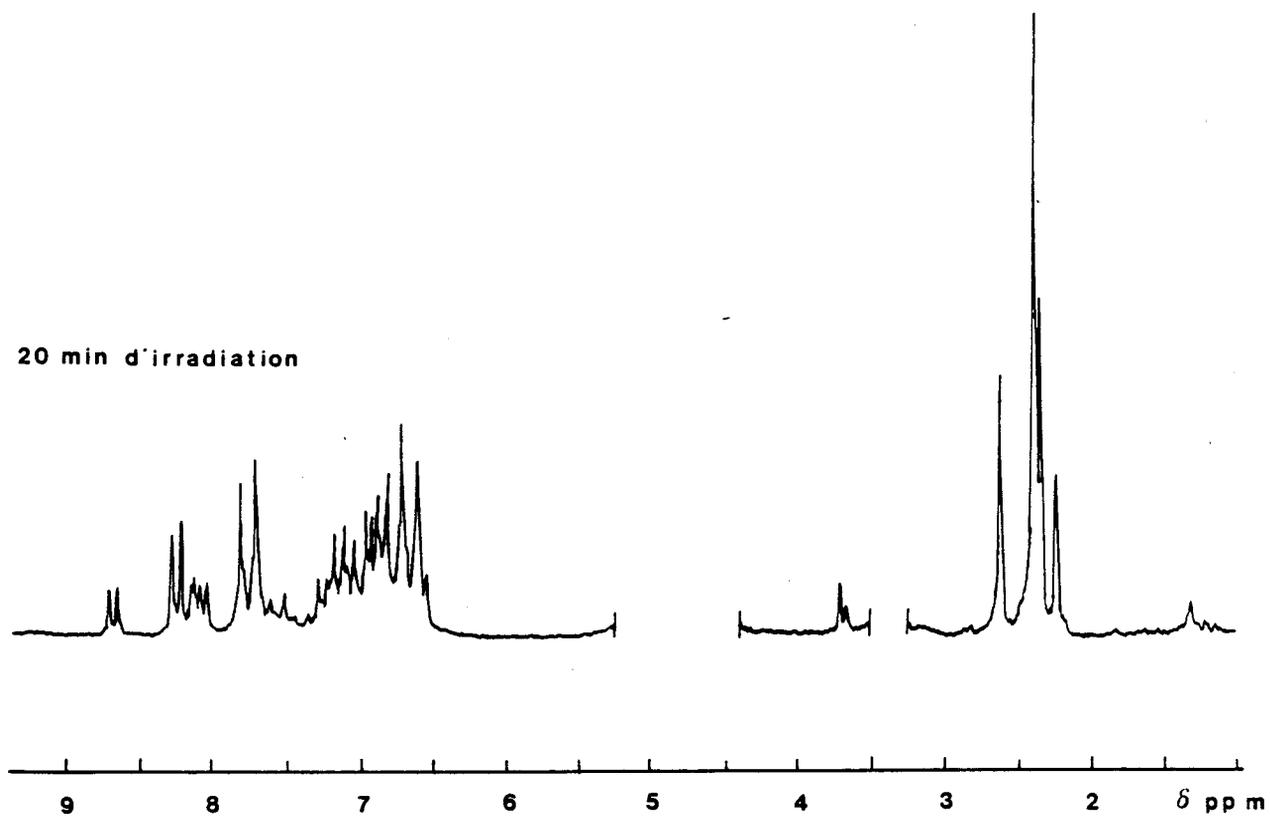
On distingue également un massif complexe à 7 ppm dont certains signaux correspondent, d'après leur déplacement chimique et leurs constantes de couplage à des protons H₅ de structures pyrimidiniques⁴ : un doublet à 6,91 ppm ($J = 4 \text{ Hz}$), l'autre à 7,05 ppm ($J = 6,5 \text{ Hz}$).

Il est ici tout-à-fait remarquable que l'on retrouve dans le spectre R.M.N. tous les signaux qui donnent des effets de C.I.D.N.P..

Remarque : il est nécessaire de souligner deux points. Tout d'abord, l'enregistrement des spectres R.M.N. lors de cette étude photochimique est effectué après irradiation de l'échantillon, par conséquent après extinction de la source lumineuse et une attente de 10 min : nous sommes ainsi sûrs que les signaux observés appartiennent à des produits accumulés dans le tube de R.M.N. et relativement stables. C'est ce que confirme l'enregistrement, au bout de 24 h, de spectres R.M.N. des échantillons laissés au repos : aucun des signaux ne s'est modifié au cours du temps. D'autre part, l'accumulation des photoproduits est identique pour des solutions aqueuse et méthanolique de sulfamide.

De même, l'enregistrement de chromatogrammes HPLC au bout de 15 min d'irradiation de la solution méthanolique de sulfamérazine a montré l'apparition de 5 nouveaux photoproduits : la figure 3 met en évidence la disparition du pic de la sulfamérazine au profit de ceux des photoproduits. On constate qu'il reste en solution après 15 min d'irradiation 80 % de sulfamérazine : la dégradation de

après 20 min d'irradiation



h ν

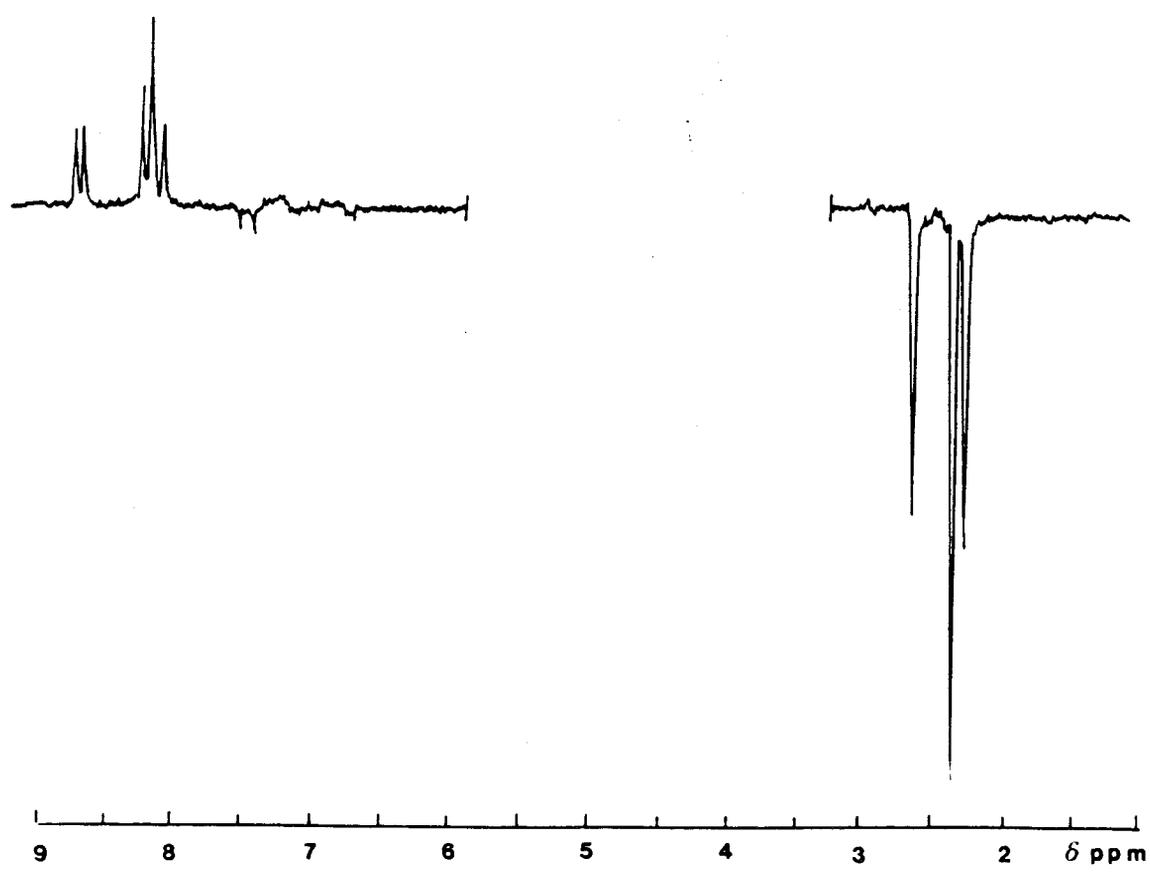


Figure 2
Comparaison des spectres de R.M.N. et de photo-C.I.D.N.P. de la sulfamérazine.

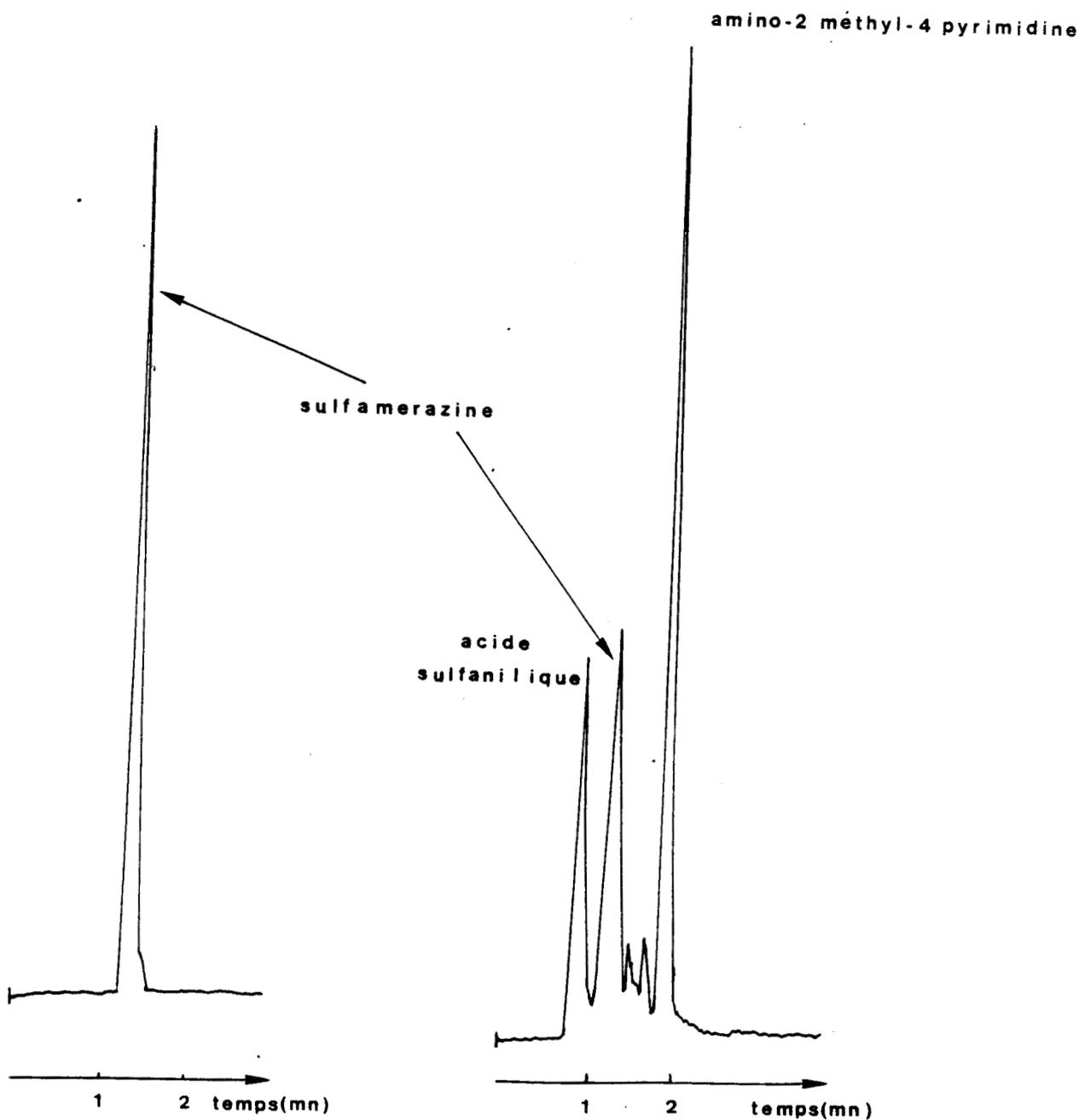


Figure 3
Chromatogrammes HPLC obtenus avant et après irradiation d'une solution méthanolique de sulfamérazine.

20 % de sulfamide a conduit à la formation de 6 photoproduits au minimum. Certaines concentrations sont trop faibles pour être raisonnablement prises en considération, mais les effets de C.I.D.N.P. n'étant en aucun cas fonction de la concentration des espèces, il n'est pas exclu que des photoproduits en très faibles quantités jouent un rôle dans le mécanisme primaire de la photoréaction.

Ce type d'étude a également été réalisé avec la sulfadiazine et la sulfaméthazine : les spectres R.M.N. des solutions méthanoliques de ces deux molécules enregistrés dans les conditions précédentes montrent également une corrélation entre les produits accumulés et les polarisations observées sur les spectres de C.I.D.N.P. Les chromatogrammes HPLC correspondants mettent également en évidence la formation de 6 photoproduits pour chaque solution étudiée.

Ces résultats nous ont incités à nous intéresser au mélange réactionnel obtenu.

II- SEPARATION DES PHOTOPRODUITS ISSUS DE L'IRRADIATION DE LA SULFAMERAZINE

1- Mode opératoire

Le but de cette étude est d'identifier les produits obtenus au cours de l'irradiation de sulfamérazine dans le méthanol.

Une solution méthanolique de sulfamérazine ($7,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) est irradiée 2 h dans une cellule en quartz, sous azote, à l'aide d'une lampe quartz-halogène (puissance 250 Watts). La température de la solution est maintenue à 12° C grâce à un courant d'eau. La réaction est suivie par HPLC (éluant : 85 % CH_3OH , 15 % H_2O).

2- Les résultats

Au cours de l'irradiation, la solution se colore en jaune et un résidu marron se dépose peu à peu sur les parois du ballon. Ce résidu est insoluble dans la plupart des solvants organiques. L'enregistrement de chromatogrammes à intervalles de temps réguliers nous permet de constater d'une part, la

diminution régulière du pic de la sulfamérazine, d'autre part, l'apparition de plusieurs photoproduits (cf. figure 4).

(i) Disparition de la sulfamérazine au cours du temps

La sulfamérazine disparaît très rapidement : en 30 min d'irradiation, plus de 60 % du produit s'est dégradé. La figure 5 montre l'évolution de la quantité de sulfamérazine pour différentes durées d'irradiation. La concentration du produit a été déterminée pour les différents temps d'irradiation par pesée de l'aire du pic correspondant : au bout de 2 h, pratiquement toute la sulfamérazine s'est dégradée.

(ii) Apparition des photoproduits

Deux produits très polaires et de structures voisines se sont formés : l'un d'eux est l'acide sulfanilique. Sa structure est déterminée par comparaison avec le chromatogramme d'un échantillon authentique : son temps de rétention est faible. L'autre produit pourrait être $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \text{SO}_2\text{H}$, l'acide sulfinilique, puisque l'un des radicaux de la paire mise en jeu au cours de photodégradation de la sulfamérazine est $\text{H}_2\text{N C}_6\text{H}_4 \dot{\text{S}}\text{O}_2$. Il faut noter que l'acide sulfanilique, qui dérive du deuxième radical de la paire impliquée dans la formation des photoproduits - le premier étant $\text{HN} \begin{array}{c} \diagup \text{N} \\ \diagdown \text{N} \end{array} \text{CH}_3$ - n'a jamais donné d'effets de C.I.D.N.P.

Après une heure d'irradiation, la quantité d'acide sulfanilique et du produit dérivé est presque maximale ; elle augmente peu par la suite. Il y a ainsi 20 % des deux acides dans le mélange, au bout d'1h 30 d'irradiation. L'acide sulfanilique a également été identifié par son spectre U.V. : l'appareil utilisé (se reporter à la partie expérimentale) permet d'obtenir le spectre U.V., au sein du mélange, de chacun des produits.

Un des photoproduits qui donne des effets de C.I.D.N.P. apparaît ici en quantité importante : il s'agit de l'amino-2 méthyl-4 pyrimidine, aisément caractérisé par son spectre U.V.^{5a,b} (maxima : 230 nm et 295 nm). Par comparaison avec une solution témoin de concentration connue, on détermine la quantité de produit formé. La figure 6 montre l'apparition de l'amino-2 méthyl-4 pyrimidine en fonction de la durée d'irradiation. En 30 min d'irradiation, il s'est formé $1,4 \cdot 10^{-3}$ M de produit et 30 min supplémentaires sont nécessaires pour augmenter de 50 % cette quantité. Au delà, il n'y a pas de variation significative. De plus, cette étude montre que la fraction contenant l'amino-2 méthyl-4 pyrimidine est pure : une carte de densité, obtenue par intégration des

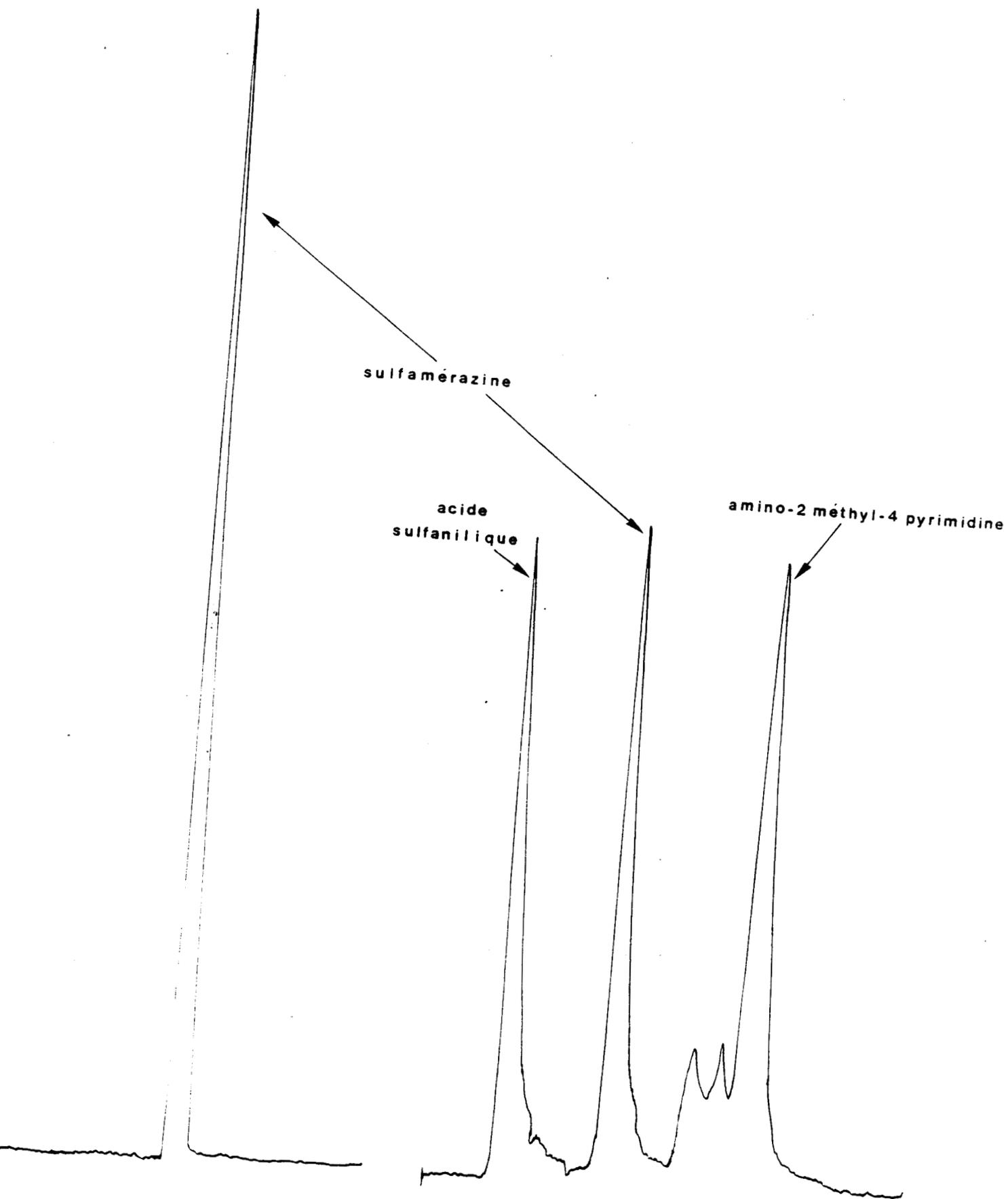


Figure 4
Apparition de nouveaux photoproduits lors de l'irradiation de solution
méthanolique de sulfamérazine.

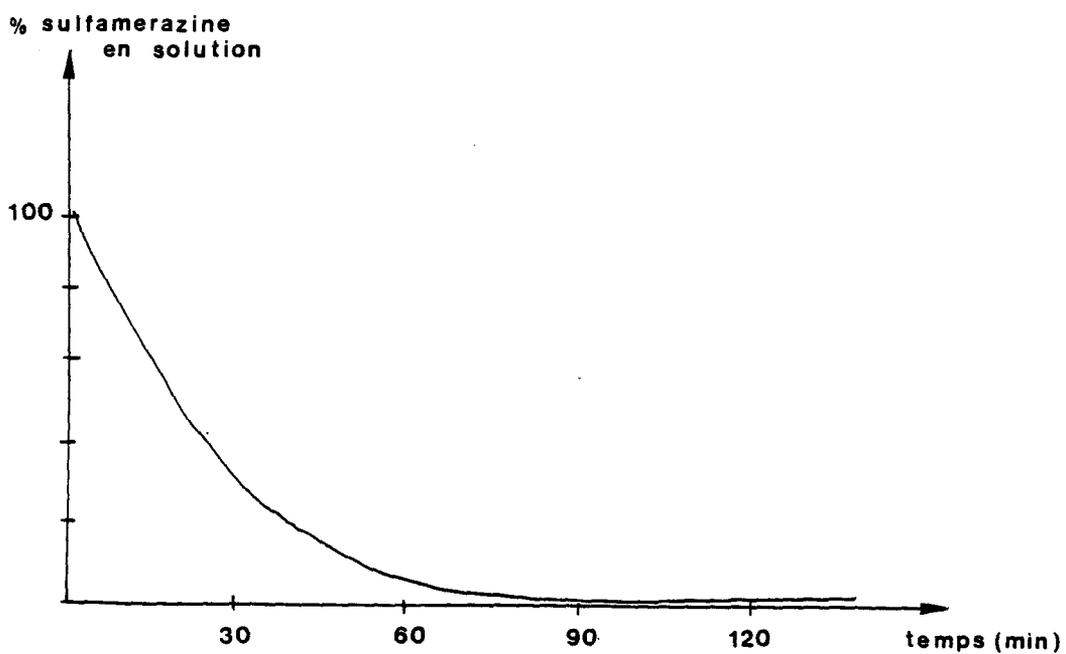


Figure 5
Evolution de la quantité de sulfamérazine en fonction de la durée d'irradiation.

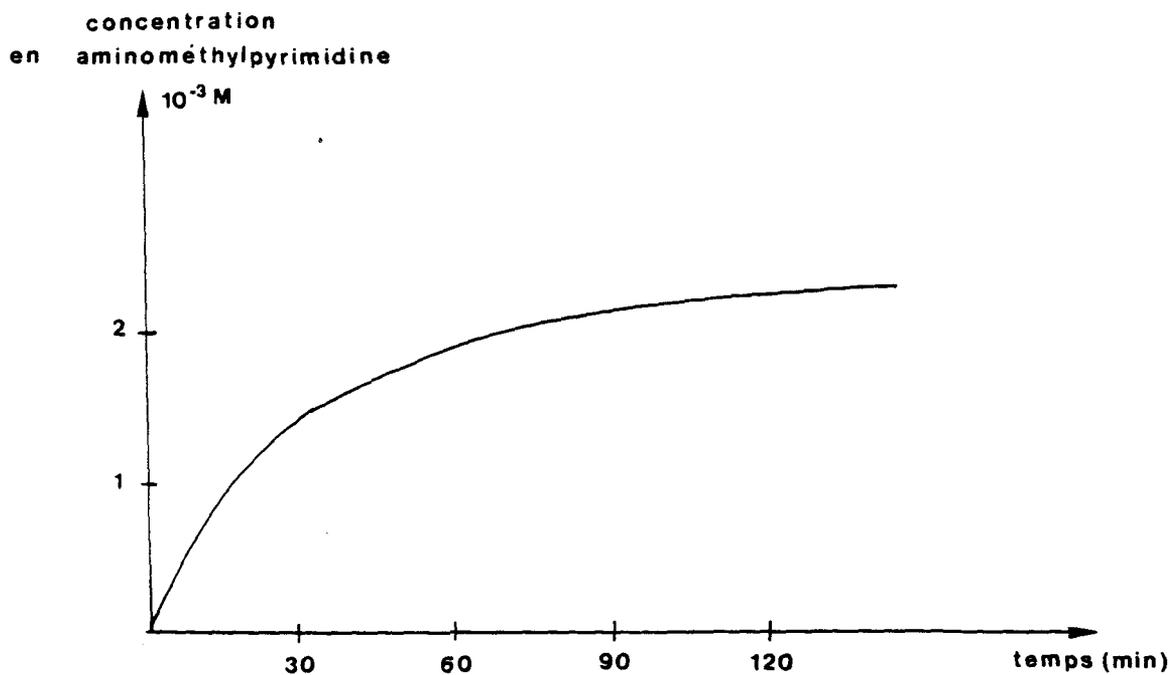


Figure 6
Apparition de l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine en fonction de la durée d'irradiation.

différentes courbes d'absorption, permet d'indiquer, grâce à la symétrie du schéma, la pureté d'un produit. La figure 7 montre une tache symétrique pour l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine et non pour les autres photoproduits.

Nous avons également constaté que le fait de laisser au repos pendant 4 h - donc en présence de lumière et d'oxygène - une solution irradiée 1 h, entraînait une augmentation de la quantité de l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine. On peut ainsi penser qu'intervient un effet thermique et que cette augmentation de concentration est due à la transformation d'un autre photoproduit en amino-2 méthyl-4 pyrimidine : il pourrait s'agir d'une iminopyrimidine, dont nous avons soupçonné la formation à partir des spectres C.I.D.N.P..

Les trois autres photoproduits obtenus ne sont pas identifiés, bien que nous ayons leurs spectres U.V. (cf. figure 8). L'un d'entre-eux, caractérisé par un temps de rétention de 1,94 min présente un maximum d'absorption à 272 nm. Les deux autres ont des temps de rétention très proches ($t_r = 2,8$ min et $t_r = 2,9$ min) : l'un présente un maximum d'absorption à 225 nm et un épaulement à 290 nm, l'autre un faible épaulement vers 270 nm. Une hypothèse que nous avons faite quant à la présence de méthyl-4 pyrimidine s'est révélée fautive : en effet, notre photoproduit ($t_r = 2,8$ min) présente un effet hypsochrome non négligeable par rapport à la méthyl-4 pyrimidine⁶ (moins 25 nm).

3- Séparation des photoproduits

Plusieurs tentatives de séparation des photoproduits formés au cours de l'irradiation de solution méthanolique de sulfamérazine ont été entreprises : d'une part, sur plaques de silice, d'autre part grâce à la chromatographie liquide haute performance (CLHP).

a- Séparation sur plaques de silice

Après irradiation durant 2 h de 100 ml d'une solution méthanolique de sulfamérazine ($7 \cdot 10^{-3}$ M), le méthanol est évaporé sous vide. Le résidu ainsi obtenu est déposé sur dix plaques de silice, que l'on place dans une cuve contenant du méthanol pur. Cet éluant très polaire s'est révélé nécessaire pour faire migrer tous les produits^{7,8}. La révélation des produits est assurée par U.V. ($\lambda = 254$ nm). Le schéma ci-après indique le nombre de fractions obtenues :

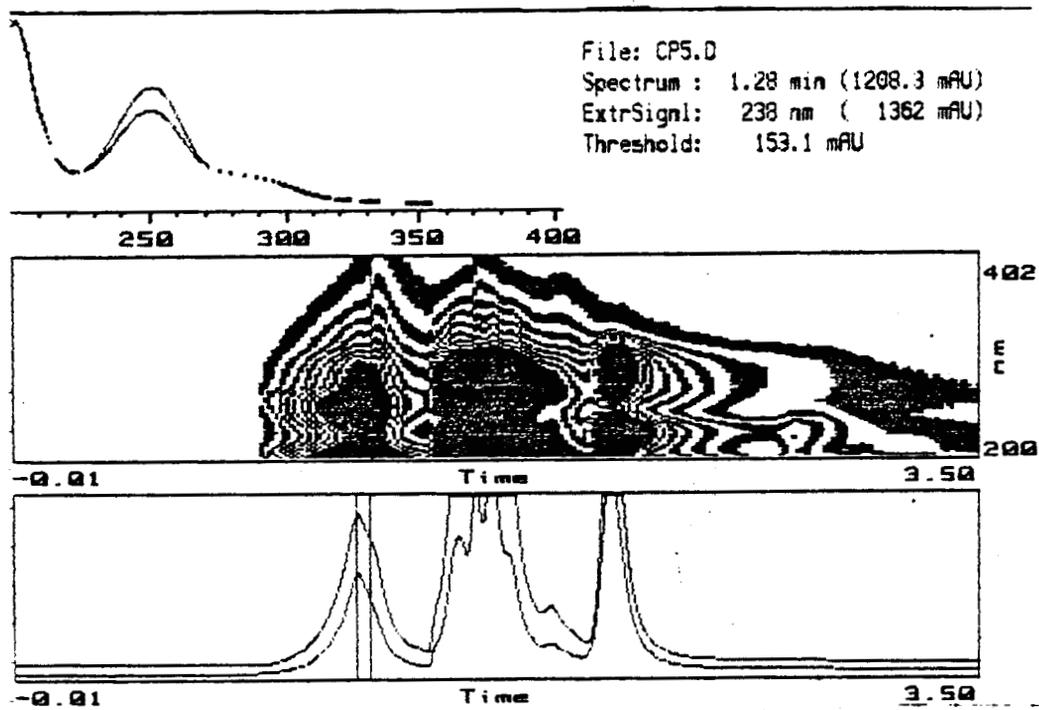


Figure 7
Cartes de densité relatives à la pureté des fractions.

amino-2 methyl-4 pyrimidine

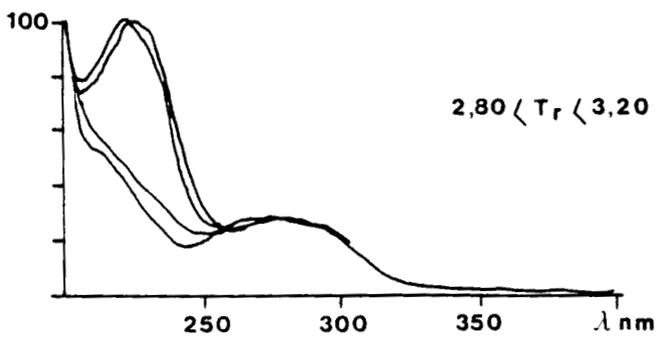
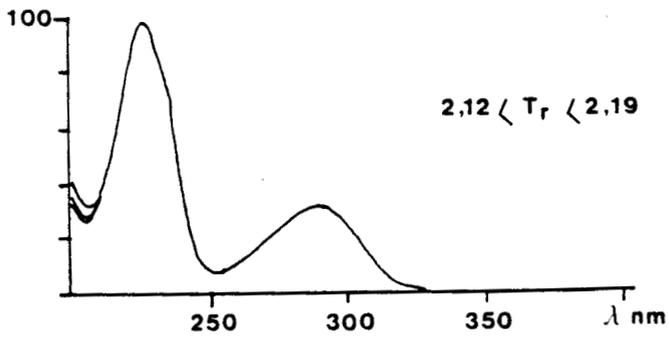
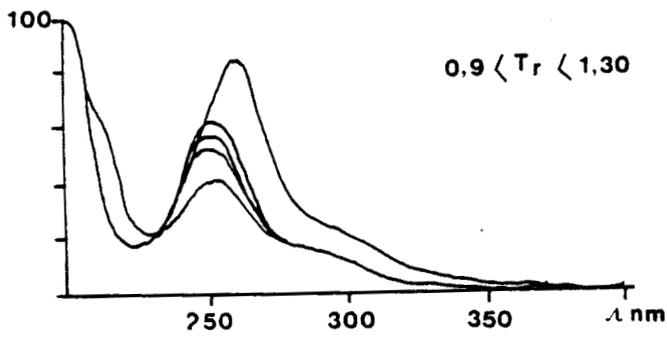
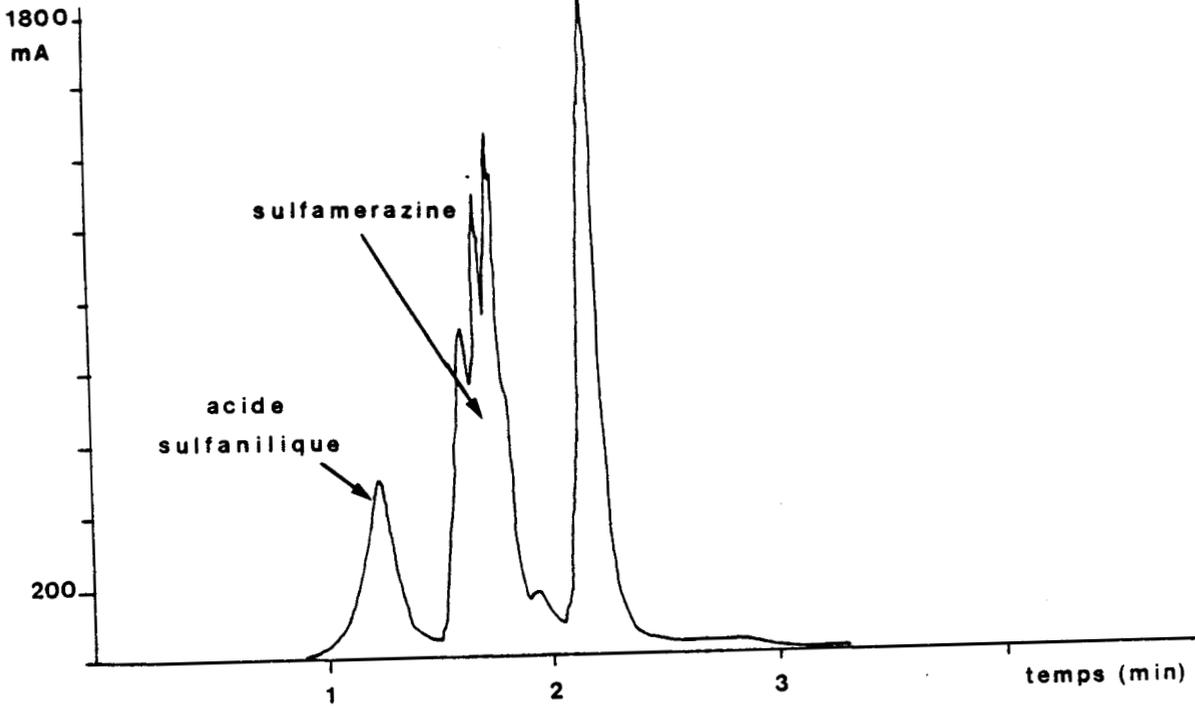
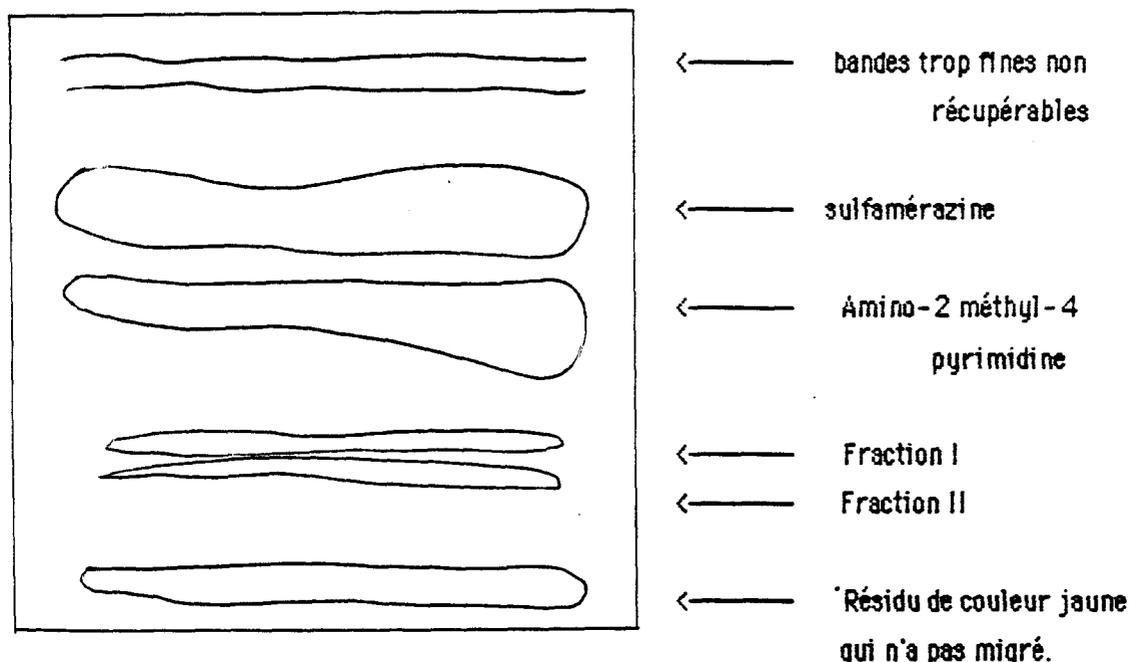


Figure 8

Caractérisation in situ des photoproduits par leurs spectres UV



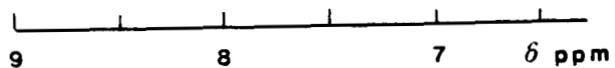
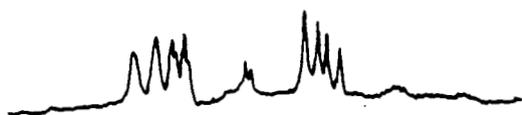
Bien que l'on ait utilisé un éluant très polaire, il subsiste dans le bas de la plaque un résidu jaune. Chaque fraction est lavée avec du méthanol, séchée sur $MgSO_4$ puis le solvant est éliminé. L'analyse des spectres R.M.N. de ces différentes fractions nous permet de constater que l'une d'entre-elle correspond bien à l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine : $\delta (H_5) = 6,56$ ppm (d); $\delta (H_6) = 8,09$ ppm (d); $\delta (CH_3) = 2,32$ ppm (s). Pour les fractions I et II, nous ne récupérons que quelques milligrammes de produit si bien que leur identification est impossible. Afin d'améliorer les rendements, nous avons modifié les conditions opératoires :

- extraction des produits au dichlorométhane
- éluant : 50 % MeOH, 50 % $CHCl_3$.
- traitement de 100 plaques de silice

Nous récupérons deux produits dont les spectres R.M.N. dans CD_3OD sont représentés sur la figure 9. L'étude de leurs spectres de R.M.N. et de masse nous ont permis d'établir les constatations suivantes :

- la fraction I ne contient pas un des produits méthylés attendus, i.e. ceux qui donnent des effets de C.I.D.N.P. : le produit est ici caractérisé par deux doublets dédoublés, l'un à 8,10 ppm ($J_1 = 4,8$ Hz, $J_2 = 8,8$ Hz), l'autre à 7,30 ppm ($J_1 = J_2 = 4,8$ Hz). Le massif à 8,10 ppm, à la différence de celui à 7,30 ppm présente une structure fine. Sa constante de couplage J_2 est caractéristique des protons aromatiques. Pour chaque massif, seules les deux raies à champ élevé ont une constante de couplage identique ($J_1 = 4,8$ Hz), caractéristique des protons

Fraction I



Fraction II



Figure 9

Spectres R.M.N. des produits obtenus dans les fraction 1 et 2

portés par un cycle pyrimidine. En raison de la difficulté d'interpréter ce spectre de R.M.N., nous n'avons pu préciser la structure de ce photoproduit.

- enfin, le spectre de masse donne une valeur de 185 g.mol⁻¹ pour la masse du produit. Les fragments fournis par ce spectre sont caractéristiques de H₂N C₆H₅ : m/e (intensité relative %) 185 (100); 93 (75); 65 (35). Nous en déduisons que la structure de ce produit contenu dans la fraction 1 est constituée d'une part d'un cycle aromatique substitué par le groupe NH₂ et d'autre part d'un cycle pyrimidine.

En dernier lieu, nous avons enregistré le spectre U.V. de ce produit : son maximum d'absorption se situe à 270 nm, comme pour les sulfamides comportant un cycle pyrimidine.

- Le spectre R.M.N. du produit contenu dans la deuxième fraction est caractérisé par un massif étroit ($\delta = 7,66$ ppm). Le spectre de masse ne donne aucun renseignement susceptible de caractériser ce produit : seuls sont visibles des fragments de petite taille.

En conclusion, hormis l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine, les produits donnant lieu à des effets de C.I.D.N.P. n'ont pu être isolés, quelles que soient les conditions utilisées.

b- Séparation par chromatographie liquide haute performance (CLHP)

La séparation des photoproduits issus de l'irradiation lumineuse de la sulfamérazine a été réalisée par une autre technique chromatographique : la CLHP semi-préparative^{9,10,11}. Les caractéristiques des divers appareils utilisés sont donnés à la fin du mémoire, dans la partie expérimentale.

L'irradiation de la sulfamérazine est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment. Après évaporation du méthanol, le mélange est redissous dans 2 ml de méthanol pour CLHP, filtré sur papier et injecté dans la colonne. La figure 10 montre le chromatogramme obtenu. Les spectres R.M.N. des produits de chaque fraction sont représentés sur la figure 11. Chaque fraction est ensuite analysée par un chromatographe en phase vapeur (CPG) couplé à un spectromètre de masse. Sur les 4 fractions séparées, seule l'une d'entre elles contient un produit pur : il s'agit de l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine. En ce qui concerne les autres fractions, nous pouvons observer :

- fraction 1 : cette fraction contient plusieurs produits. D'une part, aucun des produits n'est méthylé; d'autre part, les déplacements chimiques des doublets

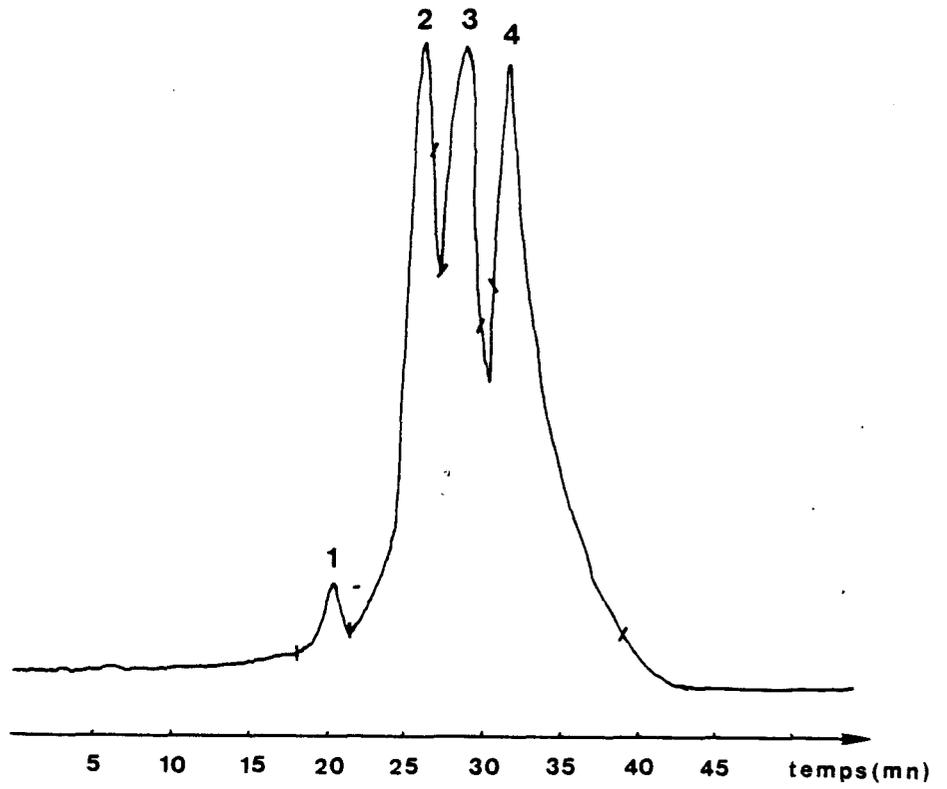


Figure 10
Les différentes fractions séparées par HPLC semi-préparative.

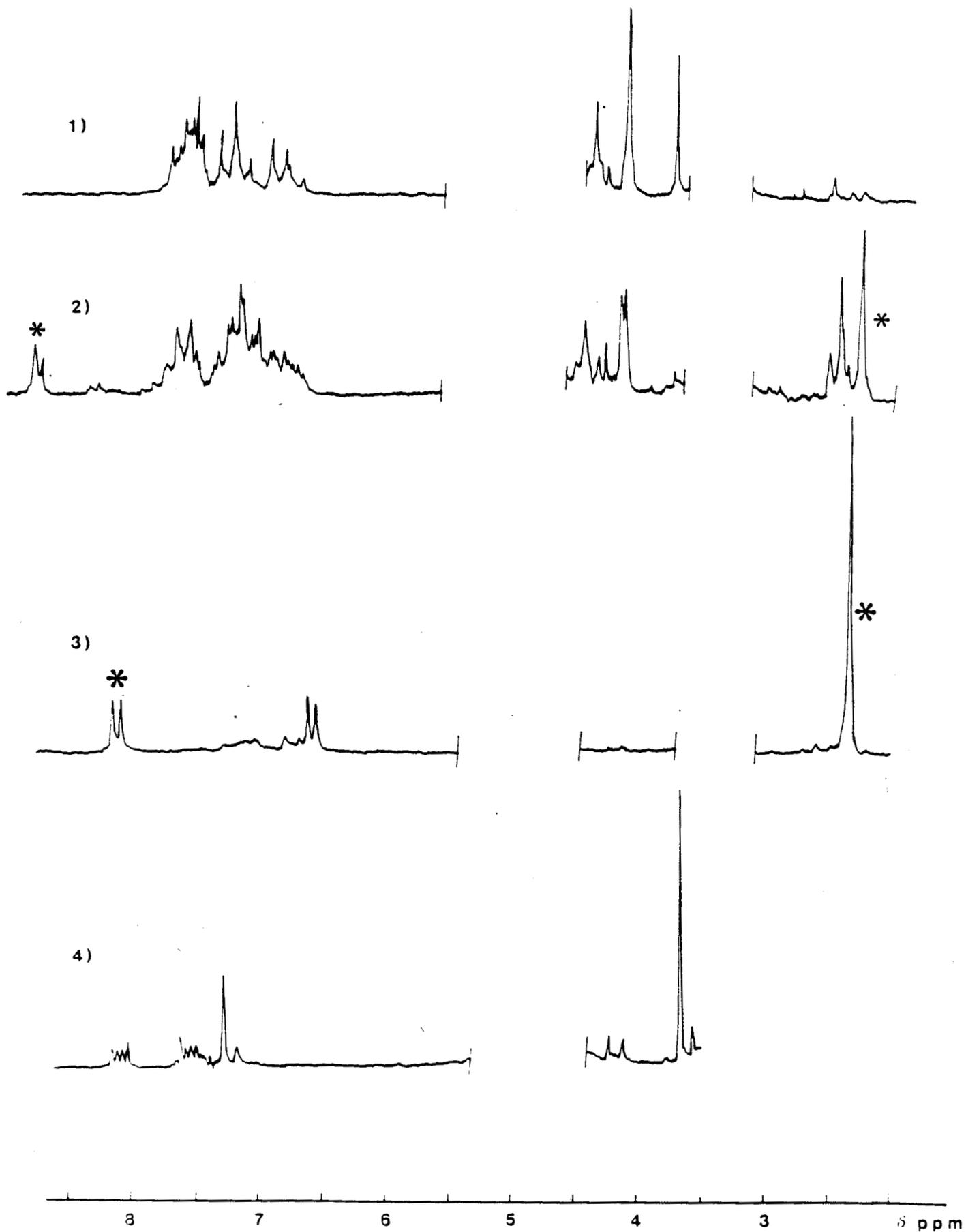


Figure 11

Spectres de R.M.N. des produits contenus dans les fractions 1, 2, 3 et 4.

Les signaux compris entre 4,00 et 4,5 ppm sont relatifs à des protons de type
 $-N-CH_2-OH$.

observés (entre 6,7 ppm et 7,6 ppm) et leurs constantes de couplage ($J = 8,8$ Hz) correspondent à des protons aromatiques. Ces deux faits sont complémentaires puisque l'on y distingue l'acide sulfanilique - δ (H_A) = 7,68 ppm et δ (H_B) = 6,80 ppm -. Ce dernier ne peut être caractérisé par son spectre de masse, car il se décompose sans fusion à 288 °. L'étude des spectres de masse montre également qu'un des produits contient un fragment $H_2N C_6H_5$:
 m/e (intensité relative) = 93 (100), 66 (58).

- fraction 2 : on récupère ici un produit qui donne des effets de C.I.D.N.P.: δ (H_6) = 8,66 ppm (d); δ (CH_3) = 2,20 ppm (s). Ceci confirme l'hypothèse que nous avons formulée dans le chapitre précédent, quant à l'attribution des signaux : les signaux à $\delta = 8,66$ ppm et $\delta = 2,20$ ppm appartiennent à la même molécule et par conséquent le deuxième composé polarisé est caractérisé par les signaux à $\delta = 8,08$ ppm et $\delta = 2,60$ ppm. Malheureusement, la complexité des signaux au niveau de la zone des protons aromatiques (6,5- 7,6 ppm) ne permet pas de préciser la structure de la molécule. Il faut ajouter que nous n'avons trouvé aucune trace du deuxième composé polarisé.

- fraction 3 : cette fraction ne contient qu'un seul produit : l'amino-2 méthyl-4 pyrimidine. Elle est caractérisée par son spectre de R.M.N. (voir figure 11) et par son spectre de masse^{12,13,14} : $m/e = 109$ (100), 82 (25), 68 (17).

- fraction 4 : le produit qui la constitue est représenté par deux doublets dédoublés ($\delta = 8,08$ ppm, $\delta = 7,54$ ppm), couplés entre-eux. Chaque massif est caractérisé par de faibles valeurs de constante de couplage : $J_1 = 3,2$ Hz et $J_2 = 4$ Hz. Cette dernière est caractéristique des constantes de couplage observées sur les cycles pyrimidines. Le spectre de masse ne donne pas de renseignements susceptibles d'en caractériser la structure, car on n'observe que des fragments de petite taille.

Ainsi, nous n'avons récupéré qu'un des deux composés donnant lieu à des effets de C.I.D.N.P., suggérant ainsi une stabilité plus importante de l'un d'entre-eux; comme dans le cas de la séparation sur plaques, seule l'amino-2 méthyl-4 pyrimidine a été isolée. Ceci nous amène à comparer les techniques utilisées : si la CLHP est utilisée avec succès pour caractériser les sulfamides, la technique de chromatographie en phase vapeur (CPG) nécessite des précautions particulières. En effet, les sulfamides étant en général trop polaires pour une introduction directe (certains se décomposent durant l'élution), une

dérivatisation des molécules s'avère judicieuse¹⁵. Dans notre cas, nous n'avons pas traité les molécules avant leur introduction en CPG en raison, d'une part de la complexité du mélange, d'autre part de la diversité des photoproduits.

Remarque : une étude identique à celle que nous venons de développer a été réalisée au cours de l'irradiation de la sulfadiazine dans le méthanol. Les résultats obtenus concordent avec ceux de la sulfamérazine : seule l' amino-2 pyrimidine est isolée et caractérisée par trois techniques :

* R.M.N. : δ (H₄-H₆) = 8,32 ppm et δ (H₅) = 6,80 ppm ,

* par HPLC : comparaison du temps de rétention avec celui d'un échantillon authentique,

* par couplage CPG / Masse : m/e (intensité relative) = 95 (100), 68 (40), 42 (30).

III-CONCLUSION

Cette étude photochimique a permis d'identifier deux photoproduits, formés au cours de l'irradiation de solution méthanolique de sulfamérazine : l'acide sulfanilique et l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine, tous deux provenant d'une même paire radicalaire impliquée dans le mécanisme de photo-C.I.D.N.P..

Nous avons utilisé deux techniques de chromatographie pour séparer les photoproduits : sur plaques de silice et par CLHP semi-préparative. Nous constatons que les résultats les plus intéressants sont obtenus par CLHP semi-préparative. En effet, grâce à celle-ci, nous avons montré, outre la présence d' amino-2 méthyl-4 pyrimidine, la formation d'un des deux composés polarisés en C.I.D.N.P.. Malheureusement, toutes les tentatives entreprises pour l'isoler se sont avérées infructueuses jusqu'à présent. Nous avons cependant, confirmé notre hypothèse relative à l'attribution des signaux des protons H₆ du cycle pyrimidine et ceux des protons méthyliques : le doublet à 8,66 ppm et le signal à 2,20 ppm correspondent à une même molécule (I) et par conséquent le doublet à 8,08 ppm et le signal à 2,61 ppm appartiennent au deuxième composé polarisé (II). Si l'hypothèse des imines se révélait exacte, nous serions alors en présence de dihydro-1,2 imino-2 hydroxy (OD)-1 méthyl-4 pyrimidine (I) et de dihydro-1,2 imino-2 hydroxy(OD)-3 méthyl-6 pyrimidine (II). Seules sont décrites des imino méthyl-4 pyrimidines dont l'azote 1 du cycle porte un substituant méthyle^{16,17,18}. Le fait de ne pas avoir trouvé de traces du deuxième composé

polarisé suggère une différence de stabilité entre les deux imines, éventuellement due à un encombrement stérique.

Le seul produit polarisé en C.I.D.N.P. que nous avons isolé est l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine. Celle-ci a été caractérisée par diverses techniques d'analyse : R.M.N., U.V., Chromatographie phase gazeuse / Masse.

Enfin, il faut souligner que l'étude photochimique de solution méthanolique de sulfadiazine a donné des résultats similaires : le seul produit polarisé en C.I.D.N.P. que nous avons isolé est l' amino-2 pyrimidine, qui a été caractérisée par les diverses techniques utilisées. Ceci confirme le comportement photochimique commun à la sulfamérazine et à ses homologues non méthylé et diméthylé.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Voir réf. 12 à 17 du Chapitre III
- 2- Voir réf. 30 du Chapitre III
- 3- "The sulfonamides and allied compounds" - Northey - Monograph series n° 106, p. 458.
- 4- T.J. BATTERHAM
dans "N.M.R. Spectra of simples heterocycles" - Eds: E.C. TAYLOR et A. WEISSBERGER - John Wiley and Sons, New-York (1973)
- 5- a) J.R. MARSHALL et J. WALKER
J. Chem. Soc. 1004 (1951)
b) J.E. AUSTIN
J. Amer. Chem. Soc. 56, 2141 (1934)
- 6- F. HALVERSON et R.C. HIRT
J.Chem. Phys. 19, 711 (1951)
- 7- M. Th. VAN DER VENNE et J.B. TSIORBEL
Chromatogr., Symp. 2nd, Brussels, 196 (1962)
- 8- L.M. PIRES et A.N. ROSEIRA
An. Acad. Brasil. Cienc. 42 (4), 703 (1970)
- 9- J. JARZEBINSKI et Z. SZRAJBER
Acta Polon. Pharm. 35 (2), 221 (1978)
- 10- H. HUMAGAT, P.F. MCGARRY et R.J. TSCHERNE
J. Pharm. Sci. 68 (7) 922 (1979)
- 11- J. PARASRAMPURIA et V. DAS GUPTA
Drug Develop. Ind. Pharm. 12, 251 (1986)
- 12- J. JÖRG, R. HOURIET et G. SPITELLER
Monatsh. Chem. 97, 1064 (1966)
- 13- R. DAVIS, D.T. HORST et A.R. TAYLOR
J. Appl. Chem. Biotechnol. 27, 543 (1977)
- 14- E. DYNESEN, S.O. LAWESSON et G. SCHROLL
J. Chem. Soc. (B) 15 (1968)
- 15- W.J. IRWIN et J.A. SLACK
J. Chromatogr. 139 364 (1977)

- 16- T.J. BATTERHAM, D.J. BROWN et PADDON-ROW
J. Chem. Soc. (B) 171 (1967)
- 17- D.J. BROWN, L.N. SHORT
J. Chem. Soc., 331 (1953)
- 18- D.J. BROWN, E. HOERGER et S.F. MASON
J. Chem. Soc., 4035 (955)

CHAPITRE V

PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres de R.M.N. ^1H présentés dans ce mémoire ont été enregistrés sur un spectromètre de R.M.N. à transformée de Fourier (BRUKER WP-80 SY WG). Le dispositif expérimental d'irradiation est celui déjà décrit dans d'autres travaux¹.

I- ENREGISTREMENT DES SPECTRES DE PHOTO- C.I.D.N.P.

1- Le dispositif d'irradiation lumineuse

L'électro-aimant du spectromètre R.M.N. BRUKER WP-80 SY WG est conçu de façon à permettre un accès direct à la tête de mesure. Cette dernière est constituée d'une sonde munie d'un insert et d'un dewar en quartz. Le montage optique est représenté sur la figure 1. L'irradiation au niveau de la bobine de détection est possible grâce à une ouverture circulaire de 8 mm de diamètre pratiquée sur la face postérieure de la sonde.

Nous utilisons comme source lumineuse une lampe haute pression Xénon-Mercure à arc court de 1000 W de puissance (ORIEL). Sur le boîtier de cette lampe sont fixés :

- un premier condenseur en quartz de 50 mm de focale (a),
- une cellule à filtre liquide (b) de 80 mm de longueur avec circuit de refroidissement qui permet de dissiper une grande partie de l'énergie calorifique de la source lumineuse,
- un second condenseur (c) en quartz de 250 mm de focale.

Ce dernier permet de focaliser à nouveau le faisceau lumineux sur la face d'entrée d'un guide de quartz (f) de 8 mm de diamètre d'une longueur de 500 mm. Celui-ci transmet directement la lumière à l'intérieur de la sonde (g) au niveau de la bobine de détection. Nous pouvons également disposer sur le trajet optique une seconde cellule de refroidissement (d) à circulation d'eau : elle sert à placer des filtres en verre (h) permettant de sélectionner certaines longueurs d'onde du spectre d'émission de la source lumineuse.

ELECIRO-AIMANT_WP.80

GUIDE DE LUMIERE (f)

SONDE (g)

CONDENSEUR (a)

CELLULE A FILTRE LIQUIDE (h)

CONDENSEUR (c)

ECRAN (e)

CELLULE DE REFROIDISSEMENT (d)

FILTRE (b)

SOURCE

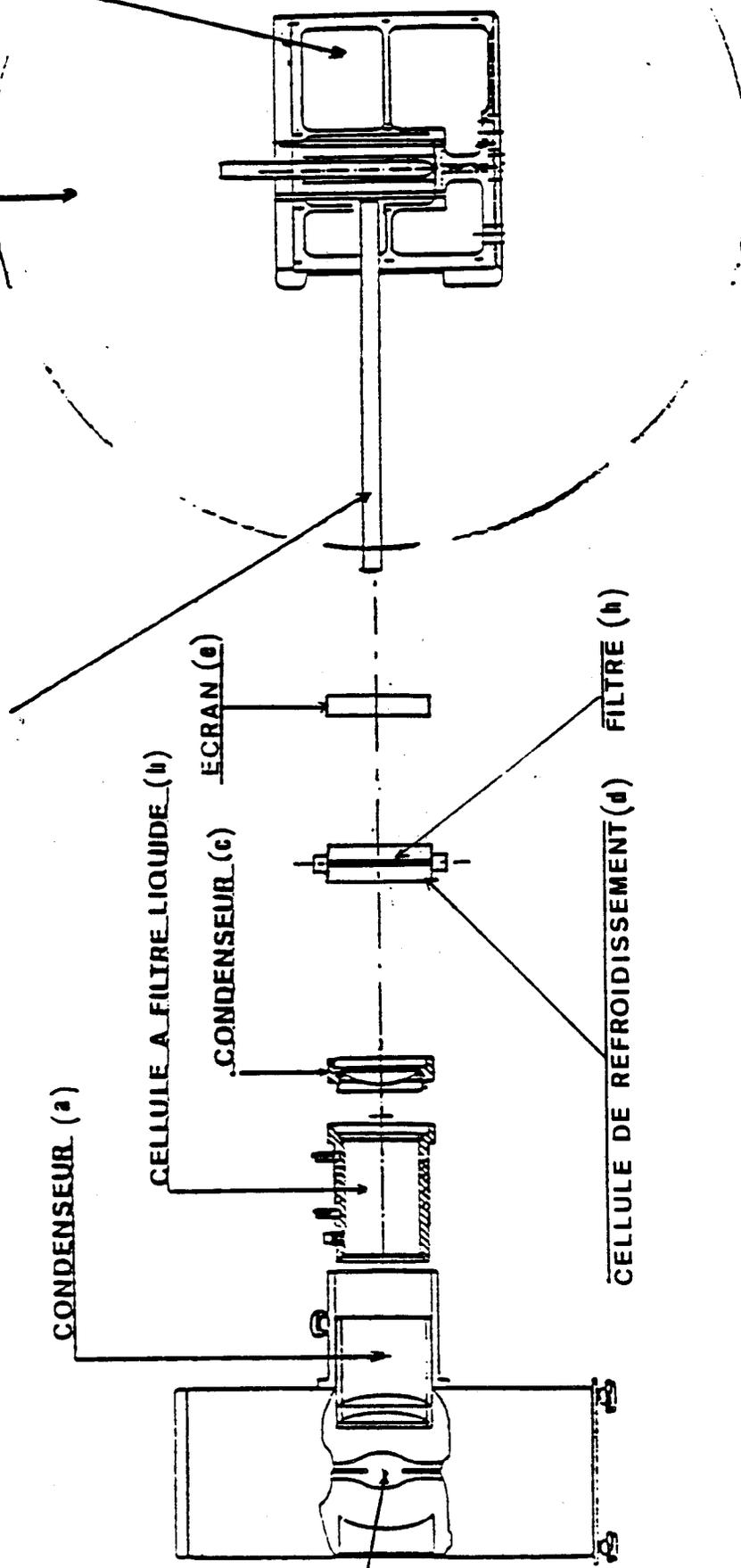


Figure 1

Schéma du montage utilisé pour les expériences de photo-CIDNP.

Un écran (e) dont l'ouverture et la fermeture sont commandées à distance permet l'acquisition de spectres R.M.N. avec ou sans irradiation de l'échantillon.

2- L'enregistrement des spectres ^1H

Nous utilisons une sonde spécifique opérant à 80,130 MHz. Les tubes ont un diamètre de 5 mm et sont en pyrex ou en quartz. Les spectres sont obtenus selon le cas à partir d'un seul FID ou résultent de 64 accumulations pour des angles de pulse de 25 ° et 90 °. Les déplacements chimiques exprimés en ppm, sont donnés par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pour les solutions organiques. En solution aqueuse, nous utilisons comme référence le sel de sodium de l'acide triméthylsilyl-3 tétradeudéro-2,2,3,3 propionique (TMSP).

Un microprogramme nous permet d'enregistrer au bout d'un délai de 15 s six FID consécutifs, espacés chacun de 20 secondes. Nous obtenons ainsi une série de spectres qui permet de suivre au cours des deux premières minutes d'irradiation d'éventuelles évolutions des signaux de C.I.D.N.P.. Les principaux paramètres d'acquisition des spectres sont les suivants :

- temps d'acquisition = 6,7 s
- délai entre deux impulsions = 0,1 s
- fenêtre spectrale = 1000 Hz
- mode de détection = quadrature de phase
- résolution = 0,149 Hz/pt

La température de la sonde est régulée par une unité de température variable à 323 K pour les solutions aqueuses et à 317 K pour les solutions organiques. Le pH des solutions est ajusté à la valeur désirée par ajouts de petites quantités de NaOH et de DCI. Celui-ci est mesuré directement dans le tube de R.M.N. en utilisant une électrode de mesure spéciale couplée à un pH-mètre commercialisé par Spectrométrie Spin et Technique (S.S.T. Paris).

II- LES PRODUITS

1- les sulfamides

Les sulfamides utilisées ont diverses origines. Le sulfanilamide, le sulfacétamide, la sulfadiazine, la sulfamérazine, la sulfisomidine, la sulfapyridine, le sulfamoxole et le sulfathiazole sont des produits SIGMA, tandis que la sulfaméthazine est commercialisée par ALDRICH. Les autres

sulfamides nous ont été gracieusement fournies par les laboratoires pharmaceutiques les commercialisant :

- Servier pour le carbutamide
- Hoechst pour le tolbutamide
- Roche pour la sulfadoxine
- Thérapiix pour le chlorothiazide.

Nous les avons utilisés sans autre purification à une concentration de $5 \cdot 10^{-3}$ M sauf précision supplémentaire.

2- Les photoproduits

La benzidine, l'aniline, la pyrimidine et l' amino-2 pyrimidine sont commercialisés par SIGMA. Le p-chlorobenzènesulfonamide, le benzène sulfonamide, l'acide sulfanilique, les pyrimidines (méthyl-4 et diméthyl-4, 6), les amino-2 pyrimidines (méthyl-4 et diméthyl-4,6) sont des produits ALDRICH.

3- Les bases des acides nucléiques et les acides aminés

Les bases des acides nucléiques sont des produits ALDRICH. La thymine, l'uracile, la cytosine, l'adénine et la guanine ont été utilisées sans autre purification.

Les acides aminés sont des produits Sigma.

4- Les solvants

Les solvants deutériés- eau (99,8 %), méthanol (99,5 %), acétonitrile (99,6%) sont des produits SST.

5- Les filtres

Lors de l'irradiation des systèmes sulfamides-acides aminés, l'utilisation de filtres s'est révélée nécessaire afin que la lumière ne soit pas directement absorbée par les acides aminés (tyrosine et tryptophane). En effet, l'irradiation directe de ces molécules conduit à des effets de C.I.D.N.P., indépendamment de la présence des sulfamides. Nous avons utilisé un filtre CORNING CS 7-59 coupant les absorptions inférieures à 280 nm. Les longueurs d'onde à 310 nm n'ont que 10 % de transmission, zone au delà de laquelle les acides aminés n'absorbent plus. La figure 2 donne le spectre de transmission de

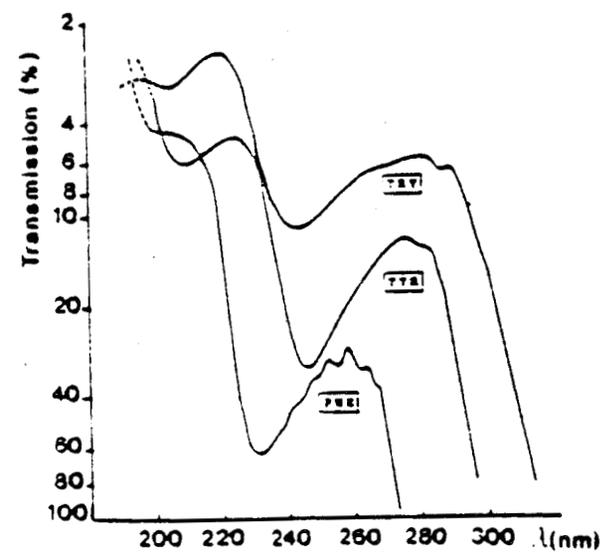
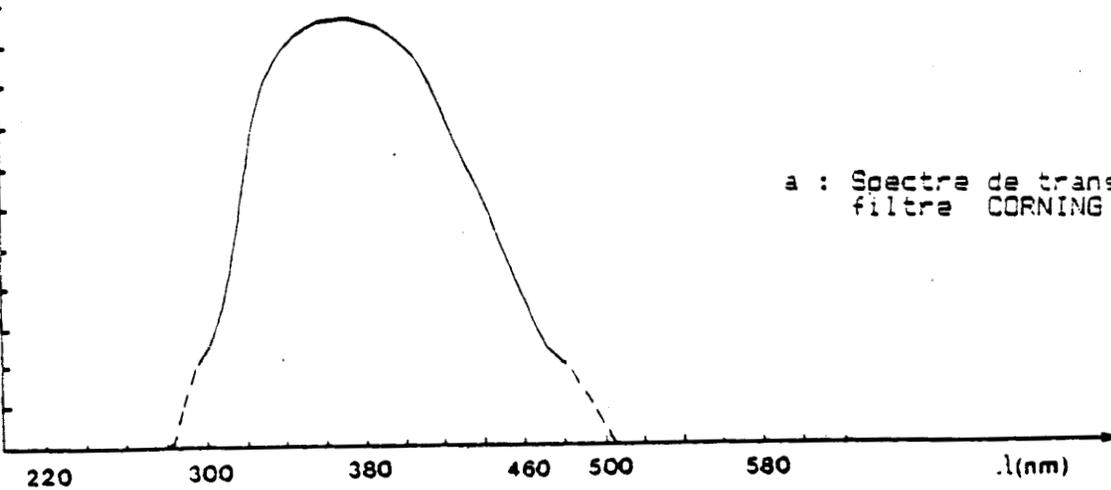


FIGURE 2

Figure 2 : Spectre de transmission du filtre Corning CS 7 59

ce filtre. Or, comme le montre la figure 3, les sulfamides présentent un maximum d'absorption à 260 nm et la quantité de lumière absorbée à partir de 280 nm (lorsqu'on utilise ce filtre) est faible.

III- METHODOLOGIE ET MESURES

1- Etudes chromatographiques

Des études de chromatographie liquide haute performance (CLPH) analytiques sont réalisées sur une pompe LKB 2249. La détection est assurée par un détecteur spectrophotométrique U.V. à barrettes de diode HP 1040, connecté à un ordinateur HP 9000 S 300. Une colonne de silice greffée avec une phase inverse - Lichrosorb RP₁₈ - (5 µm, 25 cm . 4,6 mm) avec le solvant d'élution : 85 % CH₃OH, 15 % H₂O. Le débit est de 2 ml/min et le volume injecté est de 20 µl. L'échantillon a été au préalable dissous dans du méthanol.

Un échantillon des produits est obtenu grâce à des séparations préparatives réalisées avec une pompe LDC (Milton Roy) et le double système de détection : un détecteur réfractométrique Iota (Jobin-Yvon) et un détecteur spectrophotométrique Monitor D à longueurs d'ondes variables. Une colonne de silice greffée avec une phase inverse - Lichrosorb RP₁₈ - (7 µm, 25 cm, 25 mm diam.) est utilisée avec le solvant d'élution : 100 % Méthanol. Le débit est de 2 ml/min. La longueur d'onde de détection choisie est de 325 nm. Le volume injecté est de 2 ml et traverse une boucle de 2 ml.

2- Obtention des spectres de Masse

Les spectres de Masse sont enregistrés sur un NERMAG R-10-10C couplé à un chromatographe en phase gazeuse GIRDEL S32, muni d'une colonne CP Wax 57 CB de 0,22 mm de diamètre². La température du four est de 230 °C , celle de l'injecteur de 270 °C et la pression est de 0,7 bar. Les produits sont dissous dans du méthanol et le volume injecté est de 0,2 µl.

3- Obtention des spectres U.V.

Les spectres U.V. sont obtenus sur un spectrophotomètre à barrettes de diode Hewlett Packard 8452 A connecté à un ordinateur HP Vectra. La

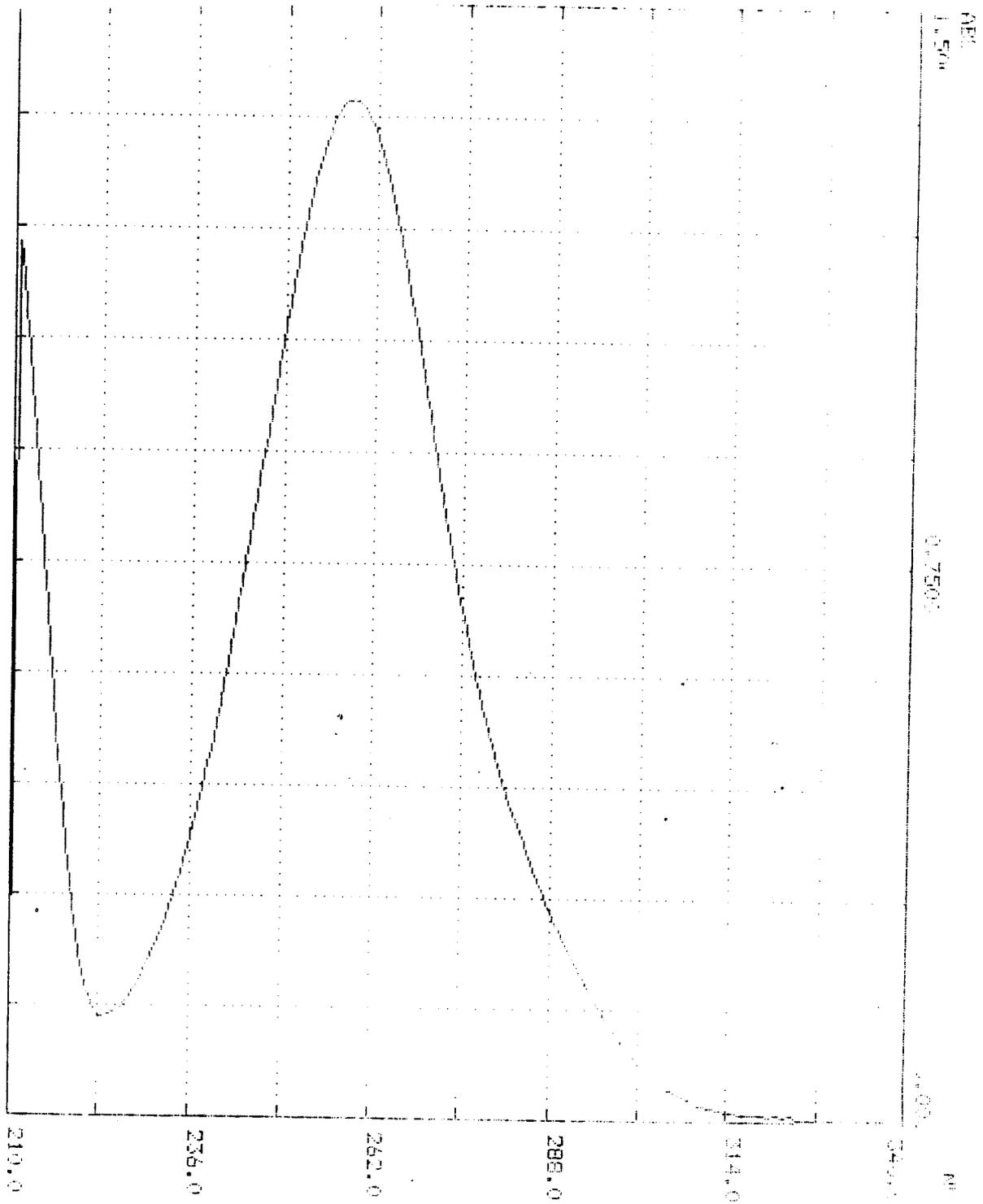


Figure 3 : Spectre U.V. de sulfanilamide en solution méthanolique

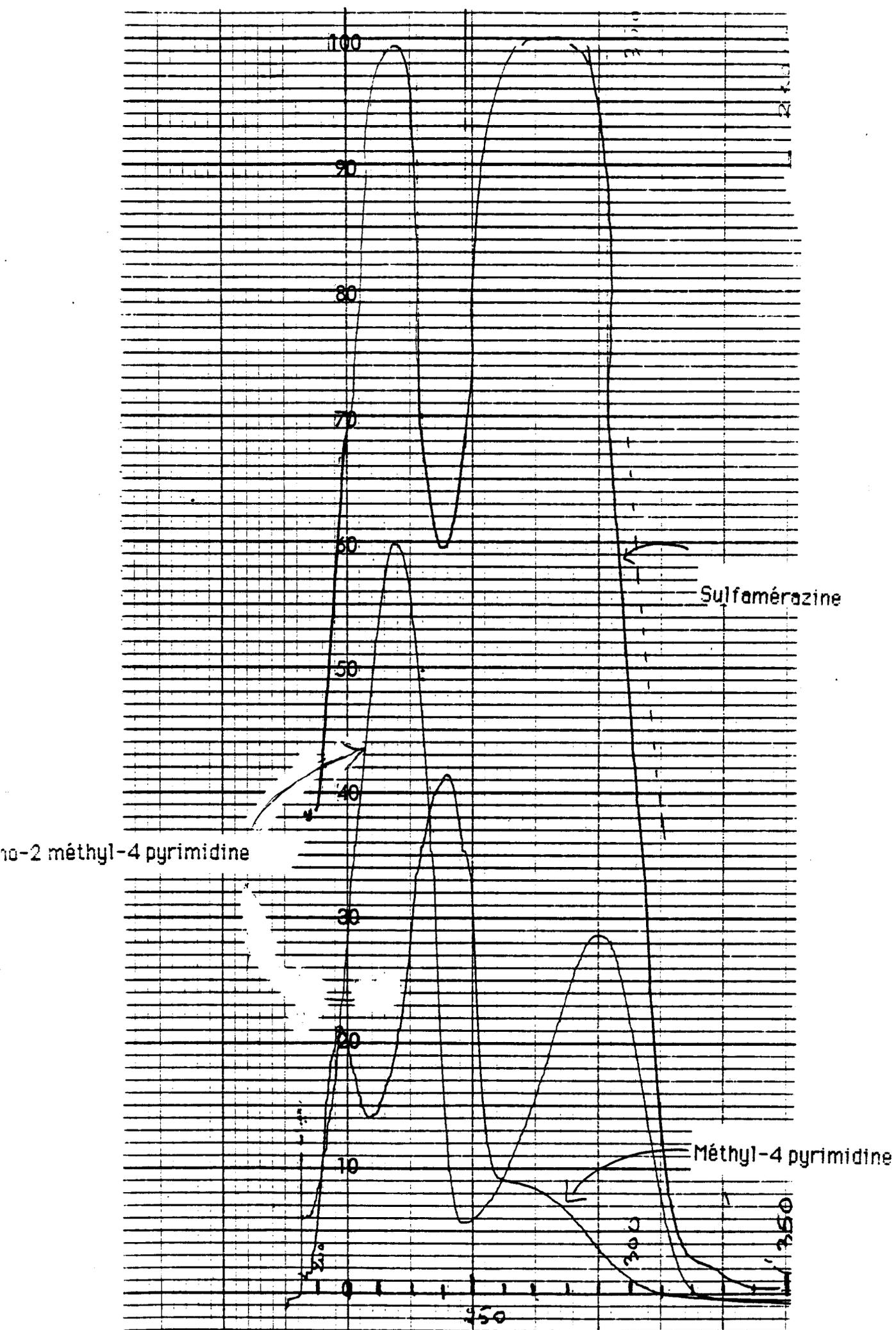


Figure 4 : Spectre U.V. de la sulfamérazine en solution méthanolique

concentration des produits est de 10^{-5} M (solvant : méthanol). Les cuves utilisées sont en quartz et ont un cm d'épaisseur.

4- Calculs des densités électroniques

Les calculs des constantes de couplage hyperfin et les densités électroniques des différents radicaux sont réalisés grâce à un système d'exploitation MULTICS (Multiplexed Information and Computing Services) constitués de différents programmes intégrés, implanté au CITIL, Centre Interuniversitaire du Traitement de l'Information à Lille.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- J. MARKO
Thèse de Doctorat ès Sciences Physiques, Chapitre V - Lille (1986)
- 2- N. NOSE, S. KOBAYASHI, A. HIROSE et A. WATANABE
J. Chromatogr. 123, 167 (1976)

CONCLUSION

Notre travail illustre l'apport "classique" de la technique de Polarisation nucléaire Dynamique Induite Photochimiquement (Photo-C.I.D.N.P.) à l'étude du comportement de composés photosensibilisants d'intérêt thérapeutique : les sulfamides.

La photo-C.I.D.N.P. contribue à la compréhension des processus primaires intervenant au cours des photoréactions de sulfamides irradiés en solution. Nous avons montré que, pour tous les sulfamides étudiés, à l'exception du tolbutamide, il existait une photoréaction de nature radicalaire. Les radicaux impliqués dans ce mécanisme dépendent de la nature du substituant porté par le groupe sulfonamide. Celle-ci permet de classer les sulfamides en 3 groupes quant à leur réactivité photochimique :

- les sulfamides à chaîne alkyle
- les sulfamides substitués par un cycle pyrimidine
- les sulfamides substitués par un cycle autre que pyrimidine

Dans le cas des sulfamides à chaîne alkyle, les radicaux ont été aisément caractérisés, en particulier grâce à leurs piègeages par du tétrachlorure de carbone. Des coupures C-S et S-N, réversibles sont observées conduisant principalement à la formation d'aniline et de benzidine. La réaction fait intervenir l'état excité triplet des sulfamides.

L'irradiation de ces sulfamides en présence de substrats biologiques qui constituent leurs cibles d'attaque privilégiées *in vivo*, a montré que seul le sulfanilamide induisait des polarisations sur l'une des bases des acides nucléiques : l'adénine. Le manque d'informations sur certains paramètres (potentiel redox des espèces mises en jeu, niveaux d'énergie des états triplets, ...) n'a pas permis de préciser la nature de la réaction entre le sulfamide et son substrat. Soulignons ici le comportement particulier du chlorothiazide, seul composé de la série à donner des polarisations sur lui-même et non sur des photoproduits et pour lequel la réaction de coupure radicalaire semble hautement réversible.

Pour les sulfamides substitués par un cycle pyrimidine, leur étude s'est révélée plus délicate. Les photoproduits, au nombre de trois, obtenus au cours de l'irradiation de sulfamérazine dérivent de radicaux qui proviennent d'une coupure de la molécule initiale au niveau du groupe sulfonamide, entre le soufre et l'azote. C'est apparemment la seule coupure qui conduisent à des produits polarisés. Nous formulons l'hypothèse que les photoproduits formés sont issus des diverses formes mésomères du

radical aminopyrimidinyle ainsi mis en jeu . Sur la base des spectres obtenus, il pourrait s'agir d'iminopyrimidines, composés non décrits jusqu'alors : la dihydro-1,2 imino-2 hydroxy (OD)-1 méthyl-4 pyrimidine

la dihydro-1,2 imino-2 hydroxy (OD)-3 méthyl-4 purimidine.

Notre étude photochimique a permis d'isoler l'un des produits polarisés : l' amino-2 méthyl-4 pyrimidine, qui a été caractérisé par toutes les techniques utilisées (U.V. , Masse, Chromatographie liquide haute performance, Chromatographie en phase gazeuse). Nous avons également retrouvé l'acide sulfanilique - non polarisé - issu du deuxième radical de la paire. Si les iminopyrimidines semblaient restait stables, toutes tentatives de séparation ont jusqu'ici échoué.

Des diverses techniques utilisées pour isoler les photoproduits, la chromatographie liquide haute performance semi-préparative s'est révélée la plus adaptée à notre étude, sans parvenir malheureusement à isoler ces imines. Cependant, l'une d'entre-elles semble plus stable et son spectre de R.M.N. a permis de confirmer l'attribution des signaux faite à partir des spectres de C.I.D.N.P..

La synthèse de dérivés analogues permettrait alors de préciser la structure de ces deux photoproduits et de conforter sans ambiguïté notre hypothèse . De plus, l'utilisation de la photo-C.I.D.N.P. couplée avec la résonance paramagnétique électronique contribuerait à caractériser les radicaux intervenant dans les réactions étudiées.

