

50376
1992
264

64148

50376
1992
264

N° D'ORDRE : 998

TURNER LE

présentée à

L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE

Spécialité : Spectrochimie

par

Abdellah LACHERAI



**Réactivité du di(dichlorophosphoryl)imide et du
polydichlorophosphazène vis à vis de
la N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine
Application à la synthèse de molécules présentant
une activité antitumorale**

Soutenue le 27 novembre 1992 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury : MM

J. P. CATTEAU	Président
L. RIESEL	Rapporteur
A. OUASSINI	Rapporteur
B. HECQUET	Examineur
R. DE JAEGER	Examineur
J. HEUBEL	Membre invité



030 042883 5

A mes chers parents

A mes chers frères et soeurs

A toute ma famille

Témoignage de ma profonde affection.

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman du C.N.R.S. (UPR A 2631L), dirigé par Monsieur **J. CORSET**, à l'Université des Sciences et Technologies de Lille.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur **R. DE JAEGER** pour m'avoir accueilli dans son équipe et pour son aide précieuse tout au long de ce travail.

Je tiens aussi à exprimer toute ma gratitude à Monsieur **L. RIESEL**, Professeur à l'Université Humboldt de Berlin (Institut für Anorganische Chemie), pour avoir bien voulu nous apporter la caution de sa haute autorité scientifique en acceptant d'être rapporteur de ce travail.

Je voudrais remercier Monsieur **A. OUASSINI**, Professeur à l'Université Abdelmalek ESSAADI à TETOUAN (MAROC), pour l'intérêt qu'il a manifesté pour ce travail et pour avoir accepté de le juger.

Je remercie vivement Messieurs **B. HECQUET**, Directeur de Laboratoire de Pharmacodynamie Clinique du Centre Oscar Lambret de Lille et **J.P. CATTEAU**, Professeur à l'Université des Sciences et Technologies de Lille pour leur participation à ce jury.

Que Monsieur **J. HEUBEL**, Professeur émérite, trouve ici ma profonde reconnaissance, sa passion pour la chimie et ses grandes qualités morales resteront pour moi un exemple.

Je tiens aussi à remercier pour leur aide précieuse :

- Monsieur **C. FOURNIER** du Laboratoire Pharmacodynamie Clinique du Centre Oscar Lambret de Lille.
- Messieurs **B. MOUCHEL** et **P. WATKIN** du service RMN qui m'ont facilité l'accès aux appareils de mesures.
- Madame **SAINLEGER** pour la reproduction de ce mémoire.

Je dois également remercier les membres de l'équipe des "Phosphazènes" **Y. HAMMOUTOU**, **Y. LEMMOUCHI**, **C. FRANCART-DELPRATO**, **V. DOYER** qui ont su m'entourer d'une amitié généreuse.

Enfin j'adresse mes remerciements aux membres du personnel du laboratoire ainsi qu'à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	4
CHAPITRE 1 :	
<i>REACTION DU DI(DICHLOROPHOSPHORYL)IMIDE $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$</i>	
<i>AVEC LA N, N-bis(CHLORO-2 ETHYL)AMINE $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$.</i>	
I. REACTION DE $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ SUR $\text{HCl}, \text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$	16
II. REACTION DE $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ SUR $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$	16
II.1. En présence de triéthylamine	16
II.2. En présence de 4-diméthylaminopyridine (DMAP)	18
II.3. Influence de la triéthylamine	19
II.4. Influence du solvant	22
II.5. Influence de la température	22
II.6. Discussion	22
II.7. Suivi RMN du ^{31}P de la réaction de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ avec $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ dans le benzène	29
III. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DU TETRASUBSTITUÉ	
$\text{HN}[\text{PO}(\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2)_2]_2$	31
IV. COMPARAISON DE LA REACTIVITÉ DE $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$, $\text{NaN}(\text{POCl}_2)_2$ et $\text{Me}_3\text{Si}\{\text{N}(\text{POCl}_2)_2\}$	45
IV.1. $\text{NaN}(\text{POCl}_2)_2$	45
IV.2. $\text{Me}_3\text{Si}\{\text{N}(\text{POCl}_2)_2\}$	46
IV.2. a. En présence de la triéthylamine	46
IV.2. b. Sans triéthylamine	49

V. CONCLUSION	52
BIBLIOGRAPHIE	53

CHAPITRE 2 :

REACTIONS DE HN(POCl₂)₂, PARTIELLEMENT SUBSTITUE PAR LA N, N-bis(CHLORO-2 ETHYL)AMINE, AVEC L'AMMONIAC ET LA GLYCINE ETHYL ESTER .

I. REACTION DE HN(POCl ₂) ₂ AVEC L'AMMONIAC LIQUIDE DANS LE CHLOROFORME	54
II. REACTION DE HN(POCl ₂) ₂ AVEC LA GLYCINE ETHYL ESTER H ₂ NCH ₂ C(O)OEt DANS LE BENZENE	55
II.1. Préparation de l'amine libre H ₂ NCH ₂ C(O)OEt	55
II.2. Réaction de substitution	55
III. REACTION DE HN(POCl ₂) ₂ , PARTIELLEMENT SUBSTITUE PAR LA N, N-bis(CHLORO-2 ETHYL)AMINE AVEC L'AMMONIAC	66
III.1. Avec l'ammoniac gaz	68
III.2. Avec l'ammoniac liquide	68
III.2.a. Phase solide	69
III.2.b.Phase soluble dans le mixte Chloroforme/Ammoniac liquide	79
IV. REACTION DE HN(POCl ₂) ₂ , PARTIELLEMENT SUBSTITUE PAR LA N, N-bis(CHLORO-2 ETHYL)AMINE AVEC H ₂ NCH ₂ C(O)OEt	82
V. CONCLUSION	86
BIBLIOGRAPHIE	90

CHAPITRE 3 :

ESSAIS DE FONCTIONNALISATION DU DI(DI(ETHYLGLYCINO)-PHOSPHORYL)IMIDE HN(PO(NHCH₂COOEt)₂)₂.

I. REACTION DE DEPROTECTION DE LA FONCTION ACIDE DANS HN(PO(NHCH ₂ COOEt) ₂) ₂	91
I.1. Mode opératoire	92
I.2. Caractérisation de la phase soluble (P1) dans le Chloroforme	93
II. REACTION D'HYDROLYSE DE LA PHASE SOLUBLE DANS LE CHLOROFORME	97
II.1. Mode opératoire	97
II.2. Caractérisation de la phase soluble (P2)	100
III. CARACTERISATION DES PHASES SOLIDES (S1) ET (S2)	102
BIBLIOGRAPHIE	105

CHAPITRE 4 :

*REACTIONS DU POLY(DICHLOROPHOSHAZENE) AVEC LA GLYCINE
ETHYL ESTER, LA DIETHYLAMINE ET LA N,N-bis(CHLORO-2
ETHYL)AMINE.*

I. INTRODUCTION	106
II. SYNTHÈSE ET CARACTERISATION DU POLY[BIS(ETHYLGLYCINO)PHOSHAZEN] [NP(NHCH ₂ C(O)OEt) ₂] _n	111
II.1. Synthèse	111
II.2. Caractérisation	112
III. COMPORTEMENT DU POLY(DICHLOROPHOSHAZENE) [NPCl ₂] _n VIS A VIS DES AMINES SECONDAIRES	115
III.1. Réaction de [NPCl ₂] _n avec HN(C ₂ H ₅) ₂	115
III.1.a. Réaction de [NPCl ₂] _n avec HN(C ₂ H ₅) ₂	115
III.1.b. En présence de 4-diméthylaminopyridine (DMAP)	117
III.1.c. En présence de DMAP dans un mélange Acétone-Benzène	117
III.1.d. Discussion	119

III.2. Réaction de $[\text{NCl}_2]_n$ avec $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$, en présence de DMAP et $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$	123
IV. SYNTHÈSE DE COPOLYMÈRE	
$[\text{N}=\text{P}(\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2)_x(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})_{2-x}]_n$	126
IV.1. Préparation de l'amine libre $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$	126
IV.2. Substitution partielle des atomes de chlore par $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$	127
IV.3. Substitution par $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ du reste des atomes de chlore	127
IV.4. Caractérisation	128
V. CONCLUSION	130
BIBLIOGRAPHIE	131
CHAPITRE 5 :	
<i>TESTS BIOLOGIQUES</i>	132
I. PROTOCOLE D'ÉTUDE	132
A. Transplantation tumorale	132
B. Schéma de l'expérimentation	134
C. Contrôle de qualité	134
D. Évaluation	134
E. Administration des produits	135
II. RESULTATS	135
III. CONCLUSION	139
BIBLIOGRAPHIE	140
CONCLUSION	141
ANNEXE	144

INTRODUCTION

Cette étude s'inscrit dans la continuation d'un premier travail réalisé au laboratoire par OUASSINI ¹ qui par analogie avec les travaux ayant mis en évidence les propriétés antimitotiques des moutardes azotées ² et de certains composés à liaisons P=N-P ^{3,4} avait synthétisé à partir du P-trichloro N-dichlorophosphoryle monophosphazène $\text{Cl}_3\text{P}=\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$ une série de dérivés contenant tous le groupement N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$.

L'un d'entre eux $(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})\text{NHP}(\text{O})(\text{OH})\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ donc de structure diphosphorylimide ayant présenté une relative efficacité antitumorale, nous nous sommes alors orientés vers la synthèse de dérivés du même type à partir du di(dichlorophosphoryl)imide $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ (I).

Après un rappel bibliographique relatif à la réactivité de (I) vis à vis des amines, et aux propriétés antimitotiques des moutardes azotées, ce mémoire traite dans un premier chapitre de l'action sur (I) de la N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine (bCEA). On y montre qu'il est possible de mettre en évidence différents degrés de substitution et d'isoler un produit totalement substitué mais O-alkylé donc possédant une structure phosphazène.

Dans le second chapitre, après avoir préparé et caractérisé le di[di(éthylglycino)phosphoryl]imide nous étudions les réactions de l'ammoniac et de la glycine éthyl ester sur (I) partiellement substitué par la bCEA.

Nous montrons que dans les produits de cosubstitution obtenus, qui gardent la structure phosphazane, le groupement chloroéthylamine perd son caractère bifonctionnel par suite de l'intervention de réactions N-alkylation entre la bCEA et le cosubstituant.

Pour diminuer la stabilité à l'hydrolyse des composés précédemment préparés, nous avons ensuite tenté de fonctionnaliser le di[di(éthylglycino)phosphoryl]imide par des fonctions acides carboxyliques, lesquelles devaient ensuite permettre le couplage avec le principe actif bCEA.

Pour cela nous avons utilisé une réaction de silylation hydrolyse faisant intervenir l'iodotriméthylsilane ISiMe_3 .

Cet objectif n'a pu être atteint que partiellement ; les résultats obtenus font l'objet du troisième chapitre.

Voulant tirer parti de l'expérience acquise par le laboratoire dans la chimie des phosphazènes nous avons également entrepris la synthèse d'un copolymère contenant les groupements bCEA et Ethylglycino. Cela nous a amené à étudier les réactions du poly(dichlorophosphazène) $(\text{NPCl}_2)_n$ avec la glycine éthyl ester et les amines secondaires diéthylamine et bCEA.

Le quatrième chapitre est consacré à cette étude.

L'évaluation de l'activité antitumorale de quelques molécules synthétisées au cours de ce travail a enfin été effectuée dans le modèle de la leucémie lymphocytaire P388 par le Laboratoire de Pharmacodynamie Clinique du Centre Oscar Lambret de Lille.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le cinquième chapitre.

La caractérisation des produits préparés, nous a amené à faire une large place à la résonance magnétique nucléaire (RMN) du ^{31}P , ^1H , ^{13}C et ^{15}N ainsi qu'à la spectroscopie Infrarouge et à la spectrométrie de masse.

Afin d'alléger le texte, nous avons regroupé en annexe les préparations et les spectres RMN du ^{31}P , ^1H , ^{13}C de quelques réactifs utilisés, ainsi que quelques données expérimentales générales.



Bibliographie:

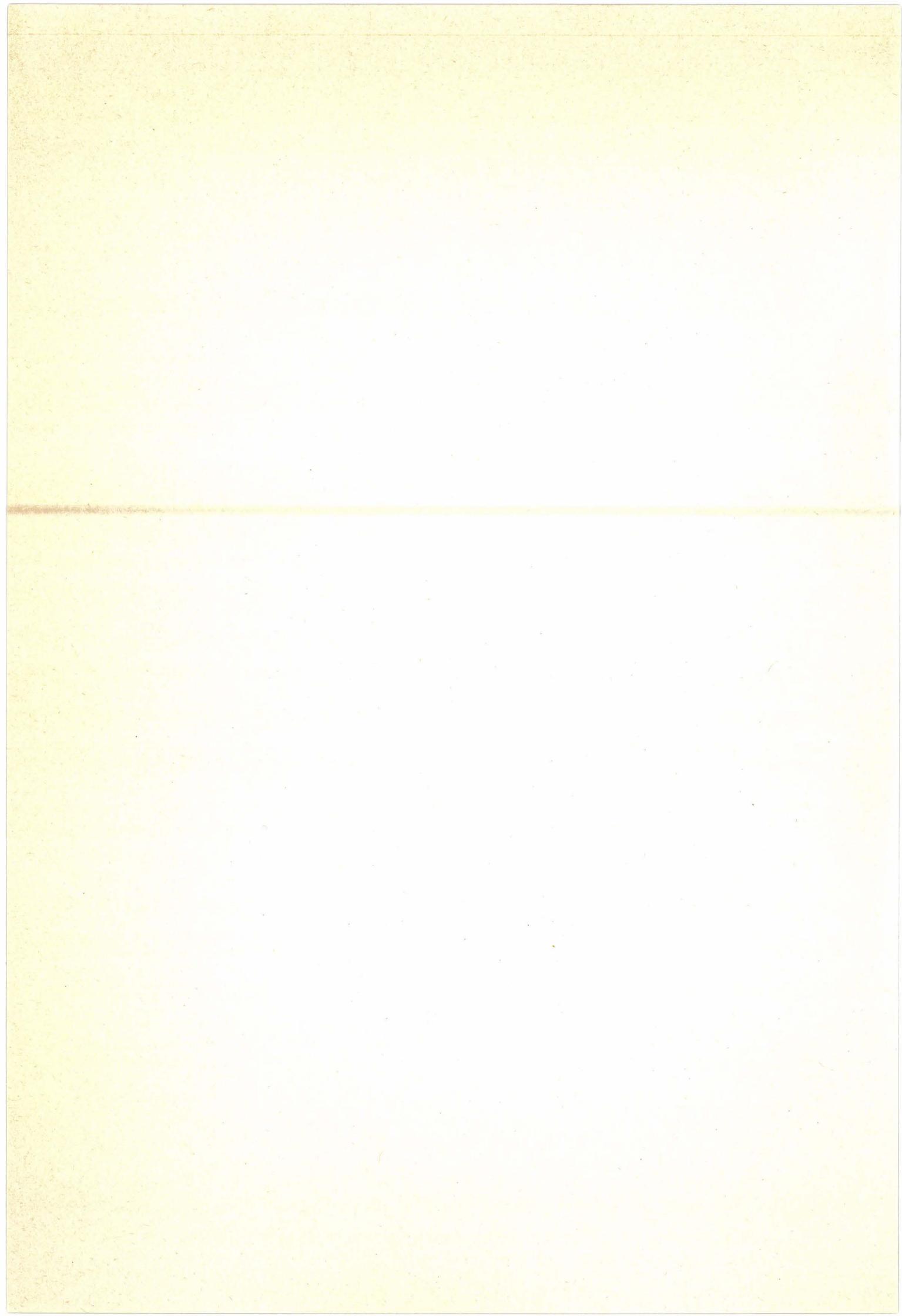
1) A. Ouassini ; Thèse d'état , Lille (1986).

2) S.E. Salmon, M. Appelle ; "Review of Medicinal Pharmacology" 5th. Ed.

F.H. Meyers, E.Jawetz, A.Goldfin ; Ed. , Lange Medical Publications Los Altos-California, 498(1976).

3) C.W. Allen, J.A. Mackay, J.J.Mc. Cormack, R.A. Newman, M.P. Hacker ; Inorg. Chem. Acta. , 67, 17(1982).

4) J.F. Labarre, F. Sournies, S. Cross, G. François, J.C. van de Grampel. A.A. van de Huizen ; Cancer Letters, 12, 245(1981).



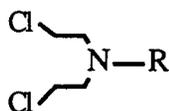
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

Parmi les éléments importants du traitement des cancers, la chimiothérapie tient une place importante. Son principe général consiste à tirer parti de la différence de sensibilité que présentent les cellules tumorales et les cellules saines vis à vis de la toxicité de certains produits chimiques, dans le but de freiner sélectivement la prolifération des cellules malades.

Le nombre de produits chimiques réellement efficaces ne dépasse pas guère quelques dizaines. Ils ont été commercialisés pour la plupart entre 1945 et 1975, et depuis même si de nombreux analogues ont été préparés, la méconnaissance des relations structure-activité n'a pas permis de réaliser des progrès notables.

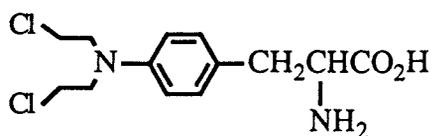
Parmi les familles chimiques regroupant ces composés: alkylants, intercalants de l'ADN, inhibiteurs d'enzymes, antimétabolites ..., il en est cependant une, celle des agents alkylants, pour laquelle l'étude systématique des relations propriétés-structures permet d'entrevoir des améliorations possibles de l'activité antitumorale.

Les moutardes à l'azote de type

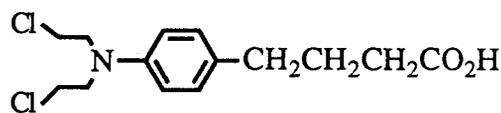


plus précisément la N-méthyl N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine ($R=\text{CH}_3$) et la N, N, N-tri(chloro-2 éthyl)amine ($R=\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$) furent les premiers composés de cette famille à être utilisés cliniquement.

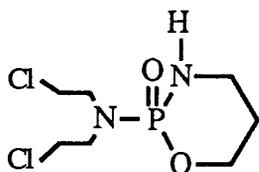
Des composés analogues ont ensuite été synthétisés et actuellement 4 d'entre eux sont couramment utilisés en clinique. Il s'agit du melphalan (1), du chlorambucil (2), du cyclophosphamide (3) et de l'ifosfamide (4).



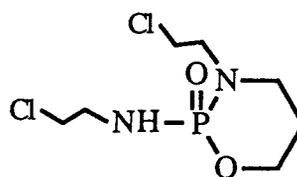
Melphalan (1)



Chlorambucil (2)



Cyclophosphamide (3)



Ifosfamide (4)

Si les deux premiers sont alkylants en eux mêmes, il n'en est pas de même pour (3) et (4), qui doivent être métabolisés pour produire des agents alkylants.

Le métabolisme du cyclophosphamide est représenté (fig 1).

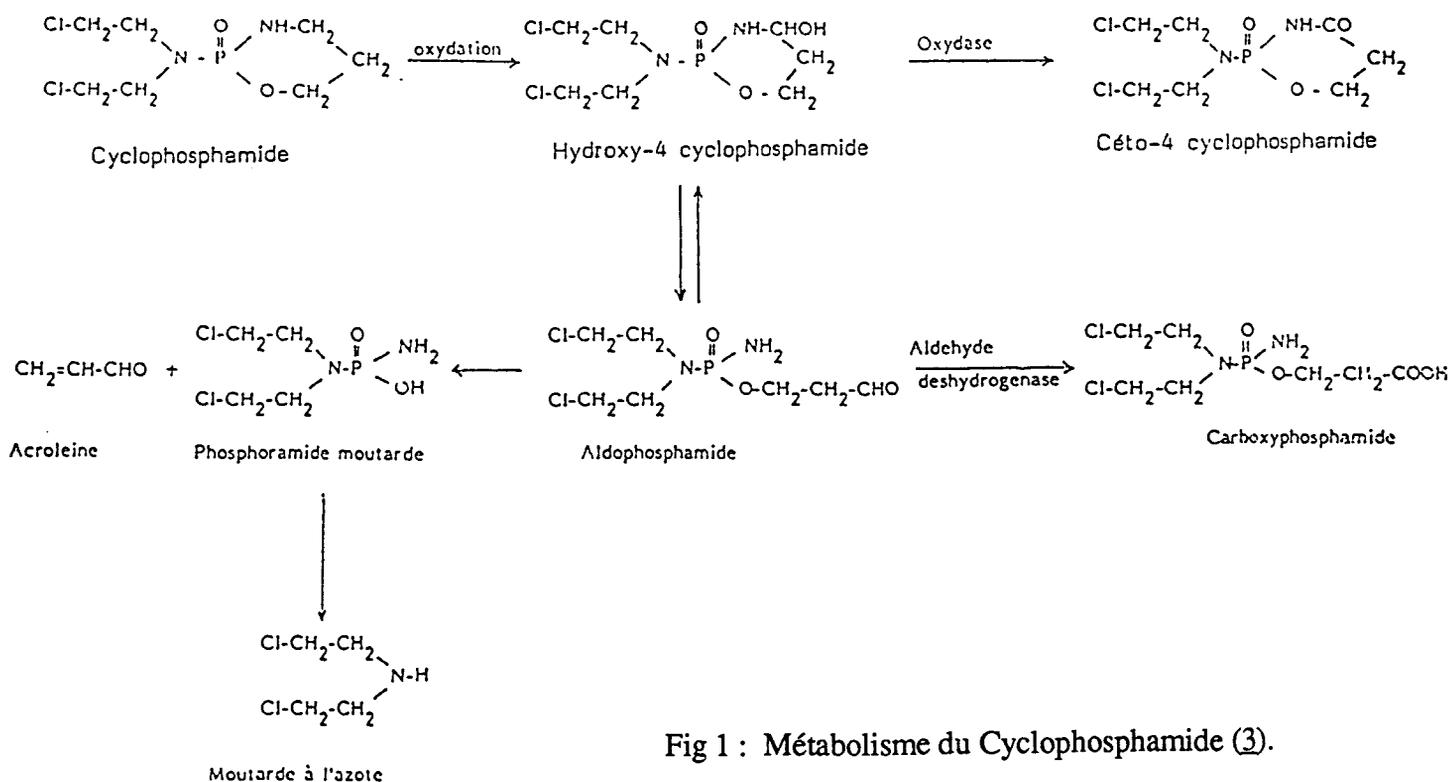
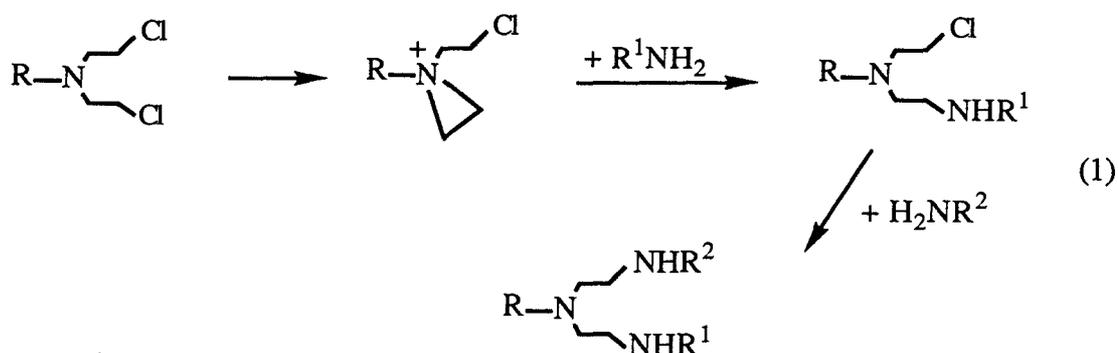


Fig 1 : Métabolisme du Cyclophosphamide (3).

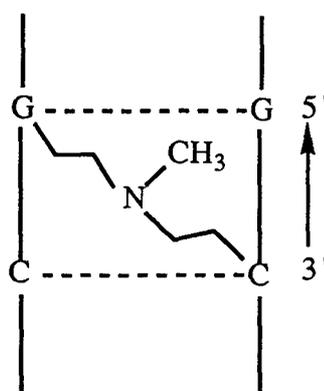
La phosphoramide moutarde formée à partir de l'aldophosphamide est supposée être le métabolite actif vis à vis des cellules tumorales, et l'acroleine le métabolite responsable de la toxicité.

Un agent alkylant agit par formation d'une liaison covalente entre un groupement alkyle et les molécules cellulaires selon le mécanisme supposé (1).¹

Il suppose la formation transitoire d'une espèce aziridinium très réactive vis à vis des nucléophiles.



Brookes et Lawley² supposent qu'en réticulant l'ADN par des liaisons inter ou intra brins ces agents alkylants bifonctionnels sont responsables de son inactivation. (Fig 2)

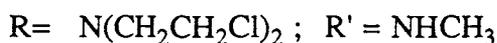
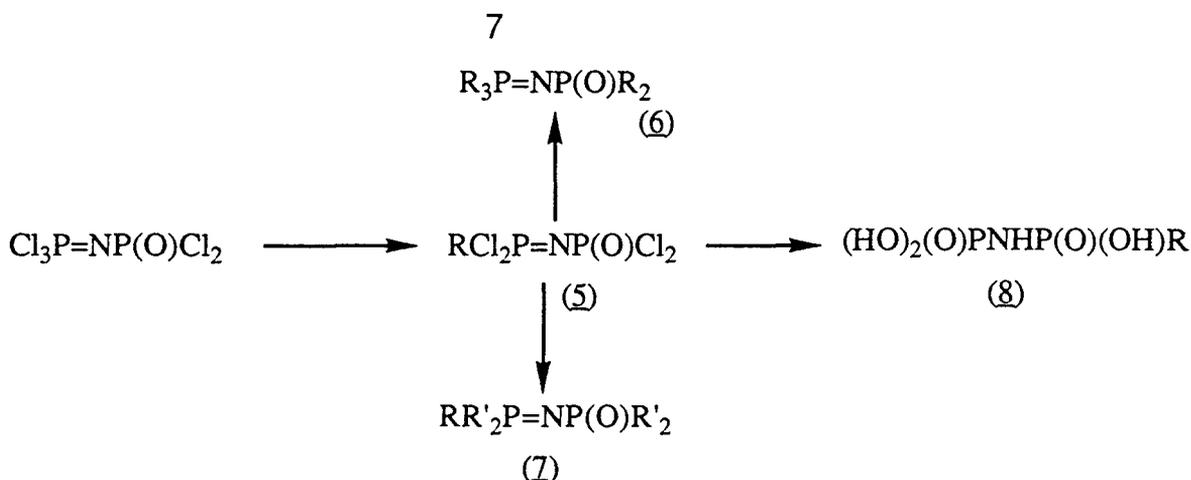


(Fig 2)

L'un de nos axes de recherches étant la synthèse et l'étude de la réactivité des composés à liaisons Phosphore Azote, il nous est apparu intéressant de tenter par analogie avec les structures (1) à (4) la synthèse de composés phosphorés alkylants ou susceptibles de libérer des agents alkylants de la famille des moutardes à l'azote par simple réaction d'hydrolyse tout en évitant la formation d'acroleïne.

C'est ainsi qu'un premier travail a consisté à synthétiser et tester les composés (5) à (8)³:





Il a été montré que parmi ces derniers (5) et (8) possédaient des propriétés alkylantes vis à vis de la guanine et de l'ADN fig (3 et 4) et que (8), qui possédait une activité antitumorale modérée sur la leucémie P388 chez la souris (T/C%=146 à 200mg/kg) ne présentait aucune toxicité même à cette dose. Tableau (1).

Tous ces produits (5) à (8) avaient alors été préparés à partir du P-trichloro-N-dichlorophosphoryle monophosphazène ($Cl_3P=N-P(O)Cl_2$), (8) étant le résultat de la réaction d'hydrolyse de (5).

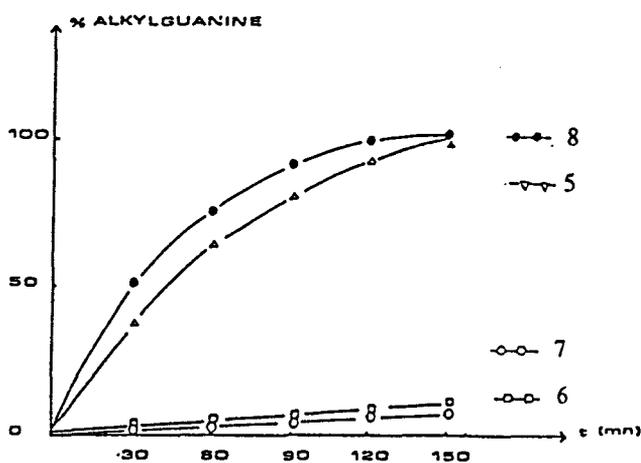


Fig 3: Pourcentage d'alkylation de la guanine par les produits 5, 6, 7 et 8 en fonction du temps.

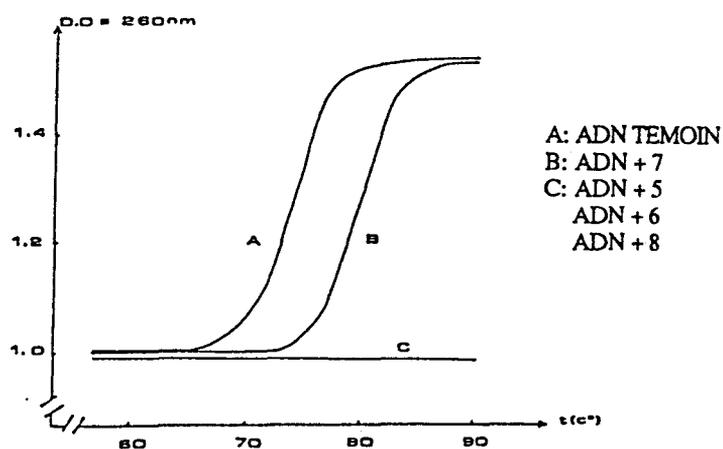


Fig 4: Courbe de la dénaturation de l'ADN après incubation 48h avec les produits 5, 6, 7 et 8.

Tableau I Efficacité anti-tumorale des produits sur la souris leucémique (leucémie lymphocytaire murine P388).

Composé	Dose (ip) (mg/kg)	Solvant utilisé	Moyennes des jours de survie	T/C (%)
5	3	huile d'olive	11,1	95
	6	huile d'olive	13	111
6	50	eau distillée	11,6	108
	100	eau distillée	12,1	113
7	10	eau distillée	11,6	107
	20	eau distillée	11,1	103
	40	eau distillée	11,2	104
	100	eau distillée	4,05	35,5
	200	eau distillée	3,2	28
8	10	eau distillée	10,1	90
	20	eau distillée	10,7	95
	40	eau distillée	11,6	107
	100	eau distillée	14,75	132
	200	eau distillée	16,6	146
Cyclophosphamide	100	eau distillée	23	203

Une méthode simple de préparation du di(dichlorophosphoryl)imide $\text{Cl}_2(\text{O})\text{P-NH-P}(\text{O})\text{Cl}_2$ $[\text{HN}(\text{POCl}_2)_2]$ (I) qui n'est autre que le produit d'hydrolyse de $\text{Cl}_3\text{P=N-P}(\text{O})\text{Cl}_2$ ⁴, ayant été mise au point au laboratoire il devenait donc logique de chercher à en tirer parti pour tenter la synthèse de composés possédant une structure de type (8) directement à partir de (I).

L'étude bibliographique des synthèses et de la réactivité de (I) était donc indispensable d'où le rappel suivant.

I) SYNTHESES DU DI(DICHLOROPHOSPHORYL)IMIDE $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ (I).

Elles s'effectuent selon trois méthodes principales.

- Les deux premières ont été mises au point par Riesel et coll ^{5,6}

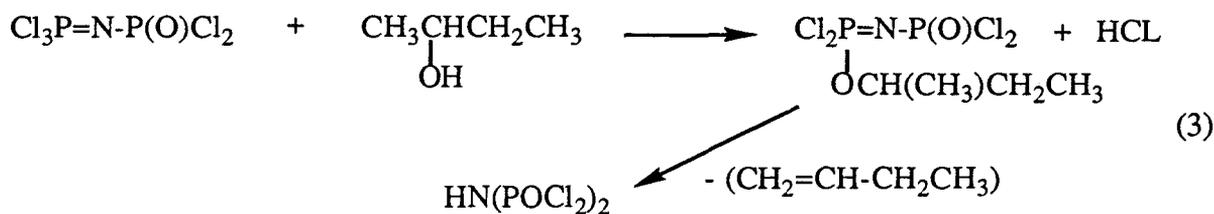
- L'une consiste à faire réagir $\text{Cl}_3\text{P=N-P}(\text{O})\text{Cl}_2$ et l'acide formique en proportions stoechiométriques. La réaction se déroule selon (2):



(2) est générale, puisqu'elle peut être étendue aux chlorophosphazènes oligomères $\text{Cl}(\text{P}(\text{Cl}_2)\text{N})_n\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$ ainsi qu'aux monophosphazènes substitués de type $\text{Cl}(\text{P}(\text{Cl}_2)\text{N})_n\text{P}(\text{X})\text{R}_2$ avec $\text{X}=\text{O},\text{S}$ et $\text{R}=\text{Cl}, \text{OMe}, \text{OC}_6\text{H}_5$. ^{5,7,8}

- L'autre concerne la réaction du butanol secondaire sur $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$.

Elle se déroule en deux étapes. Dans un premier temps on a formation du monoalcoxyphosphazène $\text{Cl}_2(\text{O})\text{P}-\text{N}=\text{P}(\text{Cl}_2)\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$, lequel se transforme en di(dichlorophosphoryl)imide avec élimination de butène selon (3)



- La troisième méthode de préparation a été mise au point au laboratoire⁴. Elle repose sur l'hydrolyse de $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$ par l'eau liquide dans le nitrométhane comme solvant selon (4)



Les deux dernières méthodes ayant été utilisées dans le cadre de ce travail, nous les avons décrites en annexe où sont reportées également les caractéristiques spectroscopiques de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$.

II) REACTIVITE DU DI(DICHLOROPHOSPHORYL)IMIDE (I)

La réactivité de (I) avec les nucléophiles est plus faible que celle de $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$.

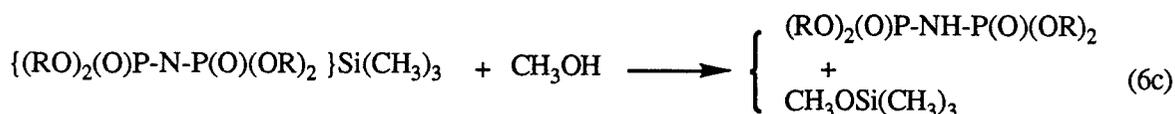
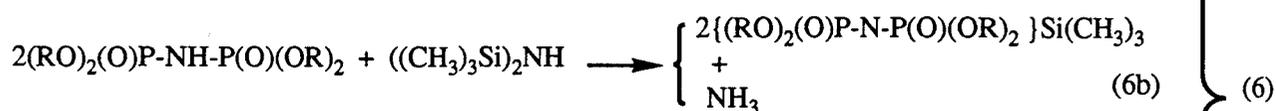
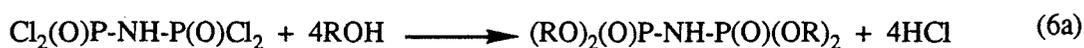
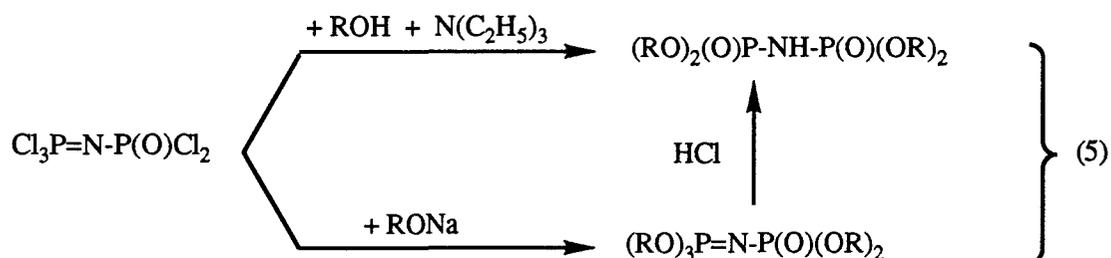
- Vis à vis des alcools:

Les alcools en proportions stoechiométriques ne réagissent avec (I) que partiellement cela même à 50°C

Toutefois, en utilisant un large excès d'alcool, on peut caractériser les dérivés mono-di-tri et tétrasubstitués.

La synthèse des dérivés tétrasubstitués a fait l'objet de plusieurs publications⁹⁻¹³.

Trois types de réaction (5)¹⁰, (6)¹³ et (7)¹² permettent de les obtenir à l'état pur.

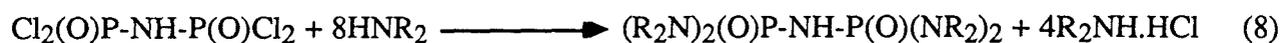


Dans (6), (6b) et (6c) n'ont pour but que de separer le tétraester du HCl formé pendant la réaction (5a).

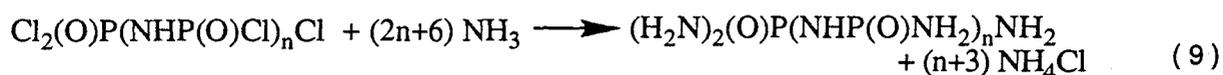
Ces composés se présentent sous la forme d'huiles (sauf le tétraphenylester qui est solide à température ambiante). Ils sont solubles dans la plupart des solvants organiques, insolubles dans l'ether de pétrole. Leurs solutions aqueuses sont acides.

-Vis à vis des Amines:

L'action sur (I) des amines R_2NH ($\text{R} = \text{H}, \text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5$) a été étudiée pour la première fois par Riesel et coll en 1974⁵. Ces auteurs ont préparé les dérivés tétrasubstitués selon (8)



Les oligomères de type $(\text{H}_2\text{N})_2(\text{O})\text{P}(\text{NHP}(\text{O})\text{NH}_2)_n\text{NH}_2$ avec $n=1, 2, 3$ ont également été préparés selon (8) par Riesel et Somieski en 1975¹⁴.



En 1988 Delpuech et coll¹⁵ dans le cadre de la synthèse de ligands et d'agents extractants de type diphosphoramide ont préparé le dérivé $(\text{Me}_2\text{N})_2(\text{O})\text{P}-\text{NH}-\text{P}(\text{O})(\text{NMe}_2)_2$. Le protocole opératoire général utilisé est celui préconisé par Riesel⁵ si ce n'est que l'étape de substitution de (I) se fait cette fois en présence du catalyseur Diméthylaminopyridine (DMAP).

Pour sa part, Manenc en 1991¹⁶ a préparé le di(diaminophosphoryle)imide dont la structure cristalline a été déterminée¹⁷.

Cette même année Shaw et coll¹⁸ ont enfin mis en évidence la formation des dérivés tétrasubstitués lors de l'étude des réactions de $\text{Cl}_3\text{PNP}(\text{O})\text{Cl}_2$ sur des amines primaires et secondaires [$\text{H}_2\text{NC}_2\text{H}_5$, $\text{H}_2\text{NC}_3\text{H}_7$, $\text{H}_2\text{NC}_6\text{H}_5$, $\text{HNC}_5\text{H}_{10}$ (piperidine), HNC_4H_8 (pyrrolidine) et $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$ (morpholine)]. (Dans ce cas cette formation est expliquée par la présence de (I) dans $\text{Cl}_3\text{PNP}(\text{O})\text{Cl}_2$.)

Tous ces dérivés sont des solides hygroscopiques solubles dans l'eau. Leurs solutions aqueuses sont faiblement basiques.

Nous avons regroupé dans le tableau (2) quelques données RMN du ^{31}P .

COMPOSES	δP (ppm)	Références
$(R_1R_2N)_2(O)P-NH-P(O)(NR_1R_2)_2$		
$NR_1R_2 = NHC_2H_5^*$	+13,9	(18)
$= NHC_3H_7$	+7	
$= NHC_4H_9$	+5	
$= C_4H_8NH$	+8,9	
$= C_5H_{10}NH$	+13,7	
$= C_4H_9NO$	+6	
$= N(CH_3)_2$	+16,4	
$(NH_2)_2(O)P-NH-P(O)(NH_2)_2$	+15 \pm 2	(14)

*Le produit avec $NR_1R_2 = NHC_2H_5$ n'a pu être détecté.

TABLEAU 2

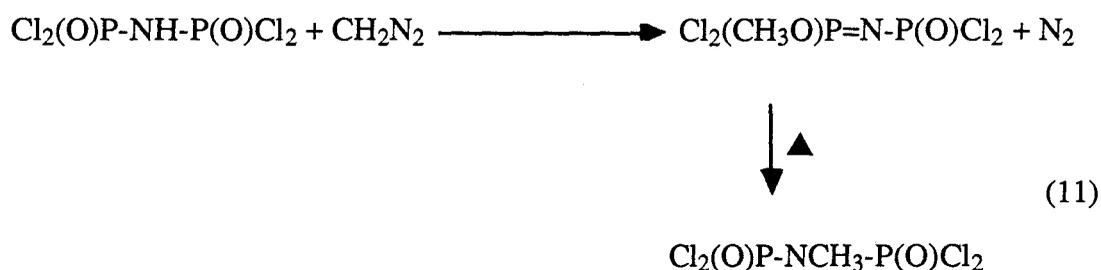
Il existe un autre type de dérivé de (I) qui présente un intérêt pour la suite de ce travail. Il s'agit des composés de type $RN(P(O)Cl_2)_2$.

Dans le cas où $R = CH_3$ ils s'obtiennent:

- soit par réaction de $Cl_2(O)PNHCH_3$ sur $POCl_3$ en présence de triéthylamine selon (10) ¹⁹:



- Soit par réaction de $Cl_2(O)P-NH-P(O)Cl_2$ sur CH_2N_2 selon (11) ⁵:



La réactivité de ce composé est encore plus faible que celle de (I) ²⁰. Cependant des produits de mono et disubstitution de $\text{CH}_3\text{N}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ par la diméthylamine ont été préparés en 1972 par Irvine et Keat ²¹.

L'intérêt de leur travail est d'avoir mis en évidence l'existence de deux formes isomères pour le dérivé disubstitué symétrique $(\text{CH}_3)_2\text{NCl}(\text{O})\text{P}-\text{NCH}_3-\text{P}(\text{O})\text{Cl}(\text{CH}_3)_2$.

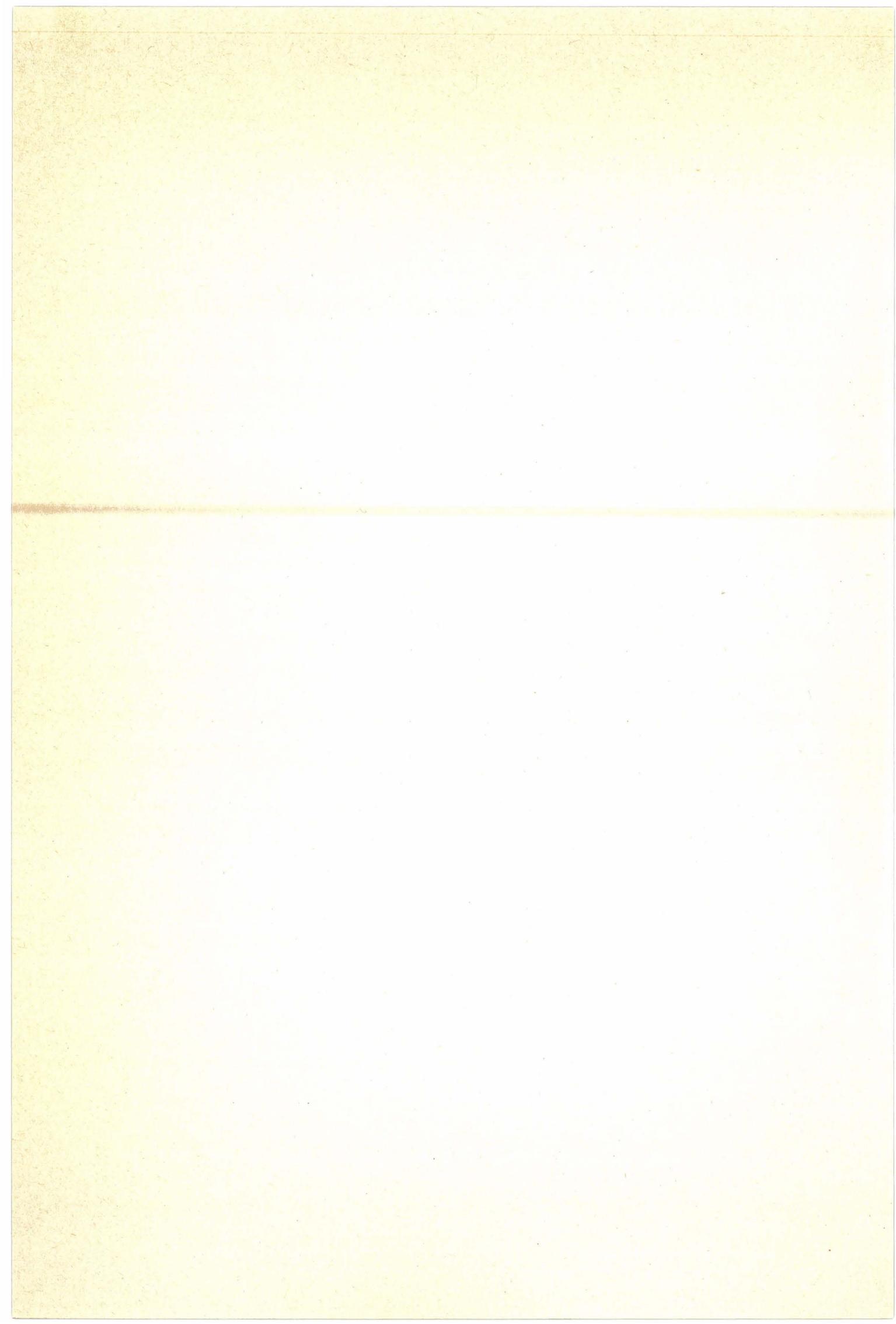
Nous retrouverons le même résultat dans le cas des réactions de (I) avec la N, N (bischloro-2 ethyl)amine. C'est la raison pour laquelle nous avons regroupé dans le tableau (3) les données RMN du ³¹P des produits de substitution de $\text{CH}_3\text{N}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ par $\text{HN}(\text{CH}_3)_2$ publiées par Keat en 1970 ¹⁹, Irvine et Keat en 1972 ²¹ et Hägele en 1974 ²².

COMPOSES $\text{R}_1\text{R}_2(\text{O})\text{P}-\text{NCH}_3-\text{P}(\text{O})\text{R}_3\text{R}_4$	δ (ppm) POCl_2	δ (ppm) $\text{POCl}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)$	δ (ppm) $\text{PO}(\text{N}(\text{CH}_3)_2)_2$	Réf.
. $\text{R}_i = \text{Cl}$ (i= 1,2,3 et 4)	+10,6 +10,3			22 21,19
. $\text{R}_1 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ et $\text{R}_i = \text{Cl}$ (i = 2,3 et 4)	+12,4 +12,3	+16,1 +15,2		22 21
. $\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ et $\text{R}_3, \text{R}_4 = \text{Cl}$	+14,6 +13		+18,9 +17	22 21
. $\text{R}_1, \text{R}_3 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ et $\text{R}_2, \text{R}_4 = \text{Cl}$		+21,8 / +20,9 (stéréoisomères) +19,2		22 21
. $\text{R}_i = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ (i=1,2 et 3) et $\text{R}_4 = \text{Cl}$		+23,9 +24,1	+18,9 +19,1	22 21
. $\text{R}_i = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ (i=1,2,3 et 4)		+20,4 +20,3		22 21

TABLEAU (3)

Bibliographie

- 1) M. Colvin, Cancer Chemotherapy, 3, Academic Press, New York, 292(1981).
- 2) P. Brookes, P.D. Lawley, Biochem. J. 80: 486(1961).
- 3) A.Ouassini, R. De Jaeger, S. Hilali, C. Fournier, B. Hecquet; Eur. J. of Medicinal chemistry, 23,347-352, (1988).
- 4) J. Heubel, Y. Hammoutou, R. De Jaeger; Phosphorus, Sulfur and Silicon, 63, 19-31 (1991)
- 5) L. Riesel, H.H. Patzmann, H.P. Bartich ; Z. Anorg. Allg. Chem., 404, 219 (1974).
- 6) L. Riesel, A. Pfützner, E. Herrmann ; Z. Anorg. Allg. Chem., 23, 344 (1983)
- 7) L. Riesel, E. Herrmann, H.H. Patzmann, R. Somieski, H. Kroschwitz, H.A. Lehmann; Symposium of Inorg Phosphorus Compounds. PRAGUE. Abstr. 1. 7. (1970).
Mêmes auteurs avec D. Schroter, H.A. Z. Lehmann ; Z. Chem. 10, 466(1970)
- 8) A. V.Kirsanov, Zhmurova. Zh. Obshch. Khim 28, 2478 (1958)
- 9) L. Riesel, M. Willfahrt, W. Grosse, P. Kindscherowsky, A.A. Khodak, V.A. Gilyarov, M.I. Kabachnik ; Z. Anorg. Allg. Chem.; 435, 61 (1977).
- 10) V.V. Kireev, G.S. Kolesnikov, S.S. Titov; Zh. Obsh. Khim.; 40(9), 2015 (1970).
- 11) M.J. Kabachnik, V.A. Gilyarov; Izv. Akad. Nauk. SSSR, OTD Khim. Nauk; 819, (1961).
- 12) L. Meznik, A. Marecek ; Z. Chem.; 21(8),294 (1981).
- 13) L. Riesel, A. Claussnitzer, C. Ruby, P. Kindscherowsky; Z. Anorg. Allg. Chem.; 437, 275 (1977).
- 14) L. Riesel, R. Somieski ; Z. Anorg. Allg. Chem.; 412, 246 (1975).
- 15) J.J. Delpuech, G. Fasan, L. Rodehüser, P. Rubini, C. Selve ; Phosphorus and sulfur; 35, pp. 281-289 (1988).
- 16) A. Manenc ; Thèse , Lille (1991).
- 17) P. Dhamelinourt ; Communication personnelle.
- 18) A. Kilic, Z. Kilic, R.A. Shaw, Phosphorus, Sulfur and Silicon, 56, 157, (1991).



- 19) R. Keat ; J. Chem. Soc.; A 2732 (1970).
- 20) L. Riesel, A. Pfützner, E. Herrmann ; Z. Anorg. Allg. Chem.; 511, 33 (1984).
- 21) I. Irvine, R. Keat ; JCS Dalton, 17 (1972).
- 22) G. Hägele, R.K. Harris, M.I.M. Wazeer, R. Keat ; J.C.S. Dalton ; 1985(1974).

CHAPITRE 1

**REACTION DU DI(DICHLOROPHOSPHORYL)IMIDE $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$
AVEC LA N, N-bis(CHLORO-2 ETHYL)AMINE $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$.**

I) Réaction de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ (I) avec le chlorhydrate de N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine .

Un mélange équimolaire de (I) et de chlorhydrate de N,Nbis(chloro-2éthyl)amine dans le toluène est chauffé au reflux (110°C). L'avancement de la réaction est suivi en réalisant les spectres de résonance magnétique nucléaire du phosphore (^{31}P) de deux prélèvements faits après deux et six heures de réaction.

La présence dans le spectre du dernier prélèvement d'un singulet à $\delta=+18\text{ppm}$, domaine caractéristique des produits de substitution de $\text{P}(\text{O})\text{Cl}_3$ par les amines ¹, nous montre que dans ce cas la réaction de dégradation thermique de (I) intervient. Cela nous a donc conduit à poursuivre cette étude en utilisant l'amine libre $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$, dont la préparation est décrite en annexe (p : 154).

II) Réaction de (I) avec la N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine(bCEA).

De nombreux essais ont été réalisés en faisant varier la température et les rapports molaires bCEA/(I) en présence ou en l'absence de triéthylamine comme accepteur de HCl et en utilisant ou pas un catalyseur.

II.1. Réaction (I) + bCEA en présence de $\text{N}(\text{Et})_3$.

Les premières expériences ont été faites avec des rapports molaires $\text{bCEA}/(\text{I}) = 1$ et $\text{N}(\text{Et})_3/(\text{I}) = 1$.

Une réaction type consiste à introduire une solution de (I) dans l'éther diéthylique (0,02 mole de (I)) dans un réacteur muni d'une agitation magnétique surmonté d'un réfrigérant et d'une ampoule d'introduction, contenant un mélange bCEA (0,02mole) triéthylamine (0,02mole) éther diéthylique (40ml). L'ensemble qui est protégé de l'humidité atmosphérique par deux colonnes

d'anhydride phosphorique est parcouru par un courant d'azote sec. Le réacteur est amené à la température choisie que l'on maintient grâce à la circulation d'un fluide provenant d'un cryostat pour les basses températures et d'un thermostat pour celles supérieures à l'ambiante (Fig 5).

L'ajout est fait vers -10°C pendant trois heures. Le mélange est ensuite ramené à l'ambiante puis porté au reflux pendant cinq jours. Après filtration et évaporation sous vide de l'éther diéthylique, le produit de la réaction se présente sous la forme d'une huile, qui a été caractérisée par RMN du ^{31}P et ^{13}C :

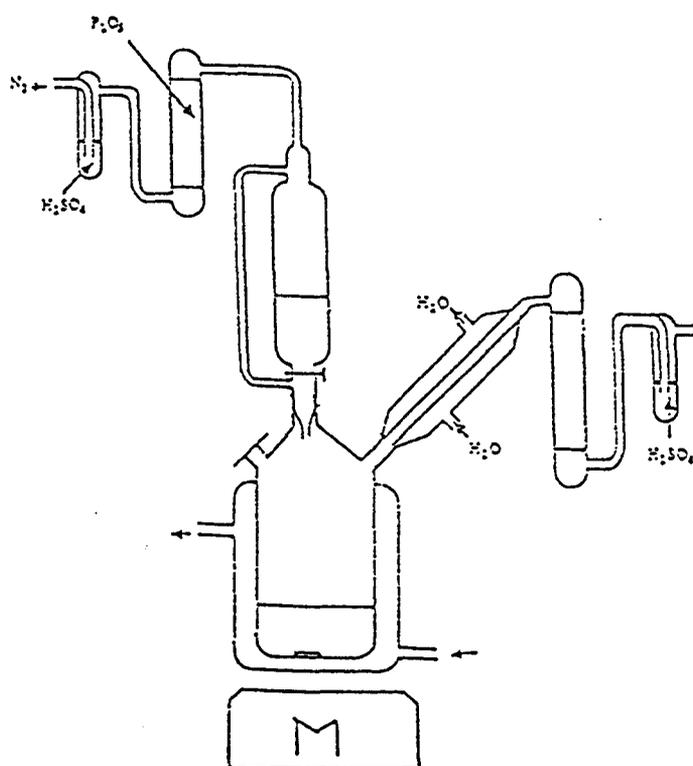


figure 5 : Schéma du montage

La figure (6) représente le spectre RMN du ^{31}P . On y distingue un singulet à $\delta=-11\text{ppm}$ auquel correspond 86,5% des atomes de phosphore, et deux doublets à $\delta=+4,7\text{ppm}$ et $\delta=-8,3\text{ppm}$ caractérisés par une constante de couplage $J=36\text{Hz}$. Il leur correspond le reste du phosphore soit 13,5%. Nous avons vérifié par la méthode des ajouts que le singulet à $\delta=-11\text{ppm}$ était attribuable à

(I) résiduel. Il faut savoir que le déplacement chimique de ce dernier varie très fortement en fonction du milieu comme le montre le tableau (4).

Solution de	Solvant	Concentration moles/l	Valeurs observées δ (ppm)	Référence
HN(POCl ₂) ₂	CCl ₄		0 ± 0.5	2
HN(POCl ₂) ₂	CCl ₄ +THF	THF/(I) 0 à 3	+0.3 à -7.4	3
HN(POCl ₂) ₂	Bu(OH) Sec + C ₆ H ₆	BuOH/C ₆ H ₆ 0 à 0,2	+1 à -8	
HN(POCl ₂) ₂	CH ₃ CN + éther		-5	
HN(POCl ₂) ₂	CH ₃ CN + éther +Et ₃ N		-14	

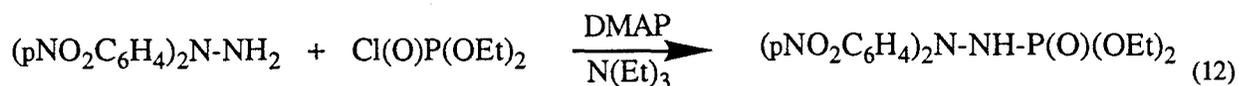
Tableau 4

En RMN du ¹³C on ne met en évidence que quatre signaux à $\delta_1=49,8\text{ppm}$ $\delta_2=38,7\text{ppm}$ $\delta'_1=46\text{ ppm}$ $\delta'_2=9,3\text{ppm}$ respectivement représentatifs des atomes de carbone présents dans l'amine libre bCEA et dans la triéthylamine.

- Les deux doublets relevés en RMN du ³¹P correspondent, par conséquent, au produit de la réaction dont le rendement même après cinq jours reste très faible. Pour l'améliorer nous avons donc testé l'action d'un catalyseur: la diméthylaminopyridine (DMAP) .

II.2 Réaction (I) + bCEA en présence de DMAP.

La diméthylaminopyridine présente un effet catalytique pour la phosphorylation de la 1,1 bis(pnitrophenyl)hydrazine (12). La réaction (12) qui est impossible en présence de la pyridine ou de la triéthylamine , se fait en effet avec un rendement de 43 % en présence de DMAP ⁴.



La réaction de (I) avec bCEA a donc été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment mis à part l'addition de ce catalyseur (0,03mole de (I), 0,03mole de N(Et)₃ et 0,005mole de DMAP le solvant étant l'éther diéthylique).

Le spectre RMN du ³¹P de la figure (7a) réalisé seulement après une journée de réaction à température ambiante montre que cette fois les deux doublets correspondant au produit de réaction représentent 39% des atomes de phosphore (13,5% après 5 jours à 35°C dans le cas précédent). L'effet catalytique de la DMAP est donc bien confirmé, ce qui nous amenera à l'utiliser dans certaines réactions intervenant dans la suite de ce travail

En RMN du ¹³C figure (7b), il est cette fois-ci possible de mettre en évidence en plus des deux signaux caractéristiques de la bCEA libre deux doublets à δ=50,3ppm et δ=41,9ppm auxquels correspondent respectivement les constantes de couplage J₁=4,8Hz et J₂=3,7Hz.

II.3. Influence de la triéthylamine.

Une réaction a été réalisée en utilisant le même solvant (Et₂O) le même rapport molaire bCEA/(I)=1, mais en triplant la proportion de triéthylamine (N(Et)₃)/(I)=3).

Le spectre de la solution obtenue après deux jours de réaction à la température ambiante est représenté sur la figure (8). On remarque que les deux doublets déjà signalés représentent cette fois 64,5% des atomes de phosphore, le singulet caractéristique de (I) en représentant quant à lui 21,2%.

Au reste du phosphore correspondent deux singulets, d'intensités sensiblement égales, à δ=+11,6ppm et δ=+11,1ppm sur lesquels nous reviendrons par la suite.

Fig 6 : RMN du ^{31}P (C_6H_6)
réaction 1(I) + 1bCEA + 1N(C_2H_5).

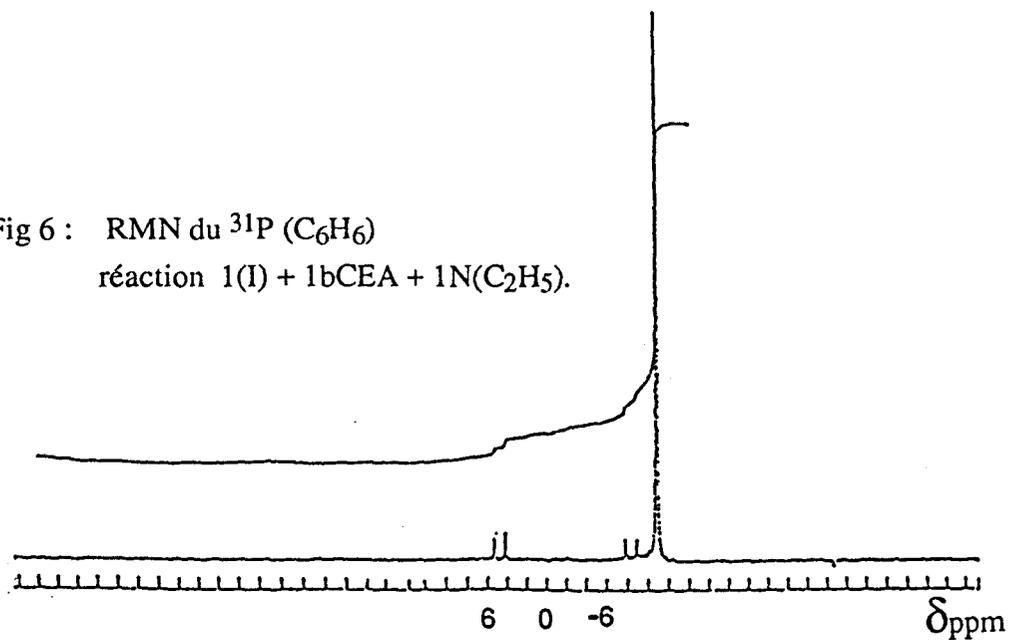


Fig 7 : RMN du
a) ^{31}P ($\text{Et}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_6$)
b) ^{13}C (C_6H_6)
réaction 1(I) + 1bCEA + 1N(C_2H_5) + DMAP

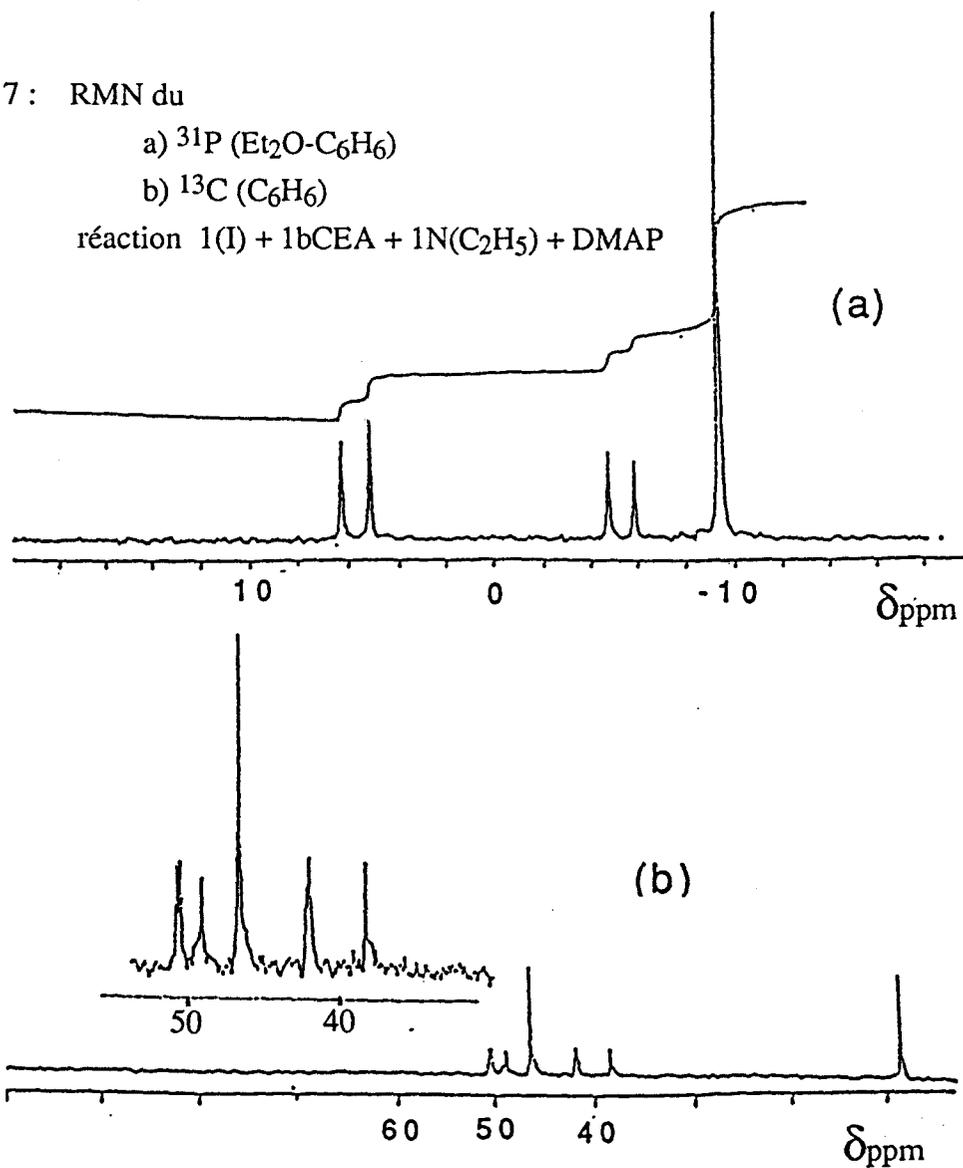
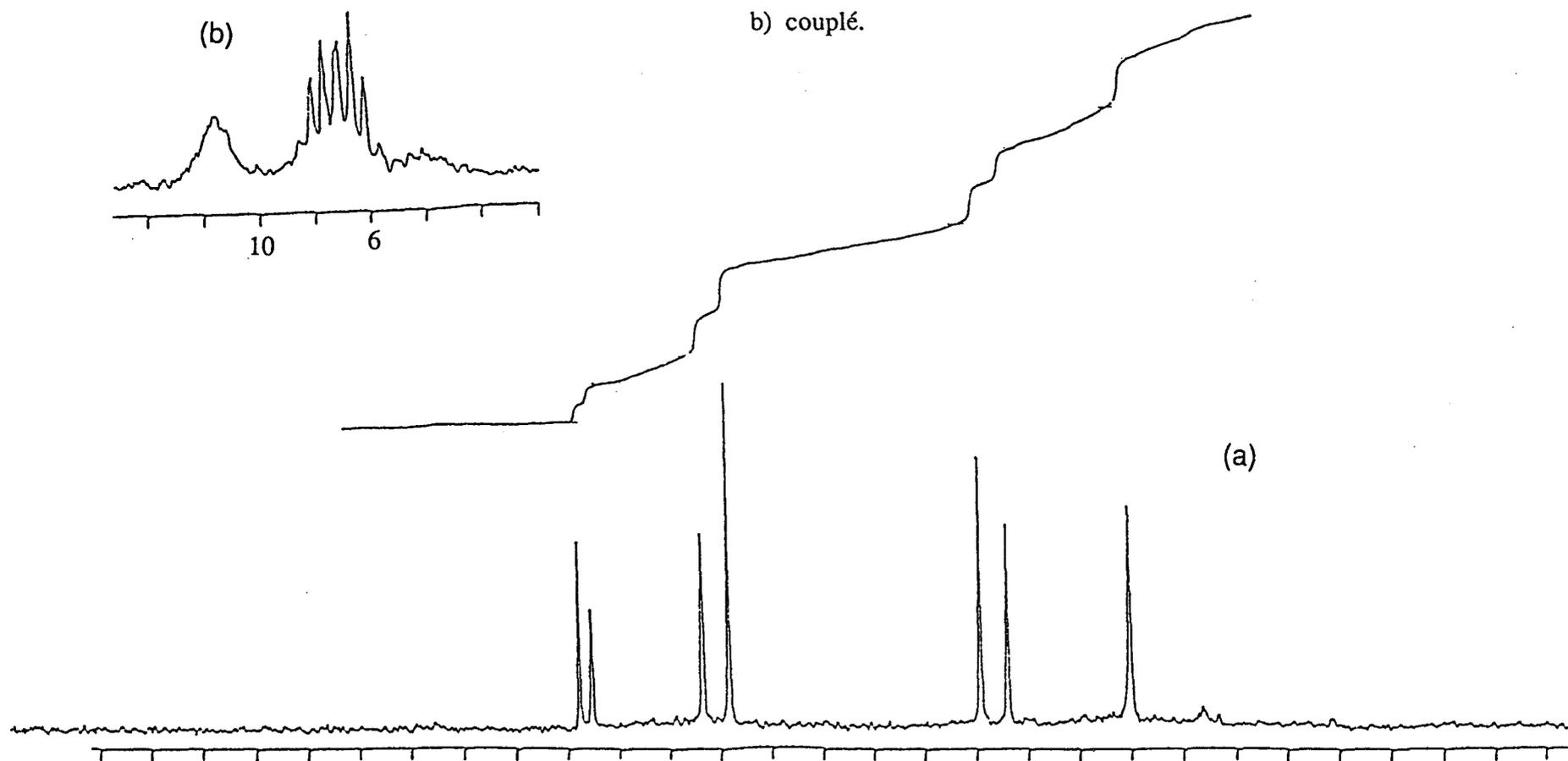




Fig 8 : RMN du ^{31}P ($\text{Et}_2\text{O}-\text{C}_6\text{H}_6$)
réaction 1(I) + 1bCEA + 3N(C_2H_5).

a) découplé.

b) couplé.



Dans une autre expérience nous avons remplacé la triéthylamine par la bCEA (jouant à la fois le rôle de réactif et d'accepteur de HCl) en utilisant le même solvant. (Rapport molaire bCEA/(I)=2). Dans ce cas après deux jours de réaction à l'ambiante les deux doublets représentent 22% des atomes de phosphore . La comparaison de ce résultat avec celui de (1°) met en évidence l'efficacité plus grande de bCEA par rapport à N(Et)₃ .

II.4. Influence du solvant .

L'influence du solvant a été étudiée en réalisant trois expériences avec un rapport bCEA/(I)=4 successivement dans le benzène, le nitrométhane et l'éther diéthylique .

Le composé, auquel correspondent les deux doublets en RMN du ³¹P représente dans le premier cas 71% , 80% dans le second et dans le troisième 84% . Malgré le rendement plus important obtenu dans le cas de l'éther nous avons cependant évité ce dernier qui pose quelques problèmes, en particulier lorsque les quantités de réactifs sont plus importantes. Le chlorhydrate formé a en effet tendance à s'agglomérer en piégeant une partie de (I) et du produit de réaction.

Dans le benzène et dans le nitrométhane ce phénomène ne se rencontre pas.

II.5. Influence de la température .

L'effet de la température a également été vérifié en comparant des réactions faites dans le benzène à partir de rapports molaires bCEA/(I)=2 à la température ambiante et à 60°C . La figure (9) représente les spectres RMN du ³¹P obtenus après 24 heures à 20°C puis au bout de 16 heures à 60°C. On remarque que le produit de réaction représente 33% de phosphore dans le premier cas et 43,50% dans le second.

II.6. Discussion

Les diverses réactions réalisées à partir d'un rapport bCEA/(I)=1 en présence de triéthylamine ou avec un rapport supérieur à 1 sans triéthylamine permettent donc de montrer qu'au premier produit

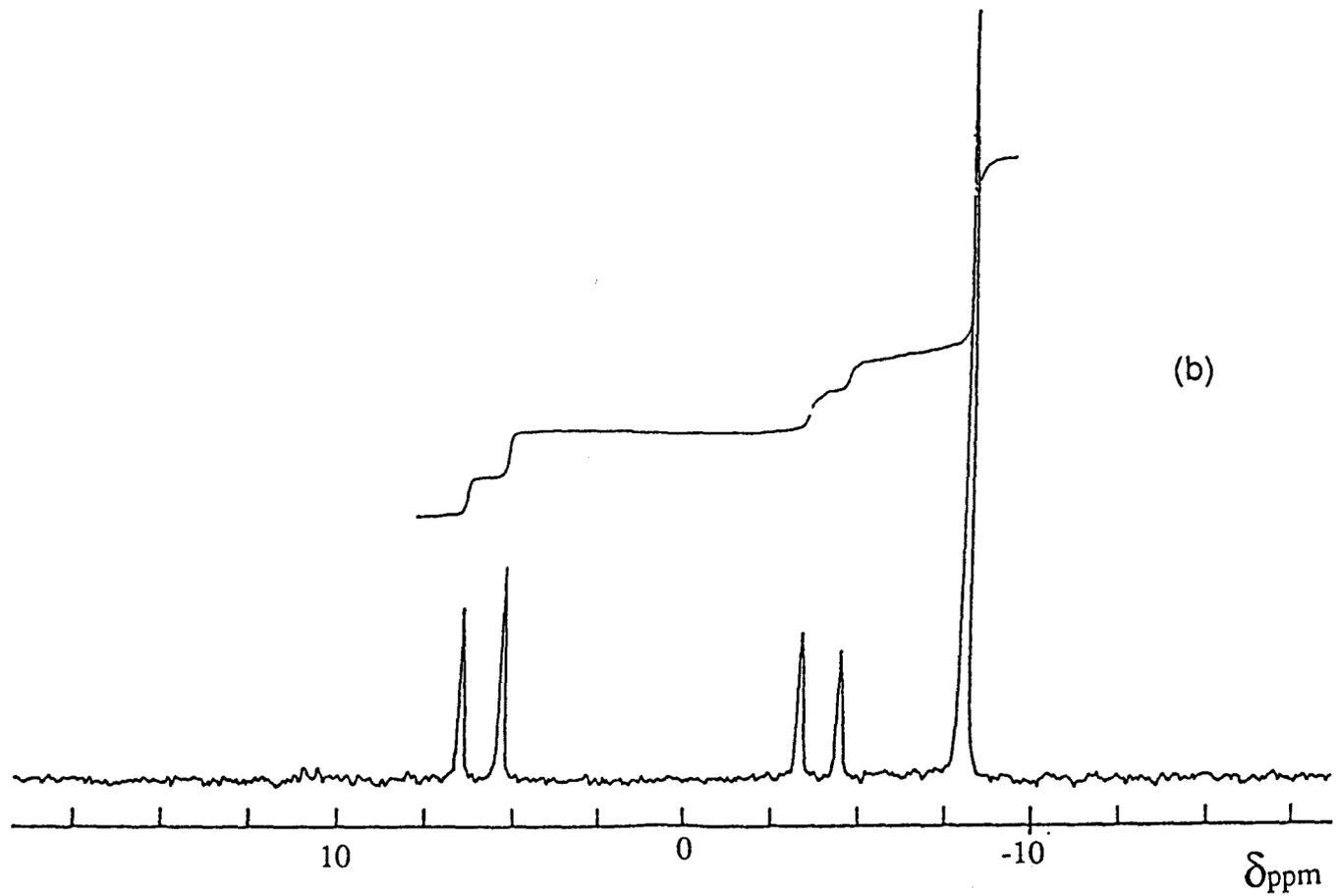
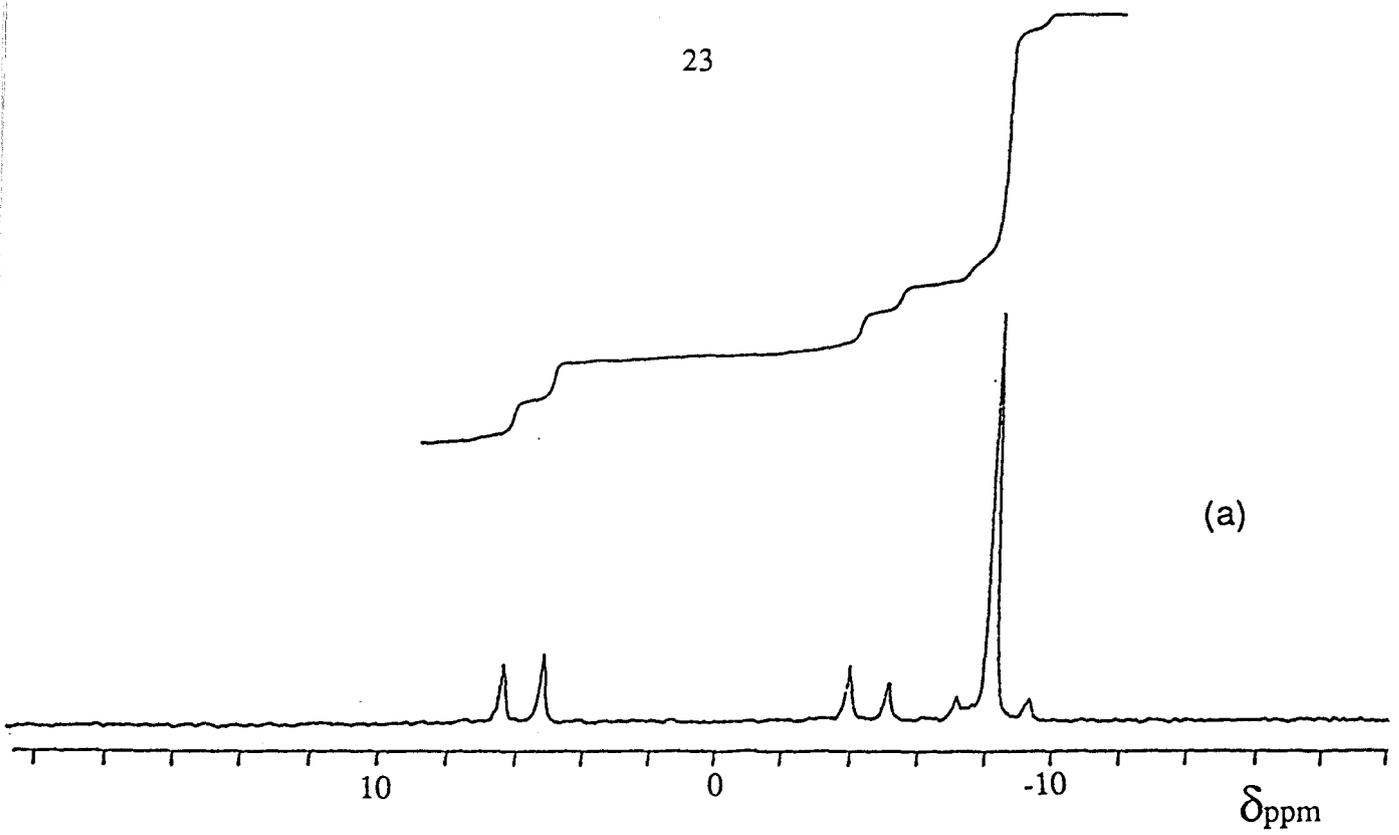
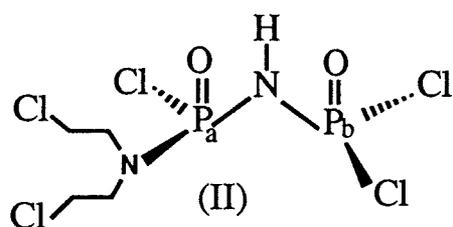


Fig 9 : RMN du ^{31}P (C_6H_6)
réaction $1(\text{I}) + 2\text{bCEA}$.
a) 24h à 20°C .
b) 16h à 60°C .

formé correspondent deux doublets dont les déplacements chimiques varient pour l'un de $\delta_1=+4,7\text{ppm}$ à $\delta_1=+6,2\text{ppm}$ et pour l'autre de $\delta_2=-8,3\text{ppm}$ à $\delta_2=-4,7\text{ppm}$.

L'étude des spectres couplés phosphore-proton permet de montrer que l'un des atomes de phosphore est couplé à quatre protons équivalents (le doublet correspondant se transforme en un doublet de quintuplets) et que la constante de couplage $J_{\text{P-H}}$ est voisine de 14 Hz fig (8). L'autre doublet reste inchangé.

Ils peuvent donc être attribués respectivement aux phosphores P_a et P_b du dérivé monosubstitué (II).

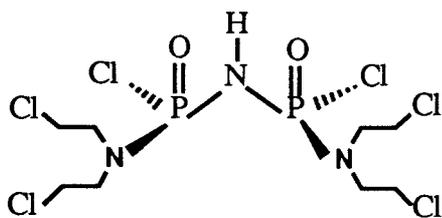
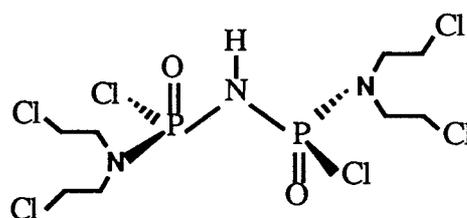


$$\begin{aligned}\delta\text{P}_a &= +4,7\text{ppm} \\ \delta\text{P}_b &= -8,3\text{ppm} \\ {}^2\text{J}(\text{P}_a-\text{P}_b) &= 34\text{Hz} \\ {}^3\text{J}(\text{P}_a\text{NCH}) &= 14\text{Hz}\end{aligned}$$

La constante de couplage ${}^3\text{J}_{\text{PNCH}}$ est de 12,8Hz dans le composé $\text{Cl}_2(\text{O})\text{PN}(\text{Me})\text{P}(\text{O})(\text{Cl})\text{NMe}_2$ pour le groupement $\text{P}(\text{Cl})\text{N}(\text{Me})_2$ ⁵ et de l'ordre de 14,5Hz dans le composé $(\text{ClCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{Cl})(\text{O})\text{PNPCl}_3$ ⁶.

Les deux singulets situés vers $\delta=+11\text{ppm}$ (visibles sur la figure 8) n'apparaissent qu'après la formation de (II). Il ne peut leur correspondre qu'un ou deux composés de degré de substitution plus élevé. Dans un spectre couplé phosphore-proton ces signaux se transforment en un multiplet.

Par analogie aux travaux de HAEGELE ⁵ concernant les substitutions de $\text{CH}_3\text{N}(\text{POCl}_2)_2$ par les amines et de MANENC ⁷ relatifs aux réactions de (I) avec des mixtes $\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_3$, nous les attribuons aux deux isomères cis et trans du dérivé bismonosubstitué (III)_{a,b}.

III_a , CisIII_b , Trans

Si l'on se base sur ces attributions, on peut montrer que la réaction faite avec un rapport molaire bCEA/(I) =1 en présence d'un excès de triéthylamine (NET₃/(I)=3) pendant 3 jours est quasi complète (figure 8) , puisque dans ce cas on retrouve 93,1% de bCEA sous forme (II) et (III)a,b avec des pourcentages respectivement égaux à 64,5% et 28,6%.

Une augmentation du rapport molaire bCEA/(I) (Le rapport N(Et)₃/bCEA restant constant égal à 2,5) favorise la formation de (III) comme le montre la figure (10, a et b). On passe en effet de 22,4% d'atomes de phosphore sous forme (III) dans le cas d'un rapport bCEA/(I)=1 à 45,1% pour un rapport 2. Dans le premier cas, on peut calculer qu'après trois jours de réaction à température ambiante,95% du bCEA introduit a été consommé, alors que dans le deuxième ce pourcentage ne dépasse pas 72,5%. Ce résultat prouve que la réactivité de (II) est plus faible que celle de (I).

Les deux doublets relevés en RMN du ¹³C à δ=50,3ppm et δ=41,9ppm sont attribuables respectivement aux atomes de carbone en α et en β de l'azote dans le groupement P(O)N(C_αH₂C_βH₂Cl)₂.

Les valeurs 4,8Hz et 3,7Hz correspondent successivement aux constantes de couplage ²J_{PNC_α et ³J_{PNC_αC_β. Ces valeurs sont comparables à celles trouvées par OUASSINI⁹ pour le composé: Cl₂(O)P-N=PCl₂(N(CH₂CH₂Cl)₂) [²J_{PNC_α=4,8Hz et ³J_{PNC_αC_β = 3,6Hz].}}}}

Lorsque la réaction est faite avec un excès de bCEA (r=5) sans N(Et)₃, un spectre RMN du ³¹P fait après 20heures de réaction à température ambiante présente en plus des signaux précédemment mis en évidence, deux doublets centrés sur δ=+9,3ppm et δ=-6,2ppm (fig 11a). Il leur correspond une constante de couplage identique à celle relevée pour les doublets attribués au

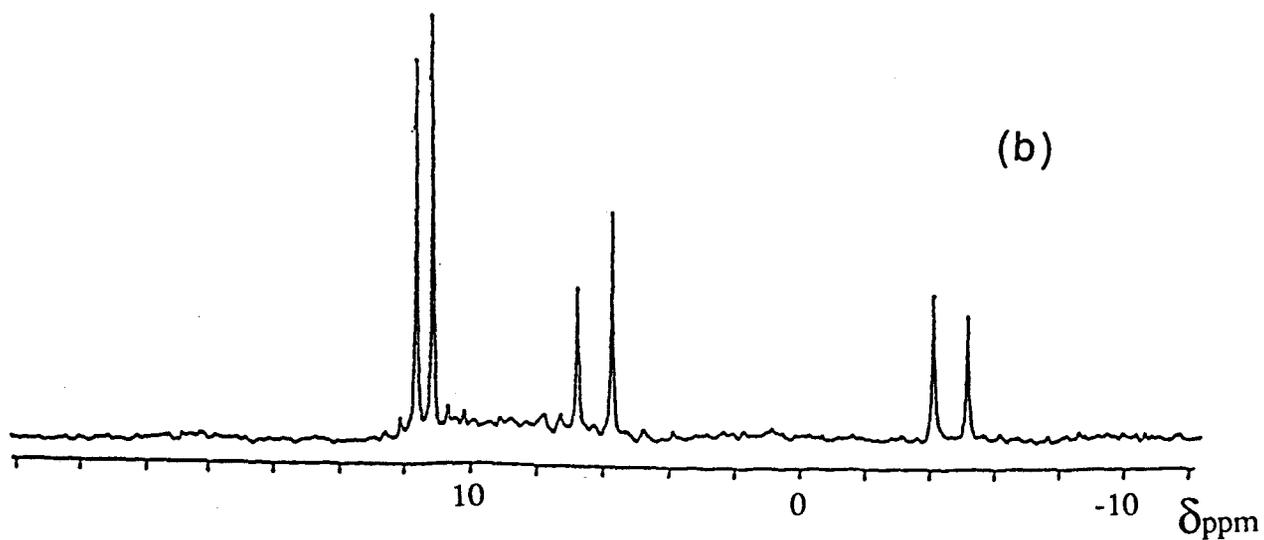
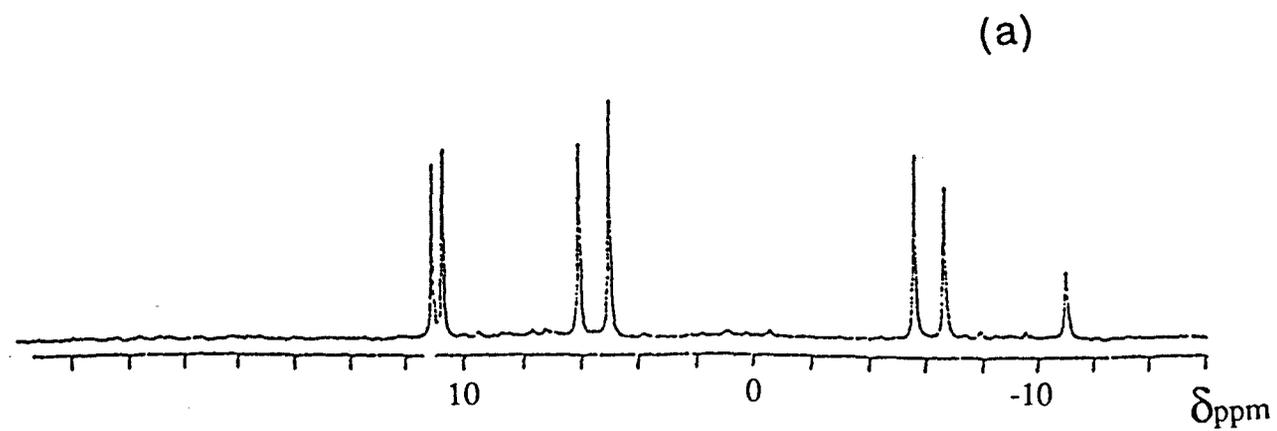


Fig 10 : RMN du ^{31}P (C_6H_6)

réaction:



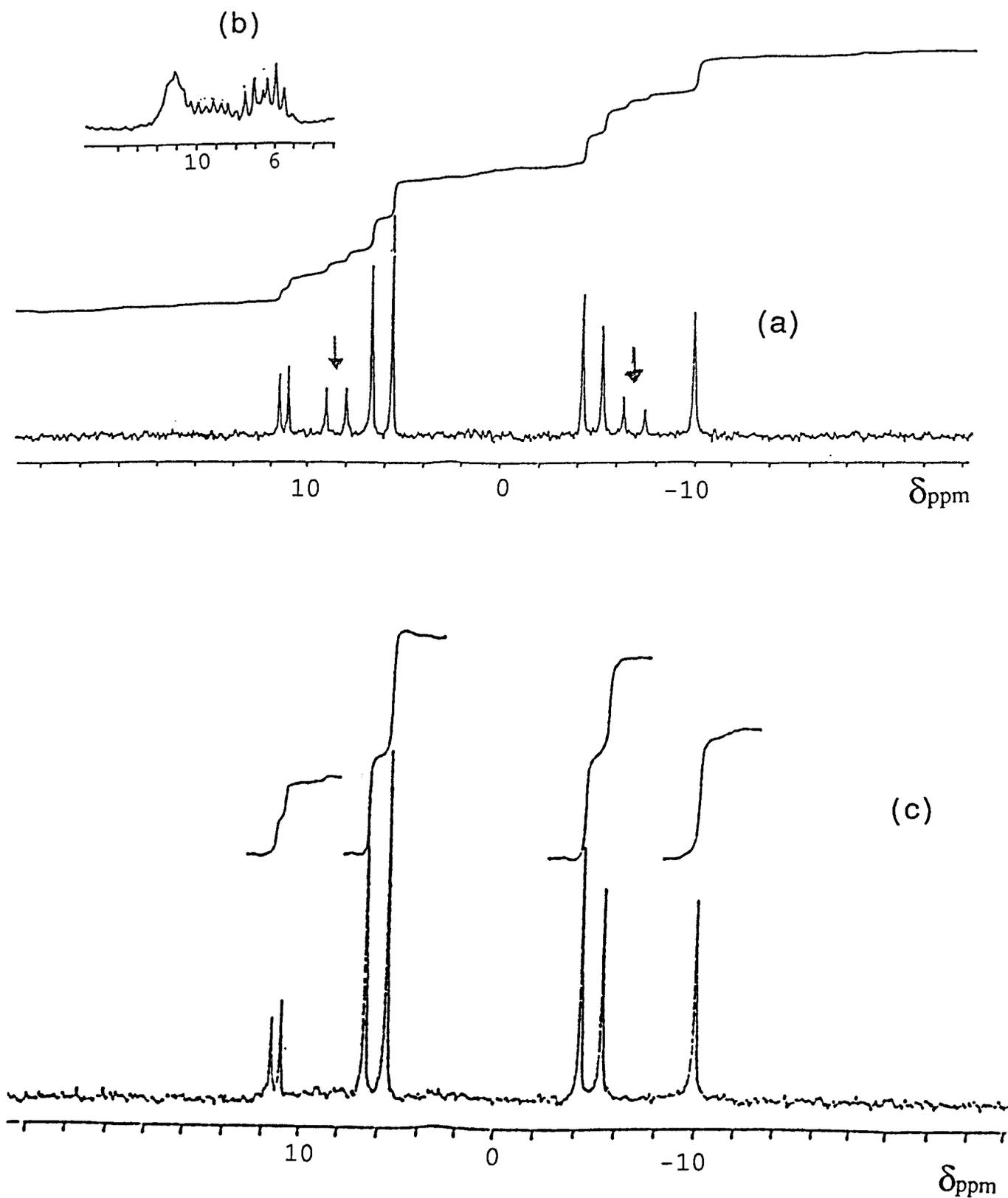


Fig 11 RMN du ^{31}P (C_6H_6)
 Evolution de (II_b) en fonction de la température.
 (a) après 20 heures à l'ambiante.
 (c) après 2 heures au reflux de C_6H_6 .



composé (II) c'est à dire voisine de 35Hz. Le doublet à $\delta = -6,2\text{ppm}$ reste inchangé dans un spectre couplé phosphore-proton alors que celui à $\delta = +9,3\text{ppm}$ est affecté et donne un multiplet avec une constante de couplage $J_{(P-H)}$ de l'ordre de 12Hz également comparable à celle relevée pour le produit (II) (Fig11b).

Le même phénomène est également constaté si la réaction est effectuée avec un rapport $b\text{CEA}/(I)=1$ en présence d'un excès de triéthylamine. Etant donné leur ordre d'apparition (après les deux singulets à $\delta = +11,6\text{ppm}$ et $+11\text{ppm}$) la première hypothèse consisterait à les attribuer au dérivé disubstitué dissymétrique $[(\text{ClCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}]_2\text{P}(\text{O})\text{NHP}(\text{O})\text{Cl}_2$. Celle-ci ne peut cependant être retenue car dans ce cas la constante de couplage devrait être différente de celle de (II).

L'existence d'un doublet non couplé (Phosphore-Proton), la proximité des déplacements chimiques, ainsi que la similitude des constantes de couplage nous poussent donc à attribuer les quatre doublets du spectre aux deux formes isomères du dérivé monosubstitué (II).

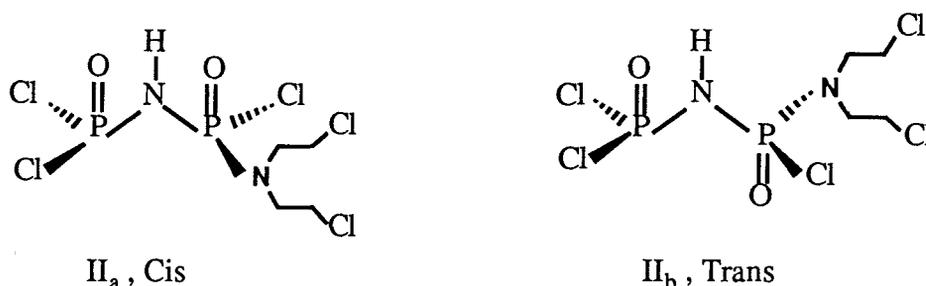
Cette hypothèse semble confirmée par le fait que l'évaporation des solvants, une augmentation de température ou simplement une prolongation du temps de réaction se traduit par la disparition de ces deux nouveaux doublets et une augmentation parallèle du pourcentage des atomes de phosphore attribuables aux doublets à $\delta = -4,7\text{ppm}$ et à $\delta = +6,2\text{ppm}$, ceci sans apparition d'espèces nouvelles.

L'existence de deux formes diastéréoisomères pour (II) n'est pas surprenante puisque celles-ci existent dans le cas de (III).

La figure (11) représente les spectres obtenus après 20h de réaction à l'ambiante dans le benzène (a) et celui obtenu après chauffage au reflux pendant deux heures supplémentaires (c). L'évaluation des intégrations nous permet de montrer que dans les deux cas les pourcentages de phosphore sous forme (III) et (I) restent sensiblement constants alors que celui des atomes de

phosphore sous forme (II) dans (c) correspond à la somme des pourcentages de phosphore impliqués dans les quatre doublets du spectre (a).

Un calcul du nombre de moles de bCEA consommées selon cette hypothèse montre que la réaction est quasi complète puisque l'on en retrouve 95% sous forme (II) et (III) ce qui confirme notre interprétation.



La formation de (II) et de (III) étant prouvée, il était intéressant de poursuivre cette étude par un suivi RMN du ^{31}P de la réaction en fonction du rapport molaire $\text{bCEA}/(\text{I})=r$ afin de mettre en évidence tous les composés susceptibles de se former.

II.7. Suivi RMN du ^{31}P de la réaction (I) + bCEA dans C_6H_6 .

A une solution de 5,3g (0,02mole) de (I) dans 20ml de benzène on ajoute des quantités croissantes d'un mélange bCEA- $\text{N}(\text{Et})_3$. Après chaque ajout un spectre RMN du ^{31}P du mélange réactionnel est réalisé et les pourcentages de phosphore correspondants aux différentes espèces sont calculés.

La figure (12) représente l'évolution des spectres en fonction de rapport r . Cette évolution se caractérise par l'apparition en plus des signaux déjà signalés correspondant à (II) et (III) de deux singulets A et B respectivement à $\delta=+13\text{ppm}$ et $\delta=+12,6\text{ppm}$. Le singulet (A) apparait le premier, (B) devenant unique pour un rapport supérieur à 4. A (B) ne peut correspondre que le terme ultime de la réaction c'est à dire le dérivé tetrasubstitué (V).

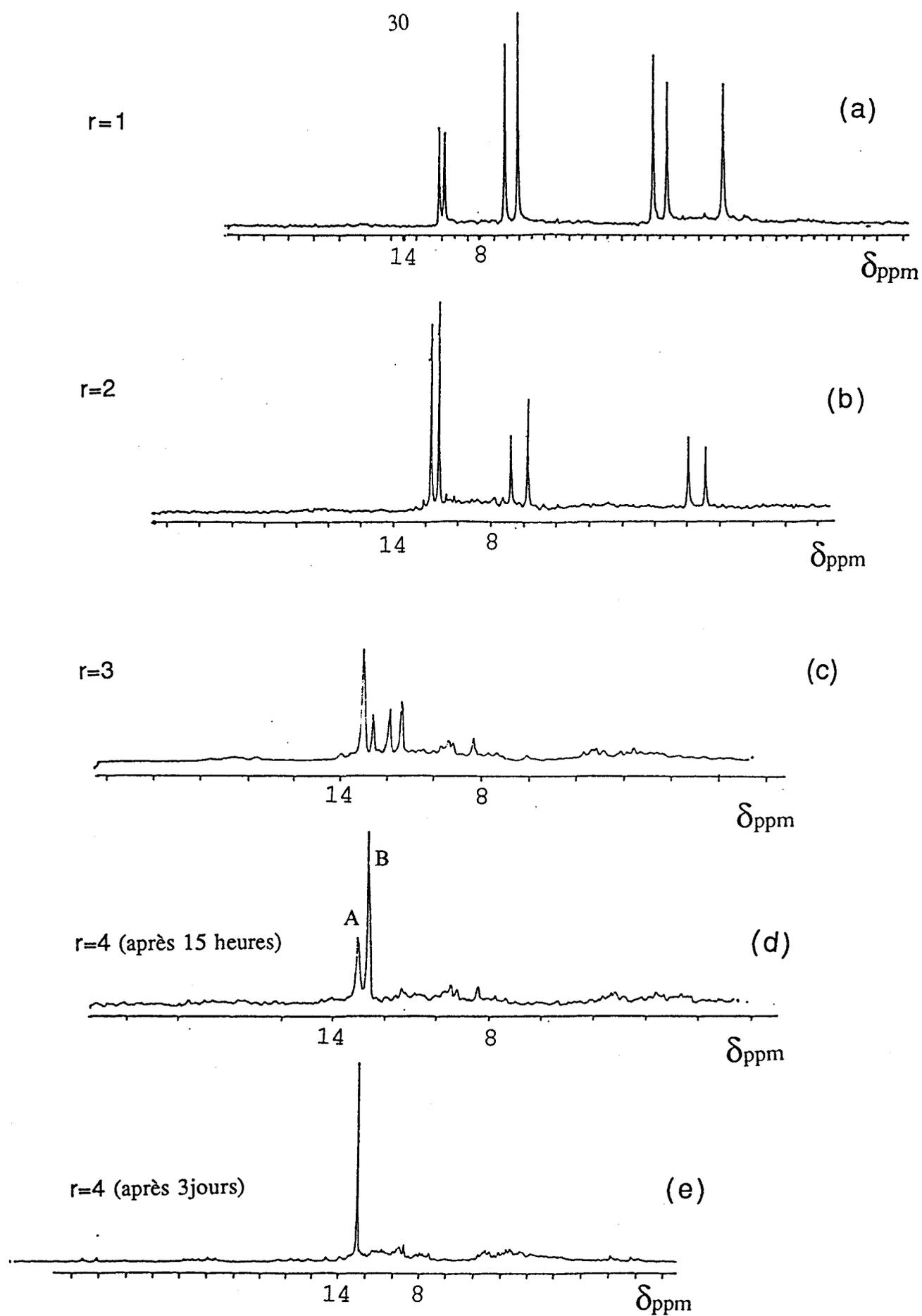
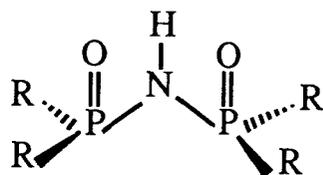


Fig 12 : Suivi RMN du ^{31}P de la réaction (I) + bCEA + $\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)$ dans C_6H_6 .





(V)



Cela est confirmé par le fait que la réaction faite avec un rapport bCEA/(I) =4 ne présente après 15 heures à l'ambiante que les deux signaux à $\delta=+13\text{ppm}$ et $\delta=+12,6\text{ppm}$ (fig 12d). Le premier représente 41,70% des atomes de phosphore le second 58,30%. Après 3 jours de réaction seul le singulet à $\delta=+12,6\text{ppm}$ persiste (fig 12e) et le spectre n'évolue plus, même si l'on ajoute du bCEA.

Au signal (A) ne peut donc correspondre qu'un composé intermédiaire entre (III) et (V), donc le dérivé trisubstitué $R_2(O)PNHP(O)RCl$ auquel correspond vraisemblablement un spectre de type AB pour lequel $\Delta\nu/J$ est très faible.

Il faut signaler que si chaque mesure est réalisée après un temps de réaction après ajout, sensiblement constant, ce dernier ne correspond cependant pas à une réaction complète du bCEA introduit.

La figure (13) permet toutefois de confirmer les formations successives des espèces (II) (III) (IV) et (V). Elle montre clairement qu'aucune espèce intermédiaire entre (I) et (V) n'est isolable.

On peut aussi remarquer que parmi celles ci ne figure pas le dérivé disubstitué dissymétrique $Cl_2(O)PNHP(O)R_2$. Nous avons cependant remarqué au cours d'un essai l'apparition fugace de deux doublets d'intensités faibles qui pourraient lui être attribué à $\delta=+7,8\text{ppm}$ et $\delta=-9,3\text{ppm}$. Ils leur correspond une constante de couplage $J=49,9\text{Hz}$.

(V) étant le seul composé susceptible d'être isolé, il était logique que nous le préparions afin de pouvoir le caractériser de manière approfondie.

III) Synthèse et caractérisation de (V)

Après évaporation du solvant (C_6H_6) de la réaction correspondant au suivi précédent, sous pression réduite nous avons obtenu une huile. Traitée par l'éther de pétrole celle ci se transforme en

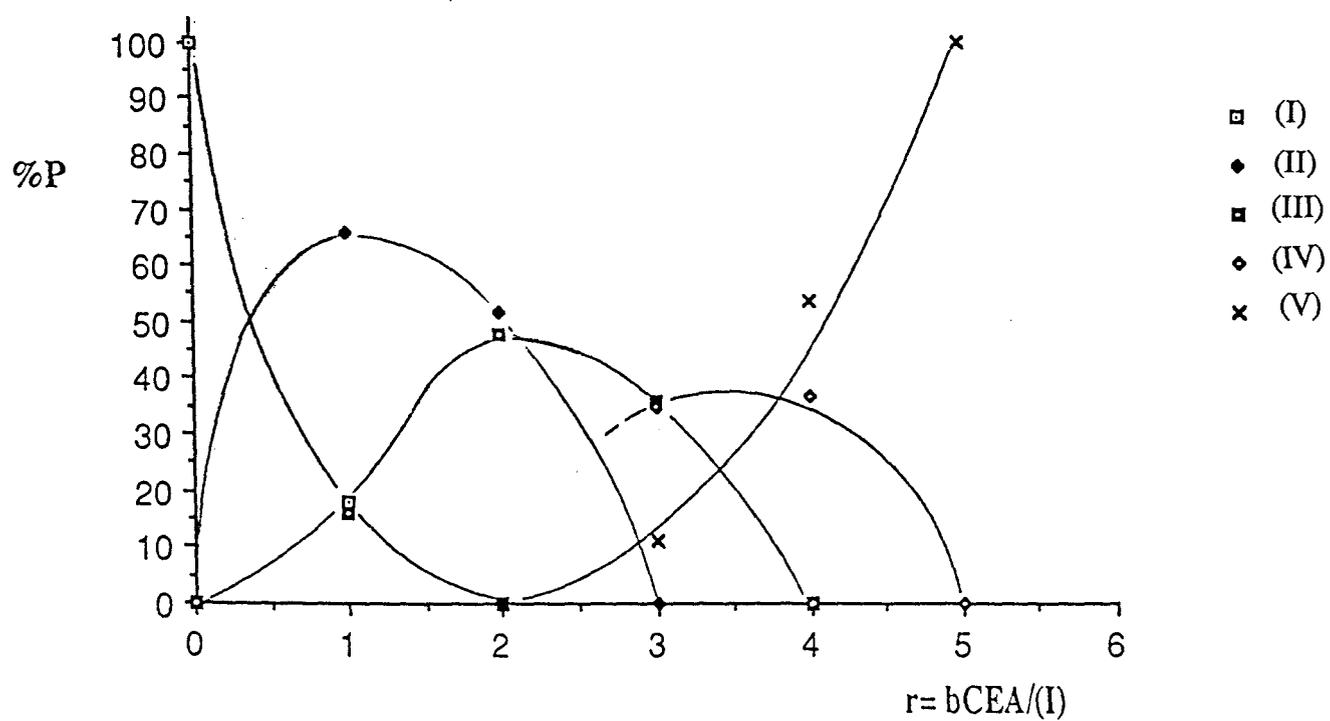


Fig 13: Composition du mélange réactionnel exprimée en % d'atomes de P en fonction du rapport $r = bCEA/(I)$.

un produit pâteux adhérent aux parois du ballon de réaction. Ce dernier est alors dissous dans le benzène, puis reprecipité dans le n-heptane. Une solution benzénique du composé ainsi obtenu a été caractérisée par RMN du ^{31}P . Son spectre est totalement différent de celui du produit obtenu en fin de suivi.

En effet alors que ce dernier présentait un singulet à $\delta=+12,6\text{ppm}$ (fig 14a) s'élargissant par couplage phosphore-proton (fig 14b), le spectre présente cette fois principalement quatre doublets centrés sur $\delta=+32,5$; $+25,4$; $+16,6$ et $+14,2\text{ppm}$. (Fig 14c)

Aux doublets à $\delta = +32,5$ et $+14,2\text{ppm}$ majoritaires correspond une constante de couplage $J=35\text{Hz}$, aux doublets à $\delta=+25,4$ et $+16,6\text{ppm}$ une constante $J=22,4\text{Hz}$.

On pouvait donc penser que le composé (V) n'est pas stable, et qu'il se transforme en deux composés nouveaux (V_a) ($\delta = +32,5$ et $+14,2\text{ppm}$) et (V_b) ($\delta=25,4$ et $+16,6\text{ppm}$).

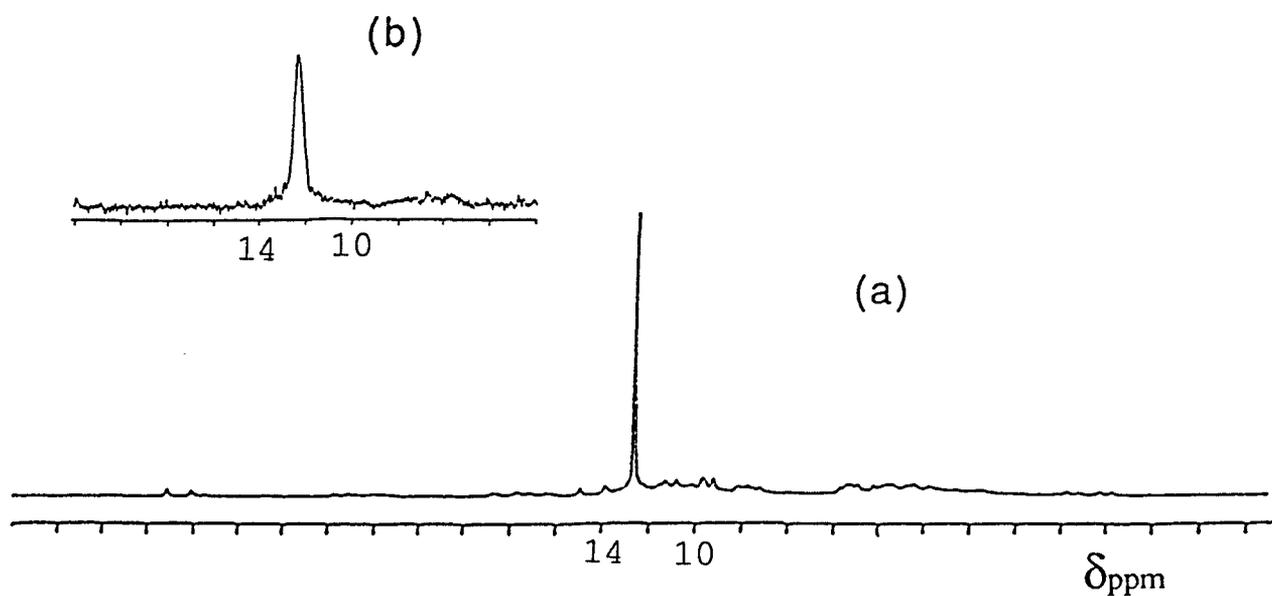
Pour le confirmer, nous avons donc effectué plusieurs essais de synthèse directe de (V), en utilisant différents solvants (Benzène, acétonitrile), en présence ou non de triéthylamine et à différentes températures (C_6H_6 : Température ambiante, 60°C et reflux ; CH_3CN : Température ambiante). Dans tous les cas nous avons utilisé un excès de bCEA par rapport à (I) (rapport molaire bCEA/(I) compris entre 4 et 6 en présence de triéthylamine et supérieur à 10 dans le cas où l'on utilise bCEA comme accepteur de HCl).

(V) étant en partie soluble dans l'éther de pétrole, l'huile obtenue après évaporation du solvant de la réaction a été traitée par ce dernier, et nous nous sommes cette fois intéressé à la partie soluble.

La figure (15a) représente son spectre RMN du ^{31}P après une extraction. (les spectres de la fraction résiduelle et du produit avant traitement sont sensiblement identiques.)

Au singulet représentatif de (V) correspondent 86% des atomes de phosphore, les deux doublets à $\delta=+32,5$ et $+14,2\text{ppm}$ que nous avons attribué à (V_a) en totalisent quant à eux 14%.

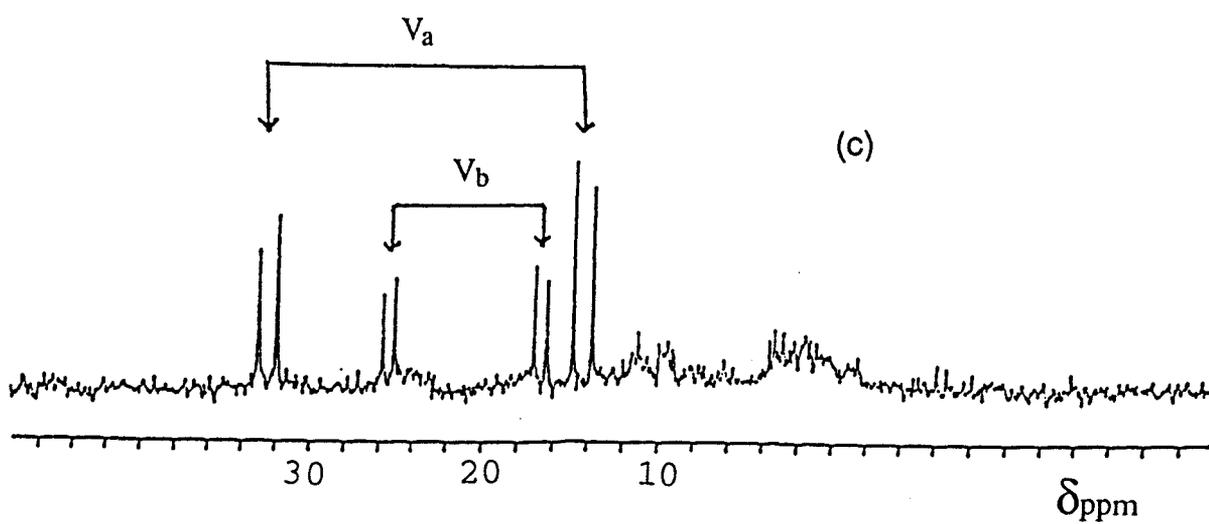
Dans l'huile obtenue après évaporation de l'éther de pétrole, un précipité apparaît avec le temps. Il a été caractérisé par RMN du ^1H comme étant du chlorhydrate de bCEA. Cela nous a donc incité à réaliser des extractions répétées.



Spectres RMN du ^{31}P (C_6H_6) de (V)

a) découplé

b) couplé .



c) Spectre RMN du ^{31}P (C_6H_6) des composés (Va) et (Vb).

Fig 14

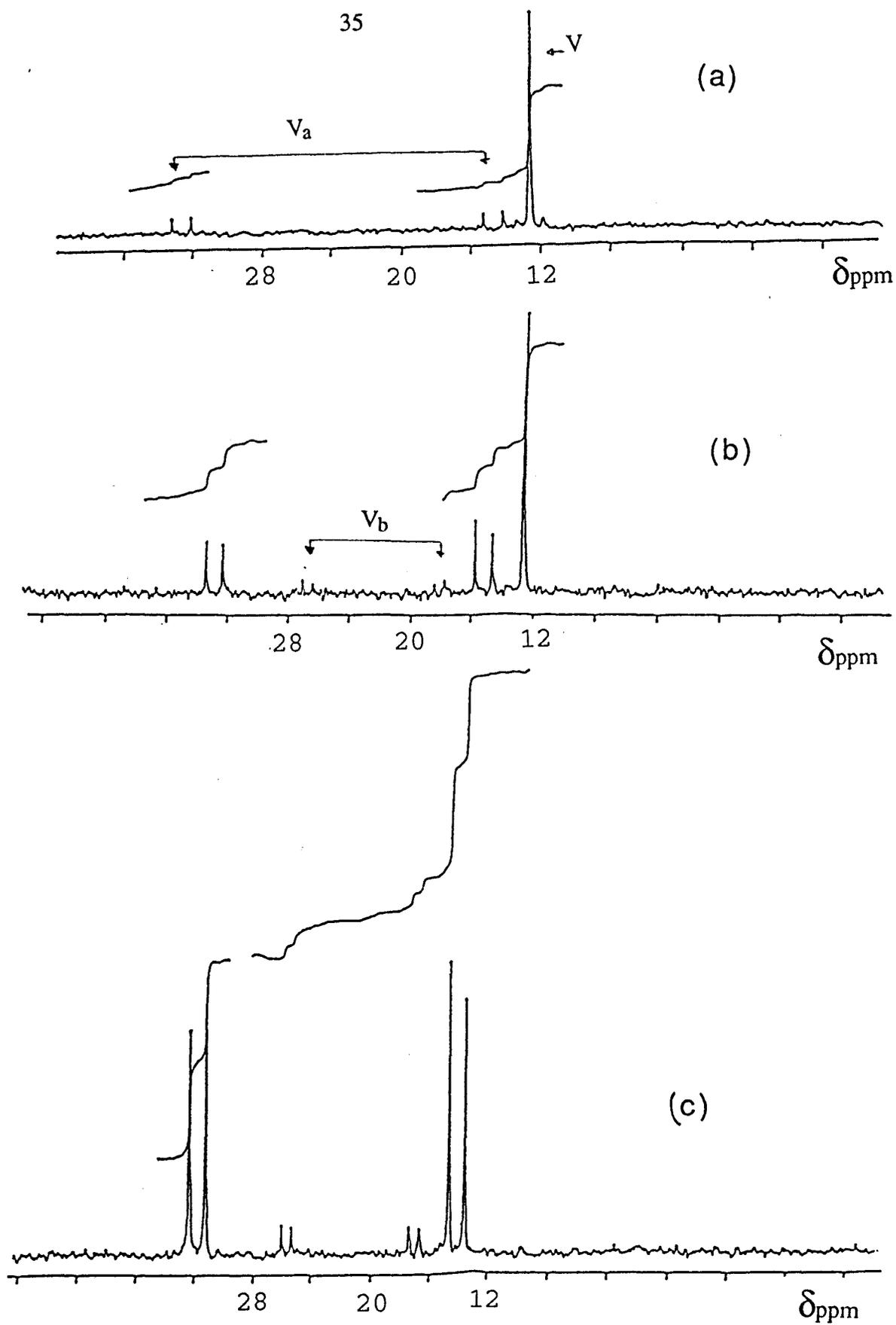


Fig 15: RMN du ^{31}P .
Evolution de (V)



Le spectre obtenu après deux extractions montre une nette augmentation du pourcentage des deux doublets de (V_a) qui passe de 14 à 43% (fig 15b). Dans ce cas on peut constater aussi l'apparition très faible des doublets attribués à (V_b).

(Dans chaque cas, les spectres sont réalisés après évaporation de l'éther de pétrole et remise en solution dans C_6H_6 ou $CHCl_3$.)

Le facteur déterminant pour l'apparition de (V_a) et (V_b) n'est en fait pas le nombre de traitements à l'éther de pétrole réalisé mais le temps. En effet le pourcentage de phosphore sous forme (V_a) passe de 43 à 92% si le mélange auquel correspond le spectre de la figure (15b) est laissé plusieurs jours à température ambiante. Dans ce cas on constate simultanément la disparition du singulet représentatif de (V) et une légère augmentation du pourcentage de phosphore sous forme (V_b) (8%).(Fig 15c)

A ce stade le spectre n'évolue plus. Cette transformation ne concerne donc que le composé (V).

Ajoutons qu'un essai effectué dans C_6H_6 à température ambiante présente après 11 jours de réaction un spectre RMN du ^{31}P dans lequel les quatre doublets représentatifs de (V_a) et (V_b) sont présents bien qu'aucun traitement à l'éther de pétrole n'ait été réalisé.

Le composé (V_a) étant nettement majoritaire, il a été possible par extraction répétées d'isoler une huile ne présentant en RMN du ^{31}P que les doublets lui correspondant rendant ainsi possible sa caractérisation.

- RMN du ^{31}P , ^{13}C et 1H du composé (V_a) :

Le spectre RMN du ^{31}P est représenté (fig 16a). Il présente donc les deux doublets centrés sur $\delta=+32,5$ et $\delta=+14,2$ ppm auxquels correspond le couplage $J=35$ Hz.

Dans le spectre couplé phosphore-proton (fig 16b) le doublet à $\delta=+32,5$ ppm se transforme en un multiplet large et mal résolu, alors que celui à $\delta=+14,2$ ppm se transforme en un multiplet à 8 composantes équidistantes de 11Hz.

37

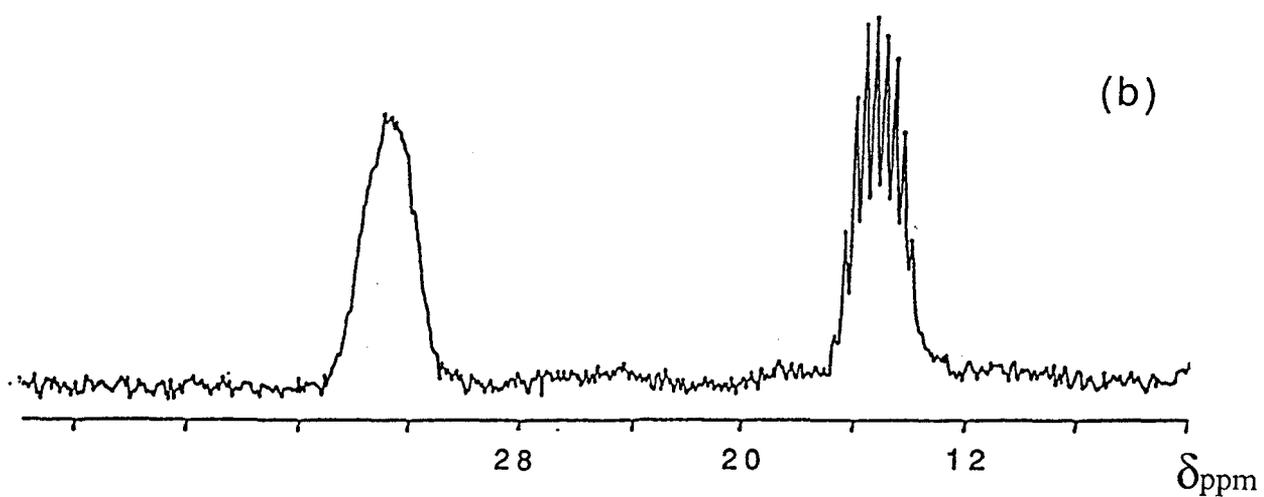
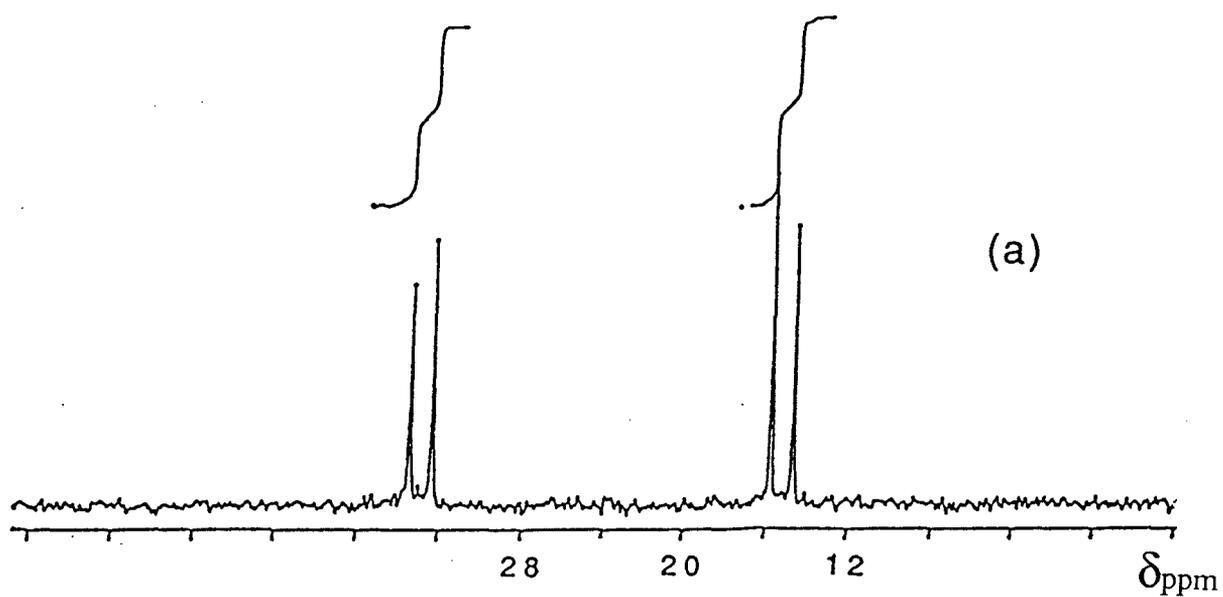


Fig 16 : Spectres RMN du ^{31}P (C_6H_6) de (Va)
a) découplé
b) couplé.

Le spectre RMN du ^{13}C (fig 17a) comporte en dehors des deux signaux attribuables à bCEA libre à $\delta=50,9$ ppm ($\text{N}\text{C}\text{H}_2\text{-CH}_2\text{Cl}$) et $\delta=44,9$ ppm ($\text{NCH}_2\text{C}\text{H}_2\text{Cl}$) et de ceux de caractéristiques du bCEA engagés dans les produits de substitution de (I), un signal à $\delta= 65,5$ ppm sur lequel nous reviendrons par la suite.

En RMN du ^1H (fig 17b), mis à part les signaux correspondant à la bCEA libre on relève essentiellement deux multiplets centrés sur $\delta= 3,1$ ppm et $\delta= 3,4$ ppm. L'intégration du premier étant sensiblement double ($r=1,8$) de celle du second. (Le premier multiplet est en partie masqué par le triplet représentatif des protons en β de l'azote dans l'amine libre $\text{HN}(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{Cl})_2$)

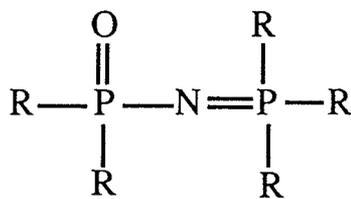
- Spectrométrie de masse:

Le spectre de masse correspondant à (Va) a été réalisé. On y met en évidence un pic à $m/e =634$ fig (18a). Ce pic, dont les spectres expérimental et simulé sont représentés (fig 18 a,b) correspond à l'entité ($\text{Cl}_7\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{P}_2\text{O}_2 +1$).

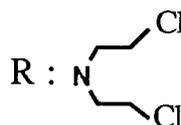
- Discussion:

Les principales remarques que l'on peut tirer de cette caractérisation de (Va) sont les suivantes:

1°) Par analogie au signal relevé en RMN du ^{31}P à $\delta=+12,6$ ppm pour le composé (V) et aux travaux de OUASSINI ⁶ concernant la préparation du composé (VI)



(VI)



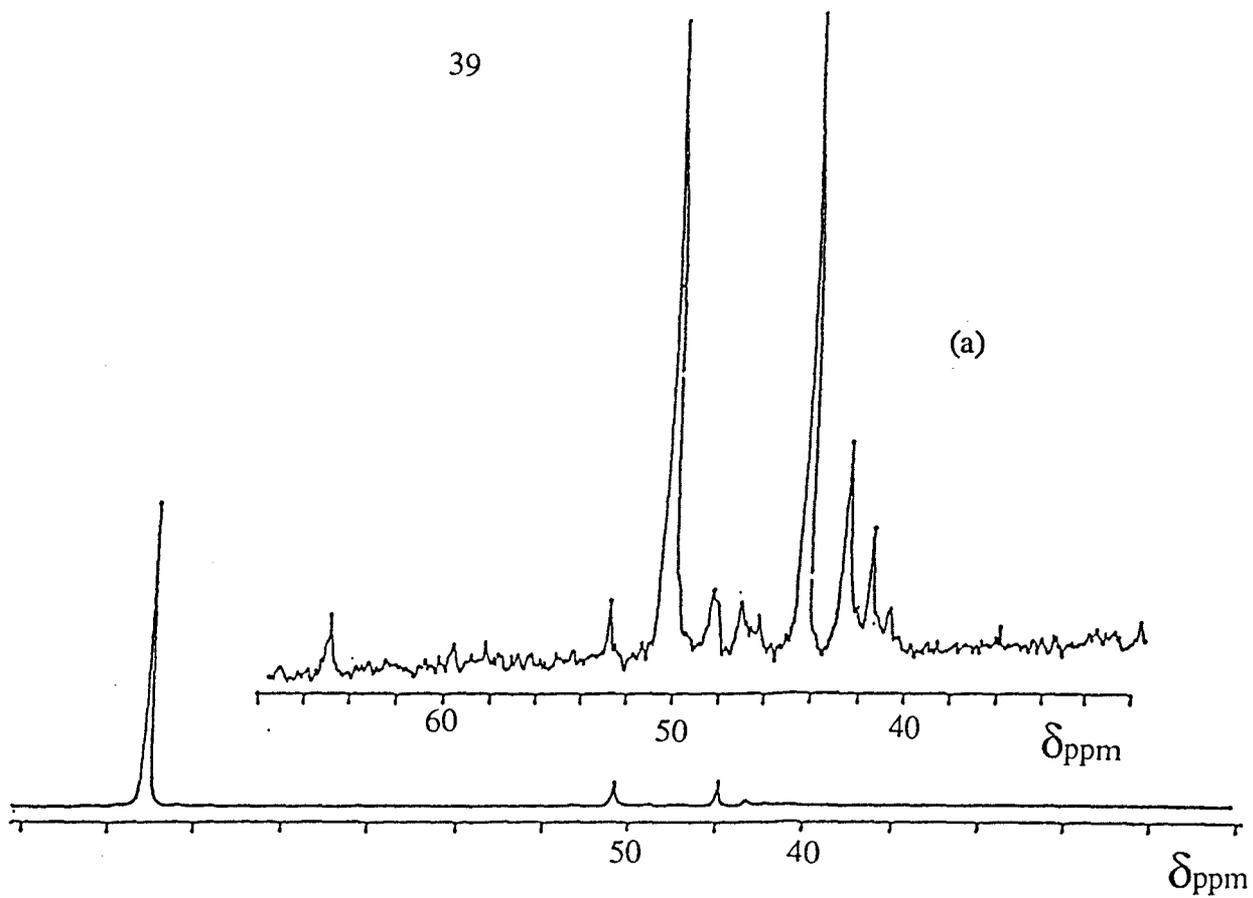
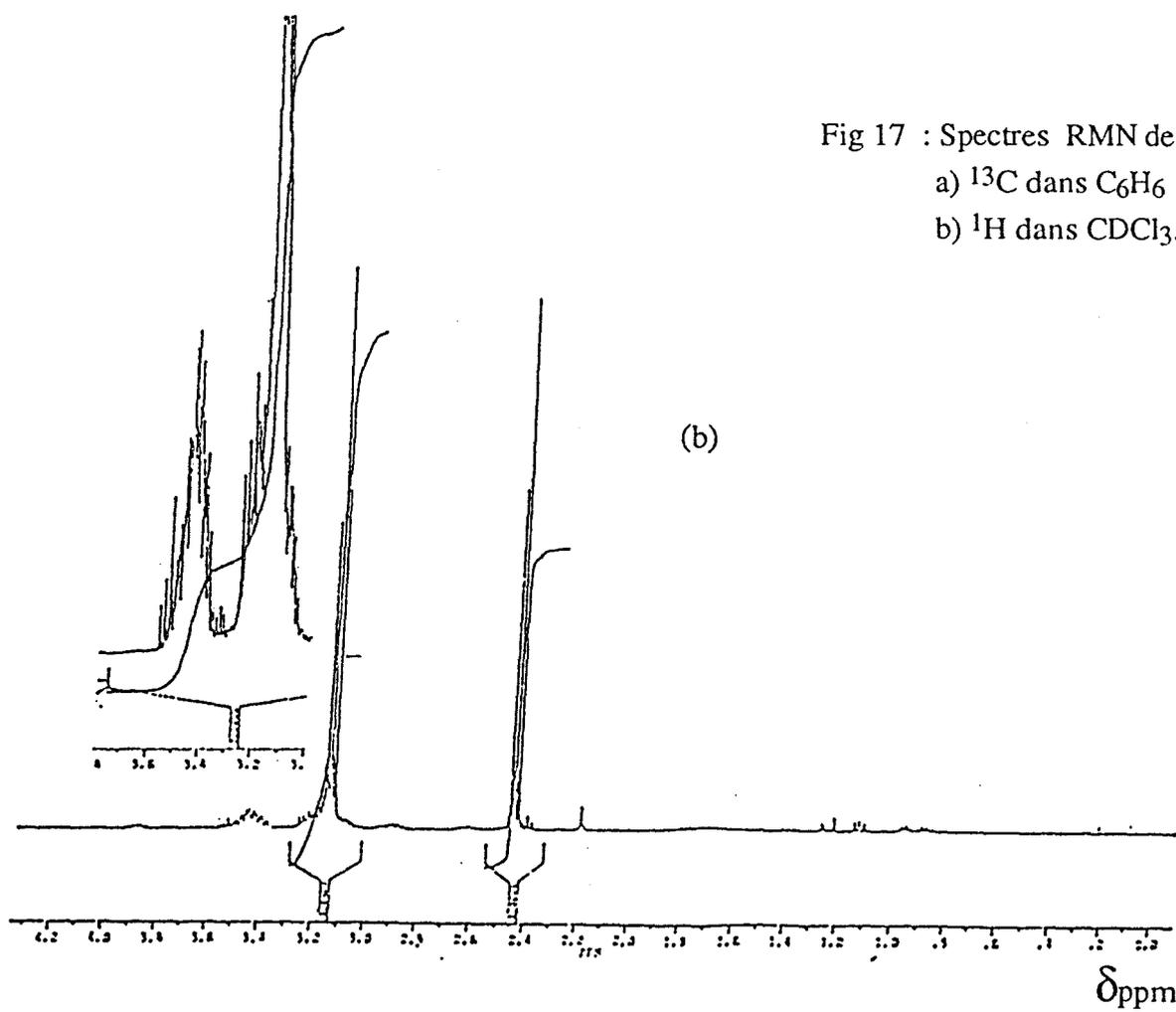


Fig 17 : Spectres RMN de (Va)

a) ^{13}C dans C_6H_6 b) ^1H dans CDCl_3 .

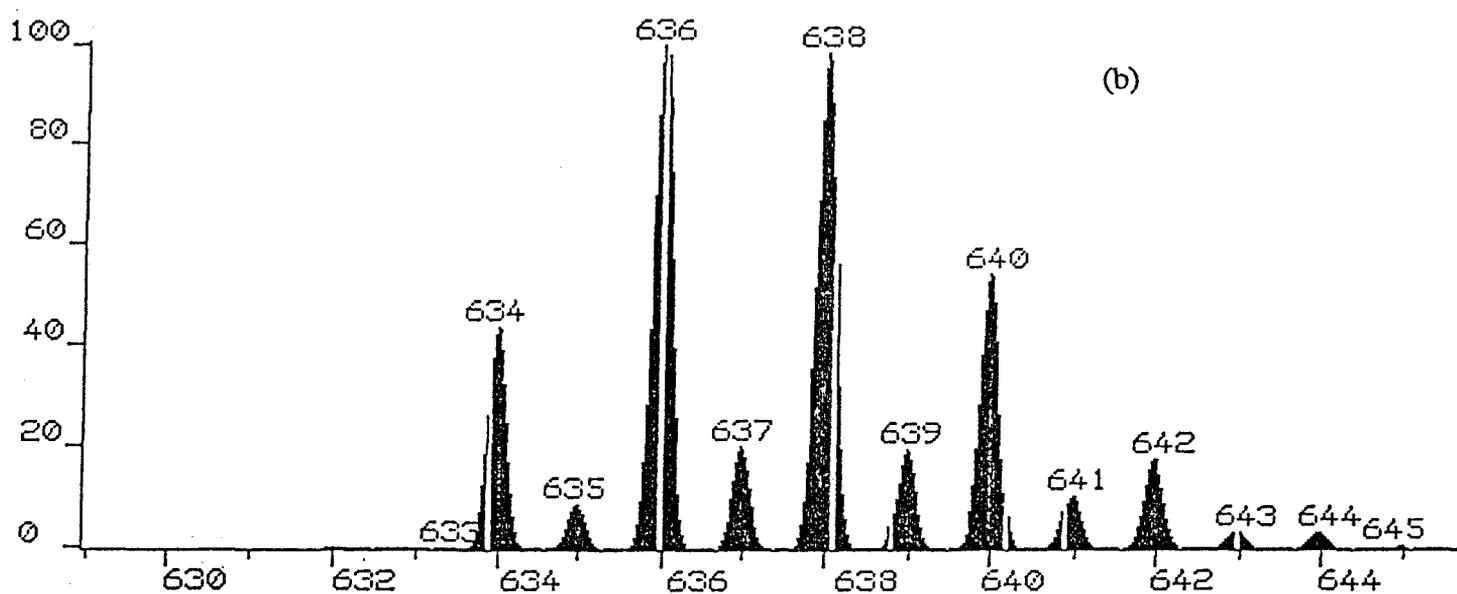
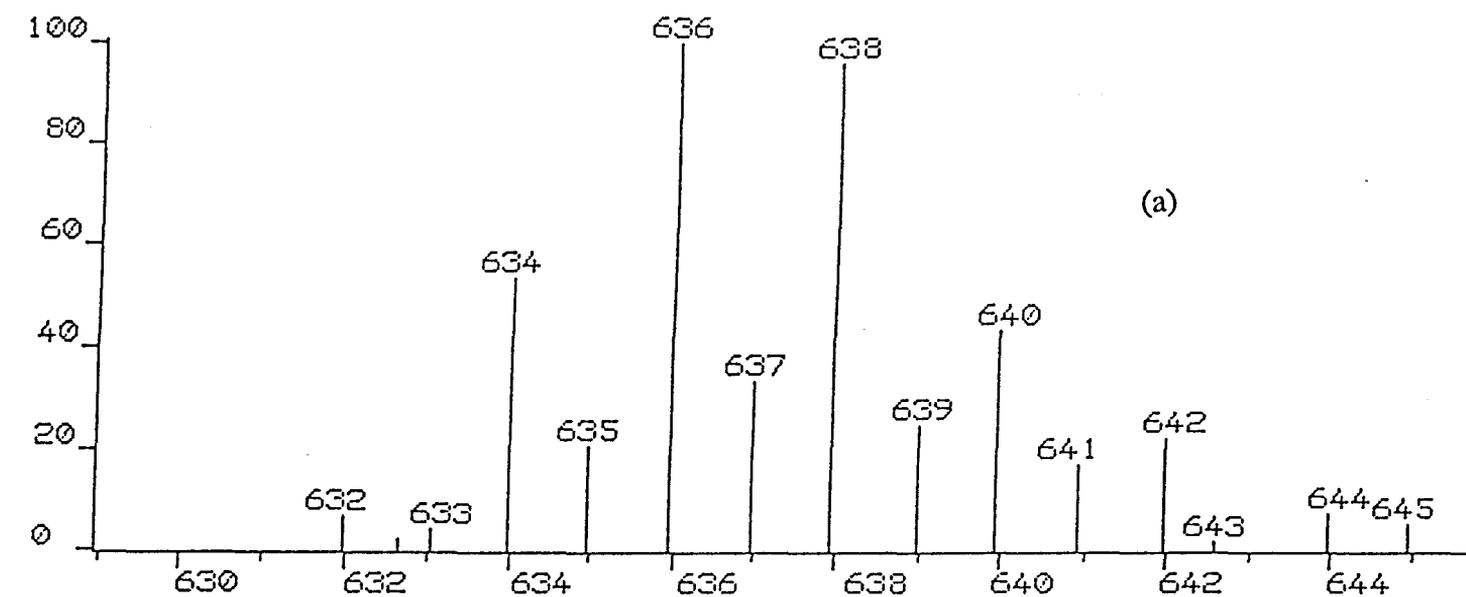


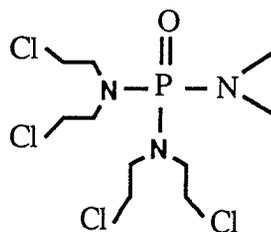
Fig 18 :

(a) Spectre de masse du pic moléculaire du composé (V_a).

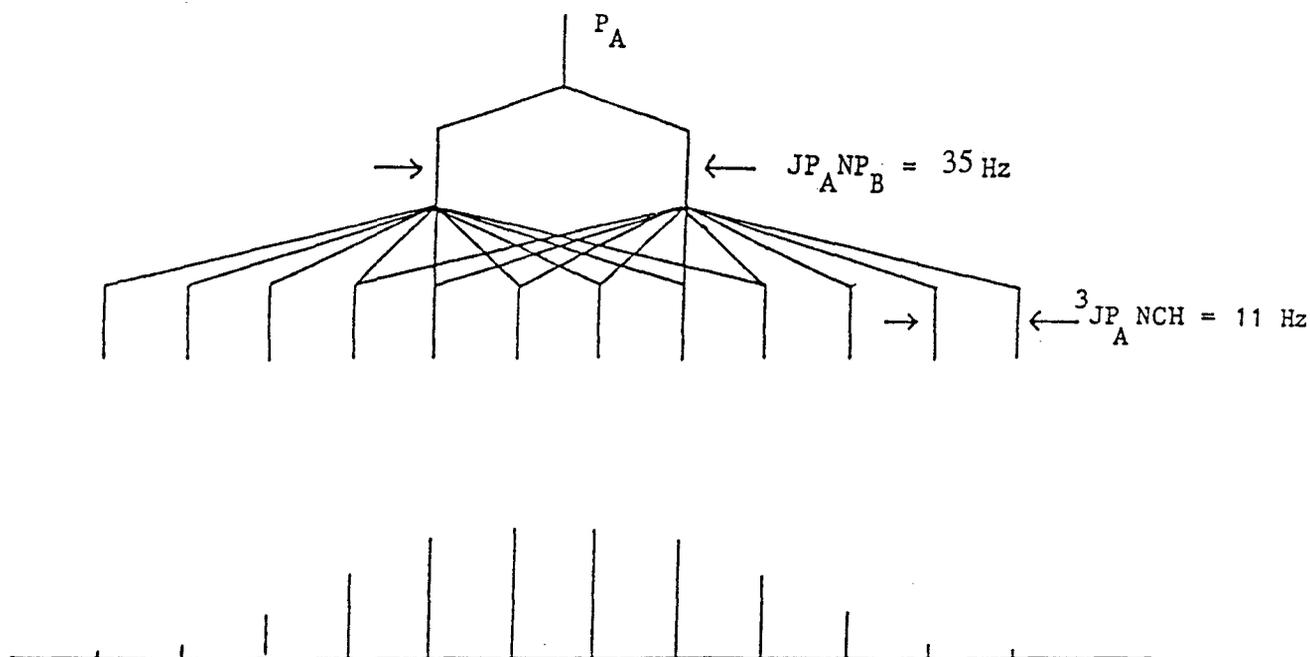
(b) Spectre de masse du modèle isotopique théorique pour le composé (V_a).



dont le spectre présente une grande analogie avec celui de (V_a) tant au niveau des constantes de couplage (J_{P-P} et J_{P-H}) que de la multiplicité des signaux, nous attribuons le signal à $\delta=+14,2\text{ppm}$ au groupement



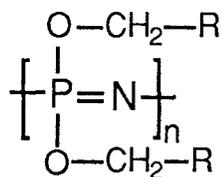
Le multiplet obtenu dans le spectre couplé P-H est donc relatif au couplage du phosphore avec les 8 protons en α de l'azote dans $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ comme en témoigne le schéma suivant.



On a donc $^3J(\text{P-N-CH})=11\text{Hz}$

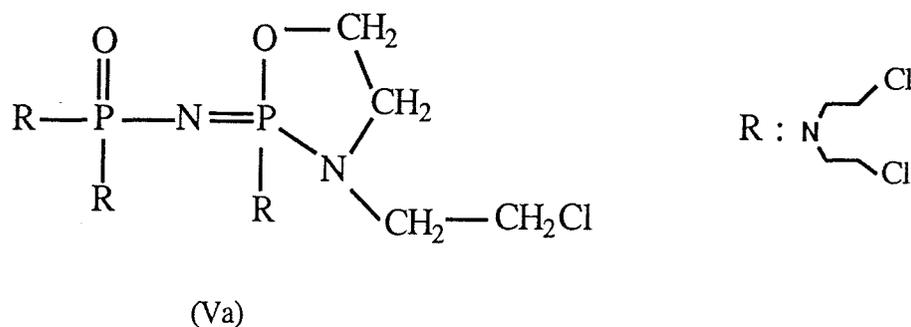
2°) L'entité mise en évidence en spectrométrie de masse correspond à la masse de (V) diminuée de celle de HCl. Par ailleurs le signal relevé en RMN du ^{13}C à $\delta= 65,5\text{ppm}$ est caractéristique d'un atome de carbone engagé dans un groupement de type P-O-CH₂-.

On le trouve à $\delta= 65,9\text{ppm}$ dans les polyalcoxyphosphazènes

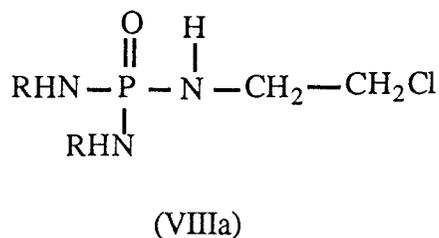
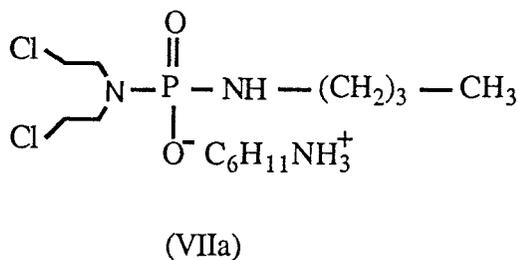


et entre 60 et 70ppm dans les dérivés alcoylés de $\text{Cl}_2\text{P}(\text{O})-\text{N}=\text{PCl}_3$.

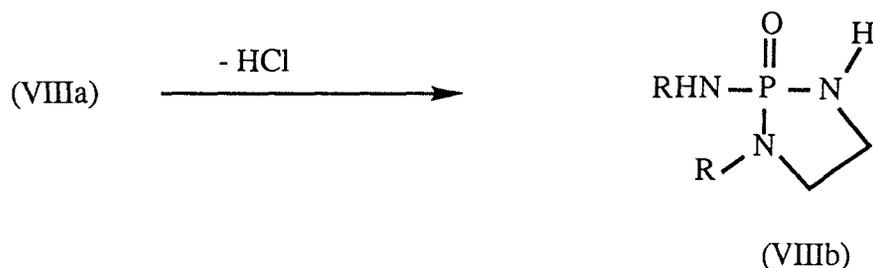
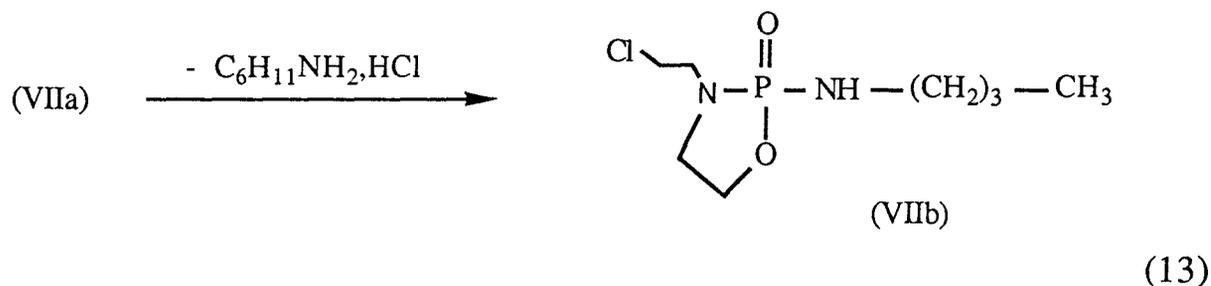
On peut donc penser que la transformation de (V) consiste dans une réaction de O-alkylation conduisant à la formation d'un cycle à cinq chaînons, d'où la structure de type (Va).



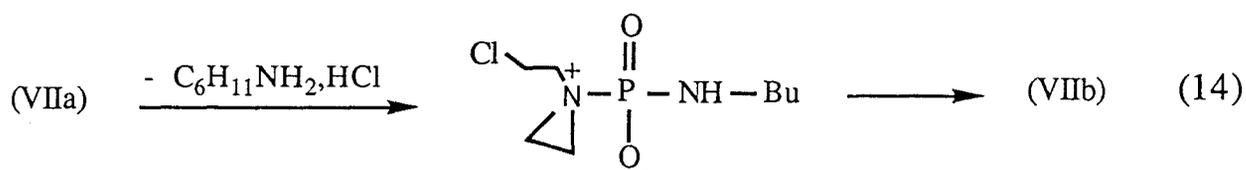
Cette hypothèse trouve une confirmation dans le fait que Engle⁸ et Bauermeister⁹ ont montré que les déplacements chimiques en RMN du ^{31}P des composés (VII_a) et (VIII_a) qui, initialement, sont respectivement égaux à $\delta=+9,8\text{ppm}$ et $\delta=+16,85\text{ppm}$ (R: Me), évoluent vers les champs faibles lorsque (VII_a) et (VIII_a) sont en milieu basique (Ils passent à $\delta=+21,7\text{ppm}$ dans le cas de (VII_a) et $\delta=+27,6\text{ppm}$ dans celui de (VIII_a)).



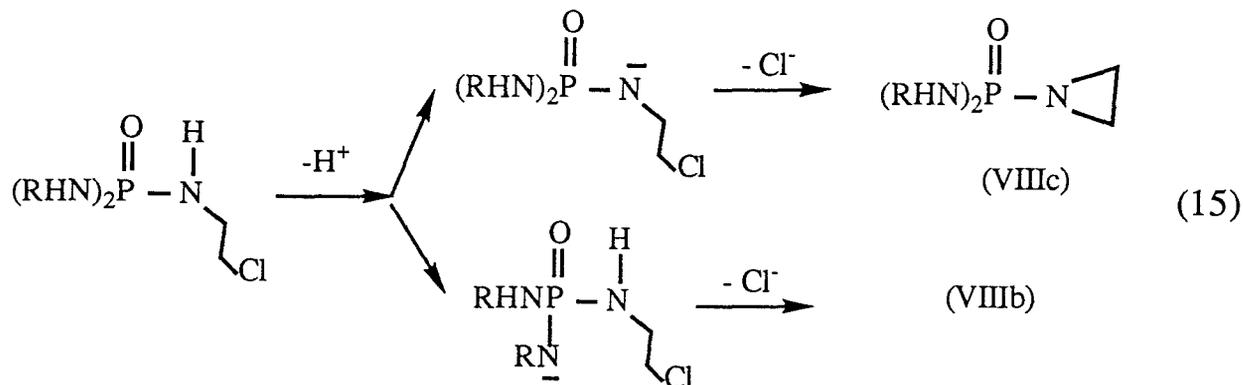
Ils montrent que cette variation est imputable à des réactions de N ou O alkylation conduisant à la formation des cycles à cinq chaînons (VII_b) et (VIII_b) selon (13).



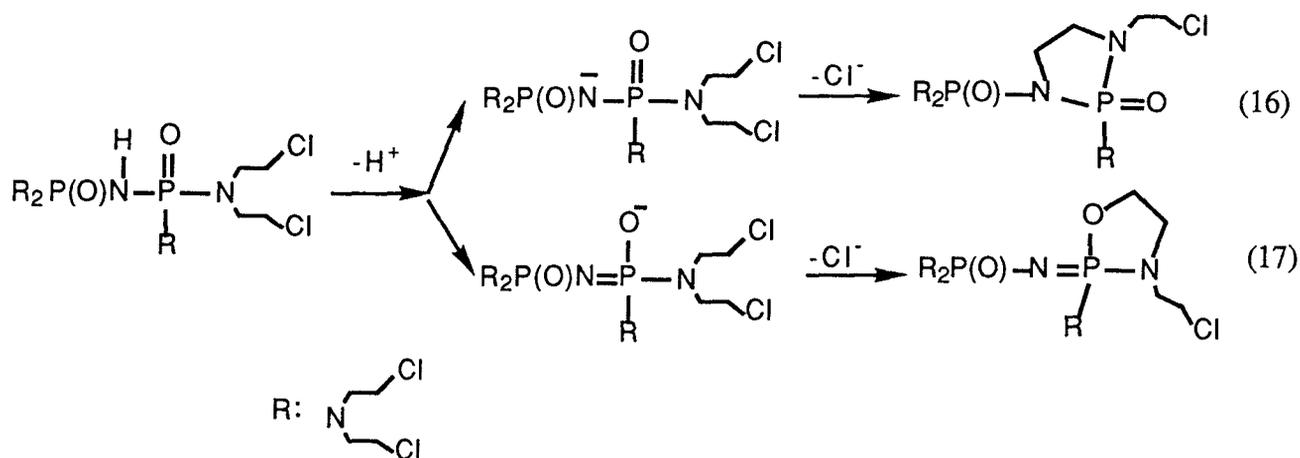
Engle ⁸ évoque dans le cas de (VII_a) le passage par un ion aziridinium qui par O-alkylation conduit à (VII_b) selon (14)



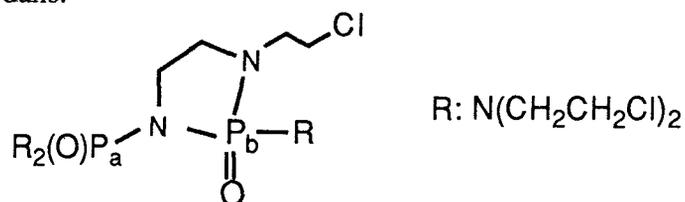
De plus selon Bauermeister ⁹, la nature des substituants (R) dans (VIII_a) joue un grand rôle. En effet si (R) est aromatique (Ph, 4-MeC₆H₄, 4-MeOC₆H₄) la cyclisation conduit exclusivement à la formation d'aziridine (VIII_c) alors que si (R) est aliphatique (Me, CH₂Ph) elle conduit à un mélange de (VIII_b) et (VIII_c) suivant la réaction suivante (15)



Dans notre cas les réactions de cyclisation possibles peuvent être représentées comme suit: (16) et (17)



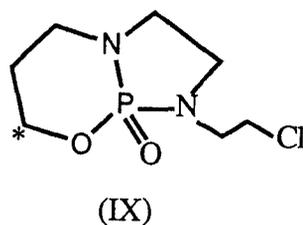
Lors de la transformation de (V) l'intervention de (16) ne peut être que minoritaire, puisque dans ce cas l'atome de phosphore P_a dans:



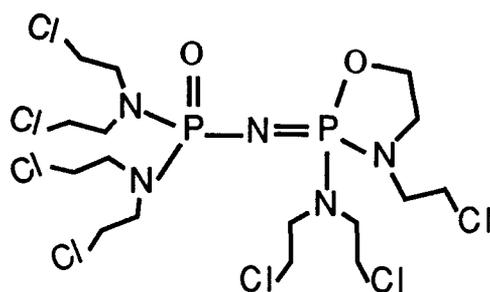
serait couplé à 10 protons.

De plus la structure serait de type phosphazane, est dans ce cas la constante de couplage $J_{(\text{P-P})}$ devrait être plus faible.¹⁰⁻¹²

La valeur $\delta = 65,5\text{ppm}$ relevée en RMN du ^{13}C qui est en parfait accord avec celle relevée par Zon et coll 13 dans (IX) pour P-O-CH₂ ($\delta = 66,4\text{ppm}$), confirme

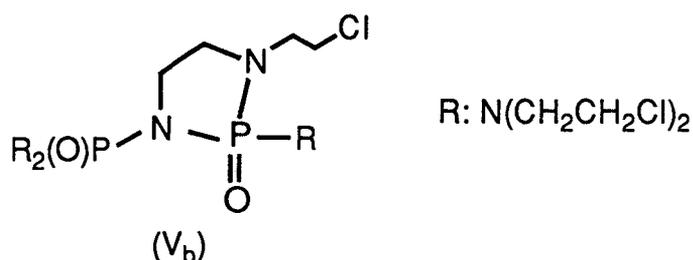


donc l'existence d'une réaction de O-alkylation, ce qui nous permet donc d'attribuer à (V_a) la structure suivante:



(Va)

3°) La caractérisation de (Va) étant admise, on peut dès lors supposer qu'au deux doublets de faibles intensités en RMN du ^{31}P attribués à (Vb) relevés à $\delta=+25,4\text{ppm}$ et $\delta=+16,6\text{ppm}$ ($J=22,4\text{Hz}$) correspond une structure phosphazane c'est à dire le composé N-alkylé formé selon (16). Sa concentration étant toujours très faible, il n'a pas été possible de confirmer cette attribution.



(Vb)

IV) Comparaison de la réactivité de $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ (I) $\text{NaN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ (I₂), et $\text{Me}_3\text{SiN}\{\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2\}_2$ (I₃).

En fin de cette étude nous avons tenté de comparer les réactivités de certains dérivés de P_2NOCl_5 à savoir $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ (I), $\text{NaN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ (I₂) et $\text{Me}_3\text{Si}\{\text{N}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2\}$ (I₃) vis à vis de bCEA.

Les modes opératoires sont analogues à ceux utilisés dans le cas des réactions faites à partir de (I).

IV.1. $\text{NaN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$

Ce sel de sodium est préparé suivant la méthode décrite en annexe qui consiste à faire réagir P_2NOCl_5 avec le nitrite de sodium. Il est caractérisé en RMN du ^{31}P par un singulet à $\delta=-16\text{ppm}$ dans DMF. Il présente deux propriétés qui constituent un handicap pour l'étude de sa réactivité :

D'une part il est insoluble dans la plupart des solvants organiques usuels, et d'autre part il se transforme en (I) en présence de HCl selon (18).¹⁴



Nous avons réalisé un essai de réaction dans le benzène avec un grand excès de triéthylamine comme accepteur de HCl pour éviter au maximum la transformation de (I₂) en (I). Cependant les résultats obtenus montrent que cette dernière l'emporte sur les réactions de substitution des atomes de chlores puisque nous avons obtenu les mêmes produits, y compris (I), que ceux obtenus pour ce dernier au début de ce chapitre.

Pour vérifier si le précipité de la réaction ne contient pas (I₂) nous l'avons lavé avec DMF. le liquide de lavage ne montre aucun signal en RMN du ³¹P.

IV.2. Me₃Si{N(P(O)CL₂)₂} (I₃).

La préparation de (I₃) consiste à chauffer au reflux du dichlorométhane un mélange équimolaire de (I₂) et de chlorure de triméthylsilane Me₃SiCl pendant 4 heures.¹⁵ Le produit obtenu après filtration et évaporation de CH₂Cl₂ est une huile présentant les caractéristiques suivantes :

- Un singulet en RMN du ³¹P à δ=-6,2ppm (CH₂Cl₂/CHCl₃).
- Un singulet en RMN du ¹H à δ=0,4ppm (CDCl₃)
- Un singulet en RMN du ¹³C à δ=0,2ppm (CHCl₃).

Sa réactivité vis à vis de bCEA a été testée sur deux essais réalisés dans CHCl₃ comme solvant. Le premier en présence de triéthylamine et le second en utilisant bCEA à la fois comme réactif et accepteur de HCl avec un rapport molaire bCEA/(I₃)=4.

IV.2.a En présence de la triéthylamine (TEA):

Nous avons commencé cet essai avec des rapports molaires r= bCEA/(I₃) =1 et r'= TEA/(I₃) =1. Après 12 heures à température ambiante un premier prélèvement a été effectué puis caractérisé. Il présente en RMN du ³¹P (Fig 19):

- 2 doublets centrés sur $\delta=+5,7\text{ppm}$ et $\delta=-4,8\text{ppm}$ ($J=36,1\text{Hz}$) auxquels correspondent 58,50% des atomes de phosphore.

- 1 doublet à $\delta=+8,8\text{ppm}$ avec $J=36,1\text{Hz}$. Il représente 03,70% de nombre total des atomes de phosphore

- 3 singulets à $\delta_1=+10,9\text{ppm}$; $\delta_2=+10,5\text{ppm}$ et $\delta_3=-7,6\text{ppm}$. Aux deux premiers correspondent 04,50 % des atomes de phosphore, alors que le troisième en totalise 33,30%.

Par la méthode des ajouts on montre que le signal à $\delta_3=-7,6\text{ppm}$. correspond à (I_3).

Une solution de bCEA et de TEA est ensuite ajoutée au mélange réactionnel de façon à avoir, au total, les rapports r et r' de l'ordre de 2.

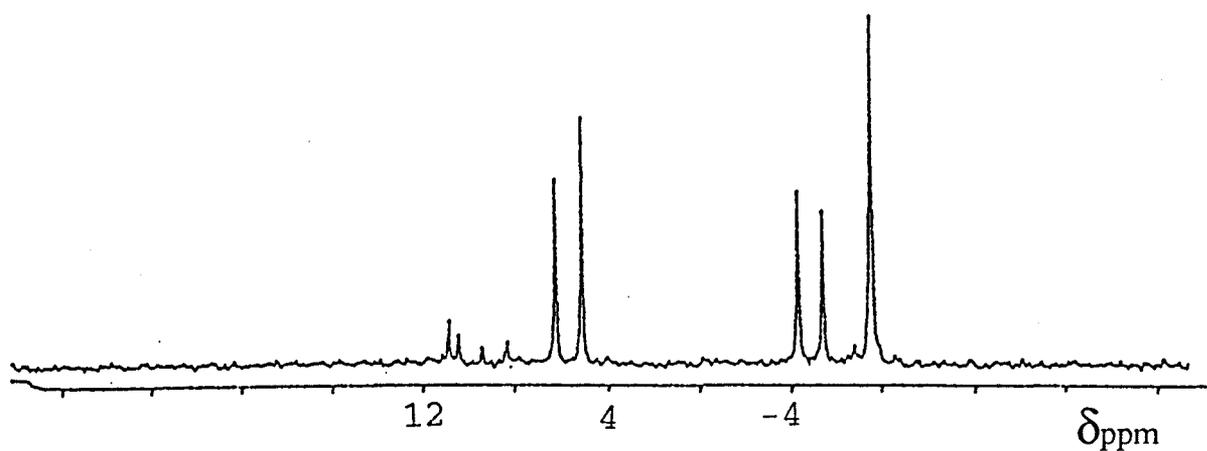
Le tableau (5) suivant résume les résultats des spectres (fig 20, a et b) de deux prélèvements effectués après 5 et 24heures a température ambiante:

Signaux et déplacements chimiques	$J_{P-P}(\text{Hz})$	%P (5H)	%P(24H)
2 doublets centrés sur $\delta_1=+5,3\text{ppm}$ et $\delta_2=-5,5\text{ppm}$	34,6	57,90	45,40
2 doublets centrés sur $\delta_3=+8,5\text{ppm}$ et $\delta_4=-8\text{ppm}$.	34,6	17,90	36,10
2 singulets à $\delta_5=+10,3\text{ppm}$ et $\delta_6=+10,2\text{ppm}$.		12,60	18,50
1 singulet à $\delta_7=-8,4\text{ppm}$.		11,60	00,00

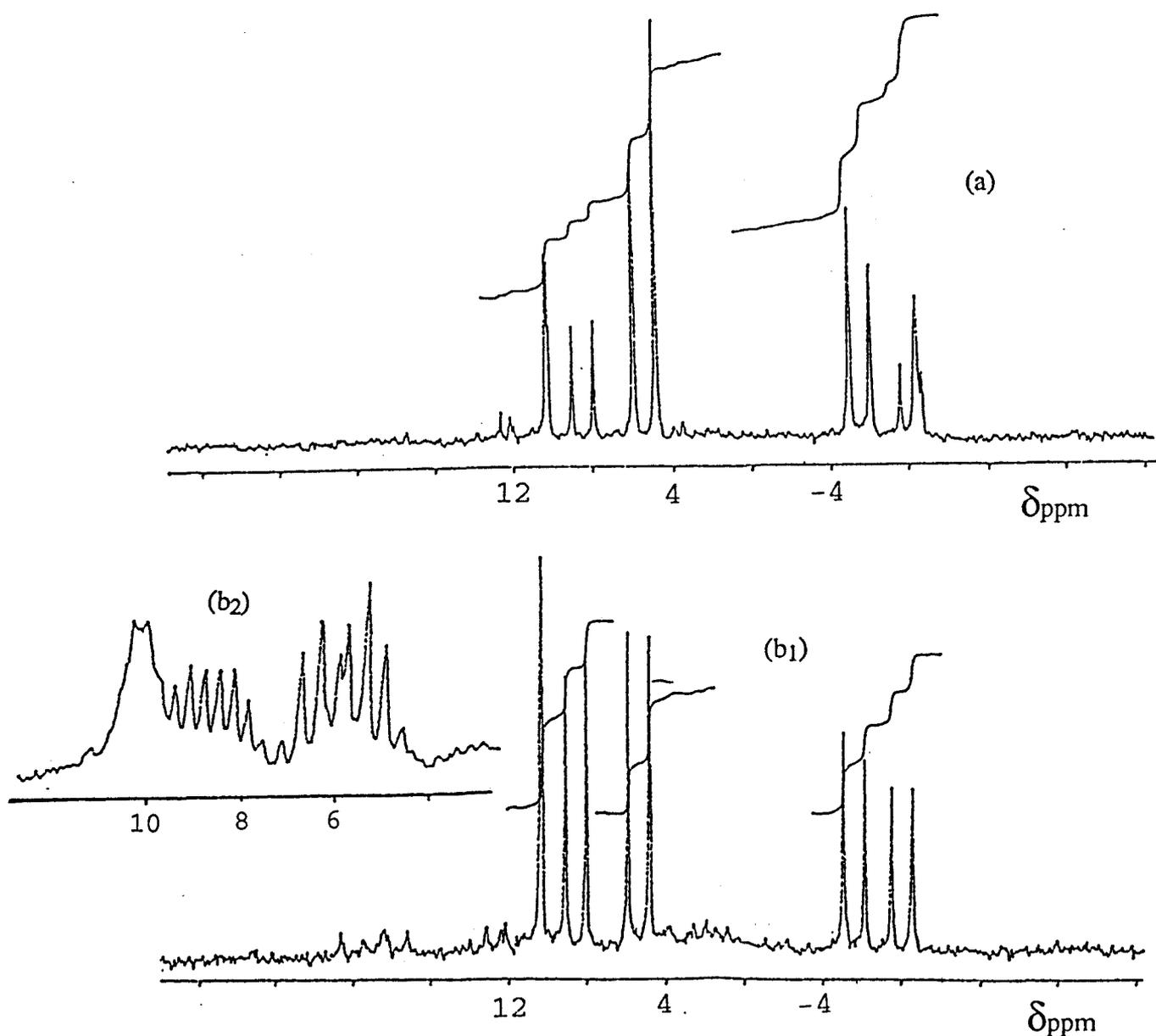
Tableau 5

Par couplage hétéronucléaire phosphore-proton les deux doublets à $\delta_1=+5,3$ et $\delta_3=+8,5$ ainsi que les deux singulets à $\delta_5=+10,3\text{ppm}$ et $\delta_6=10,2$ sont affectés. (Fig 20b₂).

Les deux doublets donnent des couplages J_{P-H} variant de 13 à 16,2Hz pour le premier et de 10 à 13Hz pour le second .

Fig 19 : RMN du ^{31}P

réaction : $1(\text{I}_3) + 1\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2 + 1\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$.

Fig 20 : RMN du ^{31}P

réaction : $1(\text{I}_3) + 2\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2 + 2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$.

a) après 5h à l'ambiante.

b) après 24h à l'ambiante (b₁) découplé et (b₂) couplé.

IV.2.b. Réaction sans triéthylamine.

Dans ce cas nous avons utilisé un rapport molaire $b\text{CEA}/(I_3) = 4$. Deux prélèvements ont été effectués après 1 et 24 heures de réaction à température ambiante. Les spectres RMN du ^{31}P sont représentés (Fig 21). Les résultats sont reportés dans le tableau (6).

Signaux et déplacements chimiques	$J_{\text{P-P}}(\text{Hz})$	%P (1h)	%P(24h)
2 doublets centrés sur $\delta_1=+7,2\text{ppm}$ et $\delta_2=-1\text{ppm}$.	36,7	67,90	70,40
2 doublets centrés sur $\delta_3=+10,1$ et $\delta_4=-4,8\text{ppm}$.	37,3	13,50*	15,10
2 singulets à $\delta_5=+11,9$ et $\delta_6=+11,3\text{ppm}$.		18,60	14,50
1 singulet à $\delta_7=-5,4\text{ppm}$.		x*	00,00

Tableau 6

* Le pourcentage (13,50%) correspond aux deux doublets à $\delta_3=+10,1\text{ppm}$ et $\delta_4=-4,8\text{ppm}$, et au singulet à $\delta_7=-5,4\text{ppm}$.

Après une semaine de réaction à température ambiante le spectre de la solution est représenté figure (22 a). Il ne fait apparaître que :

-deux doublets centrés sur $\delta= +7\text{ppm}$ et $\delta=-1,2\text{ppm}$ avec un couplage $J=37\text{Hz}$. Il leur correspond 88,60% des atomes de phosphore.:

- deux singulets à $\delta=+11,8\text{ppm}$ et $\delta=+11,6\text{ppm}$ qui totalisent 11,40% des atomes de phosphore.

Le spectre RMN du ^{13}C après filtration et évaporation du solvant ne présente pas de signal correspondant au groupement $\text{Me}_3\text{Si}-\{\text{N}\langle\}$ (Fig 22b), ce qui prouve une transformation de ce dernier en $\text{H}-\text{N}\langle$.

Les produits formés à partir de (I_3) sont donc identiques à ceux obtenus dans la réaction $(I) + b\text{CEA}$. Il en est de même dans le cas de (I_2) .

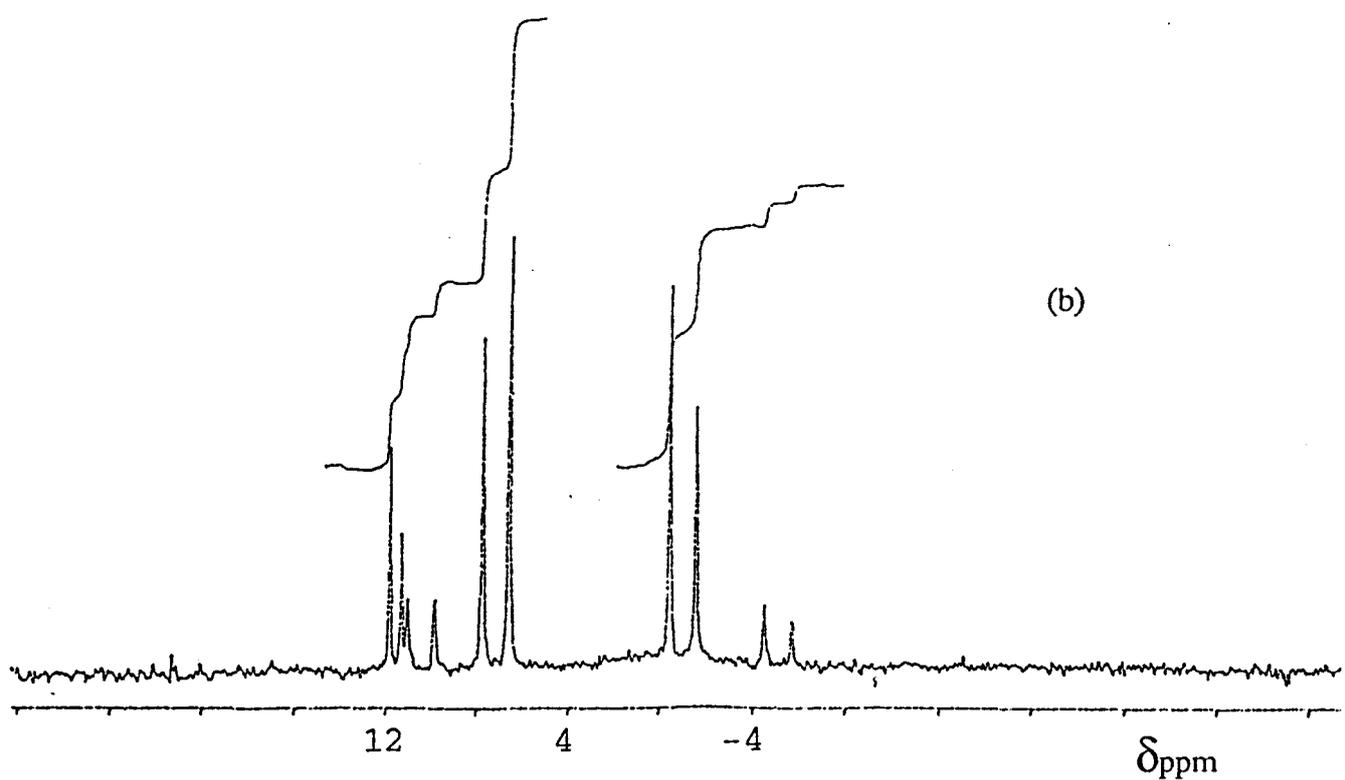
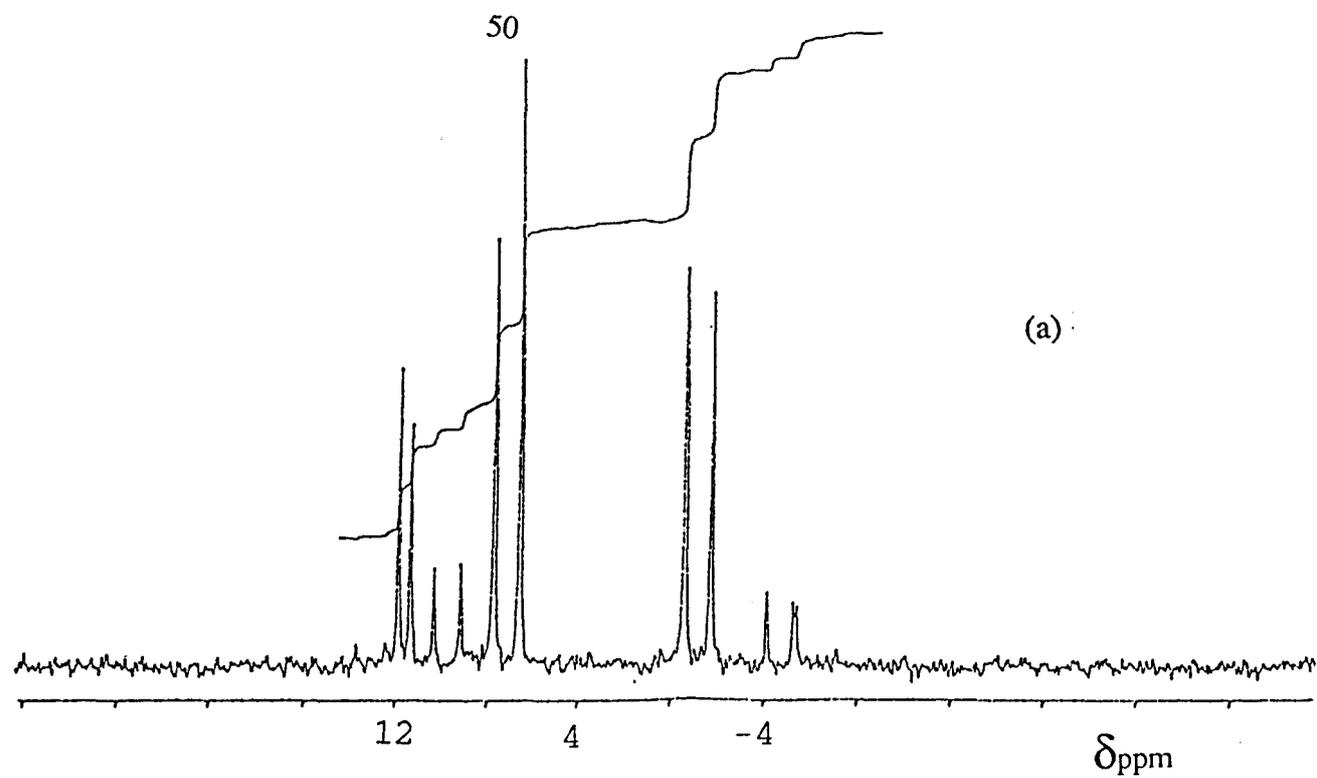


Fig 21 : RMN du ^{31}P

réaction : $\text{I}_3 + 4\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$.

a) après 1h à l'ambiante.

b) après 24h à l'ambiante .

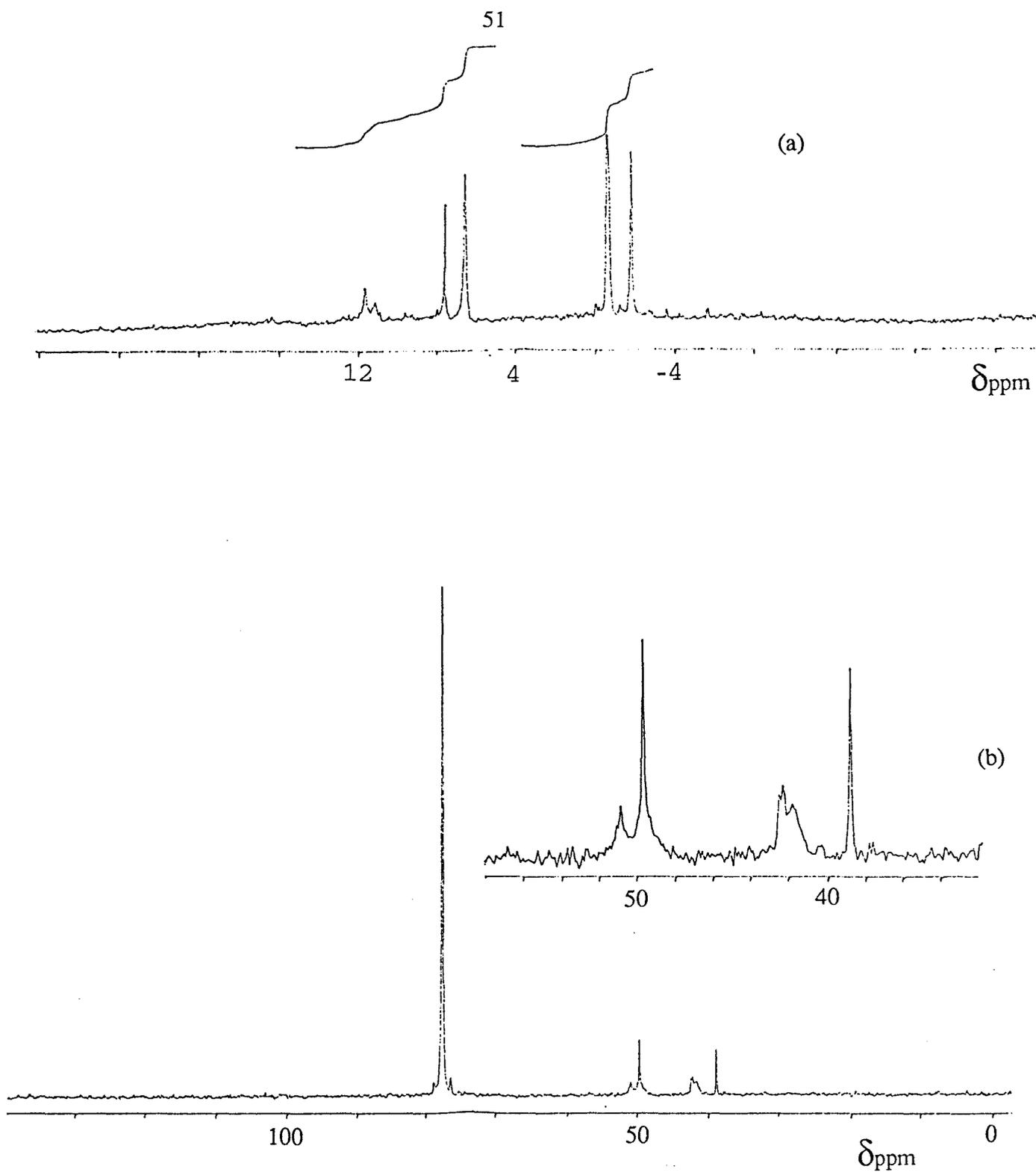


Fig 22: RMN (CHCl_3)

réaction $1(\text{I}_3) + 4\text{bCEA}$

a) ^{31}P après une semaine à l'ambiante.

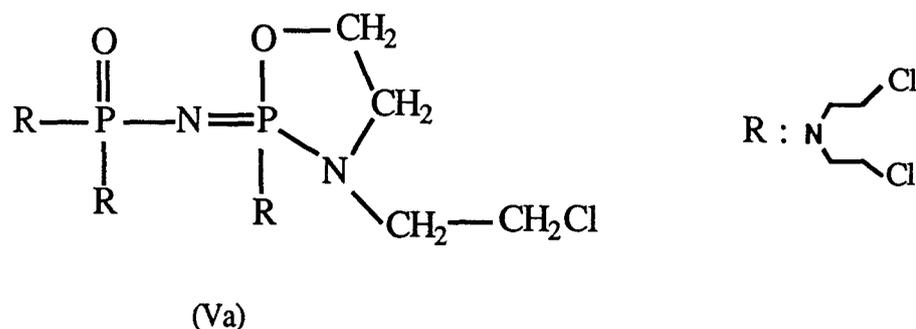
b) ^{13}C après évaporation du solvant de la réaction.

Cette étude a cependant permis de mettre en évidence la plus grande réactivité du dérivé silylé (I₃) puisque dans ce cas pour des conditions opératoires identiques (r=4, sans triéthylamine et à température ambiante) on forme 88,40% de dérivé monosubstitué et 11,60% de bismonosubstitué alors que dans le cas de (I) le monosubstitué représente 80% le reste étant constitué de (I) résiduel(20%).

V) Conclusion

L'étude de la réaction de la N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine sur le di(dichlorophosphoryl)imide (I) a permis de mettre en évidence la formation des dérivés mono-di- et tétrasubstitués de (I), ainsi que l'existence de deux formes diastereoisomères pour les deux premiers d'entre eux.

Tous ces composés sont toujours obtenus à l'état de mélange sauf le tétrasubstitué. Ce dernier n'est pas cependant stable et se transforme avec le temps en une espèce O-alkylée (Va).



Cette étude a également permis de montrer que le dérivé silylé $\text{Me}_3\text{Si}\{\text{N}(\text{POCl}_2)_2\}$ est plus réactif que (I).

Bibliographie:

- 1) W.Topelmann , B.Thomas, H.Schadow, L.Meznik ; Z. chem ; 24 (4), 133-135(1984).
- 2) L.Riesel, H.H.Patzmann, H.P.Bartich ; Z anorg. allg chem ; 404 , 219-224(1974).
- 3) T. Abou Chakra, R.De Jaeger, J. Heubel ; Z anorg. allg chem ; 501 , 191(1983).
- 4) G Höfle, W. steglich, H Vorbrüggen; Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 17 , 569-583(1978).
- 5) G Hägele, R.K Harris Mohamed I.M. Wazeer, R.Keat; J.C.S. Dalton , 1985-1989(1974).
- 6) A.Ouassini, R.De Jaeger, S.Hilali, C.Fournier, B.Hecquet ; Eur. J. Med. Chem. , 23, 347-352(1988).
- 7) A Manenc Thèse . Lille (Octobre 1991)
- 8) T.W.Engle, G.Zon, W.Egan ; Journal of medicinal chemistry, 25 N 11, 1347-1357(1982).
- 9) S.Bauermeister, A.M.Modro, T.A.Modro, A.Zwierzak ; Can. J.Chem., 69 , 811-816(1991).
- 10) A.Kilc, Z.Kilic, R.Shaw ; Phosphorus, Sulfur and Silicon, 56 , 157-164 (1991).
- 11) K.S.Dhathatheryan, S.S.Krishnamurthy, A.R.Vasudeva Murthy, T.S.Cameron, C.Chan, R.A.Shaw, M.Woods ; J.C.S.Chem. Comm, 231-233(1980).
- 12) K.S.Dhathatheryan, S.S.Krishnamurthy, A.R.Vasudeva Murthy, R.A.Shaw, M.Woods ; J.Chem. Soc. Dalton. Trans, 1549-1554(1982).
- 13) G. Zon, S.M.Ludeman, W.Egan ; J.A.C.S., 99, 5785(1977).
- 14) R.De Jaeger, J.Belky, T.Abou chakra, J.Heubel ; Revue de chimie minérale.,20, 463-473(1983).
- 15) A.Mazzah, H.J.Gosink, J.Lieberman, H.Roesky ; Chem.Ber; 124 , 753-756(1991).

CHAPITRE 2

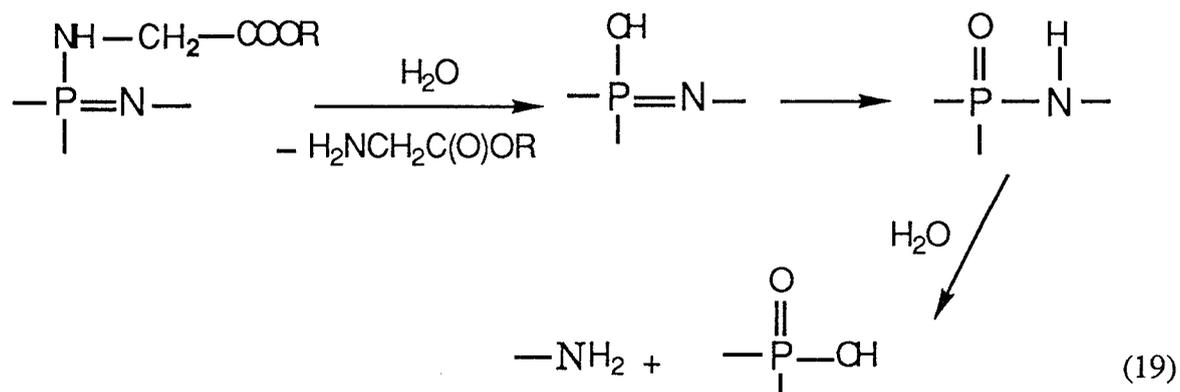
**REACTIONS DE $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$, PARTIELLEMENT SUBSTITUE
PAR LA N, N-bis(CHLORO-2 ETHYL)AMINE, AVEC
L'AMMONIAC ET LA GLYCINE ETHYL ESTER**

Dans ce chapitre sont étudiées les réactions de (I) partiellement substitué par la bCEA avec l'ammoniac, et le glycinate d'éthyle.

Le but était la synthèse de composés hydrosolubles porteurs du principe actif bCEA.

Dans ce cadre, il est par exemple connu que les polyphosphazènes hydrosolubles porteurs des groupements $-\text{HN}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ constituent de bons modèles pour une utilisation en tant que vecteurs de médicaments. Ils sont en effet biodégradables avec libération de produits non toxiques : Acides aminés - acide phosphorique - ammoniacque.

Selon Allcock ¹, le radical glycinate d'éthyle facilite l'hydrolyse du squelette phosphazénique par un mécanisme d'assistance selon (19):

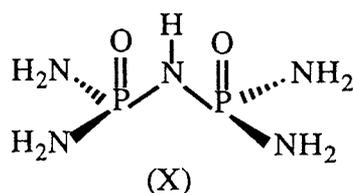


d'ou leur utilisation possible pour programmer la vitesse de libération d'un principe actif. Dans un premier temps, afin de faciliter la caractérisation des produits susceptibles de se former, nous avons étudié les réactions de (I) seul avec NH_3 et $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$

I) Réaction de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ (I) avec NH_3 liquide dans CHCl_3 .

Comme cette réaction a été étudiée par Riesel ² et d'une façon détaillée au laboratoire ³, nous nous contenterons de signaler brièvement les différentes caractéristiques du produit formé le di(diaminophosphoryle)imide $\text{HN}(\text{PO}(\text{NH}_2)_2)_2$ (X).

- Caractérisation de (X)



(X) est un solide blanc qui fond à 180°C avec décomposition. Il est soluble dans l'eau, partiellement dans l'ammoniac liquide et insoluble dans les solvants organiques usuels.

Sa solution aqueuse est légèrement basique. Elle présente en RMN du ^{31}P un signal unique à $\delta = +17,3\text{ppm}$ Fig(23). Sur les figures (24) et (25) sont représentés respectivement son thermogramme et son spectre IR.

Les résultats de l'analyse élémentaire sont les suivants:

Elément	%P	%N
Calculé:	35,80	40,50
Trouvé:	36,30	38,20

II) Réaction de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ (I) avec $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ (GE) dans C_6H_6 .

La réaction a été faite en utilisant un rapport (I)/(GE) légèrement inférieur à 0,1 dans le but de substituer la totalité des atomes de chlore dans (I).

La première étape de cette manipulation consiste en la préparation de l'amine libre (GE). La seconde en la substitution des atomes de chlore dans (I).

II.1. Préparation de l'amine libre $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$

Le glycinate d'éthyle (GE) étant commercialisé sous forme de chlorhydrate la première étape a donc consisté à le transformer en amine libre plus réactive. Cette transformation est réalisée en

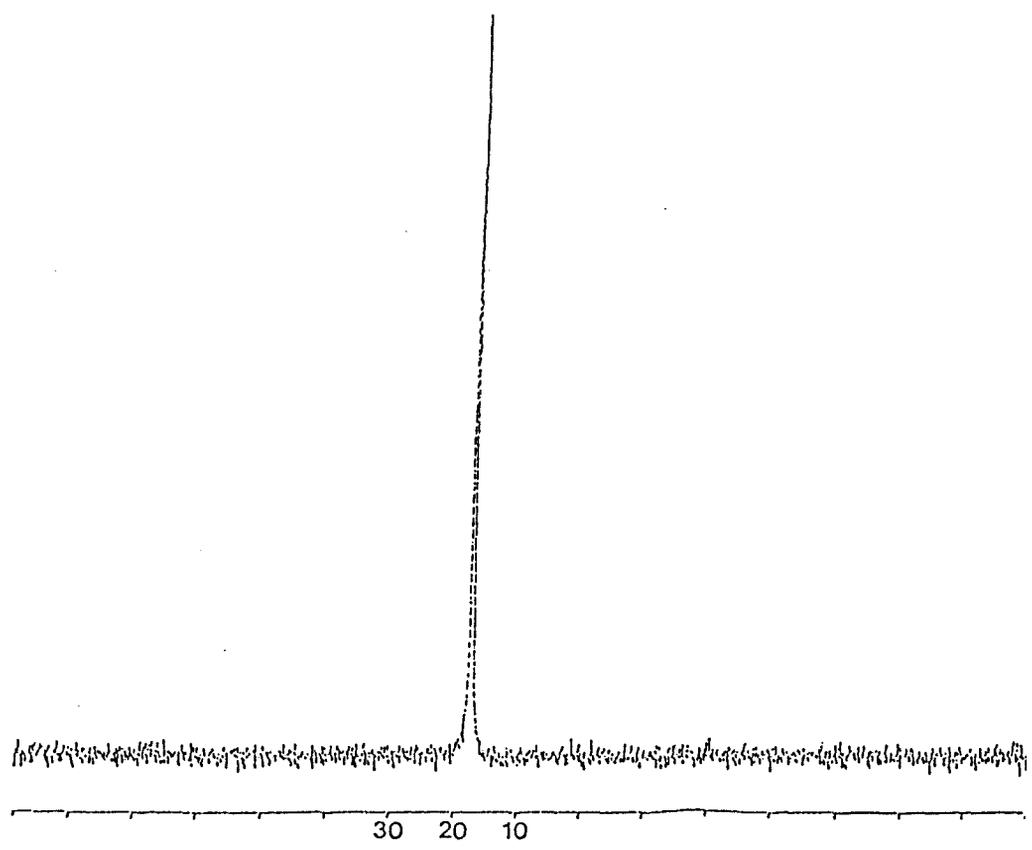


Fig 23 : Spectre RMN du ³¹P de HN(PO(NH₂)₂)₂ dans H₂O.

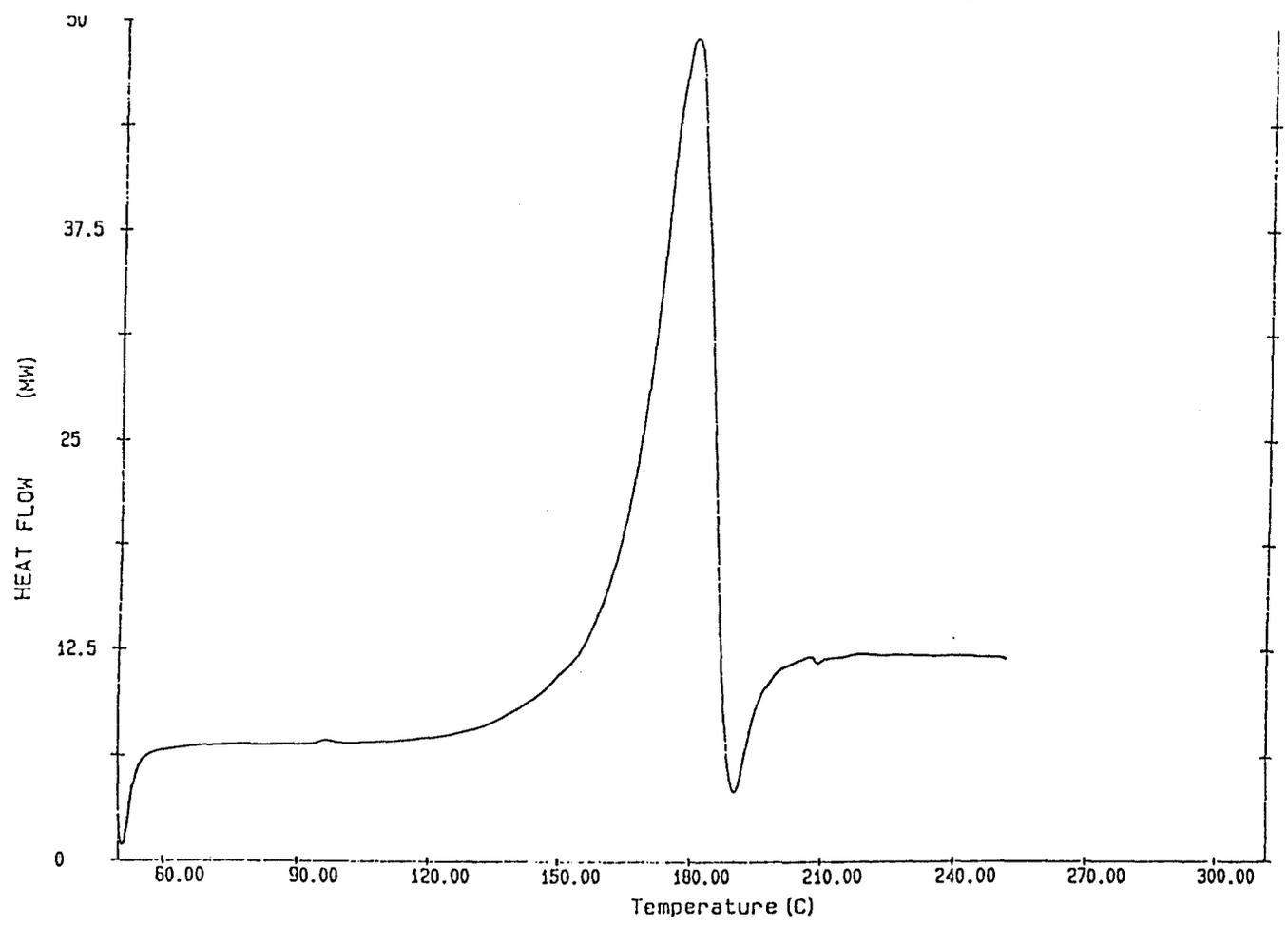


Fig 24 : Thermogramme de HN(PO(NH₂)₂)₂.

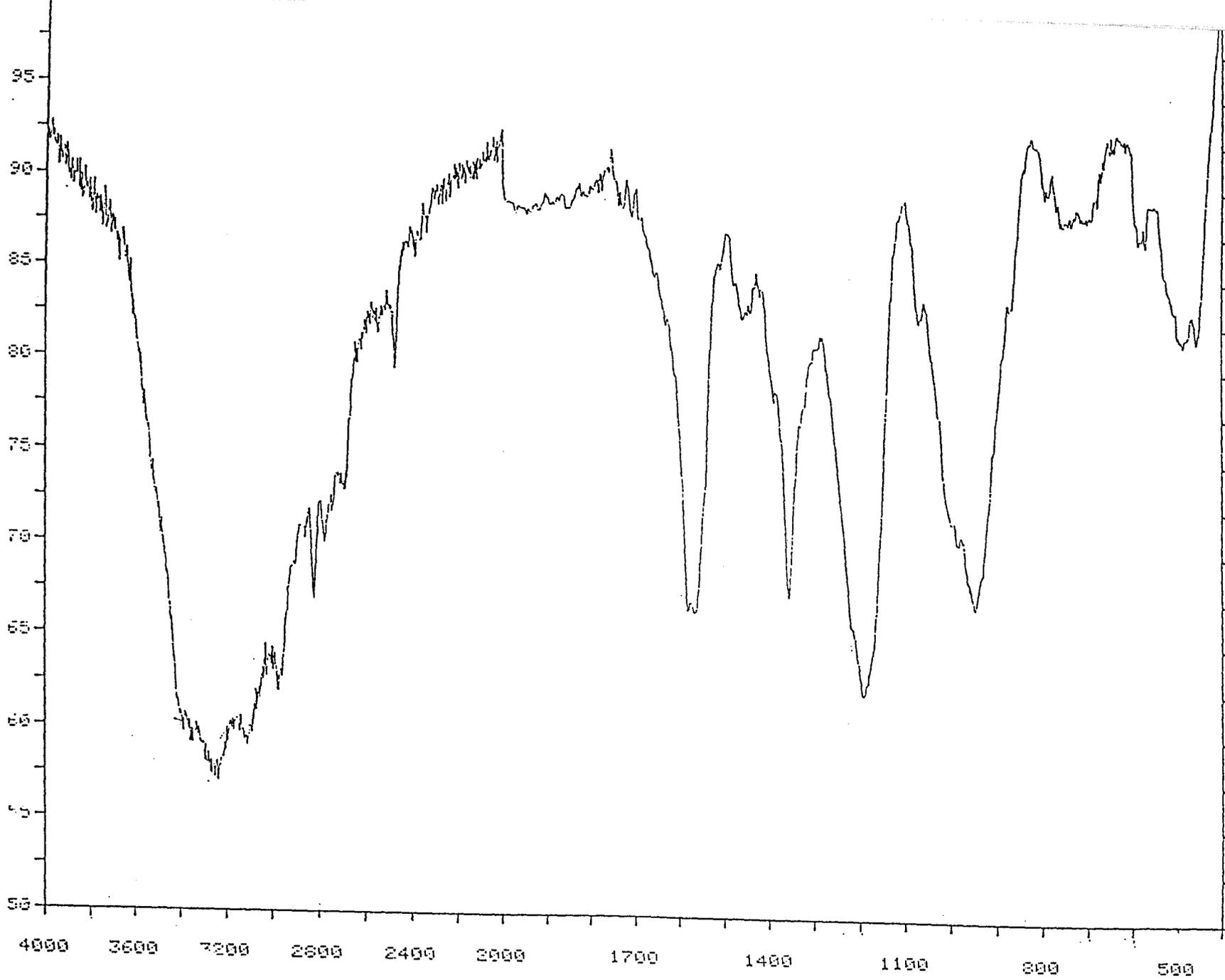


Fig 25 : Spectre Infrarouge de $\text{HN}(\text{PO}(\text{NH}_2)_2)_2$.

chauffant au reflux une suspension de $\text{HCl}, \text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOEt}$ dans le benzène en présence d'un accepteur de HCl en l'occurrence la triéthylamine (Avec un léger excès de $\text{HCl}, \text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOEt}$) pendant $3\text{H}30'$. Le mélange est ensuite filtré pour éliminer le chlorhydrate formé.

II.2. Réaction de substitution.

A une solution de l' amine libre ainsi préparée est ajoutée goutte à goutte, et en présence de DMAP, une solution de (I) dans C_6H_6 à température ambiante. Le mode opératoire est le même que celui utilisé dans les réactions de substitution des atomes de chlore dans (I) par la bCEA (chapitre précédent). Après 24 heures à cette température nous avons chauffé au reflux pendant $1\text{H}30'$. Le chlorhydrate de glycine éthyle ester formé est éliminé par filtration . Le solvant est ensuite évaporé pour obtenir une huile qui est reprécipitée trois fois dans un mélange chloroforme-heptane. Un solide jaunâtre est obtenu avec un rendement de l'ordre de 85%. Il est soluble dans la plupart des solvants organiques usuels sauf le n-Heptane et l'éther diéthylique.

Ce solide a été caractérisé par:

- résonance magnétique nucléaire des noyaux ^{31}P , ^{13}C , ^1H et ^{15}N .
- spectrométrie de masse .
- spectroscopie IR.

- RMN du ^{31}P :

Le spectre du produit en solution dans le chloroforme présente un singulet unique à $\delta=+12,1\text{ppm}$. Il n'existe donc qu'un seul type d' atome de phosphore. Ce qui est en accord avec une substitution totale des atomes de chlore dans (I) (fig 26a).

Par couplage hétéronucléaire phosphore-proton le singulet se transforme en un pic large mal résolu.(Fig 26b).

Par contre le spectre d'une solution aqueuse du solide présente un singulet à $\delta=+15\text{ppm}$ qui par couplage donne un quintuplet avec une constante de couplage $J_{(\text{P-H})}=12\text{Hz}$ (fig 27, a et b).

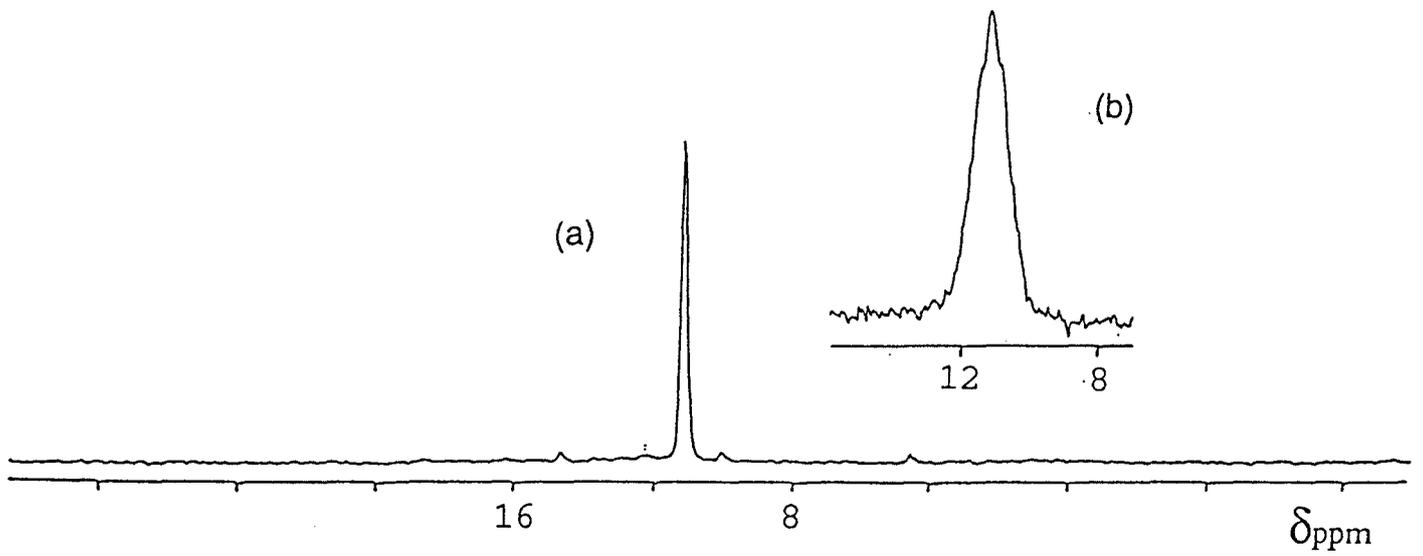


Figure 26 Spectres RMN du ^{31}P de $\text{HN}(\text{PO}(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})_2)$ dans CHCl_3 découplé (a) et couplé (b).

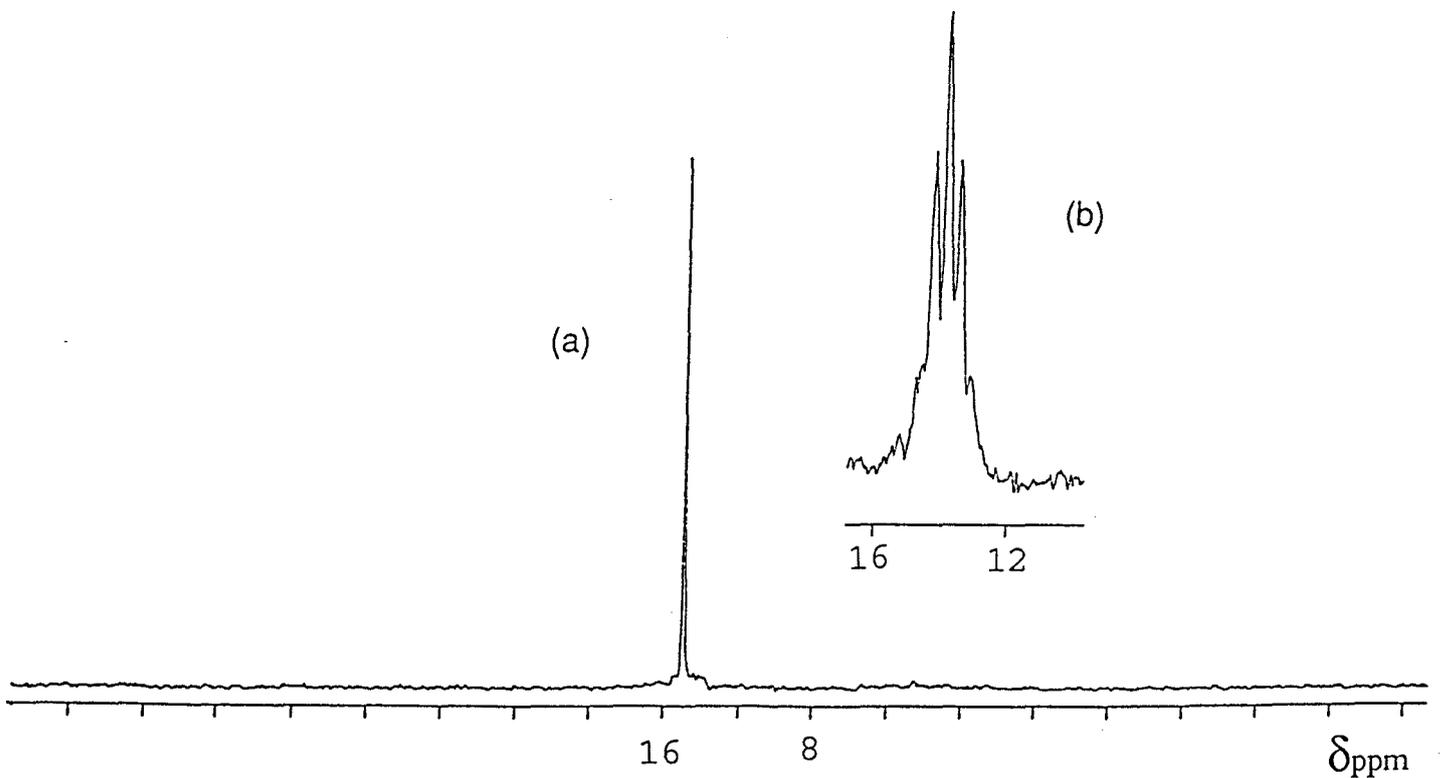
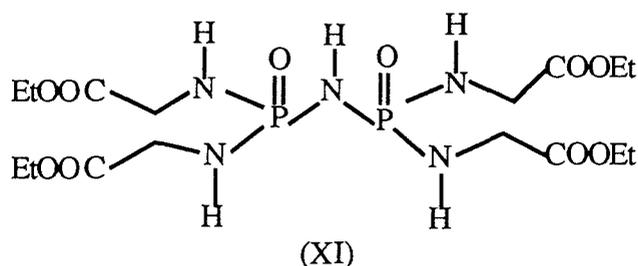


Figure 27 Spectres RMN du ^{31}P de $\text{HN}(\text{PO}(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})_2)$ dans H_2O découplé (a) et couplé (b).

En nous basant sur un travail de Kilic et coll ⁴ portant sur la réaction de P_2NOCl_5 avec la monoéthylamine et dans lequel les auteurs ont détecté le tétrasubstitué de (I) à $\delta=+13,9\text{ppm}$ dans $CHCl_3$, nous avons admis que l'on formait le composé suivant (XI):



Pour expliquer le couplage observé dans $CHCl_3$ (ou C_6H_6) nous avons admis que $^2J_{(P-NH)}$ et $^3J_{(P-N-CH)}$ sont de même ordre. En effet en se référant à un travail de Bulloch et Keat ⁵ concernant le dérivé monosubstitué par la méthylamine, $Cl_2(O)P-N=P(Cl_2)NHCH_3$, on constate que les valeurs trouvées par ces auteurs pour $^2J_{(P-NH)}$ et $^3J_{(P-N-CH)}$ sont très voisines (18,6 et 21Hz).

Le même phénomène est observé par Mazzah ⁶ pour le dérivé monosubstitué par l'allylamine, $Cl_2(O)P-N=P(Cl_2)(NHCH_2CH=CH_2)$.

Donc dans le spectre couplé la largeur du signal s'explique par un couplage de l'atome de phosphore avec 6 protons équivalents.

Dans l'eau le quintuplet obtenu est le résultat d'un couplage avec 4 protons équivalent. Il s'agit de ceux portés par les atomes de carbone en α de l'azote dans le groupement glycinate d'éthyle, les autres (sur l'azote de (GE)) étant inactifs par suite de phénomènes d'échange.

- RMN du 1H .

La figure (28) représente le spectre RMN du 1H d'une solution chloroformique du composé (XI). Les résultats obtenus sont très voisins de ceux obtenus par Smaardijk et coll ⁷ pour les produits de substitution de $(N_3P_3Cl_6)$ par le glycinate d'éthyle. Le tableau (7) ci-dessous résume les attributions proposées pour les différents types de protons.

δ (ppm)	Multiplicité	$J_{(H-H)}$ (Hz)	Attributions
1,2	Triplet	7,2	CH ₃ -CH ₂ -O
3,11	Singulet		DMAP(Catalyseur)
3,65-3,82	Multiplet		-P-N(H)-P-NH-CH ₂ -COOEt
4,11	Quadruplet	7,2	CH ₃ -CH ₂ -O
4,6	Pic large		P-NH-CH ₂ -COOEt

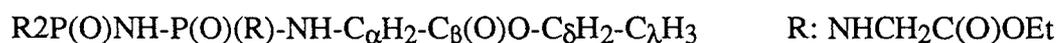
Tableau 7

Dans D₂O le composé (XI) présente en dehors de deux singulets à 3,2 et 4,8ppm correspondants à DMAP et HDO un triplet à $\delta = 1,3$ ppm ($J = 7,2$ Hz), un doublet à $\delta = 3,8$ ppm avec une constante de couplage $J = 13,2$ Hz et un quadruplet à $\delta = 4,2$ ppm ($J = 7,2$ Hz) (fig 29). On note donc la disparition du signal à $\delta = 4,6$ ppm et du multiplet (3,65-3,82ppm). Les pourcentages relatifs des trois signaux sont dans le rapport (3/2/2).

Nous attribuons le doublet à 3,4ppm aux protons portés sur l'atome de carbone en α de l'azote dans le groupement glycinate d'éthyle qui sont couplés à un atome de phosphore. La constante de couplage phosphore-proton est de l'ordre de 13,2Hz, valeur comparable à celle obtenue en RMN du ³¹P ($J_{P-H} = 12$ Hz) (fig, 27b). C'est donc une confirmation de ce qui est avancé pour expliquer le spectre couplé de (XV) en RMN du ³¹P dans H₂O.

- RMN du ¹³C .

Le spectre du produit dissous dans le chloroforme (fig 30) présente quatre signaux. En se basant sur le spectre de la glycine éthylester (annexe p: 157) nous proposons les attributions suivantes:



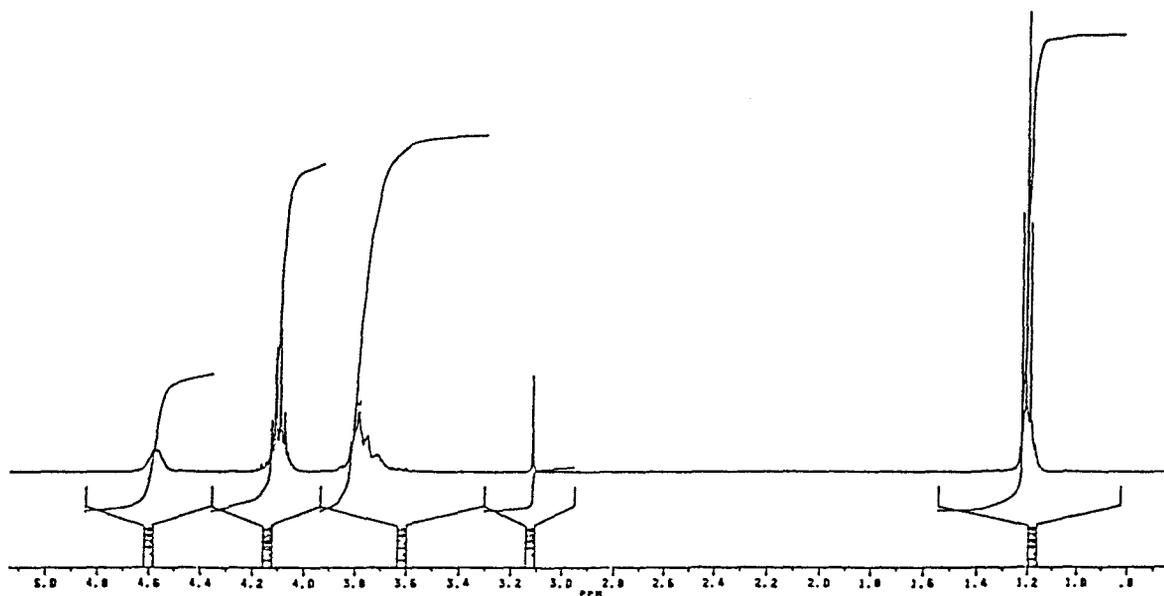


Figure 28 Spectre RMN du ^1H de $\text{HN}(\text{PO}(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})_2)$ dans CDCl_3 .

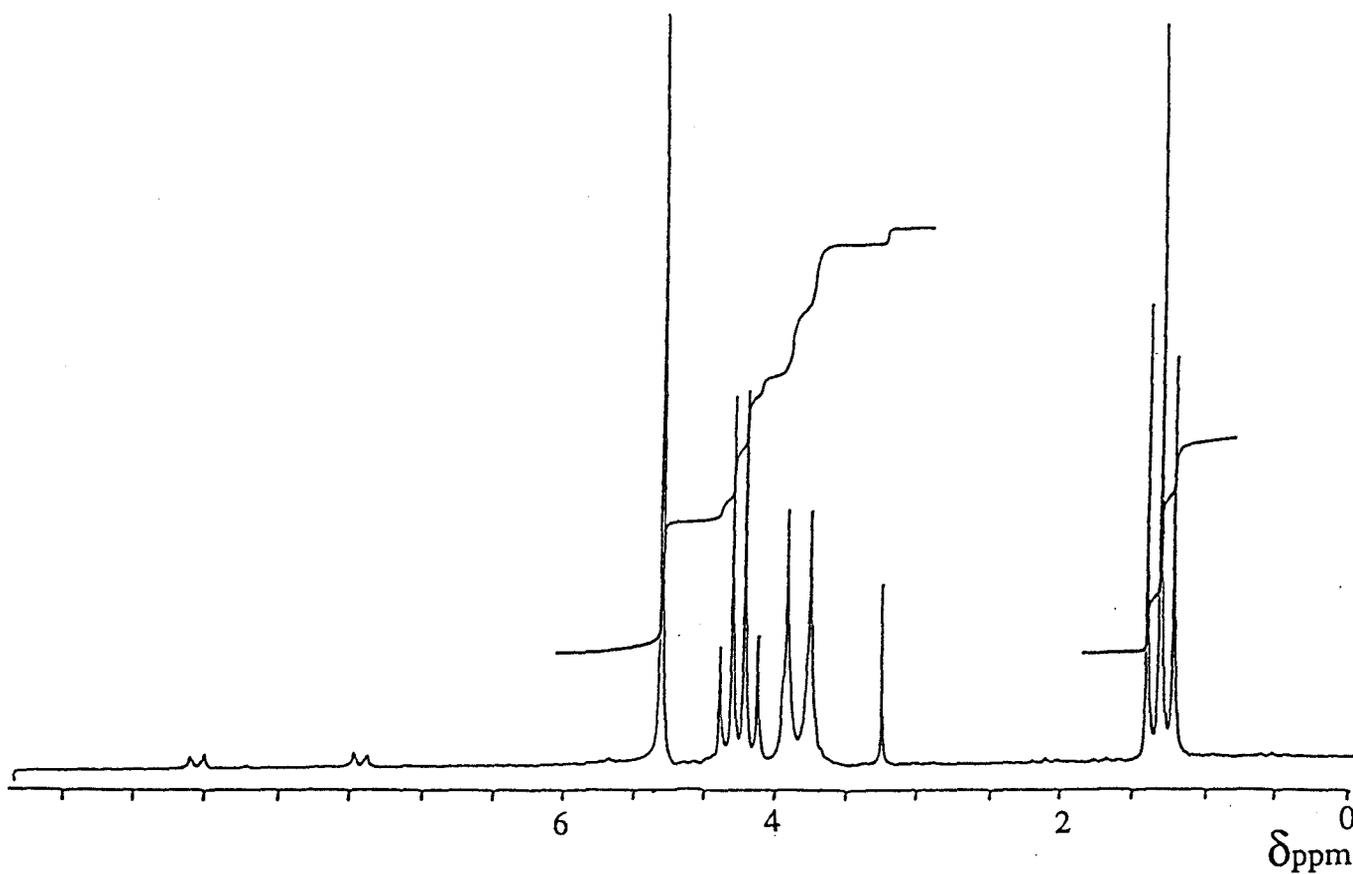


Figure 29 Spectre RMN du ^1H de $\text{HN}(\text{PO}(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})_2)$ dans D_2O .

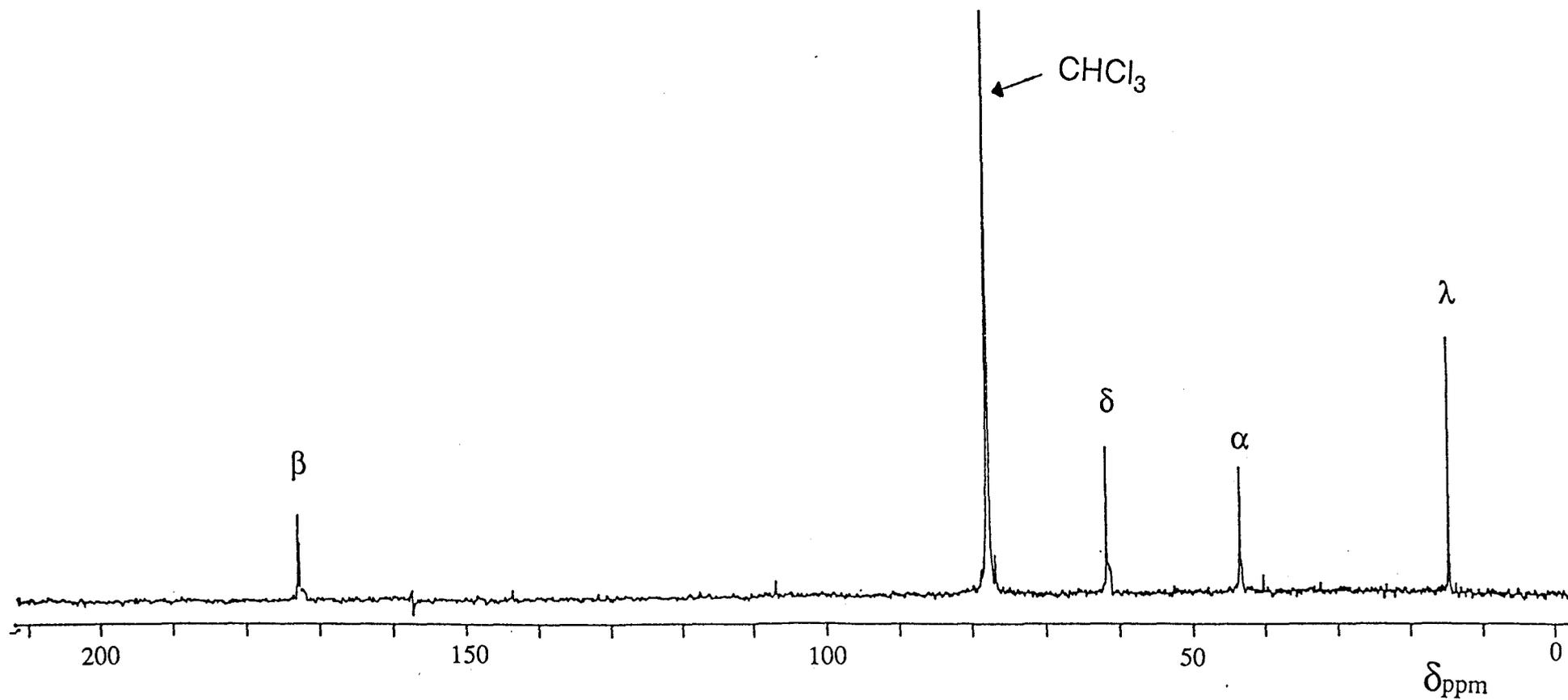
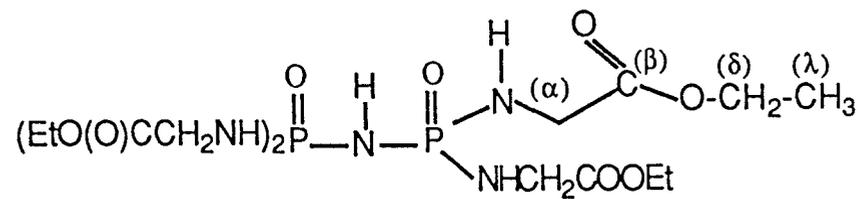


Figure 30 Spectre RMN du ^{13}C de $\text{HN}(\text{PO}(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})_2)$ dans CHCl_3 .

Carbone	α	β	δ	λ
$\delta(\text{ppm})$	43,3 (s)	173,1 (d)	61,7 (s)	14,5 (s)

(s) : singulet.

(d) : doublet.

On remarque un couplage ${}^3J_{\text{PNC}\alpha\text{C}\beta}$ de l'ordre de 6Hz. Par contre le couplage ${}^2J_{\text{PNC}\alpha}$ n'est pas détecté. ${}^3J_{\text{PNC}\alpha\text{C}\beta}$ est donc supérieur à ${}^2J_{\text{PNC}\alpha}$, ce qui n'est pas exceptionnel puisque ce fait a été déjà signalé dans la bibliographie ⁶ pour des composés similaires.

- RMN de ${}^{15}\text{N}$

La figure (31) représente le spectre RMN du ${}^{15}\text{N}$ d'une solution de (XI) dans le mélange $\text{CDCl}_3\text{-CHCl}_3$. Il fait apparaître :

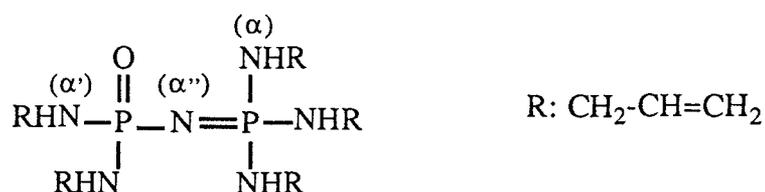
- Un doublet à -336,8ppm $J=33,1\text{Hz}$

- Un triplet à -303,6ppm $J=18,4\text{Hz}$

Les déplacements chimiques sont donnés par rapport à CH_3NO_2 .

En tenant compte:

des travaux de RIESEL ⁸, de ceux de MAZZAH ⁶, lequel, faisant référence à des résultats de OUASSINI ⁹ et au travail de JOHN et coll ¹⁰, propose pour le dérivé de $\text{Cl}_3\text{PNP(O)Cl}_2$ pentasubstitué par l'allylamine les attributions suivantes:



$$\delta_{\text{N}\alpha} = -335,8\text{ppm}$$

$${}^1J_{(\text{N}\alpha \text{ P})} = 26\text{Hz}$$

$$\delta_{\text{N}\alpha'} = -328\text{ppm}$$

$${}^1J_{(\text{N}\alpha' \text{ P})} = 23\text{Hz}$$

$$\delta_{\text{N}\alpha''} = -315\text{ppm}$$

$${}^1J_{(\text{N}\alpha'' \text{ P})} = 13\text{Hz}$$

et de la multiplicité des signaux obtenus dans notre cas, nous pouvons proposer les attributions suivantes:

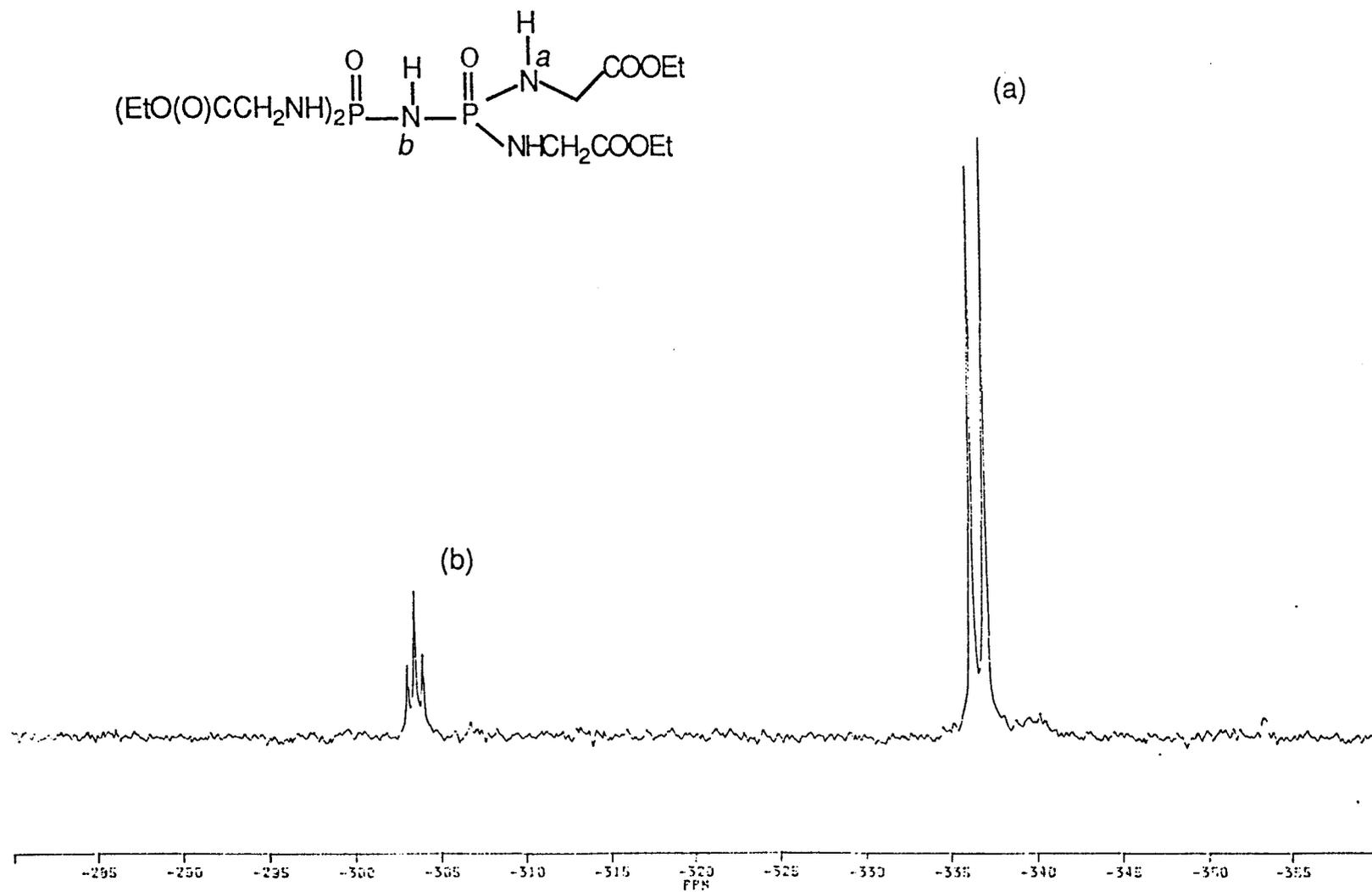
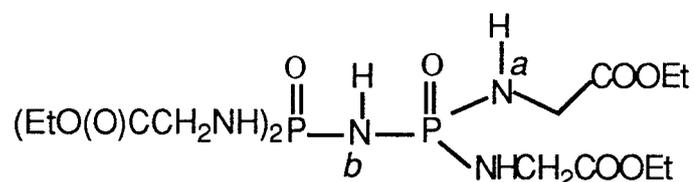


Figure 31 Spectre RMN de ^{15}N de $\text{HN}(\text{PO}(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})_2)$ dans $\text{CDCl}_3\text{-CHCl}_3$.



$$\delta_{N(a)} = -336,8 \text{ ppm}$$

$$\delta_{N(b)} = -303,6 \text{ ppm}$$

$$J_{(N(a),P)} = 33,1 \text{ Hz}$$

$$J_{(N(b),P)} = 18,4 \text{ Hz}$$

- Spectroscopie infrarouge:

En comparant les spectres d'absorption du produit initial (I) et celui du produit de la réaction (Fig 32), nous constatons la disparition totale des bandes intenses caractéristiques du groupement $P(O)Cl_2$ ($522 \text{ cm}^{-1}(\nu_s)$ et $570 \text{ cm}^{-1}(\nu_{as})$), ce qui prouve la substitution totale des atomes de chlore dans (I).

Le spectre de (XI) se caractérise principalement par la présence des bandes d'absorption à:

$3300-3385 \text{ cm}^{-1}$ ($\nu_{as}(N-H)$), $2928-2980 \text{ cm}^{-1}$ ($\nu(C-H)$), 1745 cm^{-1} ($\nu(C=O)$), 1370 cm^{-1} ($\delta(C-H)$), 1203 cm^{-1} (large) ($\nu(P=O)$ et $\nu(C-O)$ dans $(-C-C(O)-O-)$), 1145 cm^{-1} ($\nu(C-N)$), 954 cm^{-1} ($\nu_{as}(P-N-P)$) et 857 cm^{-1} ($\nu(P-N)$), .

- Spectrométrie de masse:

Le spectre de masse du composé est réalisé. (Fig 33)

Il présente l'ion moléculaire $(M+1)$ à 518 qui est en même temps le pic de base (100%). L'absence d'amas isotopiques dûs au chlore confirme la substitution totale de ces atomes dans (I).

III) Réaction de (I) partiellement substitué par la bCEA avec l'ammoniac.

Dans une première étape nous avons synthétisé une série de mélanges comprenant les termes (I), (II) et (III) que nous avons fait réagir successivement avec l'ammoniac gaz et avec l'ammoniac liquide.

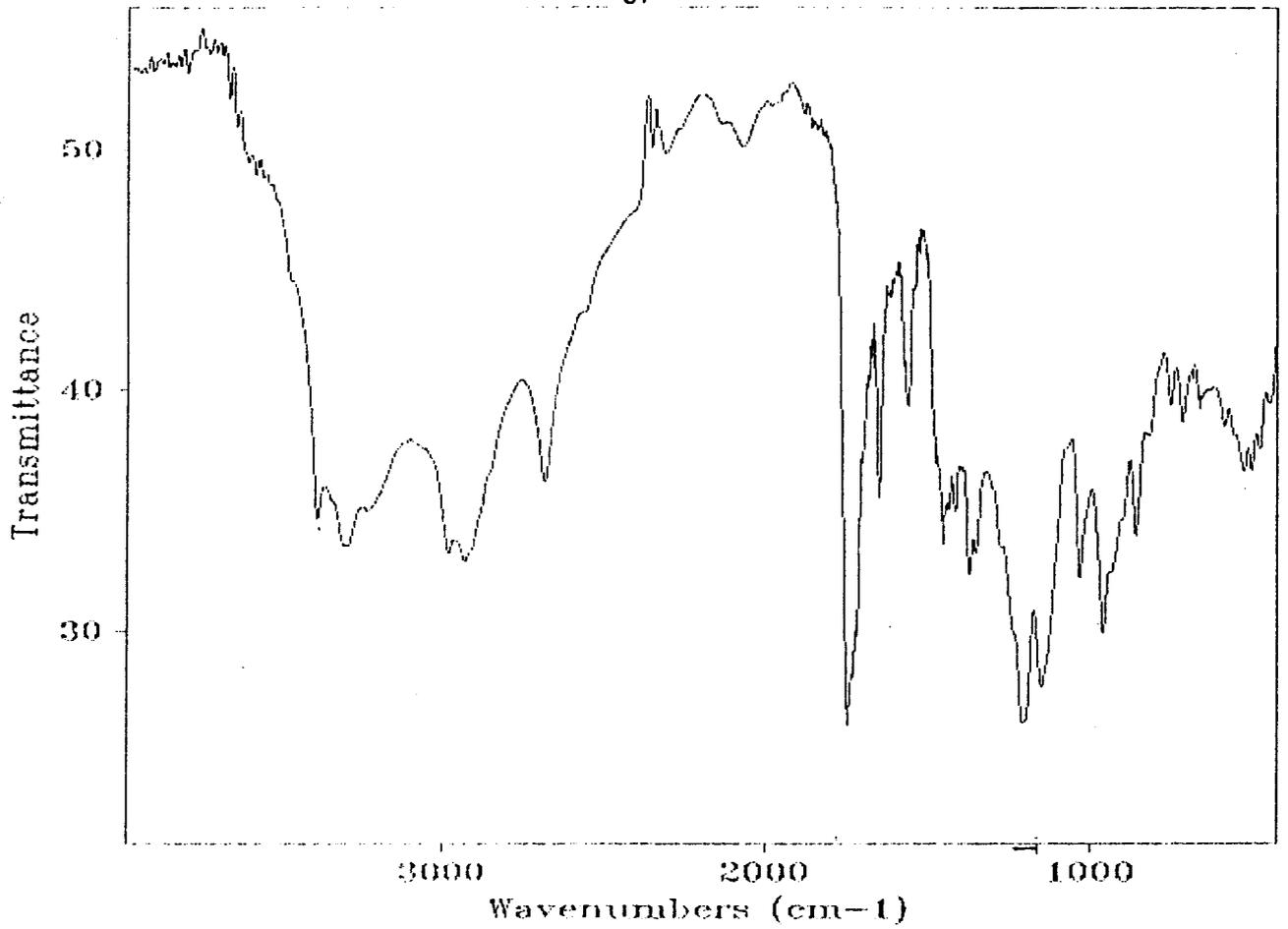


Fig 32: Spectre Infrarouge de $\text{HN}(\text{PO}(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})_2)_2$.

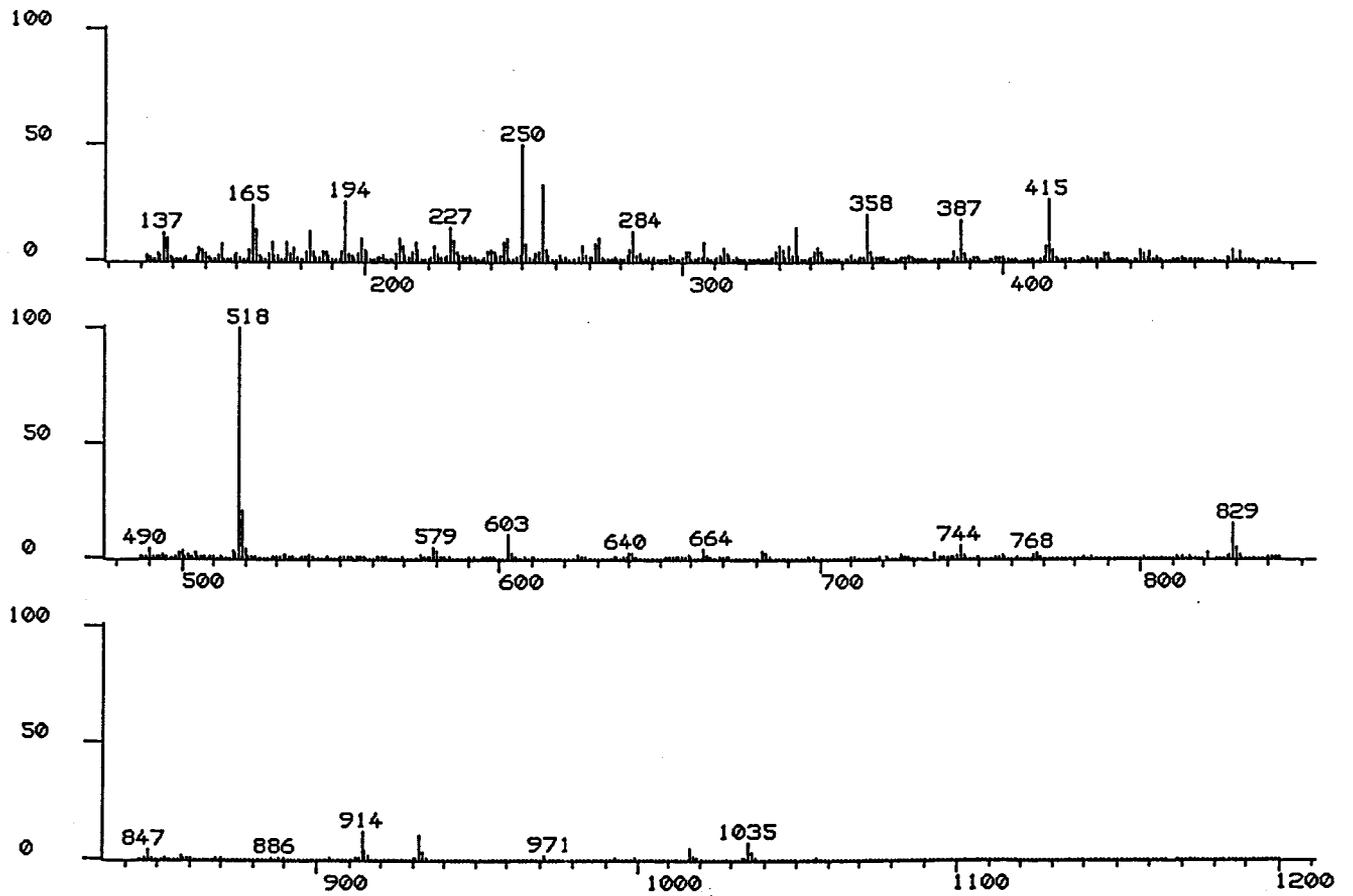


Fig 11 : Spectre de masse de $\text{HN}(\text{PO}(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})_2)_2$.

La composition de ces mélanges est déterminée par RMN du ^{31}P .

III.1. Réaction avec l'ammoniac gaz.

La réaction est menée de la manière suivante:

Dans un réacteur contenant une solution chloroformique d'un mélange de (I) et (II) avec des pourcentages respectifs de 43,4 et 56,6% nous avons fait barboter de l'ammoniac gaz à la température ambiante pendant 7 heures.

Le mélange réactionnel est ensuite filtré et le précipité formé est isolé.

Une solution aqueuse de ce dernier présente en RMN du ^{31}P toute une série de signaux avec principalement trois multiplets centrés sur $\delta=+29$; $+17,5$ et $+6$ ppm. Le spectre du filtrat est sensiblement équivalent.

La complexité de ces spectres montre que la réaction n'est pas complète, ce qui nous a conduit à utiliser l'ammoniac liquide.

III.2. Réaction avec NH_3 liquide.

Une série de réactions a été effectuée, à partir des mélanges (I,II,III), de compositions variables. (Ces dernières figurent dans le tableau 8). Dans tous les cas la réaction est conduite comme suit:

Dans une première étape on condense l'ammoniac liquide en excès (rapport molaire $\text{NH}_3(\text{liq})/\text{bCEa} >10$) dans un réacteur, contenant du chloroforme et possédant une double enveloppe de façon à pouvoir maintenir la température inférieure à -40°C à l'aide d'une circulation d'éthanol provenant d'un cryostat (Fig 34). On introduit ensuite goutte à goutte dans la solution ainsi obtenue le mélange (I, II, III) dissous dans CHCl_3 par l'intermédiaire d'une ampoule. Un précipité apparaît dès le début de l'ajout. A la fin de la réaction le mélange réactionnel est filtré et le précipité formé isolé.

Nous commencerons, dans un premier temps, par analyser la partie solide obtenue dans cette réaction.

III.2.a. Partie solide.

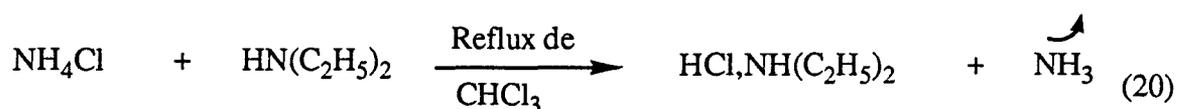
Le solide obtenu contient du chlorure d'ammonium. La première opération de purification a consisté en une série de lavages avec l'ammoniac liquide solvant de NH_4Cl en suivant, dans les spectres IR du précipité résiduel, l'évolution des bandes d'absorption caractéristiques de NH_4Cl (1680cm^{-1} (V1), 1400cm^{-1} (V2)). Le montage utilisé pour ces lavages est représenté (fig 35)

Bien que nous constatons une diminution notable de ces bandes, cette méthode de purification a été rejetée pour deux raisons:

D'une part elle est extrêmement longue et nécessite de nombreuses manipulations.

D'autre part elle diminue le rendement, NH_3 liquide solubilisant partiellement le produit de réaction. (cela a été vérifié par RMN du ^{31}P .)

Cela nous a donc amené à rechercher une autre méthode de purification, et nous avons choisi le traitement avec la diéthylamine dans le chloroforme au reflux. La réaction concernée est la suivante (20):



Cette méthode consiste à introduire le solide obtenu dans un mélange diéthylamine chloroforme (rapport massique $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2/\text{Solide} = 2$). Ce mélange est chauffé au reflux pendant 4 heures puis ramené à température ambiante.

Par filtration nous isolons un solide qui est lavé avec CHCl_3 pour éliminer les traces de chlorhydrate de diéthylamine, puis séché sous vide.

(Cette purification efficace au niveau de l'élimination du NH_4Cl , présente toutefois le désavantage de diminuer le rendement de la réaction qui ne dépasse pas 20%.)

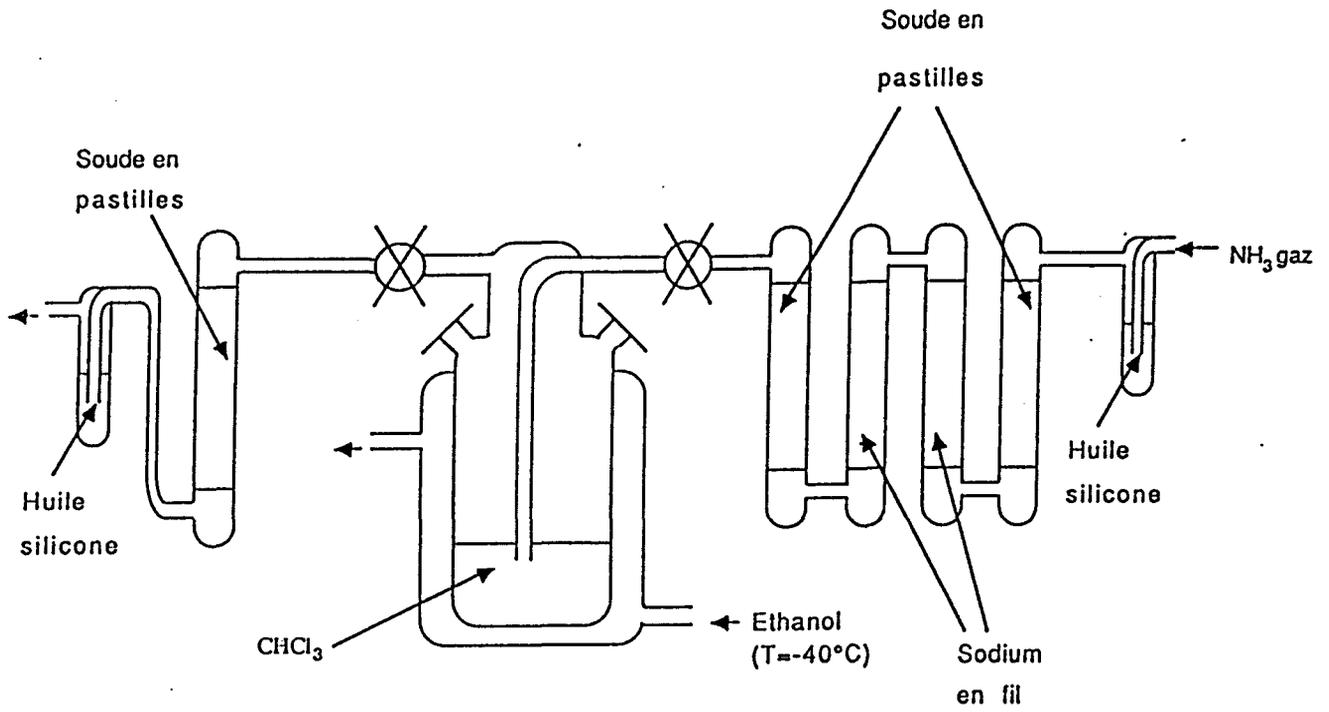
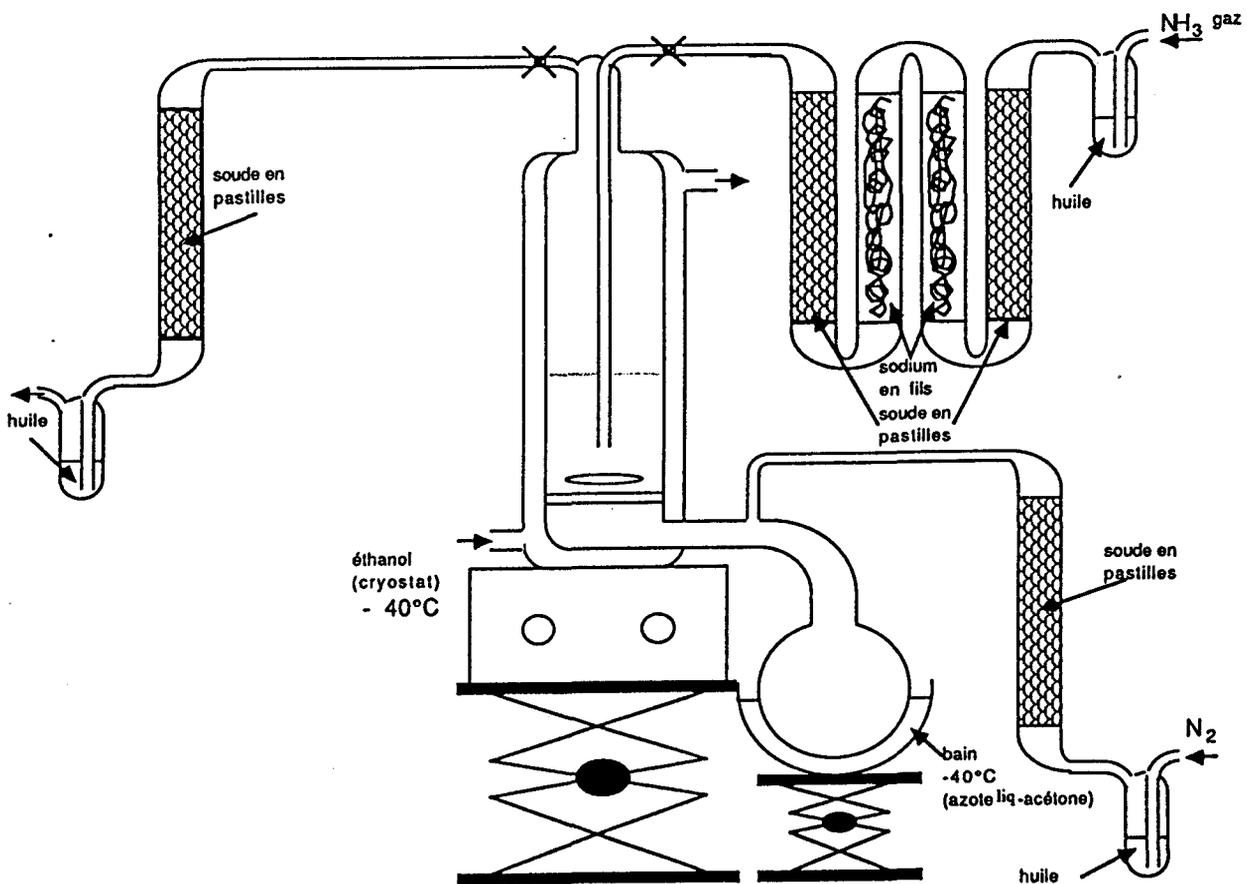


Fig 34 : schéma du montage réactionnel.

(a) (b) (c)

Fig 35 : schéma du montage du lavage avec le mélange $\text{CHCl}_3/\text{NH}_3$ (liquide).

Ce solide a été caractérisé par RMN des noyaux ^{31}P , ^{13}C et ^1H , par spectroscopie IR et spectrométrie de masse. Une microanalyse a été effectuée.

- RMN du ^{31}P

Le tableau (8) regroupe les signaux observés pour chacun des essais effectués: Les spectres correspondant sont représentés (Fig 36 a, b et c)

Essai	1	2	3
Composition du mélange [I; II ; III] (%)	(8 ; 77 ; 15)	(13,5 ; 66 ; 20,5)	(0 ; 47 ; 53)
Spectre non couplé: P- $\{^1\text{H}\}$ δ (ppm) ; $J_{\text{P-P}}$ (Hz)	d:+17,4 ; J=22,4 d:+28,8 ; J=24,1 s*:(masqué)	d:+16,7 ; J=24,1 d:+28,7 ; J=22,3 s:17	d:+17,3 ; J=24,0 d:+28,6 ; J=24,1
Spectre couplé (P-H)	Les deux doublets sont affectés. **	Les deux doublets sont affectés.**	Les deux doublets sont affectés.**
$J_{\text{P-P}}$ moyenne (Hz)	23,2	23,2	24

Tableau 8

d: doublet s: singulet

*Ce singulet est masqué par le doublet à $\delta=+17,4\text{ppm}$. Il apparait en mode couplé.

** Le doublet à $\delta =+28\text{ppm}$ est fortement affecté celui à $\delta =+17\text{ppm}$ l'est faiblement.

- Attribution des signaux:

Dans les trois cas nous notons l'apparition de deux doublets qui ne peuvent donc que correspondre au produit de la réaction avec l'ammoniac, alors que le singulet n'apparait que dans les deux premiers essais, qui font intervenir dans le mélange initial le dérivé (I). Son déplacement chimique est dans le domaine caractéristique du di(diaminophosphoryl)imide ($\delta=+17,3\text{ppm}$).

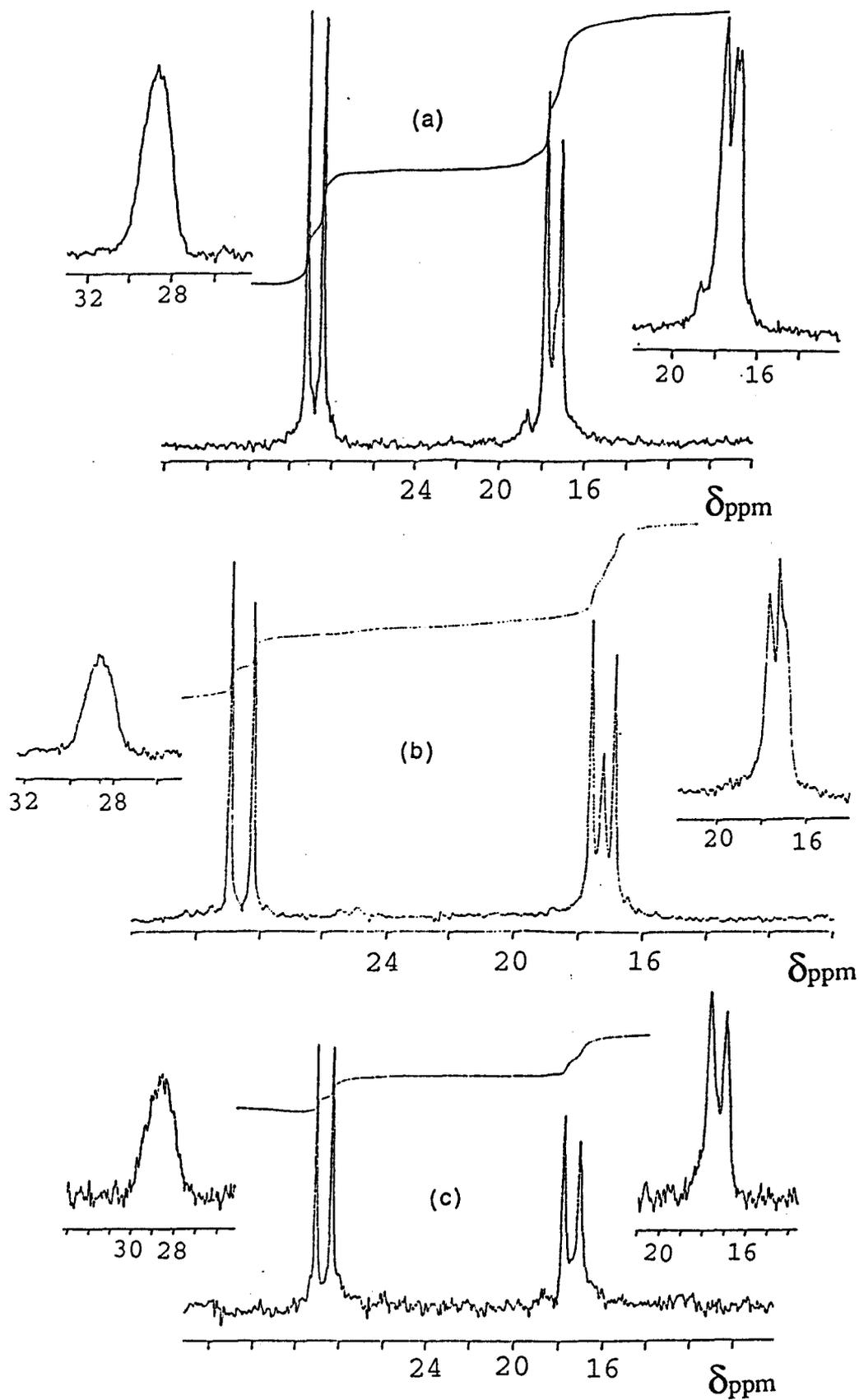
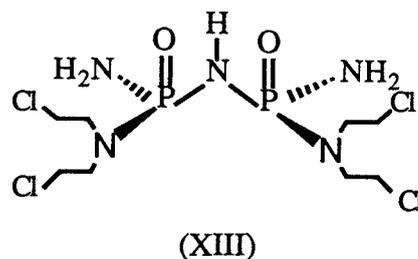
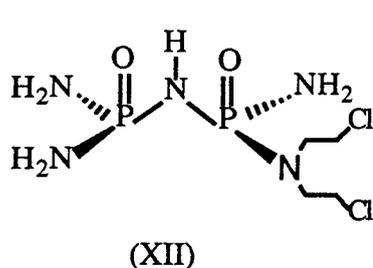


Fig 36 : Spectres RMN du ^{31}P découplés et couplés des produits des essais 1(a), 2(b) et 3(c) dans H_2O .

Nous l'attribuons donc à ce dernier. Cette attribution a été vérifiée par la méthode des ajouts. C'est ce résultat qui nous a poussé à utiliser dans le troisième essai un mélange initial exempt de (I) de façon à isoler le composé auquel correspondent les deux doublets et à le caractériser (spectre fig 36c).

Dans ce cas, étant donné la composition du mélange initial (II, III) les deux composés susceptibles de se former sont donc (XII) et (XIII):

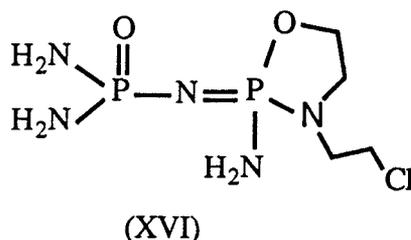
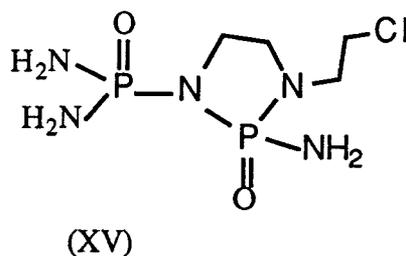
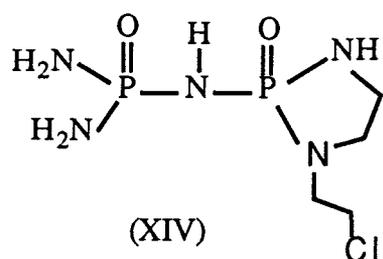


l'existence de deux doublets permet d'écarter la structure symétrique (XIII).

Si on peut faire correspondre au signal à $\delta=+17,3\text{ppm}$ le groupement $\text{P}(\text{O})(\text{NH}_2)_2$ ($\delta=+17,3\text{ppm}$ dans $\text{HN}(\text{P}(\text{O})(\text{NH}_2)_2)_2$) il n'en va pas de même pour celui relevé à $\delta=+28,6\text{ppm}$. Cette valeur est en effet trop élevée pour un groupement phosphoryle porteur de deux substituants aminés et ceci bien que la constante de couplage $^2J_{\text{P-P}}$ soit compatible avec une structure de type phosphazane.

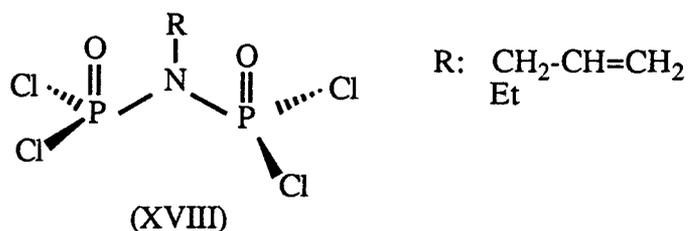
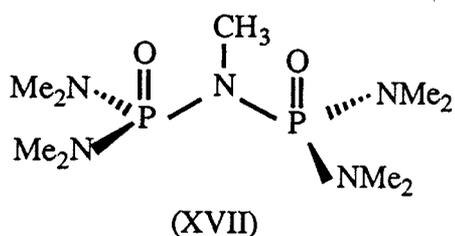
Par ailleurs le couplage $^2J_{\text{P-H}}$ n'étant pas observable dans $-\text{P}(\text{O})\text{NH}_2$, le multiplet observé pour ce doublet ne s'accorde pas avec la présence sur l'atome de phosphore correspondant d'un groupement $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (cf spectre du dérivé monosubstitué (II) chap I fig 8).

Il était donc logique de penser ici encore à une réaction de cyclisation qui dans ce cas peut conduire à (XIV), (XV) ou (XVI).



La structure de type (XV) n'est pas concevable car dans ce cas l'atome de phosphore du groupement $-P(O)(NH_2)_2$ devrait être couplé aux protons de type méthylène portés par l'atome d'azote du pont P-N-P.

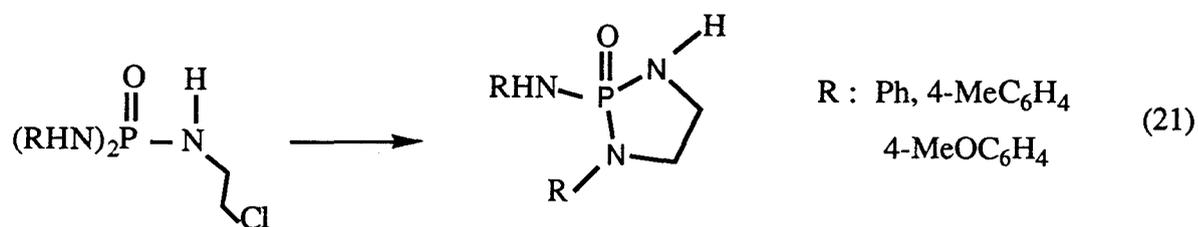
La constante de couplage $^3J_{P-H}$ correspondante est de 9,5Hz pour (XVII) ¹¹ et de 18,5Hz pour (XVIII) ^{6,12}



Un composé de type (XVI) n'est pas non plus concevable, la constante de couplage $^2J_{P-P}$ étant trop faible ⁴.

Nous sommes donc amenés à retenir la structure (XIV).

La formation de (XIV) n'est pas surprenante étant donné les travaux de Bauermeister ¹³ relatifs à la réactivité des N(2chloroéthyl)phosphorotriamidates $(RNH)_2P(O)NHCH_2CH_2Cl$ qui en milieu basique se cyclisent en partie selon (21)

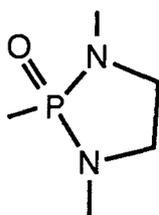


- RMN du ^{13}C

Le spectre RMN du ^{13}C est représenté (fig 37). Il comprend 8 signaux que l'on peut regrouper en quatre doublets (Tableau 9). En se basant sur des données bibliographiques⁹ et sur le spectre de la bCEA (annexe p 155) nous pouvons faire correspondre :

-aux doublets à $\delta = 46,2$ et $43,1$ ppm respectivement les atomes de carbones C_α et C_β dans le groupement $-\text{N}-\text{C}_\alpha\text{H}_2-\text{C}_\beta\text{H}_2-\text{Cl}$

-aux doublets à $\delta = 44,7$ et $43,9$ ppm les atomes de carbone du cycle à cinq chaînons



L'absence de signal à champ plus faible (entre 60 et 70ppm) confirme l'absence de réaction de O-cyclisation.

$\delta(\text{ppm})$	Multiplicité	$J_{\text{C-P}}(\text{Hz})$	Attribution
46,2	Doublet	4,9	N-CH ₂ -CH ₂ -Cl
44,7	Doublet	8,6	N-CH ₂ -CH ₂ -N (Cycle)
43,9	Doublet	9,7	
43,1	Doublet	4,9	N-CH ₂ -CH ₂ -Cl

Tableau 9

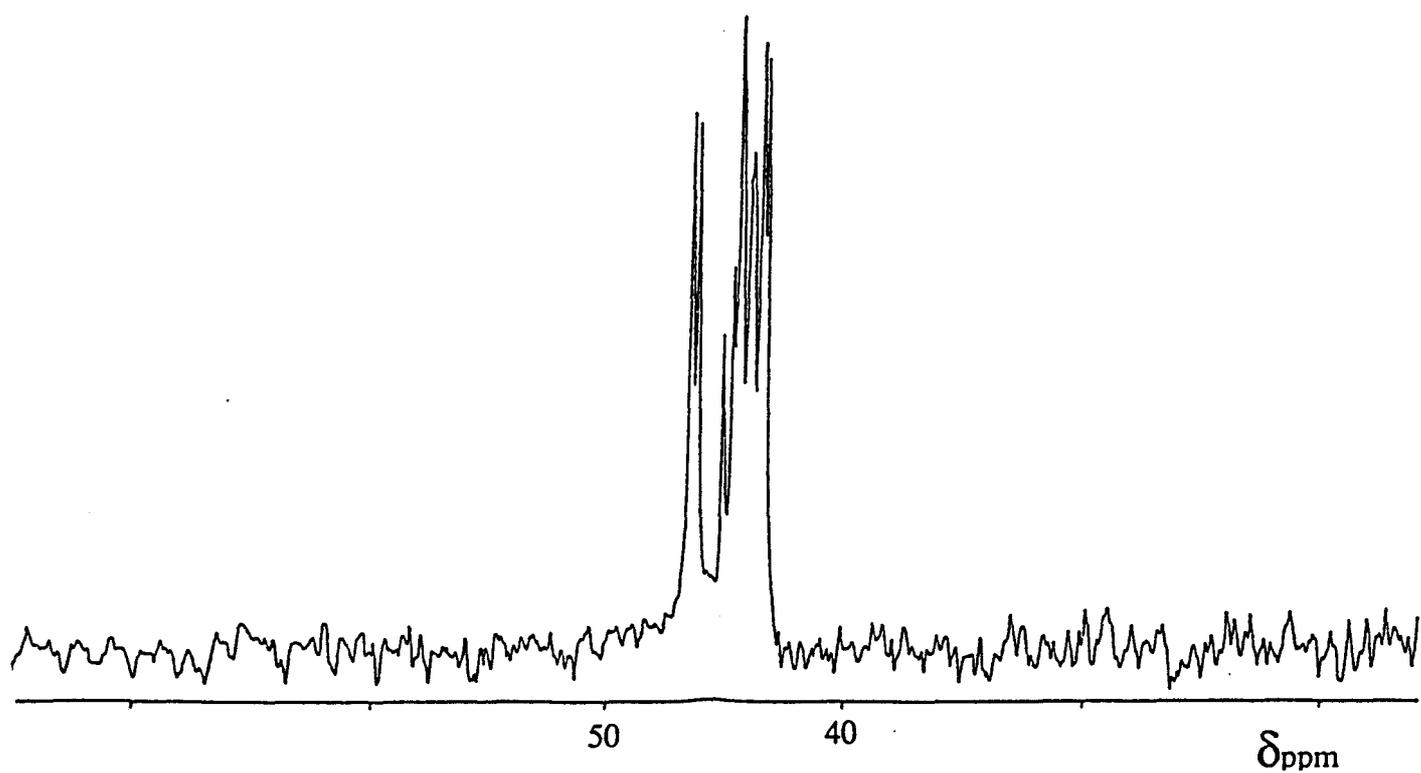


Figure 37 Spectre RMN du ^{13}C du composé (XIV) dans H_2O .

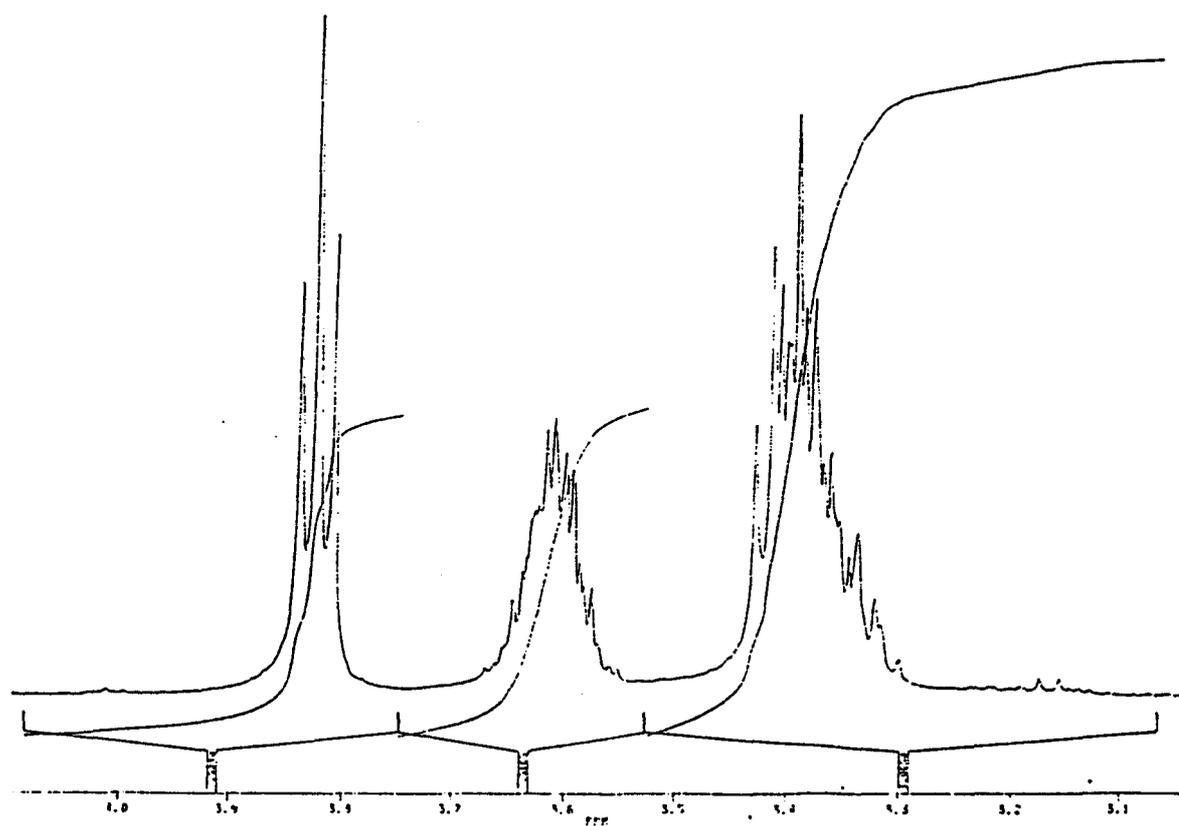


Figure 38. Spectre RMN du ^1H du composé (XIV) dans D_2O .

- RMN du ^1H

Le spectre RMN du ^1H (solvant D_2O) est représenté (Fig 38) Il présente trois multiplets centrés sur $\delta = 3,4$; $3,6$ et $3,8\text{ppm}$ d'intégrations respectives 2-1-1.

Le triplet à $\delta = 3,8\text{ppm}$ peut être attribué aux protons H_β dans $\text{N}-\text{C}(\text{H}_\alpha)_2-\text{C}(\text{H}_\beta)_2\text{Cl}$ ($^2\text{J}_{\text{H-H}} = 6,2\text{Hz}$ ($^2\text{J}_{\text{H-H}} = 5,6\text{Hz}$ dans $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$) et le multiplet à $\delta = 3,6\text{ppm}$ peut être attribué aux protons H_α dans le même groupement. (Ils sont couplés à la fois aux protons H_β et au phosphore)

Au signal centré sur $\delta = 3,4\text{ppm}$ correspondent donc les protons des groupements méthylène dans le cycle. Bauermeister ¹³ leur attribue un multiplet centrés sur $\delta = 3,1\text{ppm}$ dans la 1,3,2-

diazaphospholidine, $\text{RHNP}(\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NR}$ R: Me .

- Spectroscopie IR

Le spectre qui est représenté figure (39) confirme:

- l'absence de chlorure d'ammonium (disparition de la bande d'absorption $\text{V}(\text{NH})$ dans NH_4^+ à 1400cm^{-1}).
- la présence des groupements phosphoryle: bande $\text{V}(\text{P}=\text{O})$ à 1200cm^{-1} .
- l'existence des liaisons $\text{P}-\text{NH}_2$: présence des absorptions entre 3150 et 3300cm^{-1} , 1560cm^{-1} , caractéristiques respectivement des modes $\text{V}(\text{N-H})$ et $\delta(\text{N-H})$.
- l'existence de la liaison $\text{N}-\text{C}$ avec deux bandes à 1040 et 1105cm^{-1} représentatives des vibrations V_s et V_{as} (P)-N-C.
- enfin la présence de liaisons $\text{C}-\text{H}$: absorptions à $2830-2980\text{cm}^{-1}$.

- Spectrométrie de masse:

Le spectre de masse (fig 40) confirme les résultats précédents. En effet le pic moléculaire M^+ est observé à $m/e = 261\text{g}$. La présence du pic $\text{M}+2$ (30% par rapport à l'intensité de pic moléculaire) est due à l'atome de chlore dans le groupement ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$).

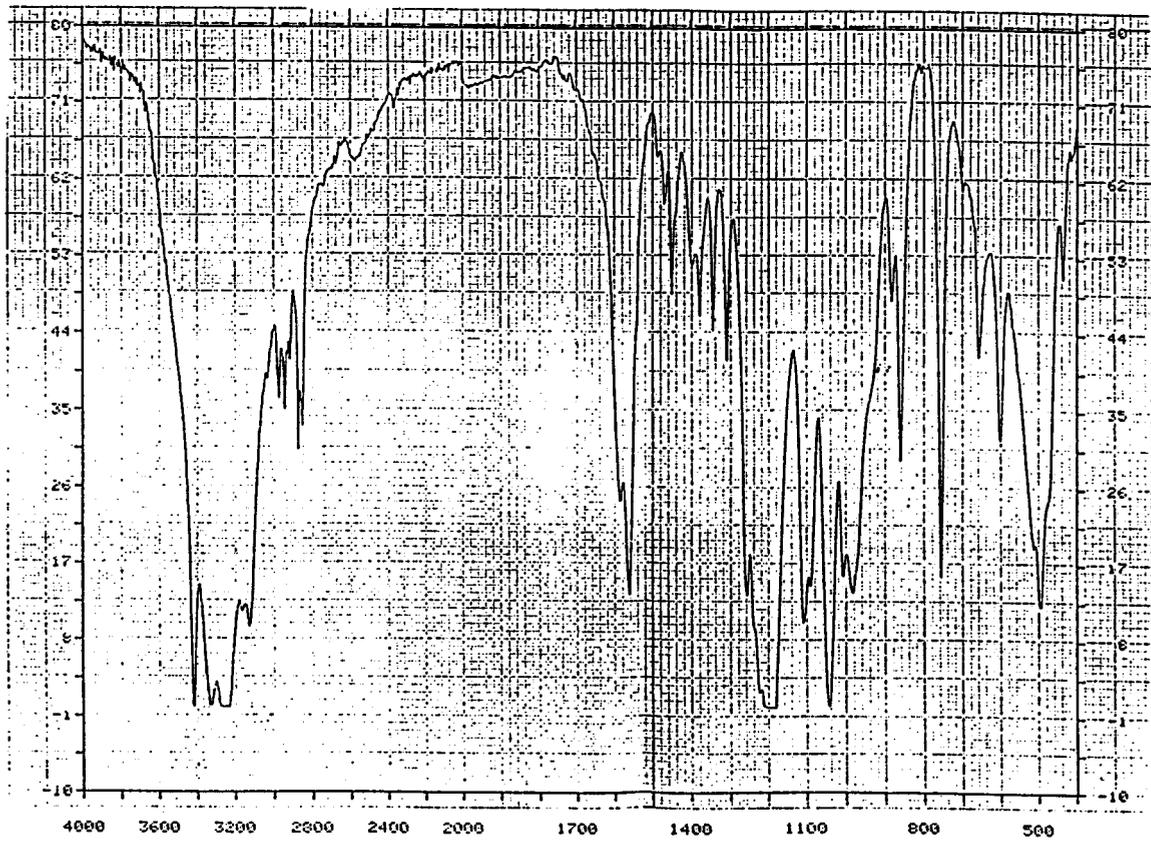


Figure 39: Spectre Infrarouge du composé (XIV).

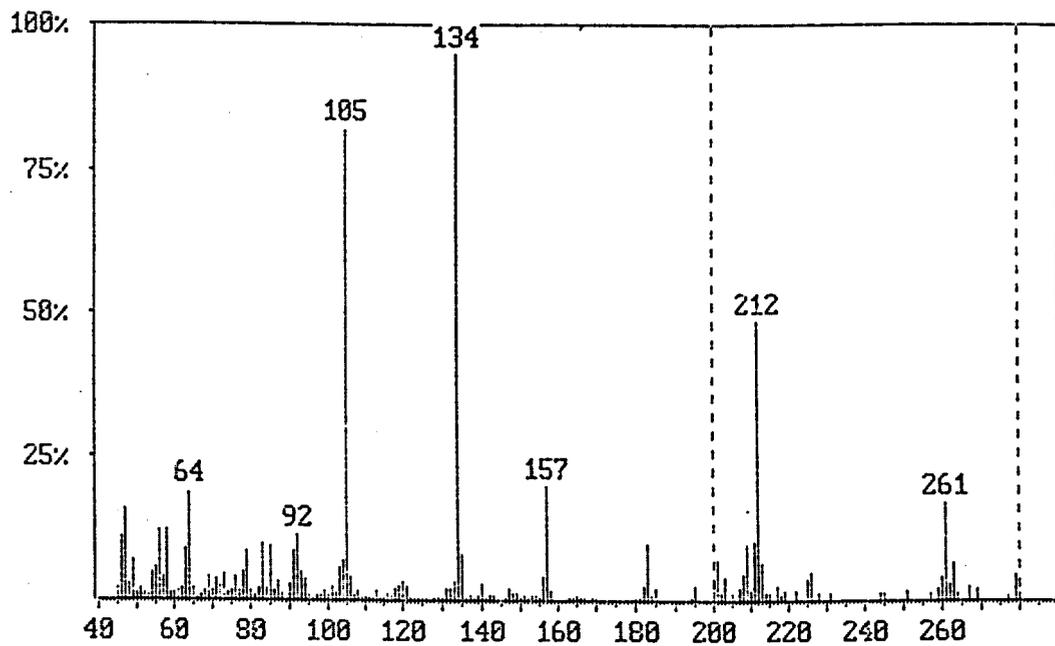


Figure 40: Spectre de masse du composé (XIV)

- Analyse élémentaire:

Les résultats de la microanalyse des éléments phosphore, azote et chlore sont les suivants:

Elément	P	N	Cl
Théorique(%)	23,71	26,78	13,57
Trouvé (%)	23,65	25,84	13,47

Ils sont en accord avec la structure proposée.

III.2. b. Phase soluble dans le mélange $\text{CHCl}_3/\text{NH}_3$ (liquide).

La phase soluble dans le mixte $\text{CHCl}_3/\text{NH}_3$ (liquide) a été analysée par RMN du ^{31}P dans le cas de l'essai (2). Le spectre présente principalement (fig 41a):

- quatre doublets centrés sur $\delta=+25,5\text{ppm}$, $\delta=+25,7\text{ppm}$, $\delta=+16\text{ppm}$ et $\delta=+15\text{ppm}$ auxquels correspondent respectivement les constantes de couplage $J_1=J_2=J_3=J_4=22\text{Hz}$. Ils représentent au total 84,20% des atomes de phosphore.

- deux singulets à $\delta_6=+30,8\text{ppm}$ et $\delta_7=+30,5\text{ppm}$. Ils totalisent 5,30% des atomes de phosphore.

Par couplage hétéronucléaire phosphore-proton ces signaux sont tous affectés (fig 41b).

- Attributions:

le mélange $\text{CHCl}_3/\text{NH}_3$ (liq), la proximité des déplacements chimiques et la similitude des constantes de couplage relevées entre le spectre de la figure (41a) et celui de la figure (36c) qui correspond à la phase insoluble, nous poussent à attribuer les quatre doublets aux deux formes isomères cis et trans du composé (XIV) (partiellement soluble dans le mélange $\text{CHCl}_3/\text{NH}_3$ (liq)). Cela ne serait pas surprenant puisque ces deux formes existent pour les dérivés mono et bismonosubstitué (II) et (III) (cf chapitre I).

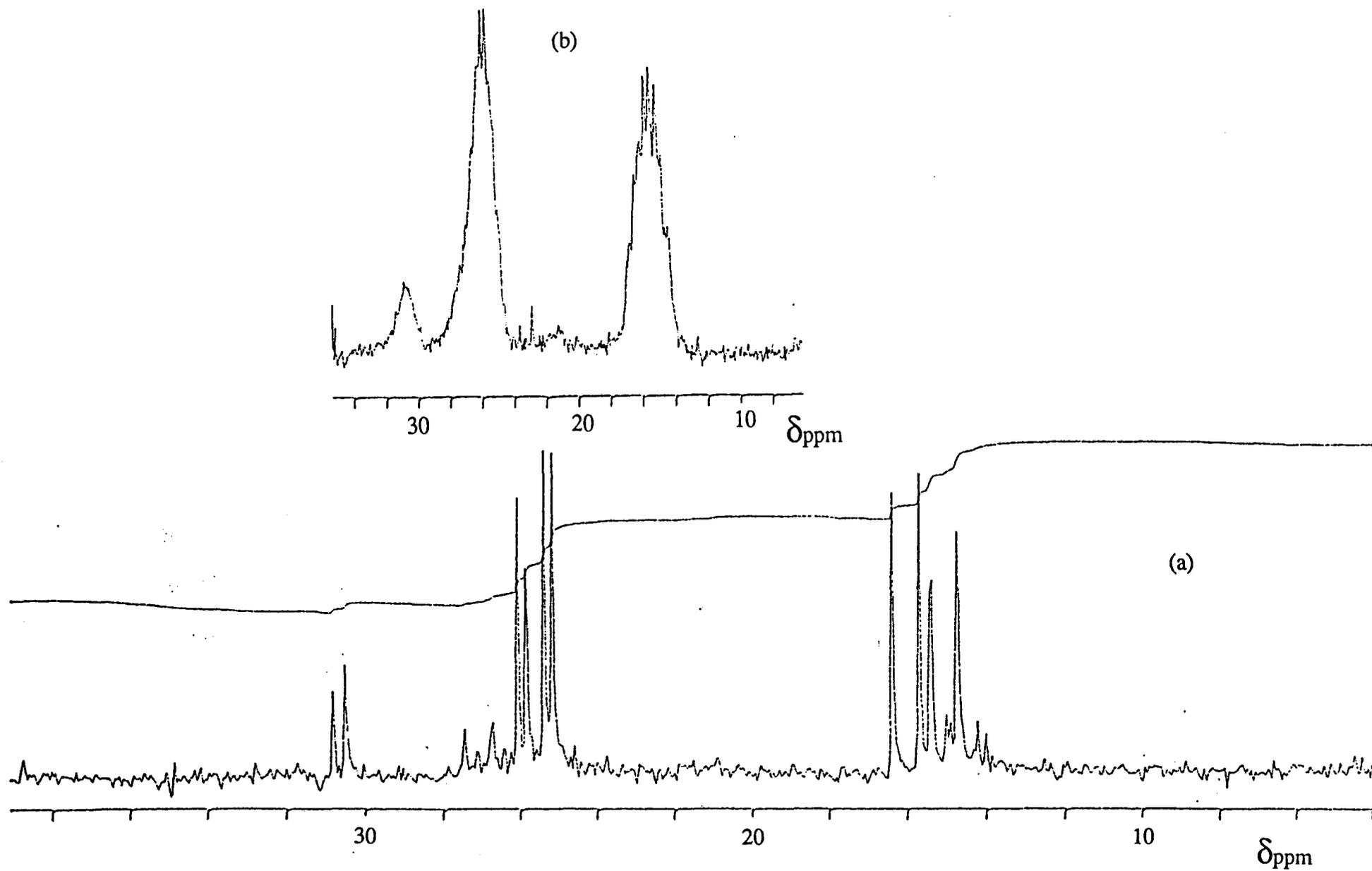
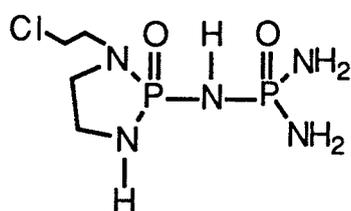


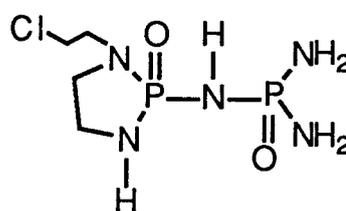
Fig 41 : Spectres RMN du ^{31}P de la phase soluble dans le mélange $\text{CHCl}_3/\text{NH}_3$ (liquide)

(a) découplé

(b) couplé



(XIV) , cis

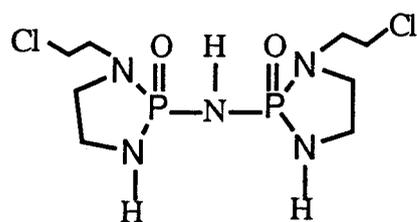


(XIV) , trans

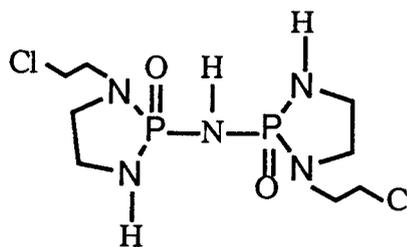
Cette attribution est confortée par le fait que le filtrat obtenu après plusieurs lavages du composé (XIV) avec le mélange $\text{CHCl}_3/\text{NH}_3(\text{liq})$, présente un spectre identique à celui de la figure (41a).

Nous remarquons que les deux doublets à $\delta=+16\text{ppm}$ et $\delta=+15\text{ppm}$ attribués au groupement $-\text{P}(\text{O})(\text{NH}_2)_2$ sont couplés, ce qui n'est pas le cas lorsque le spectre est réalisé dans l'eau. Cela peut s'expliquer par un phénomène d'échange absent dans CHCl_3 . On observe le même comportement pour le composé (XI).

Etant donné la présence du dérivé bismonosubstitué (III) dans le mélange de départ (essai 2 tableau 1) d'une part, la valeur des déplacements chimiques et le couplage phosphore-proton d'autre part, nous sommes tentés d'attribuer aux deux singulets à $\delta_6=+30,8\text{ppm}$ et $\delta_7=+30,5\text{ppm}$ les atomes de phosphore présents dans les deux formes cis et trans (XIXa) et (XIXb).



(XIXa), Cis



(XIXb), Trans

IV) Réaction de (I) partiellement substitué par la bCEA avec la glycine éthylester $H_2NCH_2C(O)OEt$.

Dans ce cas de réaction nous nous sommes limités au cas du mélange (I, II) et nous avons travaillé avec un excès de glycinat d'éthyle.

Déroulement de la réaction:

A une solution d'amine libre de glycinat d'éthyle est ajouté le mélange (I;II) goutte à goutte à température ambiante. Le mode opératoire est le même que celui utilisé dans les substitutions de (I) par la bCEA (chapitre I).

A la fin de la réaction (suivie par RMN du ^{31}P) le mélange réactionnel est filtré et le solvant évaporé.

on obtient une huile qui après trois traitements à l'éther de pétrole fait place à un solide qui a été caractérisé par RMN, IR et spectrométrie de masse.

Les résultats décrits ci dessous ont été obtenus à partir d'un mélange (I (44%), II (56%)).

- RMN du ^{31}P

La solution chloroformique du solide formé présente le spectre représenté figure (42a). Il comprend :

- deux doublets centrés sur $\delta=+13,4\text{ppm}$ et $\delta=+25,3\text{ppm}$ auxquels correspond une constante de couplage $J_{(P-P)}=23\text{Hz}$. Ils représentent 57% des atomes de phosphore.
- 1 singulet à $\delta=+13,3\text{ppm}$ (superposé à l'une des composantes du doublet à $\delta= 13,4\text{ppm}$) auquel correspond le reste des atomes de phosphore soit 43%.

Par couplage hétéronucléaire phosphore-proton, tous ces signaux sont affectés.

On a donc ici un mélange de deux composés et sa composition est comparable à celle du mélange (I, II) de départ.

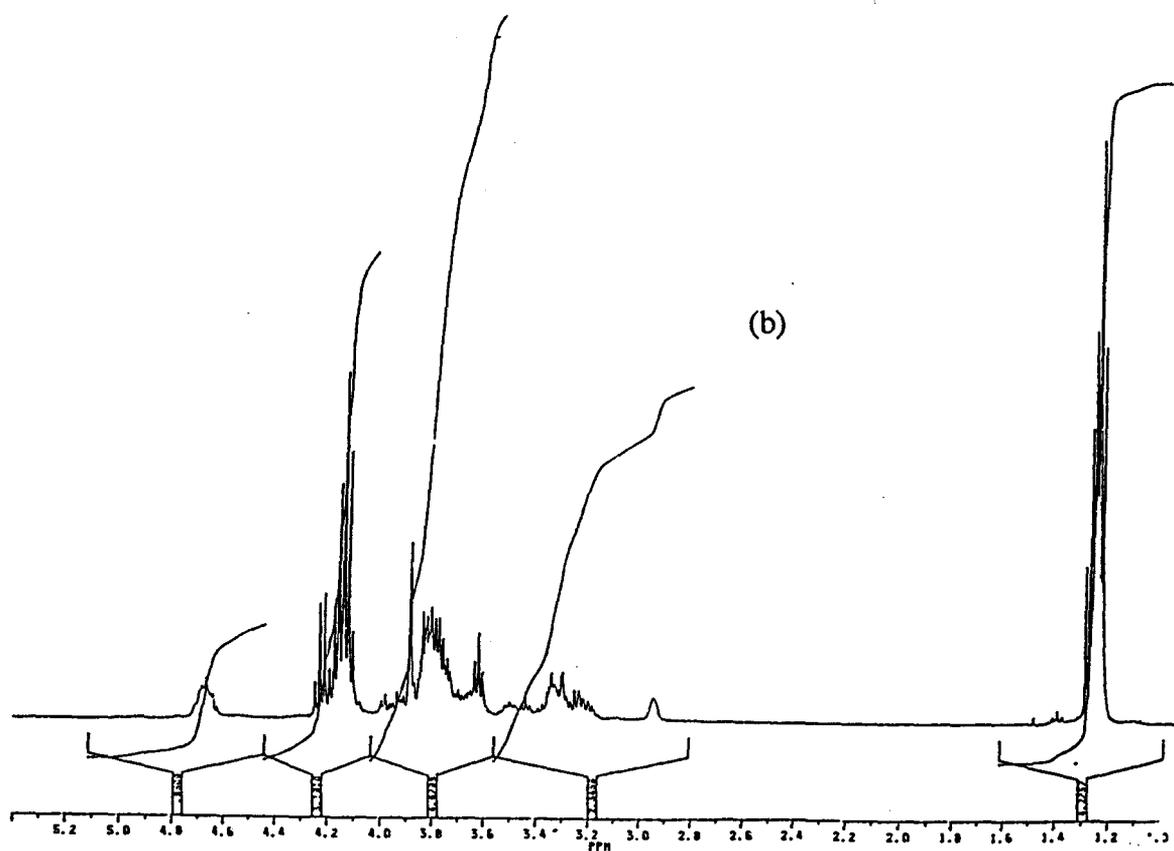
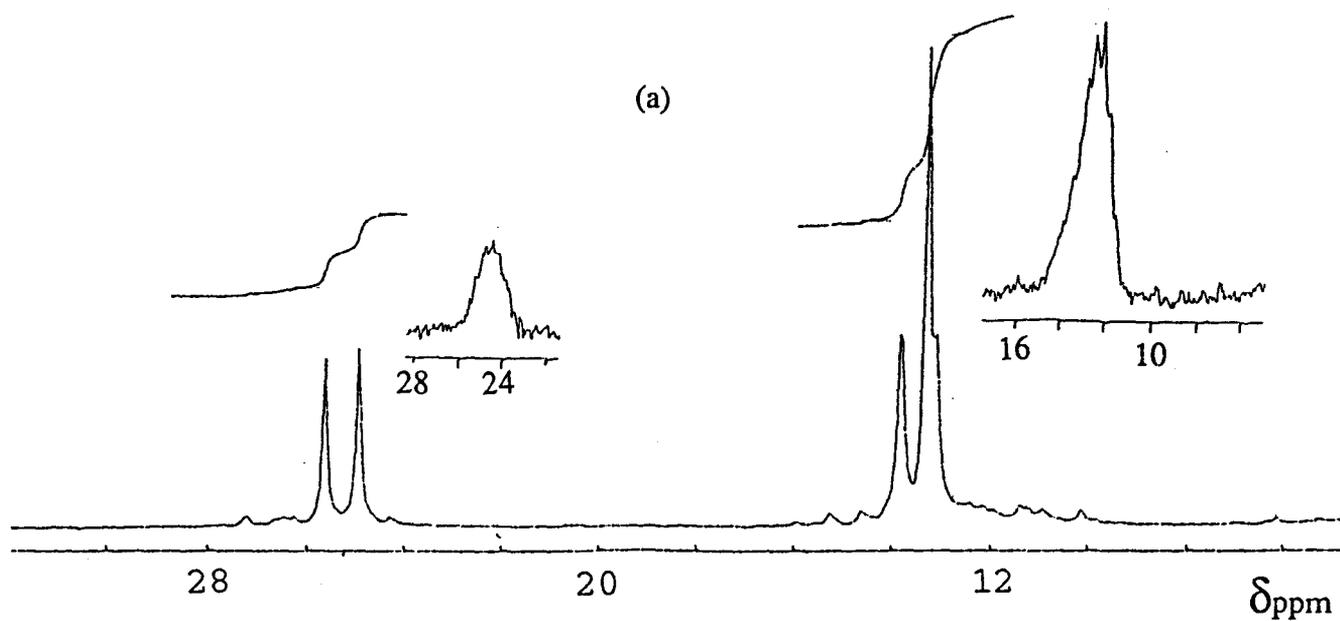


Fig 42 : Spectres RMN du mélange (XI, XX)

(a) ^{31}P (dans C_6H_6 .)

(b) ^1H (dans CDCl_3 .)

La synthèse et l'étude du spectre du composé tetrasubstitué $R_2P(O)NHP(O)R_2$ (R: $NHCH_2COOEt$) permet d'attribuer à ce dernier le singulet à $\delta=+13,3ppm$.

Les deux doublets sont donc caractéristiques du produit de la réaction, et la valeur élevée du glissement chimique relevé à $\delta =+25,3ppm$ laisse encore prévoir l'intervention d'une réaction de N-alkylation.

- RMN du ^{13}C :

Le spectre RMN du ^{13}C réalisé dans $CHCl_3$, ne laisse apparaître que les signaux du groupement glycinate d'éthyle. Cela tient à la composition du mélange dans lequel le pourcentage des atomes de carbones correspondants est très élevé devant celui des atomes de carbones sous forme bCEA.

- RMN du 1H :

Le spectre est représenté fig (42b). Par référence aux spectres de la bCEA du glycinate d'éthyle, du dérivé tetrasubstitué (XI) et au travail de BAUERMEISTER ¹², nous proposons les attributions suivantes (tableau 10):

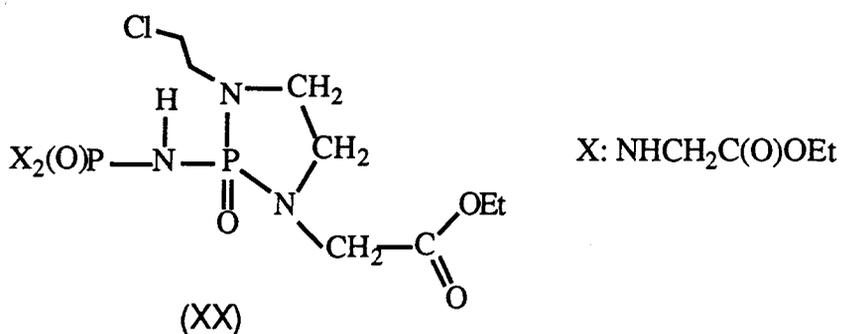
$\delta(ppm)$	Multiplicité	$J_{H-H}(Hz)$	Attribution
1,3	Triplet	7	CH_3-CH_2-O-C
3,2 - 3,3	2 multiplets		$N-CH_2-CH_2-N$; $N-CH_2-CH_2-Cl$
3,6	Triplet		$N-CH_2-CH_2-Cl$
3,8	multiplet		$-P-NH-CH_2-COOEt$
4,2	Quadruplet	7,1	CH_3-CH_2-O-C
4,7	singulet large		$-P-NH-CH_2-COOEt$

Tableau 10

Les signaux supplémentaires par rapport à ceux relevés dans le cas du dérivé tetrasubstitué par le groupement glycinate d'éthyle (fig 28) sont les deux multiplets à $\delta=3,2$ et $3,3\text{ppm}$. et le triplet à $3,6\text{ppm}$

BAUERMEISTER ¹³ attribue aux protons de type $>\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}<$ (cycle) dans $\text{RHNP}(\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NR}$ R: Me un multiplet à $\delta= 2,98-3,37\text{ppm}$ et à ceux sous forme $>\text{N}-\text{CH}_2-$ et $-\text{CH}_2\text{Cl}$ dans $(\text{RHN})_2\text{P}(\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ respectivement les valeurs $\delta= 3,24\text{ppm}$ et $3,58\text{ppm}$.

Cela est donc en accord avec nos attributions, qui cette fois encore impliquent donc une réaction de N-alkylation conduisant à (XX):



- Spectre de masse:

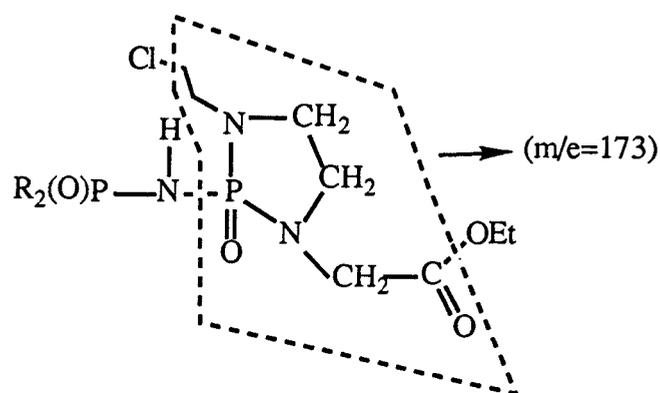
Le spectre de masse du mélange (XI,XX) est représenté fig (43a).

En comparant ce spectre à celui du composé (XI) (fig 33) on peut conclure qu'au composé (XX) correspond le pic moléculaire (ou plus précisément son satellite M^{+1}) à $m/e = 520$. Ce dernier est représentatif de l'entité $\text{P}_2\text{N}_5\text{O}_8\text{ClH}_{32}\text{C}_{16}$.

La présence de $(\text{M}+2)$ (30% de pic moléculaire) implique l'existence d'un seul atome de chlore dans le composé analysé.

Le spectre de masse est donc en accord avec la structure proposée pour (XX).

On peut faire correspondre au pic à $m/e = 173$ le fragment désigné ci dessous.



- Spectroscopie Infrarouge:

Dans le spectre infrarouge représenté fig(43b) on peut noter l'absence des absorptions ν_s et ν_{as} caractéristiques des liaisons P-Cl à 522 et 574 cm^{-1} dans $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$.

Cela prouve une substitution totale des atomes de chlore.

On met en évidence les modes $\nu(\text{P}=\text{O})$ et $\nu(\text{C}-\text{O})$ par deux absorptions à 1206 et 1146 cm^{-1} , $\delta(\text{C}=\text{O})$ à 1745 cm^{-1} et $\nu_{as}(\text{P}-\text{N})$ dans les groupements P-N-P et P-NHR par une bande large entre 960 et 924 cm^{-1} .

V) Conclusion

l'étude décrite ci dessus, avait pour but la fixation sur un motif di(diphosphoryl)imide de deux types de substituants ; le groupement N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine d'une part les groupements $-\text{NH}_2$ ou $-\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ d'autre part.

Ceci a été réalisé par réaction de di(dichlorophosphoryl)imide partiellement substitué par la bCEA, avec l'ammoniac liquide ou la glycine éthyl ester.

Dans les deux cas nous avons mis en évidence l'intervention de réactions de N-alkylation conduisant dans le premier à (XIV) et dans le second à (XX).

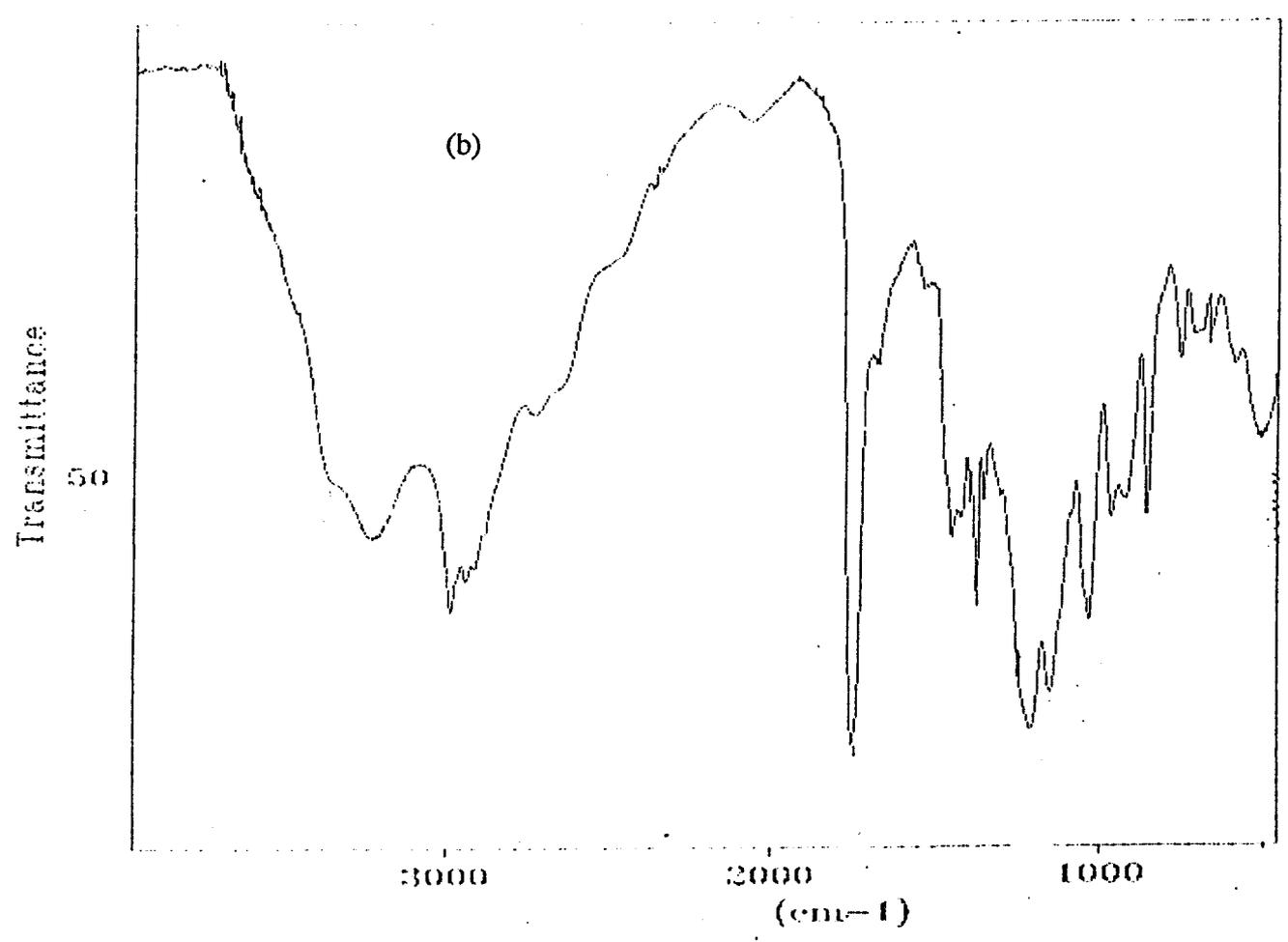
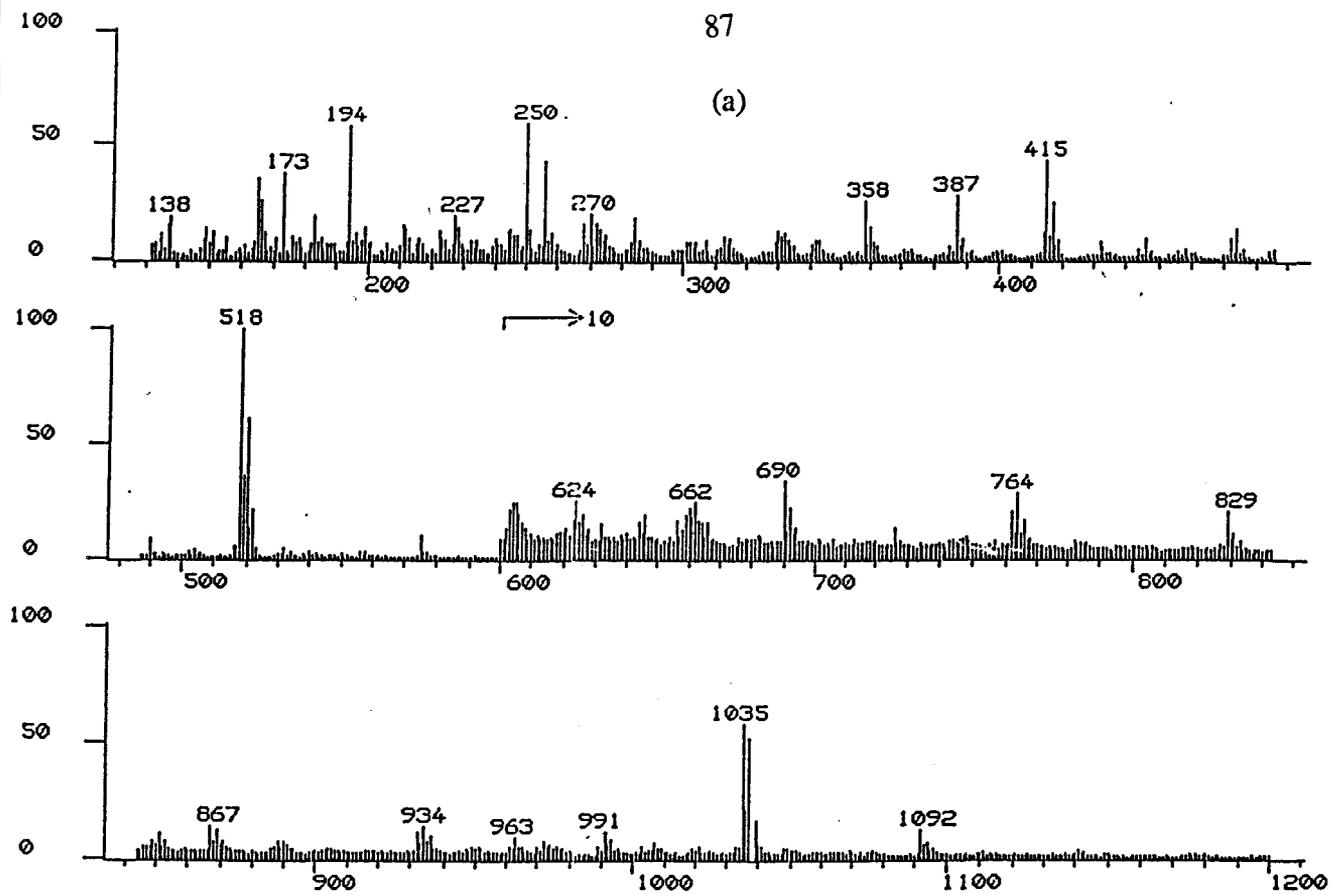
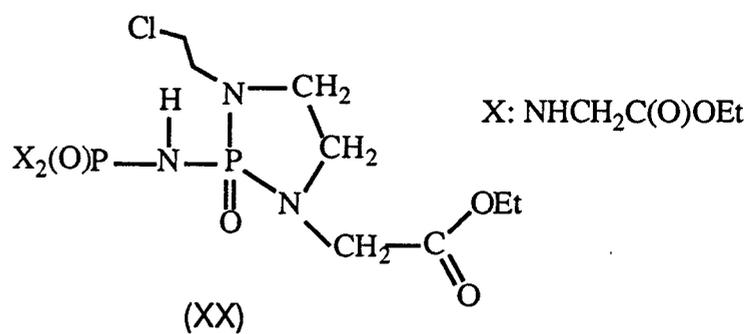
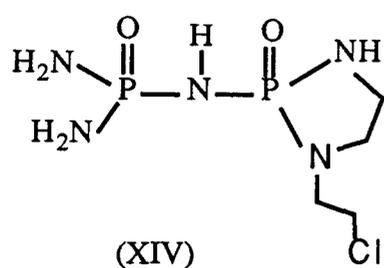
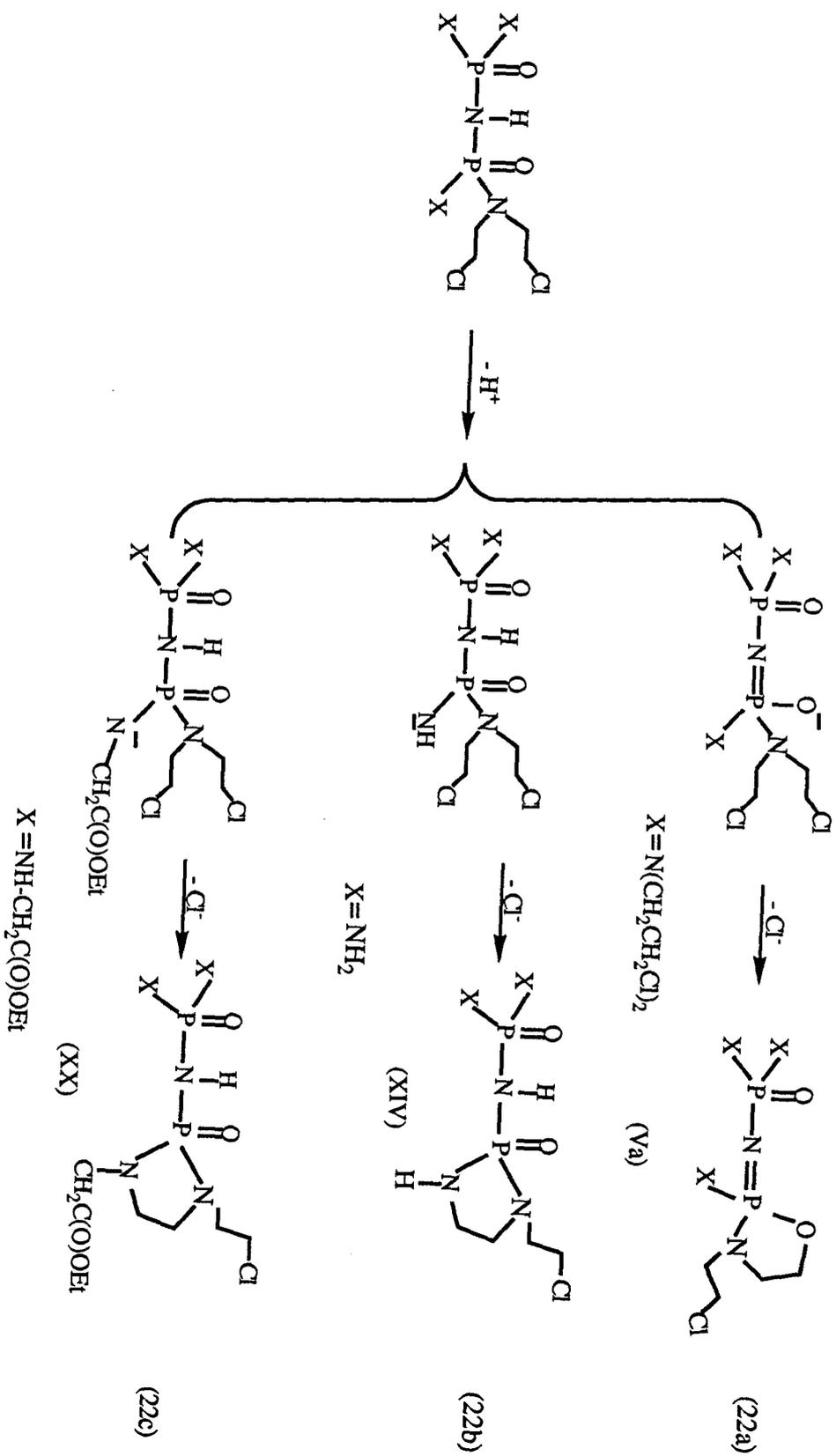


Fig 43 : Spectres de masse (a) et Infrarouge (b) du mélange (XI, XX)



Etant donné l'un des objectifs poursuivis ; la synthèse de composés possédant une éventuelle activité antitumorale ; la remarque essentielle découlant de ces réactions de cosubstitution de (I) ainsi que la transformation de (V) en (Va) évoquée précédemment (chapitre 1) concerne la perte du caractère bifonctionnel du groupement chloroéthylamine fixé selon (22 a,b et c).

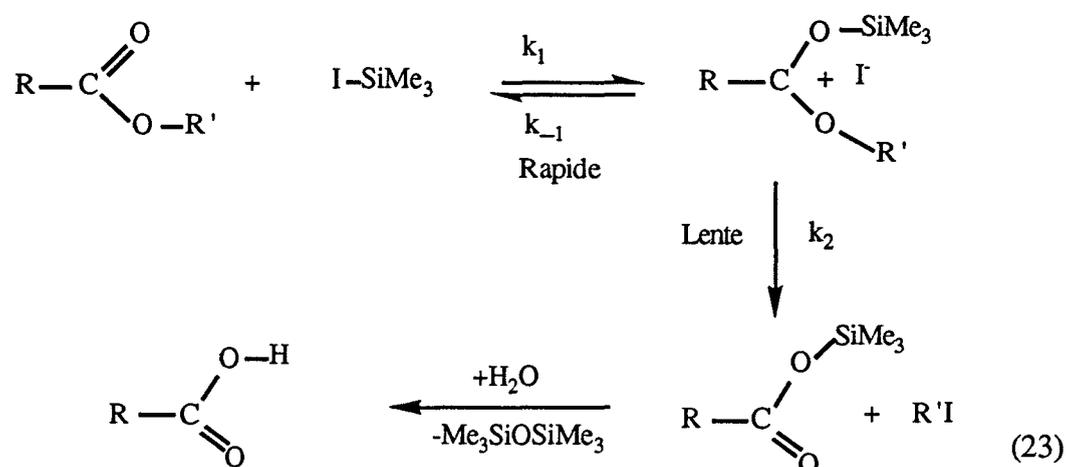


Bibliographie:

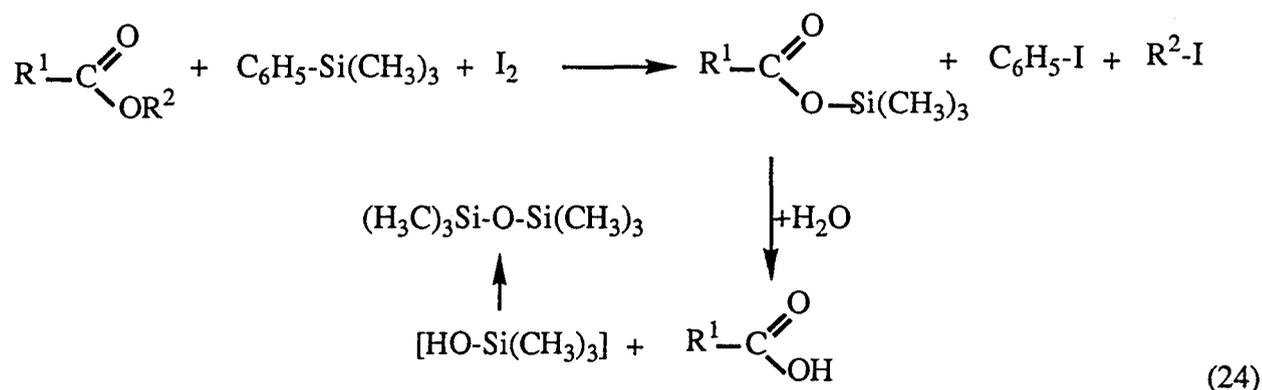
- 1) H.R.Allcock, T.J.Fuller, D.P Mack, K.Matsumura, K.M.Smeltz ; *Macromolecules* ; 10 N° 4, 824.- 830(1977).
- 2) L.Riesel, H.H.Patzmann, H.P.Bartich ; *Z anorg. allg chem* ; 404, 219.- 224(1974).
- 3) A Manenc Thèse . Lille (Octobre 1991).
- 4) A.Kilic, Z.Kilic, R.Shaw ; *Phosphorus, Sulfur and Silicon* ; 56 , 157-164 (1991).
- 5) G.Bulloch, R.Keat; *Inorganica Chimica Acta* 33 , 245-248(1979) .
- 6) A.Mazzah ; Thèse, Lille (juin 1987).
- 7) A.A.Smaardijk, B.de Ruiten, A.A.van der Huizen, J.C. van de Grampel ; *Journal of the Royal Netherlands Chemical society*; 101, 270-271(1982).
- 8) V.L.Riesel, A.Claussnitzer, B.Thomas ; *Z . Anorg. Allg. Chem.* 437, 269-274(1977).
- 9) A.Ouassini, R.De Jaeger, S.Hilali, C.Fournier, B.Hecquet ; *Eur. J. Chem* ; 23 , 347-352(1988).
- 10) A.John, B.Thomas, A.Pfutzner, G.Grossmann ; *Z . Anorg. Allg. Chem.* 511, 7-18(1984).
- 11) G Hägele, R.K Harris Mohamed I.M. Wazeer, R.Keat ; *J.C.S Dalton* ,1985 -1989(1974).
- 12) Y.Hammoutou, communication personnelle.
- 13) S.Bauermeister, A.M.Modro, T.A.Modro, A.Zwierzak ; *Can. J.Chem.*, 69 , 811-816(1991).

CHAPITRE 3

**ESSAIS DE FONCTIONNALISATION DU
DI(DI(ETHYLGLYCINO)PHOSPHORYL)IMIDE
HN(PO(NHCH₂COOEt)₂)₂**



Etant donné la difficulté associée à l'utilisation directe de ISiMe_3 nous avons d'abord testé un mélange phenyltriméthylsilane/iode⁴⁻⁶ qui donne des bons résultats pour la desalkylation des esters. La réaction est alors la suivante (24):



Cependant, la température nécessaire pour rélaiser (24) (110°C), entraîne dans notre cas une fois encore la dégradation du motif phosphazane.

L'utilisation de l'iodotriméthylsilane restait donc l'unique solution.

II.1. Mode opératoire

Dans un réacteur est introduite une solution de 2,3g de (XI) (4,4mmoles) dans CHCl_3 (50ml). A cette solution on ajoute goutte à goutte à température ambiante une solution de 2,6ml de

ISiMe₃ (18,2mmoles) dans CHCl₃ (150ml). Le montage utilisé est identique à celui des réactions du chapitre(I).

Le mélange réactionnel est ensuite chauffé à une température moyenne de 55°C . Un précipité se forme progressivement au cours de la réaction.

Des prélèvements ont été effectués à différents temps de réaction puis analysés par RMN du ³¹P.

Le tableau (11) suivant résume les résultats obtenus.

Prélèvement	Temps de réaction (min)	Caractérisation RMN du ³¹ P
1	0	Singulet à $\delta=+ 13\text{ppm}$
2	20	Singulet à $\delta=+ 8\text{ppm}$
3	720	Singulet à $\delta=+7,2\text{ppm}$
4	2400	Singulet à $\delta=+ 7,2\text{ppm}$

Tableau (11)

Après 40 heures le mélange réactionnel est filtré pour éliminer le solide (S1) formé et récupérer la phase soluble dans CHCl₃ (P1). Cette dernière, qui après évaporation du CHCl₃ se présente sous la forme d'une gomme (4,3g), ainsi que la phase solide (S1) ont été caractérisées par RMN des noyaux ³¹P, ¹H, ¹³C et par spectroscopie IR.

II.2. Caractérisation de la phase soluble P1

- RMN du ³¹P

Le spectre de P1 dans CHCl₃ présente un singulet unique à $\delta =+7,2\text{ppm}$. (Fig 44b₁)

Par couplage hétéronucléaire phosphore-proton le singulet s'élargit. (Fig 44b₂)

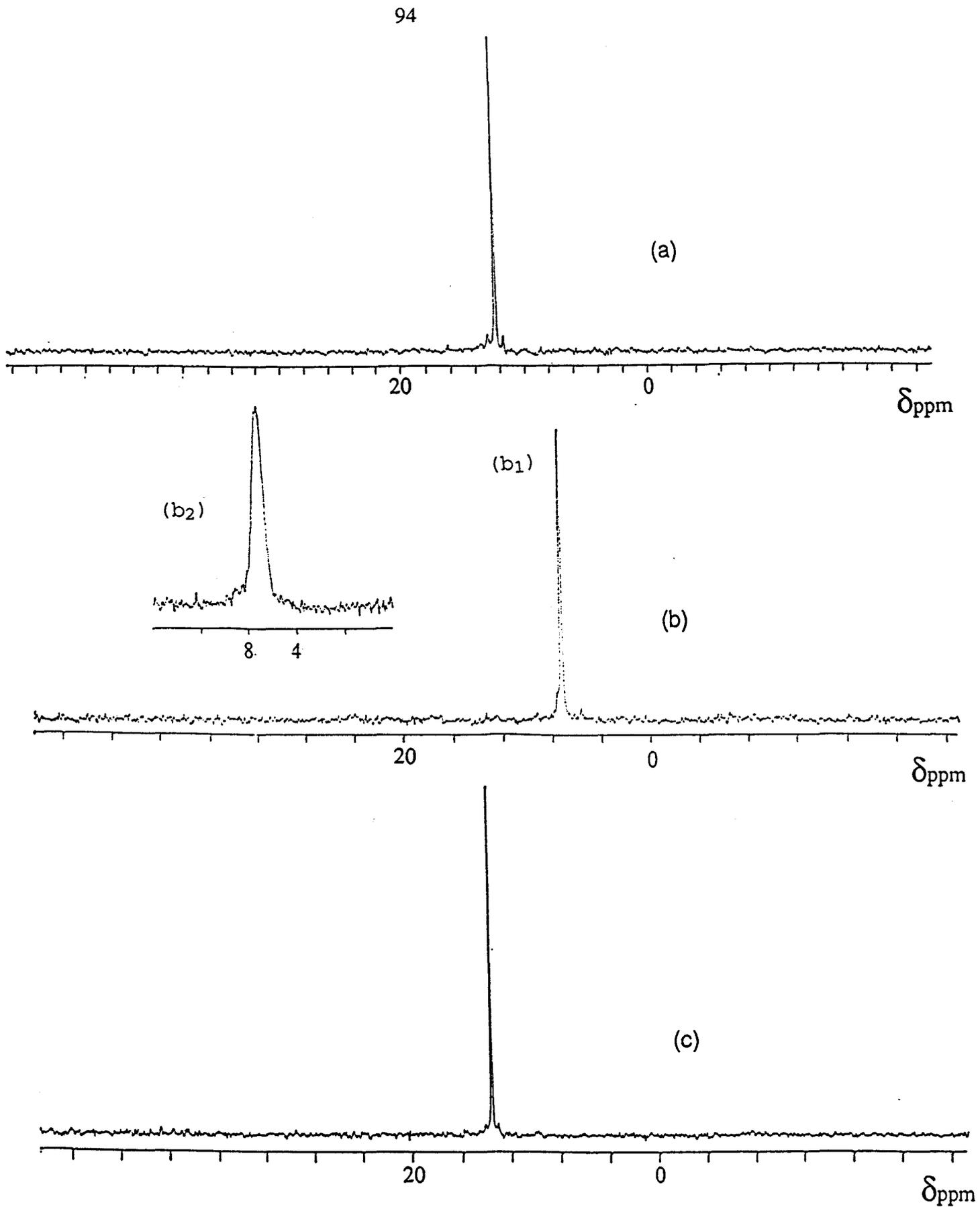


Fig 44: Spectres RMN du ^{31}P dans CHCl_3 :

- a) (XI).
- b) (XI) + ISiMe_3 (b₁) découplé et (b₂) couplé.
- c) (XI) + ISiMe_3 + H_2O .

- RMN du ^1H

Le spectre d'une solution de (P1) dans CDCl_3 est représenté (fig 45b). Il fait apparaître les signaux reportés dans le tableau (12).

Les attributions sont faites par analogie avec le spectre de (XI) (fig 45a).

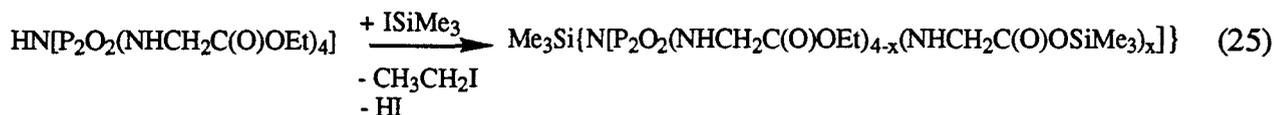
$\delta(\text{ppm})$	Multiplicité	Attribution
0	Singulet	-O-SiMe ₃
0,4	singulet	{ >N }SiMe ₃
1,2	triplet (J=7,4Hz)	CH ₃ -CH ₂ -O-
3,4 - 4,4	multiplet + quadruplet (J=7,2Hz)	P-NH-P , CH ₃ -CH ₂ -O-
6,3	signal large	>P(O)NH-CH ₂

Tableau 12

Nous avons vérifié par la méthode des ajouts qu'aucun des deux singulets ($\delta=0$ et 0,4ppm) ne correspond au réactif Me_3SiI .

Le fait important à remarquer est la présence du signal à $\delta=0,4\text{ppm}$ représentatif du groupement $\text{>N}\text{SiMe}_3$. On le trouve à $\delta=0,48\text{ppm}$ dans le composé $\text{Me}_3\text{Si}\{\text{N}(\text{POCl}_2)_2\}$.⁷

En se basant sur les intégrations des signaux représentatifs des groupements N-SiMe₃, O-SiMe₃ et -CH₃, on peut calculer que l'on forme environ 0,8 motif O-SiMe₃ et 1 motif {>N}SiMe₃ par mole de (XI). Ce résultat est en accord avec la formation d'un composé de formule globale $\text{Me}_3\text{Si}\{\text{N}[\text{P}_2(\text{O})_2(\text{NHCH}_2\text{COOEt})_{3,2}(\text{NHCH}_2\text{COOSiMe}_3)_{0,8}]\}$ (XXI) et la réaction (25)



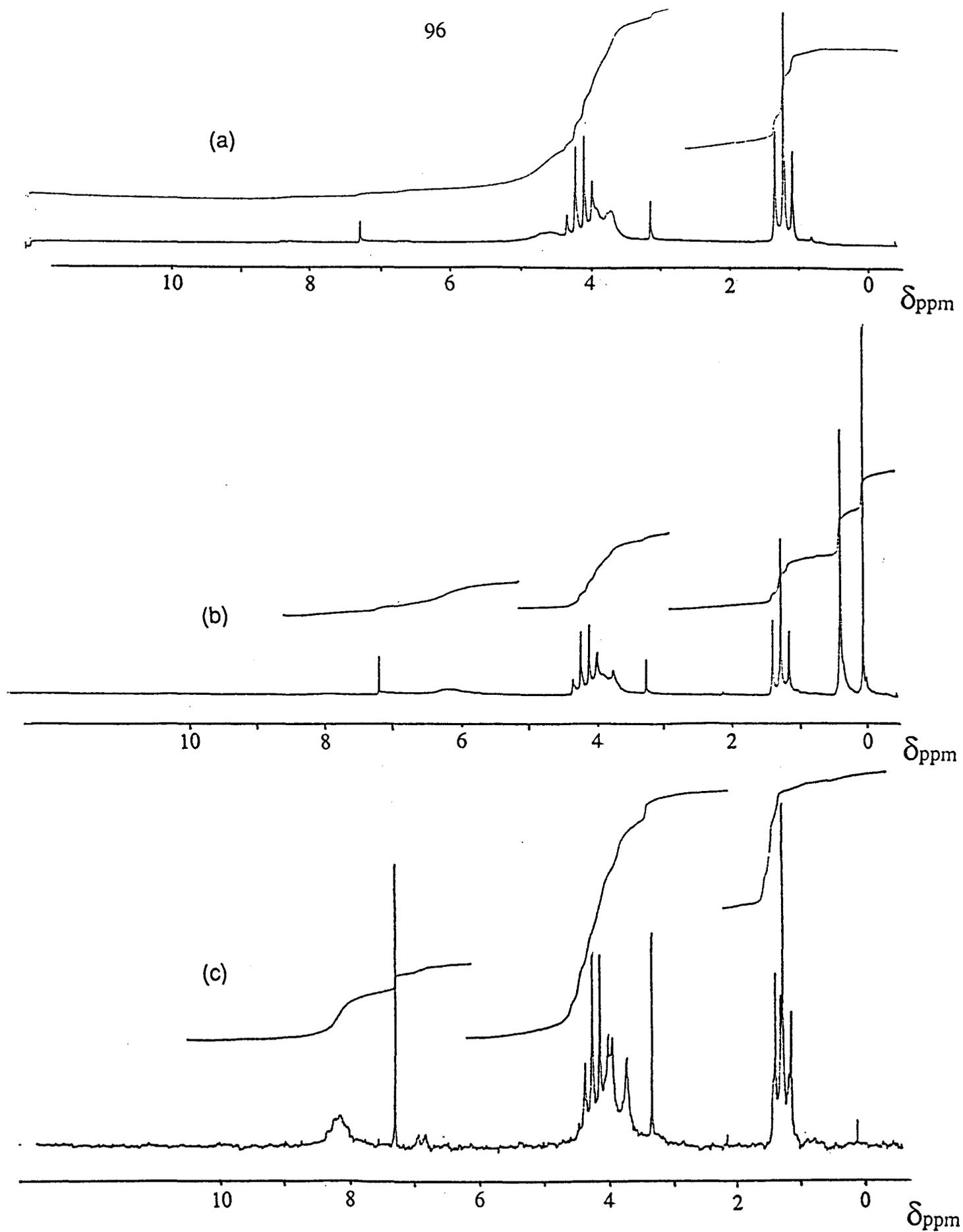


Fig 45: Spectres RMN du ^1H dans CDCl_3 :

- a) (XI) .
- b) (XI) + ISiMe_3 .
- c) (XI) + ISiMe_3 + H_2O .

Le passage de la forme protonée $>P(O)-NH-(O)P<$ à la forme O-triméthylsilyl $\{>P(O)-N-(O)P<\}SiMe_3$ est confirmé par l'existence d'un singulet unique en RMN du ^{31}P , dont le déplacement chimique passe de $\delta=+12ppm$ dans (XI) à $\delta=+7,2ppm$ dans (XXI).

Un tel glissement vers les champs forts se retrouve pour le passage de $HN(POCl_2)_2$ ($\delta=+0,5ppm$) à $Me_3Si\{N(POCl_2)_2\}$ ($\delta=-6,2ppm$).⁷

- RMN du ^{13}C

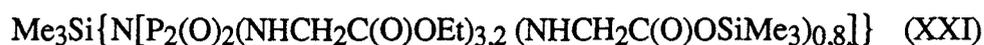
Le spectre RMN du ^{13}C (fig 46b) présente en dehors des signaux représentatifs de (XI) (fig 46a) le singulet à $\delta=1,3ppm$ attribuable aux atomes de carbone présents dans le groupement $-SiMe_3$.

- Spectroscopie Infrarouge.

Le spectre infrarouge de (P1) est représenté (fig 47b).

Si on le compare à celui de (XI), (fig 47a) on peut noter l'apparition de bandes d'absorption à $\nu=1257,5 - 854,4$ et $761,8\text{ cm}^{-1}$. Elles sont représentatives respectivement des vibrations de déformation symétrique δ_s (C-H) dans $Si-CH_3$ ($1257,5\text{ cm}^{-1}$) et d'élongation $Si-C$ ($854,4$ et $761,8\text{ cm}^{-1}$). De plus on constate la présence d'une bande intense à 1067 cm^{-1} attribuable à l'élongation $Si-O$. Celle ci disparaît par simple contact avec l'air ambiant.

A (P1) correspond donc le dérivé (XI) partiellement silylé soit (XXI):

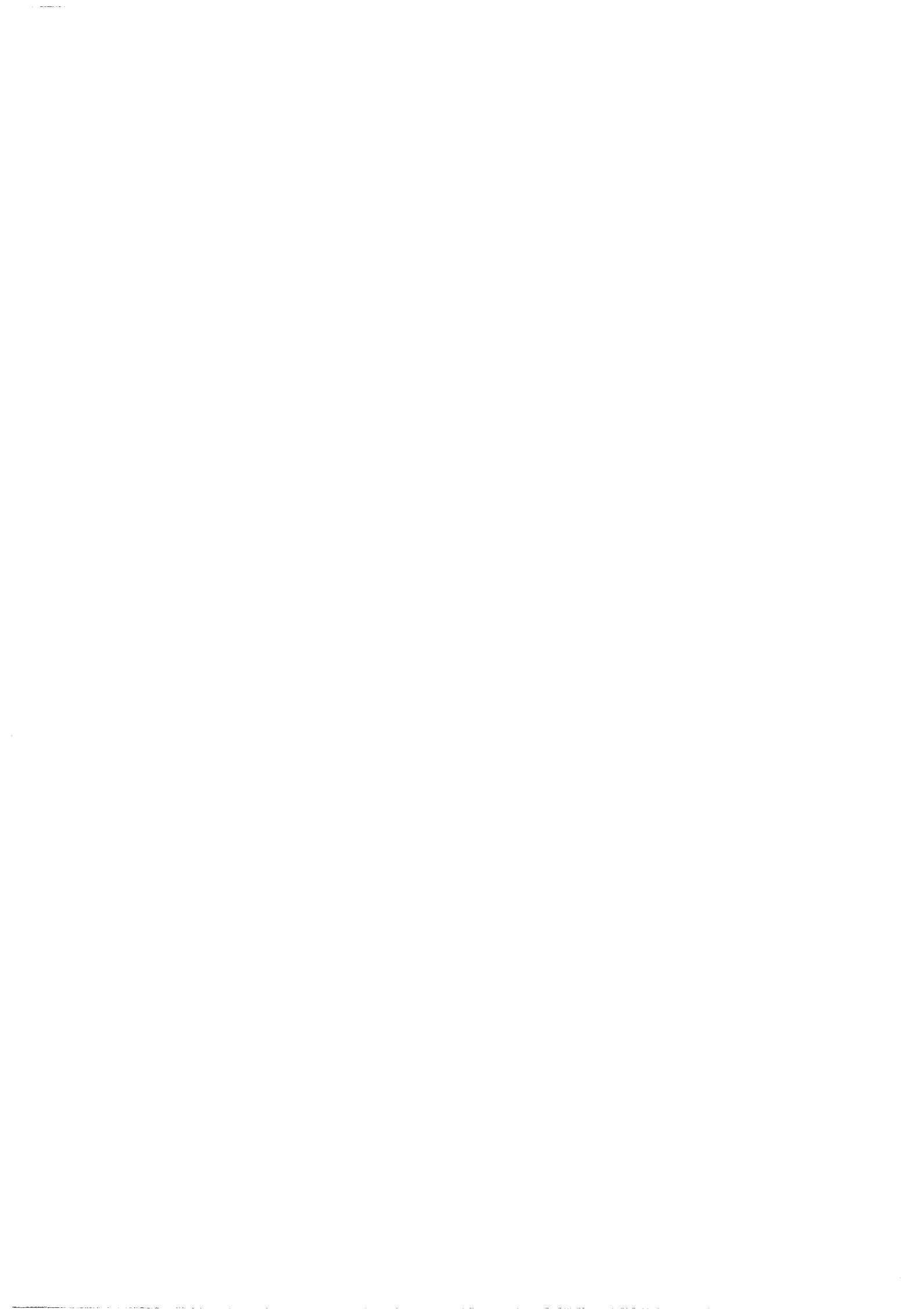


La caractérisation de la phase solide (S1) sera évoquée plus loin.

II) Réaction d'hydrolyse de (P1).

II.1. Mode opératoire

Le composé (P1) est remis en solution dans $CHCl_3$ puis additionné de 1,3ml d'eau distillée. Après une nuit d'agitation, puis évaporation du solvant et séchage sous vide statique en



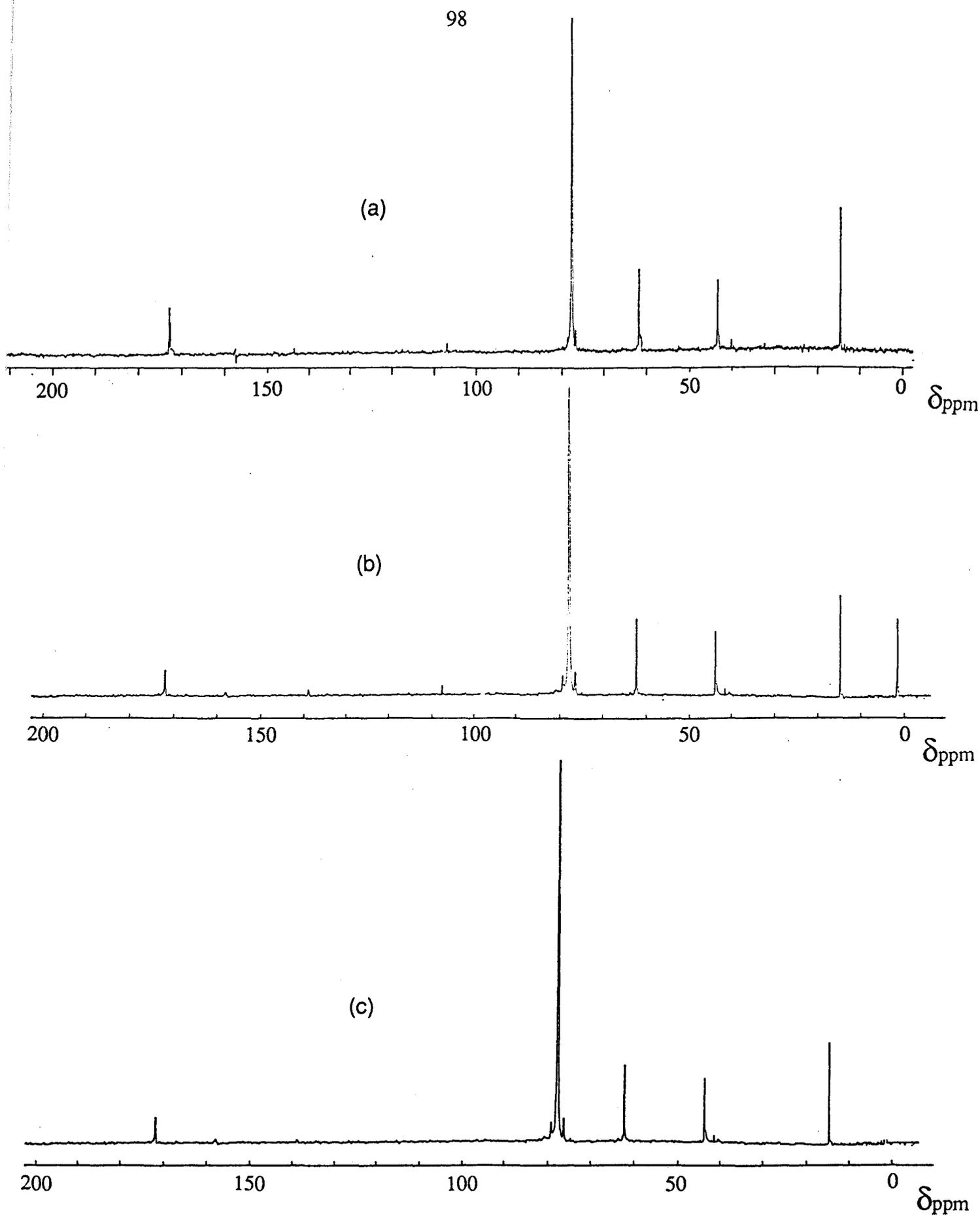


Fig 46: Spectres RMN du ^{13}C dans $CHCl_3$:
a) (XI)
b) (XI) + $ISiMe_3$.
c) (XI) + $ISiMe_3$ + H_2O .



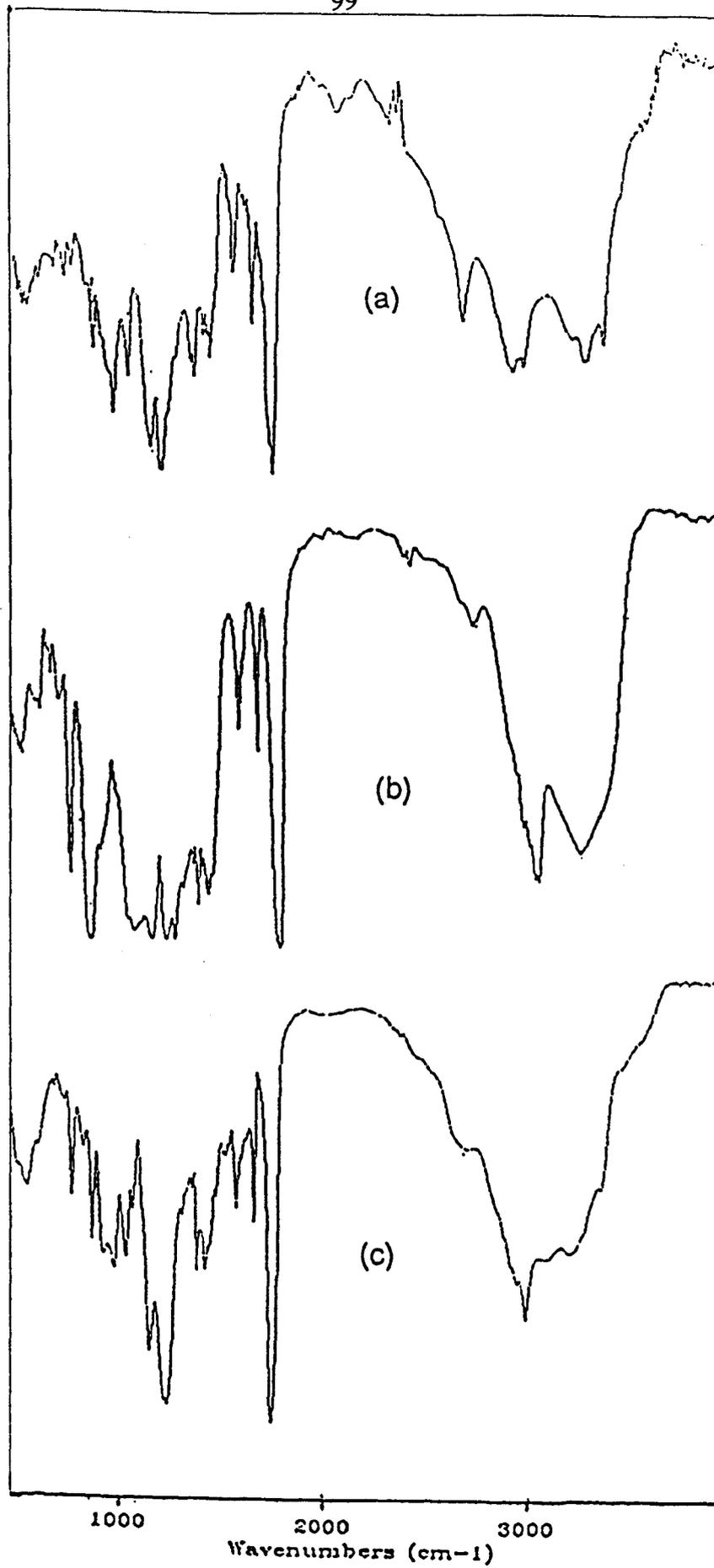


Fig 47: Spectres Infrarouges :

a) (XI)

b) (XI) + ISiMe₃.

c) (XI) + ISiMe₃ + H₂O.

présence d'anhydride phosphorique, le produit obtenu n'est plus totalement soluble dans CHCl_3 , d'où la nécessité d'une filtration supplémentaire pour éliminer la phase insoluble (S2).

La masse de la partie soluble dans CHCl_3 (P2) est de l'ordre de 2,1g.

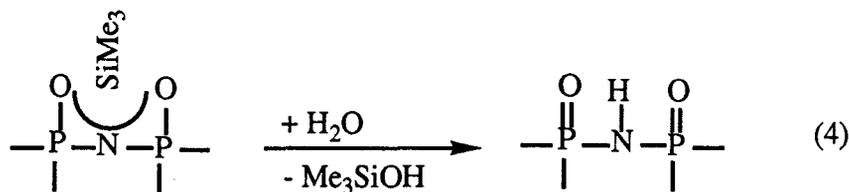
Ces deux phases (S2 et P2) ont été caractérisées par RMN (^{31}P , ^1H et ^{13}C) et IR.

II.2. Caractérisation de la phase soluble (P2).

- RMN du ^{31}P

Le spectre RMN du ^{31}P de (P2) dans CHCl_3 présente un singulet unique à $\delta=+13,6\text{ppm}$. (Fig 44c).

Nous retrouvons donc le signal observé dans le cas de (XI) (fig 44a) ce qui est en accord avec un retour à la forme protonée selon (26)



- RMN du ^1H

La comparaison du spectre RMN du ^1H de (P2) (fig 45c) avec celui de (P1) (fig 45b) permet les remarques suivantes:

- On note la disparition des signaux précédemment attribués aux groupements $-\text{OSiMe}_3$ et $\{>\text{N}\}\text{SiMe}_3$.
- L'apparition d'un triplet centré sur $\delta=1,3\text{ppm}$ (venant superposer à celui situé à $\delta=1,2\text{ppm}$ dans (XV), et présentant la même constante de couplage), et d'un signal large vers $\delta=8,2\text{ppm}$.

III) Caractérisation des solides (S1) et (S2).

Les deux solides (S1) et (S2) insolubles dans CHCl_3 , sont solubles dans H_2O et le DMSO. (S1) qui se forme lors de la réaction avec ISiMe_3 est très peu abondant, à l'inverse de (S2) qui se forme lors de l'hydrolyse.

De plus si l'on évapore la solution de (P1), le produit obtenu n'est plus totalement soluble dans CHCl_3 et la partie insoluble est identique à (S1).

Cela nous laisse penser, qu'étant donné l'extrême sensibilité du groupement SiMe_3 à l'hydrolyse, cette dernière est à l'origine de la formation de (S1) et (S2).

Ces solides ont été caractérisés par RMN du ^{31}P , ^1H et ^{13}C .

- RMN du ^{31}P

Les signaux des produits formés ($\delta=+3,3$ et $-7,4\text{ppm}$) sont les mêmes qu'il s'agisse de (S1) ou (S2) (fig 48a).

Par couplage hétéronucléaire Phosphore-Proton les signaux observés ne sont pas affectés, ce qui prouve l'absence de liaisons $>\text{P}(\text{O})\text{-NH-CH}_2\text{-}$.

- RMN du ^1H

Le spectre RMN du ^1H de (S1) dans D_2O fig (5b) est en tout point comparable à celui du glycinate d'éthyle et le signal représentatif du proton $\text{-NH-CH}_2\text{-}$ n'est effectivement pas couplé au phosphore.

Il en est de même dans le cas de (S2).

- RMN du ^{13}C

En RMN du ^{13}C (fig 48c) on met en évidence non seulement les signaux représentatifs du glycinate d'éthyle ($\delta=14,1$; $41,3$; $64,1$ et 170ppm) mais aussi ceux de la glycine $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ($\delta=41,6$ et $171,5\text{ppm}$).

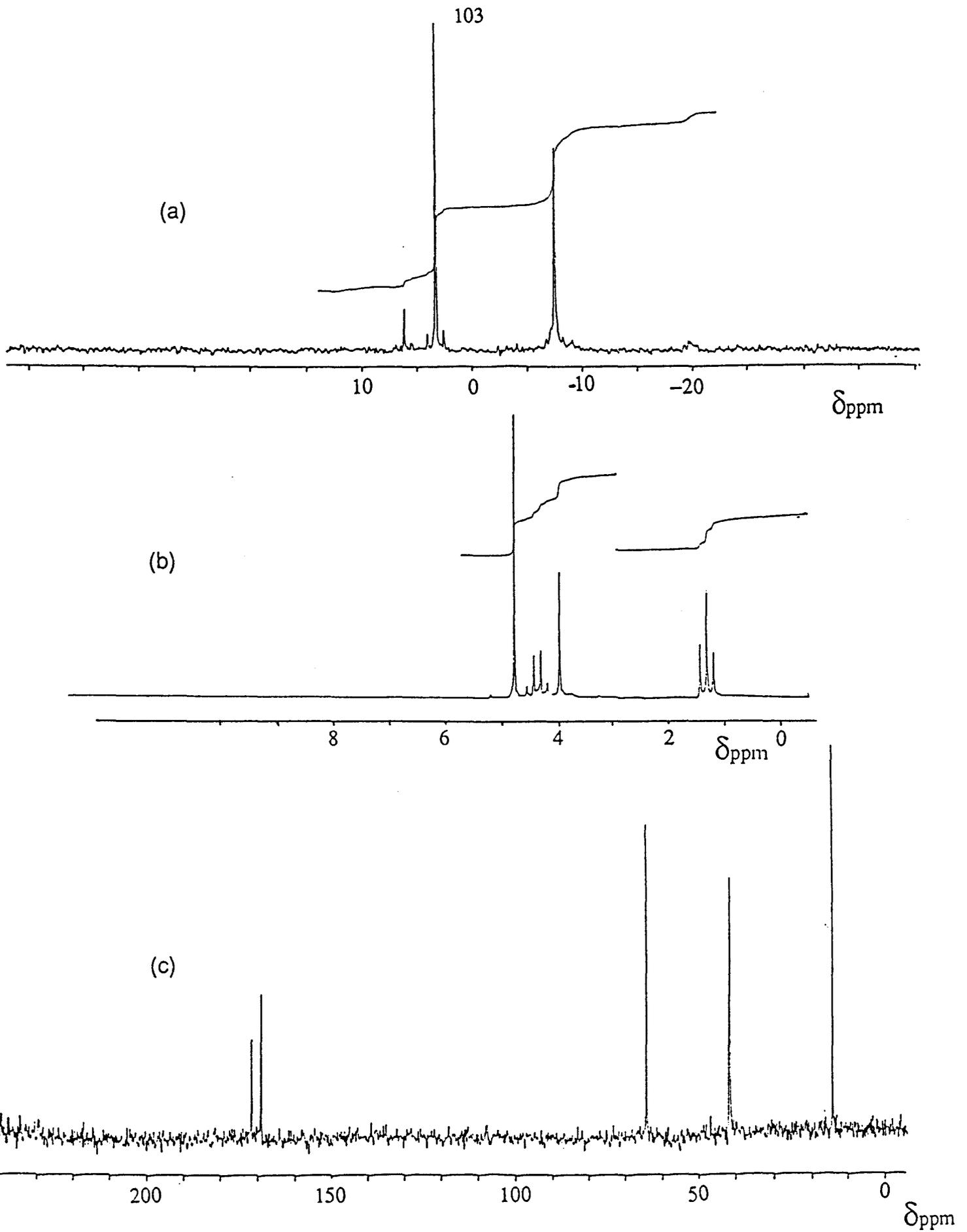


Fig 48: Spectres RMN de (S1)

a) ^{31}P (CHCl_3)

b) ^1H (D_2O)

c) ^{13}C (H_2O)

La formation de glycine n'est pas surprenante puisqu'il est connu que par hydrolyse les esters d'acides aminés peuvent libérer l'acide aminé correspondant.

En conclusion il est évident que l'introduction de fonctions acides carboxyliques dans (XI) pour donner $\text{HN}[\text{P}_2(\text{O})_2(\text{NHCH}_2\text{COOEt})_{4-x}(\text{NHCH}_2\text{COOH})_x]$ ($x=0,8$) (XXII) entraîne l'instabilité de ce dernier vis à vis de l'hydrolyse, qui se caractérise par la rupture du pont P-N-P et des liaisons P-N dans $>\text{P}(\text{O})\text{-NH-CH}_2\text{-}$. Cela ne nous a pas permis de réaliser le couplage avec le principe actif bCEA.

Cette instabilité constitue cependant l'un des buts recherchés si on considère l'éventuelle efficacité antitumorale des produits synthétisés.

Une solution permettant d'en tirer parti pourrait consister dans la réalisation d'une cosubstitution de (I) par la N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine et la sarcosine éthyl ester $\text{HN}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-C}(\text{O})\text{OEt}$ (ceci pour éviter les réactions de cyclisation rencontrées précédemment (chap II) qui sont responsables de la perte d'efficacité antitumorale (chap V)), suivie de la réaction de "silylation-hydrolyse" du produit ainsi formé.

Bibliographie.

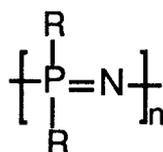
- 1) C.W.Grolleman, A.C. de Visser, J.G.C.Wolke, H.van der Goot, H.Timmerman ; Journal of Controlled Release, 3, 143-154(1986).
- 2) T.L.Ho, G.A.Olah ; Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 15, 774(1976).
Angew. Chem., 88, 847(1976).
- 3) M.E.Jung, M.A.Lyster ; J.A.C.S., 99, 968(1977).
- 4) R.A.Benkeser, E.C.Mozdzen, C.L.Muth ; J.Org.Chem., 44, N°13, 2185(1979).
- 5) T.L.Ho, G.A.Olah ; Synthesis, 417(1977).
- 6) T.L.Ho, G.A.Olah ; Proc.Nat.Acad.sci. U.S.A , 75, 4(1978).
- 7) A.Mazzah, H.J.Gosink, J.Lieberman, H.Roesky ; Chem.Ber; 124 , 753-756(1991).

CHAPITRE 4

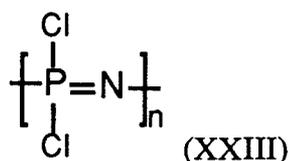
**REACTIONS DU POLY(DICHLOROPHOSPHAZENE) AVEC LA
GLYCINE ETHYL ESTER, LA DIETHYLAMINE ET
LA N, N-bis(CHLORO-2 ETHYL)AMINE.**

I) Introduction

Ces dernières années, une nouvelle classe de polymères, dont le squelette est formé d'une alternance d'atomes de phosphore et d'azote, a connu un important développement. Il s'agit des poly(organo-phosphazènes) auxquels correspond la structure générale



La synthèse de ces polymères repose sur celle du précurseur chloré correspondant c'est à dire le poly(dichlorophosphazène) (XXIII)



En effet la réactivité des atomes de chlore dans (XXIII), permet d'effectuer de nombreuses réactions de substitution, et l'étendue de la gamme des substituants utilisables rend possible la synthèse d'un très grand nombre de matériaux aux propriétés différentes, d'où un large champ d'applications potentielles (fig 49)

Les propriétés physiques de ces polymères dépendent de la nature des substituants. C'est ainsi qu'ils peuvent être hydrophiles ou hydrosolubles, conducteurs ou isolants, photodégradables ou photorésistants, biologiquement actifs ou inertes ...etc.

Une propriété est cependant commune à toute cette famille de composés; la flexibilité de la chaîne qui est constituée d'une alternance de simples et doubles liaisons non conjuguées entre elles.^{1,2}

La faible énergie de rotation autour de la liaison P-N, (3,38 et 21,8KJmol⁻¹) respectivement pour un poly(ditri-fluoroéthoxyphosphazène) et un poly(diphénoxyphosphazène)³ est à l'origine de structures possédant un grand degré de liberté, et présentant de basses températures de transition vitreuse.

Il est par ailleurs possible de combiner plusieurs de ces propriétés en mixant les substituants. Il en résulte des applications dans des domaines très différents tels:

- Revêtements étanches à propriétés modulables ⁴ (adhésion, résistance aux agents chimiques ou atmosphériques).
- Elastomères thermostables oléocompatibles et flexibles à basse température.
- Retardateurs de flamme en additifs ou en copolymères.⁵
- Matériaux à usage chirurgical (pompes cardiaques, prothèses biodégradables ...).
- Matériaux à usage médical ⁶⁻¹⁰: vecteurs hydrosolubles de médicaments, produits antimittotiques ...)

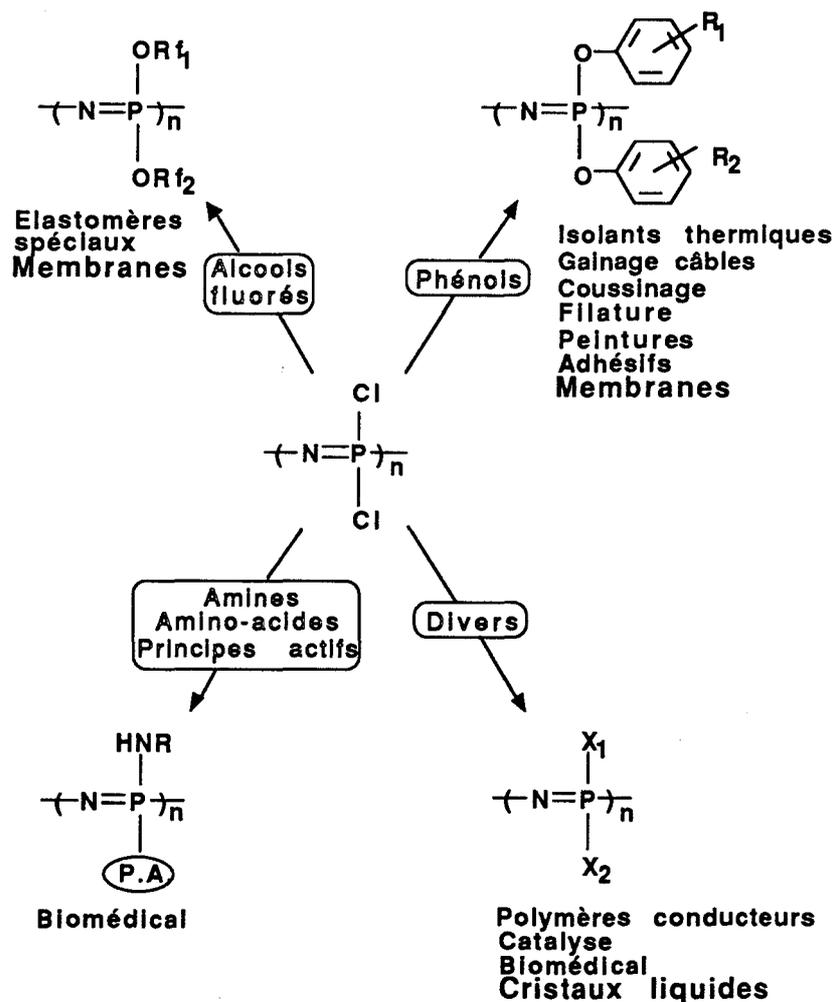


Fig 49



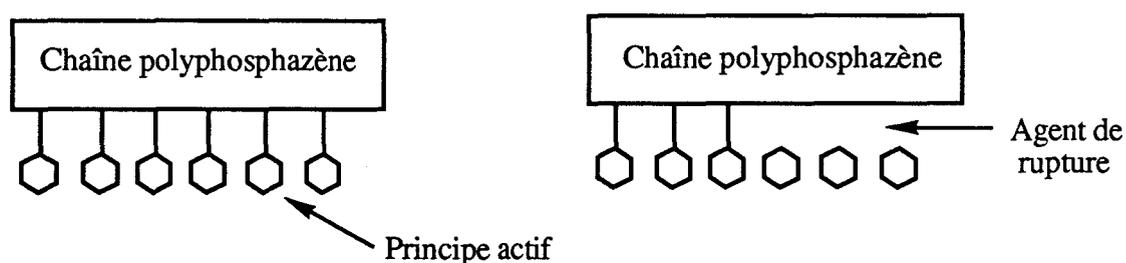
Cette liste n'est pas exhaustive, toutefois les applications qui ont été exploitées jusqu'à présent ne concernent que les domaines militaire ou spatial ¹⁰⁻¹³, ceci en raison de la technologie très délicate et du coût de fabrication élevé du poly(dichlorophosphazène).

Une nouvelle méthode de préparation de ce dernier, plus simple et moins coûteuse qui est décrite en annexe, ayant été mise au point au laboratoire,¹⁴ nous avons voulu en tirer parti, dans le cadre de la synthèse d'un polymère porteur du principe actif N,N-bis(chloro-2ethyl)amine (bCEA).

Objectif de l'étude et Rappel bibliographique.

Si à ce jour, un grand nombre de poly(organophosphazènes) ont été préparés, relativement peu concernent le domaine biomédical, et en particulier celui des polymères utilisables en tant que vecteurs de médicaments.

Notre objectif était donc la réalisation d'un système dans lequel le principe actif serait fixé sur une chaîne polyphosphazène, dans le but de le libérer par la suite progressivement en utilisant une réaction chimique en l'occurrence une réaction d'hydrolyse:



Le principe actif peut être lié au polyphosphazène soit directement, soit par l'intermédiaire d'un agent de liaison.

Par ailleurs le polymère peut être soluble ou insoluble, les polymères insolubles étant utilisés pour une libération lente du principe actif. (La nature de l'agent de liaison pouvant affecter cette vitesse de libération.)

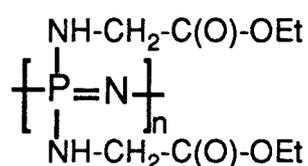
Pour que la vitesse de libération du principe actif soit constante il faut que la vitesse de diffusion de l'eau dans le système polymérique, ainsi que celle du principe actif hors de ce dernier, soient rapides devant la réaction de rupture (29)



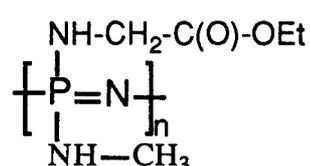
Les avantages d'un tel système, résident dans le fait que le principe actif peut représenter plus de 80% en poids du système ⁶, (alors que dans les autres cas où le polymère est utilisé en tant que matrice 70 à 90% du poids correspondent à ce dernier), et qu'il est possible de réguler la vitesse de rupture en jouant sur la nature du squelette polymérique, ainsi que sur celle de l'agent de liaison .

Or nous avons signalé précédemment que lors de la réaction de substitution du polymère chloré, un choix judicieux des substituants permettait de préparer des matériaux aux propriétés bien déterminées. C'est la raison pour laquelle quelques auteurs ont étudié les réactions de $[\text{NPCI}_2]_n$ avec les amines dans le but d'obtenir des polymères biocompatibles et biodégradables. ^{6,8}

Il a ainsi été montré qu'il était possible de synthétiser le poly[bis(ethylglycino)phosphazène] (XXIV) ou le polymère mixte poly[(ethylglycino)(methylamino)phosphazène] (XXV).⁸ (L'introduction du groupement méthylamine ayant pour but de rendre le polymère hydrosoluble.)

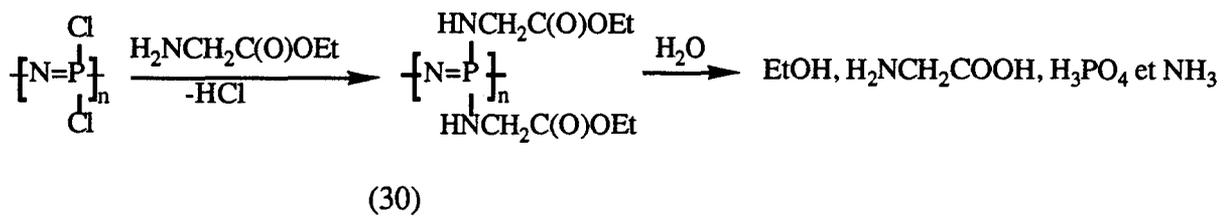


(XXIV)



(XXV)

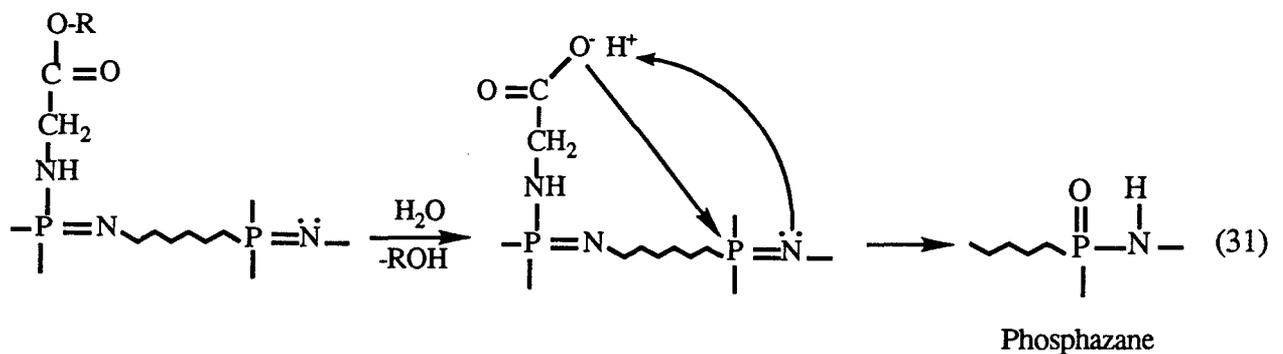
L'intérêt de tels polymères repose sur leurs réactions d'hydrolyse qui conduisent en fin de compte à des produits non toxiques tels phosphate - acide aminé - éthanol et ammoniac dans le cas de poly[bis(ethylglycino)phosphazène] selon (30).⁸



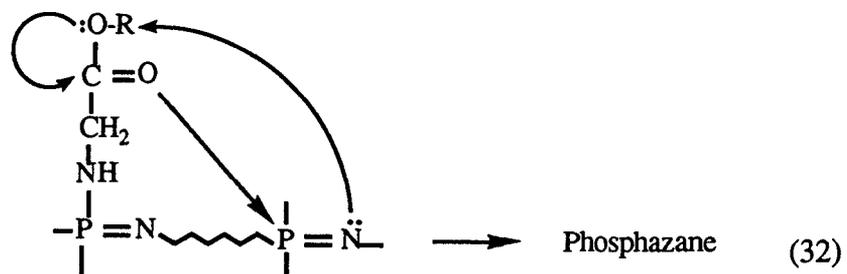
(Ethanol, acide aminé et phosphate peuvent être métabolisés, et l'ammoniac excrété)

Dans ce dernier cas trois mécanismes sont possibles pour expliquer cette hydrolyse qui est complexe et qui dépend beaucoup du pH.⁸

Le premier fait intervenir l'hydrolyse de la fonction ester du groupement Ethylglycino suivie de l'attaque de la fonction acide formée sur un motif -P=N- de la chaîne selon (31). Il en résulte la formation de fonctions phosphazanes lesquelles étant instables dans l'eau conduisent à une dégradation du polymère.

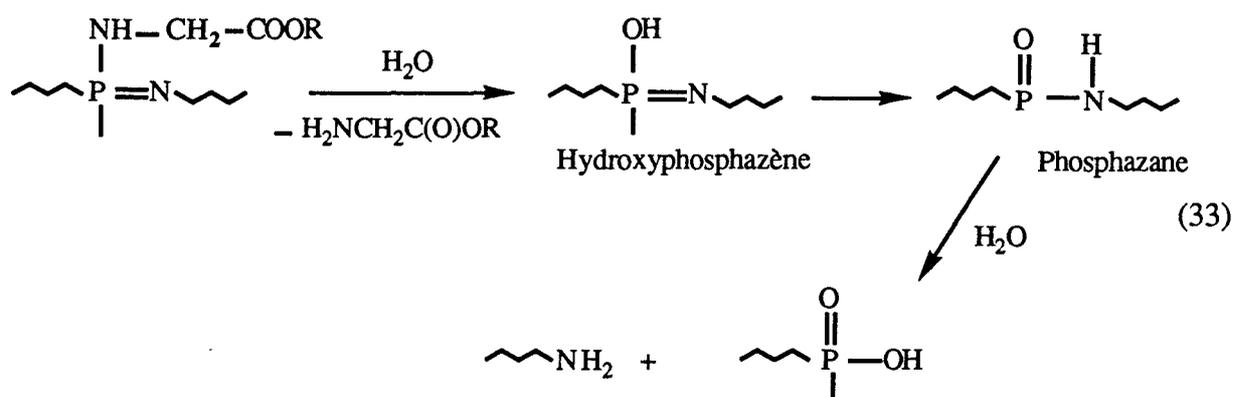


Le second fait intervenir un réarrangement interne selon (32) également à l'origine de la formation de motifs phosphazanes instables.





Le troisième enfin fait intervenir une coupure au niveau de la liaison Phosphore-Azote du substituant d'où la formation d'un hydroxyphosphazène qui ensuite se réarrange en oxyphosphazane par migration du proton sur l'atome d'azote de la chaîne polymère selon (33).



Dans tous les cas la réaction d'hydrolyse conduit donc à la formation de liaisons de type phosphazane instables et donc à une dégradation de la chaîne polymère.

Les résultats de tests de biocompatibilité réalisés sur le polymère (XXIV) (Annexe p: 158) que nous avons synthétisé (paragraphe suivant) s'étant avérés prometteurs, nous avons envisagé la préparation d'un copolymère porteur de groupements éthylglycino et N,N-bis(chloro-2éthyl)amine $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$.

Afin de pouvoir caractériser cet éventuel composé il était nécessaire dans un premier temps de préparer le composé (XXIV) et d'étudier le comportement du poly(dichlorophosphazène) vis à vis des amines secondaires.

II) Synthèse et caractérisation du poly[bis(éthylglycino)phosphazène] :



II.1. Synthèse.

A une solution de poly(dichlorophosphazène) $(\text{NCl}_2)_n$ (0,046 moles) dans 400ml de benzène maintenue à 5°C est ajoutée une solution de glycinate d'éthyle (0,28 moles) dans 400ml de



benzène (préparée selon la méthode décrite dans le deuxième chapitre). Le mélange est maintenu à cette température pendant 6 heures puis 10 heures à température ambiante.

Le montage est le même que celui utilisé dans le cas des synthèses décrites dans le premier chapitre.

Le mélange réactionnel est ensuite filtré et le solvant évaporé sous vide. Le produit huileux obtenu est remis en solution dans le THF puis précipité dans l'eau.

On obtient alors une gomme qui est séchée sous pression réduite en présence d'anhydride phosphorique pendant une semaine puis caractérisé par RMN (^{31}P , ^{13}C , ^1H), IR et analyse élémentaire. Le polymère obtenu est soluble dans le benzène, le chloroforme et le tétrahydrofurane, il est insoluble dans l'eau.

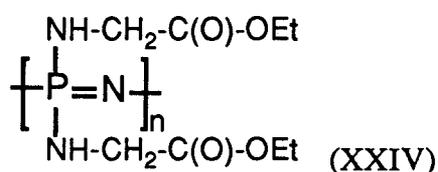
II.2.. Caractérisation

- RMN du ^{31}P

Une solution chloroformique de ce polymère présente un signal unique à $\delta=+4,2\text{ppm}$ (fig 50a).

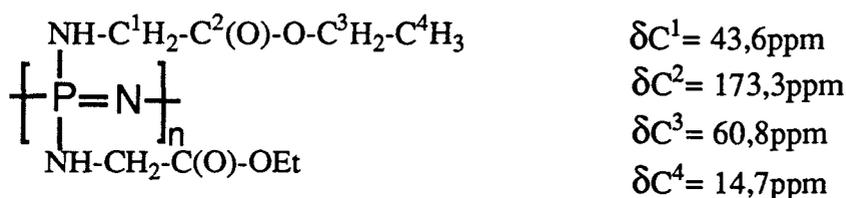
Ce singulet s'élargit par couplage hétéronucléaire phosphore-proton. (fig 50b).

Le fait de n'avoir qu'un singulet est en accord avec une substitution totale des atomes de chlore par la glycine éthyl ester, donc avec une structure type (XXI) :



- RMN du ^{13}C :

Le spectre du composé (XXIV) dans CHCl_3 est représenté (fig 50c). Il laisse apparaître quatre signaux (en dehors du signal représentatif du solvant) à $\delta_1=173,3\text{ppm}$, $\delta_2=60,8\text{ppm}$, $\delta_3=43,6\text{ppm}$, $\delta_4=14,7\text{ppm}$. Par comparaison avec le spectre RMN du ^{13}C de la glycine éthyl ester (annexe p 157) nous proposons les attributions suivantes:



Nous pouvons remarquer ici l'absence du couplage ${}^3\text{J}_{\text{PNCC}}$ observé dans le cas du composé (XI) (chapitre II).

- RMN du ${}^1\text{H}$

Une solution de (XXIV) dans CDCl_3 présente (fig 50d):

- un triplet à $\delta = 1,2\text{ppm}$, auquel correspond une constante du couplage $J = 7,1\text{Hz}$. Il est attribué aux protons du groupement méthyle.
- un signal large à $\delta = 3,7\text{ppm}$ attribué à la fois aux protons portés par l'azote et ceux sous forme méthylène dans $-\text{N}=\text{P}-\text{NH}-\text{CH}_2-$
- un quadruplet à $\delta = 4,1\text{ppm}$ ($J = 7,1\text{Hz}$) attribuable au reste des protons à savoir $(-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3)$.

- Analyse élémentaire

La microanalyse a donné les résultats suivants

Elément	C	P	N	H
% Théorique	38,55	12,44	16,86	06,42
% Trouvé	38,80	10,44	15,10	06,25

Nous remarquons que les résultats expérimentaux sont proches de ceux théoriques, le calcul de ces derniers étant basé sur la substitution totale des atomes de chlore dans $-\text{[NPCl}_2\text{]}_n-$.

Dans certains cas on note la présence de chlore résiduel (leur taux pouvant atteindre 3%).

Cette présence peut être attribuée à une substitution incomplète, à la présence de HCl lié sous forme de sel au substituant basique ou plus vraisemblablement aux atomes d'azote du squelette. Beaucoup de poly(aminophosphazènes) sont des bases fortes qui libèrent le HCl formé lors de leurs synthèses avec difficulté.⁸

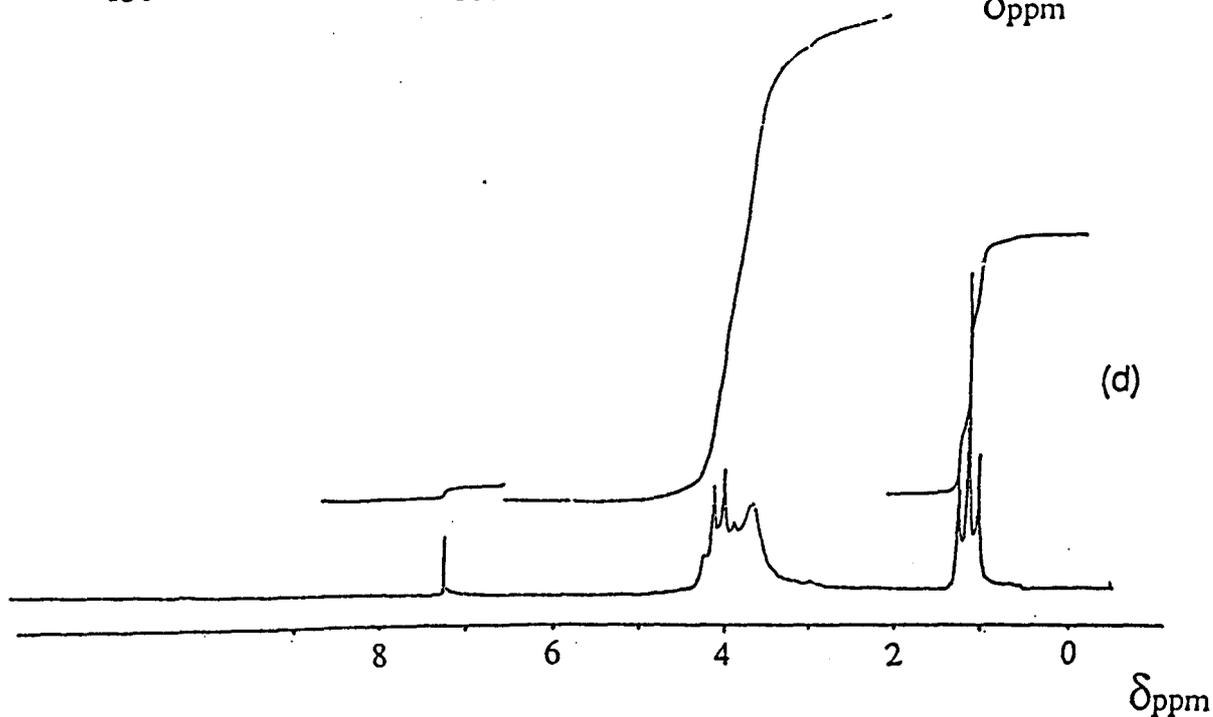
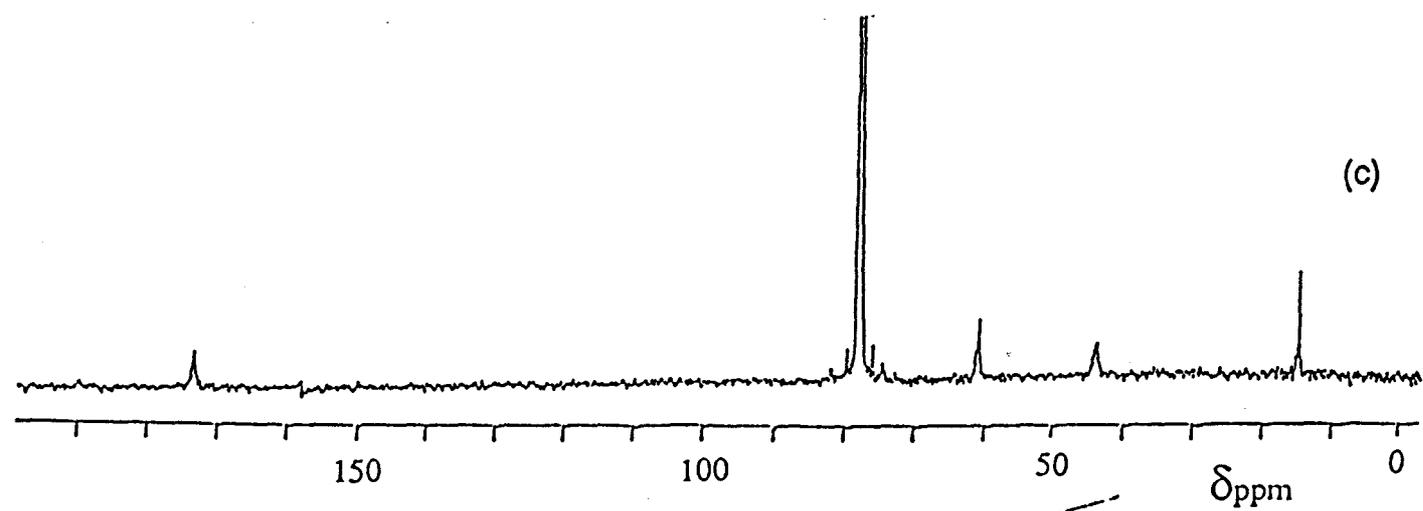
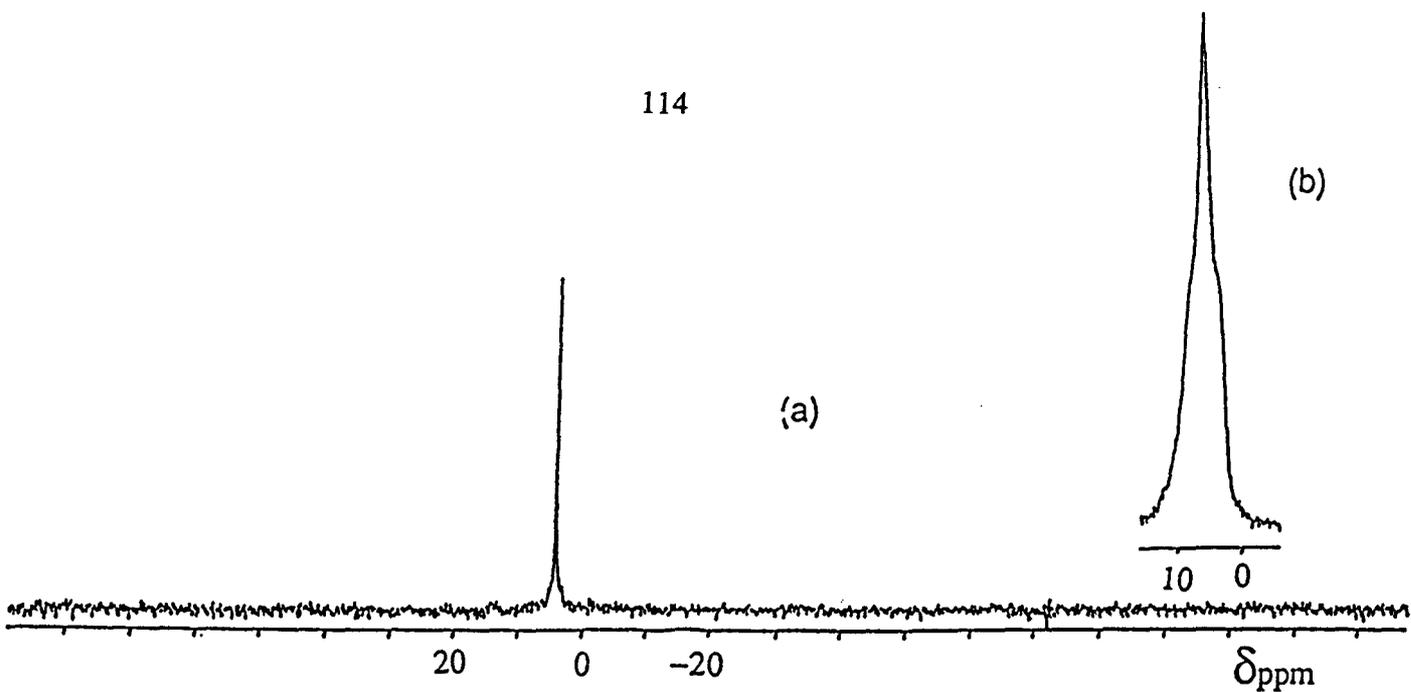


Figure 50 Spectres du composé (XXIII)

- (a, b) RMN du ^{31}P dans CHCl_3 decouplé (a) et couplé (b).
- (c) RMN du ^{13}C dans CHCl_3 .
- (d) RMN du ^1H dans CDCl_3 .

III) Comportement du poly(dichlorophosphazène) vis à vis des amines secondaires .

Les réactions de $-\text{[NPCl}_2\text{]}_n-$ avec les amines secondaires ont été peu étudiées si ce n'est par Allcock et coll¹⁵ qui ont montré que dans le cas de la diéthylamine il n'était pas possible de substituer plus de 50% des atomes de chlore. Dans ce cas nous n'avons pas trouvé de références se rapportant à la caractérisation spectroscopique du polymère formé.

L'analogie entre la diéthylamine et la N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine nous laissait donc entrevoir la possibilité de tirer parti de ce résultat pour la synthèse d'un copolymère. Cependant, ayant montré que la diméthylaminopyridine (DMAP) favorisait les réactions de substitution des atomes de chlore liés à un groupement phosphoryle, nous avons dans un premier temps examiné son rôle éventuel dans les réactions de substitution des atomes de chlore dans $-\text{[NPCl}_2\text{]}_n-$. Pour cela nous avons donc étudié et comparé les réactions du poly(dichlorophosphazène) avec la diéthylamine et la N,N-bis(chlor-2 éthyl)amine (bCEA) en présence ou non de DMAP.

III.1. Réaction de $-\text{[NPCl}_2\text{]}_n-$ avec $\text{HN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$.

Dans tous les cas les expériences ont été réalisées en introduisant la solution de poly(dichlorophosphazène) dans une solution de diéthylamine. Le montage expérimental était le même que celui utilisé précédemment. Nous décrivons ci dessous trois types de réactions.

III.1.a. En l'absence de DMAP.

Dans ce cas nous avons utilisé le benzène comme solvant et un rapport $\text{HN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2 / \text{[NPCl}_2\text{]}_n = 5$. La réaction est réalisée à température ambiante. (Allcock signale qu'une augmentation de température n'augmente pas le taux de substitution.¹⁵)

La figure (51) représente l'évolution des spectres RMN du ^{31}P du milieu réactionnel en fonction du temps.

On constate une disparition progressive du signal représentatif de $[\text{NPCI}_2]_n$ à $\delta = -25,5\text{ppm}$, le produit formé se caractérisant par un singulet unique à $\delta = -11\text{ppm}$.

Au bout de 9 jours il subsiste encore 9,30% d'atomes de phosphore sous forme $(\text{NPCI}_2)_n$.

III.1.b. En présence de DMAP.

Le solvant, la température et le rapport molaire $\text{HN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2 / [\text{NPCI}_2]_n$ utilisés sont identiques au cas précédent.

Cette fois dès les premières minutes de l'introduction de $[\text{NPCI}_2]_n$ un précipité de chlorhydrate adhérent au parois de réacteur se forme et après trois jours, la solution benzénique ne présente plus de signal en RMN du ^{31}P .

Le benzène est alors éliminé puis le solide résiduel traité par le chloroforme. (Dans le but d'extraire le chlorhydrate de diéthylamine.) La solution obtenue présente deux phases. La phase supérieure visqueuse en solution dans l'acétone présente en RMN du ^{31}P le signal unique à $\delta = -11,3\text{ppm}$ qui, on l'a vu précédemment, correspond au produit de réaction. (fig 52a)

Cette fraction a donc été traitée plusieurs fois par le chloroforme, puis précipitée dans le n-heptane. Le produit finalement obtenu se présente sous la forme d'un solide fibreux soluble dans l'acétone.

III.1.c. En présence de DMAP dans un mélange benzène-acétone.

Pour mettre en évidence l'influence du solvant nous avons effectué un essai dans un mélange benzène-acétone (l'acétone étant solvant du poly(dichlorophosphazène) et du produit de réaction) dans les mêmes conditions opératoires que pour l'essai précédent.

Cette fois après 20 heures de réaction ne subsistent que 9% des atomes de phosphore de type $-\text{NPCI}_2-$ ce qui correspond à une substitution de 45,5% des atomes de chlore.

-RMN du ^{13}C

Le spectre RMN du ^{13}C , d'une solution dans l'acétone, du polymère obtenu est représenté (fig 52b). Il fait apparaître, en plus des signaux du solvant, deux singulets à $\delta_1 = 39,6\text{ppm}$ et

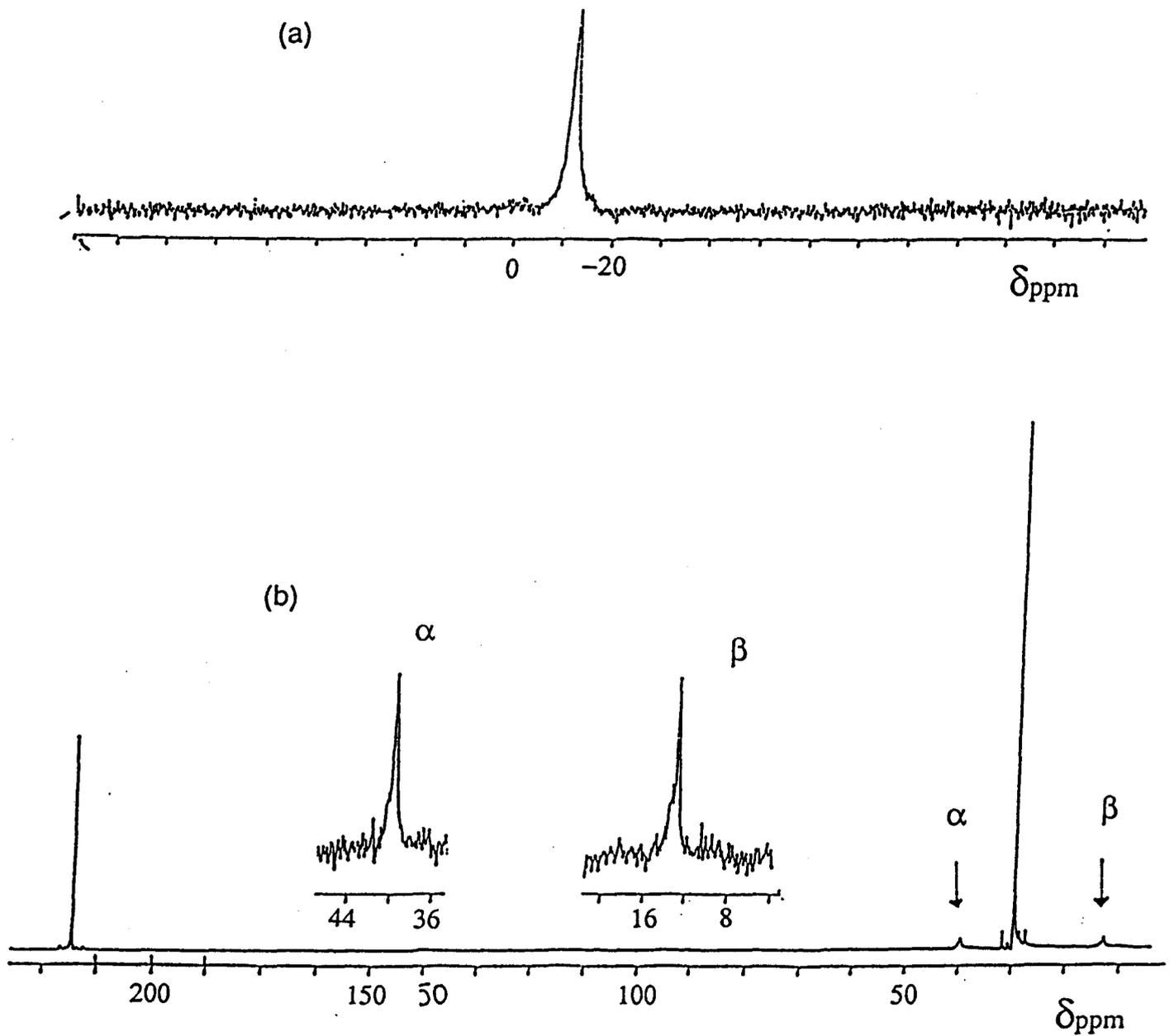
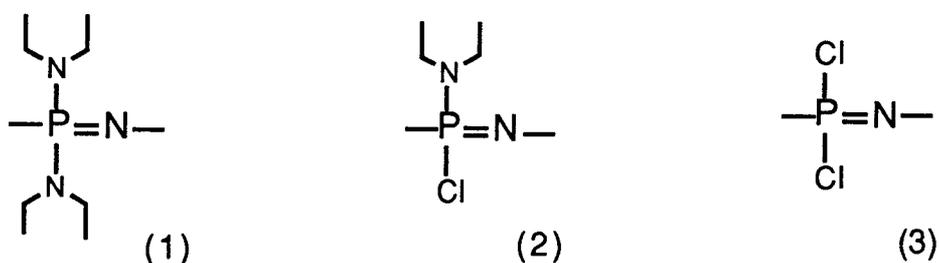


Figure 52 Spectres RMN du ^{31}P (a) et ^{13}C (b) du produit de la réaction
 $[(\text{NPCl}_2)_n + \text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2 + \text{DMAP}]$ dans l'acétone.

$\delta_2=12,7\text{ppm}$ qui correspondent aux deux carbones en α ($\delta_1=39,6\text{ppm}$) et β ($\delta_2=12,7\text{ppm}$) de l'azote dans les groupements diéthylamine fixés sur la chaîne.

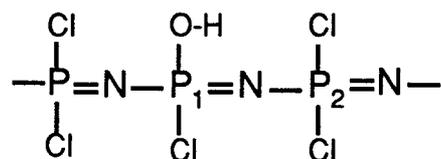
III.1.d. Discussion:

Les motifs structuraux susceptibles d'être présents dans la chaîne polymère sont de type (1), (2) et (3).



Aux atomes de phosphore appartenant à ces trois motifs doivent correspondre des signaux nettement différents.

Au phosphore présent dans (3) correspond le signal à $\delta=-25,5\text{ppm}$. [Le glissement vers les champs forts ($\delta=-25,5\text{ppm}$) du signal représentatif du phosphore dans le motif (NPCl_2) (Il est situé à $\delta=-18\text{ppm}$ pour une solution de $[\text{NPCl}_2]_n$ dans le THF) est à rapprocher de celui observé par Gabler et Haw lors de l'étude de l'hydrolyse de $[\text{NPCl}_2]_n$.¹⁶ Le phosphore P_2 en α de P_1 dans



se situe à $\delta=-21,6\text{ppm}$ dans le THF (il passe à $\delta=-24,5\text{ppm}$ en présence de pyridine).

Cela montre que les motifs NPCl_2 résiduels sont répartis de façon aléatoire le long de la chaîne.

Au phosphore présent dans le motif (1) devrait correspondre un déplacement chimique positif si l'on se réfère aux travaux d'Allcock relatifs aux copolymères de type $[\text{NP}(\text{NHR})(\text{NR}'_2)]_n$ ^{15,17}.

($R=R'=C_2H_5$ $\delta=+4ppm$; $R=nC_3H_7$ $R'=C_2H_5$ $\delta=+3,1ppm$; $R=nC_4H_9$ $R'=C_2H_5$ $\delta=+3,3ppm$...)

L'atome de phosphore dans (2) devrait donc se caractériser par un déplacement chimique intermédiaire négatif.

La présence du signal unique à $\delta=-11ppm$ est donc en accord avec la formation d'un polymère de type (2) auquel correspond effectivement une substitution de 50% des atomes de chlore. Ce polymère $[NP(Cl)N(C_2H_5)_2]_n$ sera noté par la suite (XXVI).

L'absence de motifs de type (1) est vraisemblablement liée à l'encombrement stérique de la diéthylamine. ($[NPCl_2]_n$ ne réagit pas avec la diphenylamine, même en présence de la triéthylamine¹⁵.)

Ce polymère est insoluble dans la plupart des solvants organiques usuels sauf l'acétone.

Les atomes de chlore résiduels sont assez résistants vis à vis de l'hydrolyse. Ceci est montré par la figure (53) qui représente les spectres RMN du ^{31}P d'une solution du polymère dans un mélange Acétone-Eau.

On peut remarquer qu'au bout d'une semaine à température ambiante, 76,70% des atomes de phosphore sont encore sous forme (2). (Au produit d'hydrolyse correspond le singulet à $\delta=0ppm$) Il en est encore de même dans H_2O à température ambiante (fig 54a). Toutefois l'effet de température est important, puisqu'il suffit de trois heures à $80^\circ C$ pour faire disparaître totalement le singulet à $\delta=-11ppm$ (fig 54b).

La présence d'atomes de chlore résiduels et leurs taux de substitution dans (XXVI) sont encore mis en évidence et confirmés par la réaction de ce dernier avec NH_3 .

Nous avons représenté (fig 55) le spectre RMN du ^{31}P du polymère obtenu en faisant barboter de l'ammoniac gaz dans une solution de (XXVI) dans l'acétone. On constate dans ce cas la formation de NH_4Cl , alors que le spectre de la solution du copolymère formé se caractérise par un singulet assez large à $\delta=+7,2ppm$. Il lui correspondent 86% des atomes de phosphore.

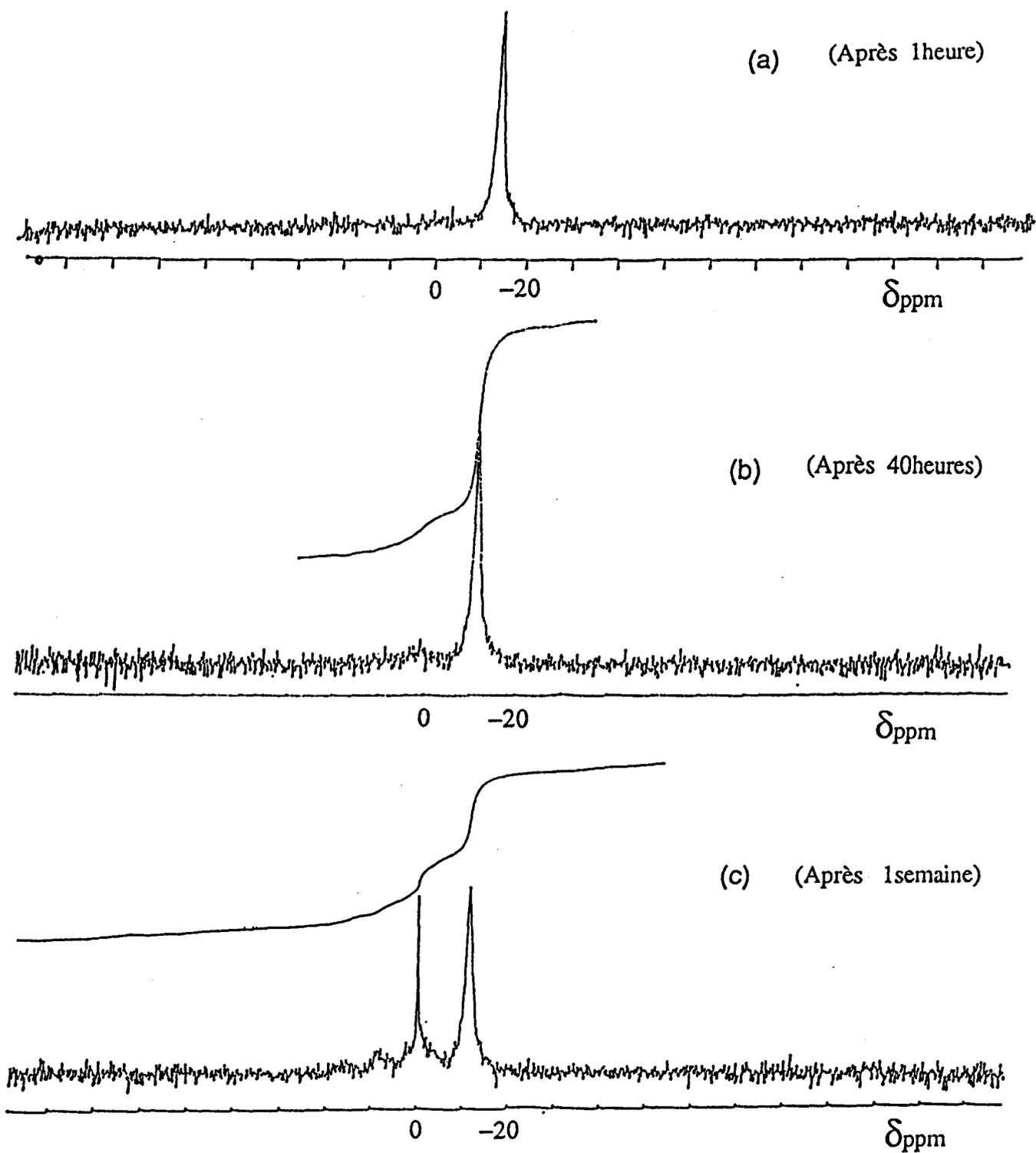


Figure 53 Suivi RMN du ^{31}P de l'hydrolyse de (XXVI) dans l'acétone.

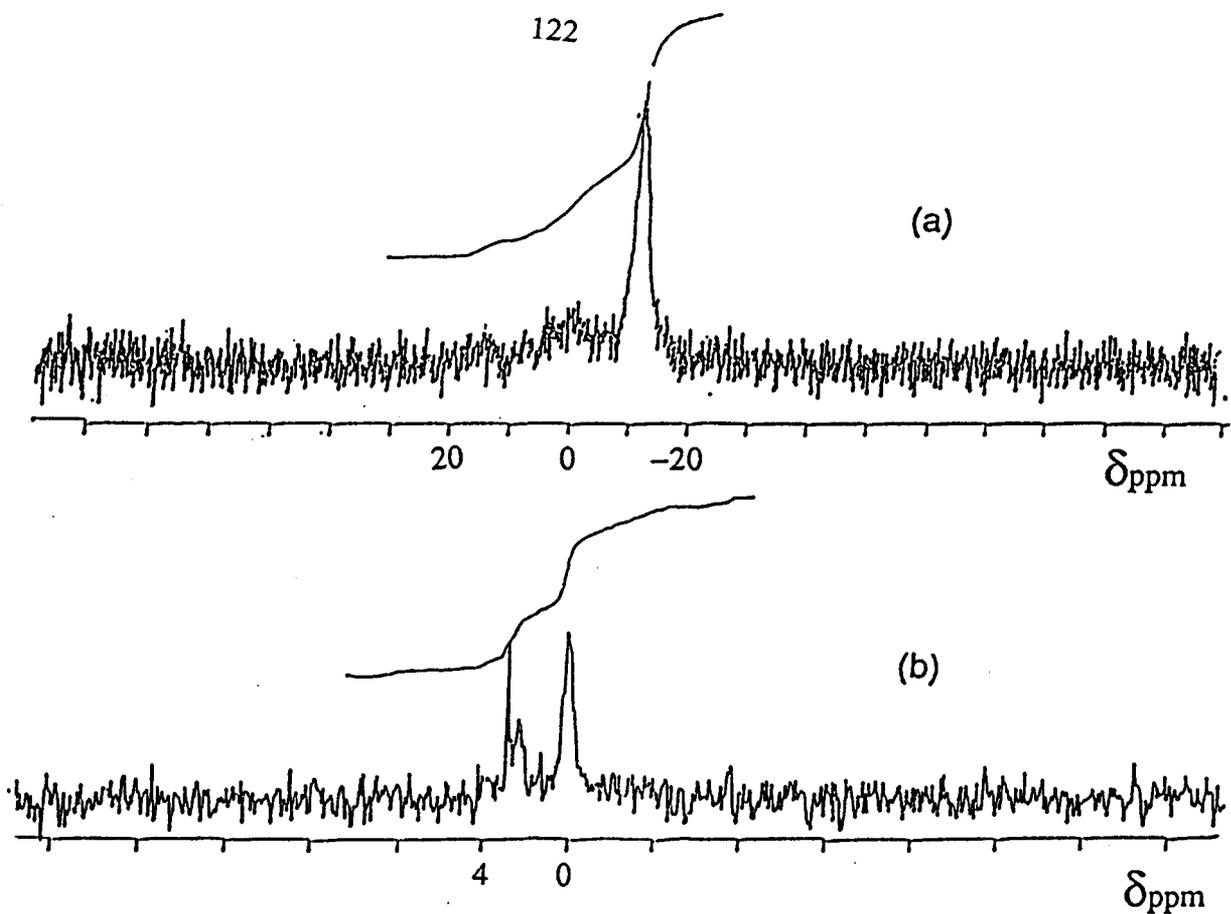


Figure 54 Spectres RMN du ^{31}P de (XXVI) dans l'eau : 24 heures à température ambiante (a) et 3 h à 80°C (b).

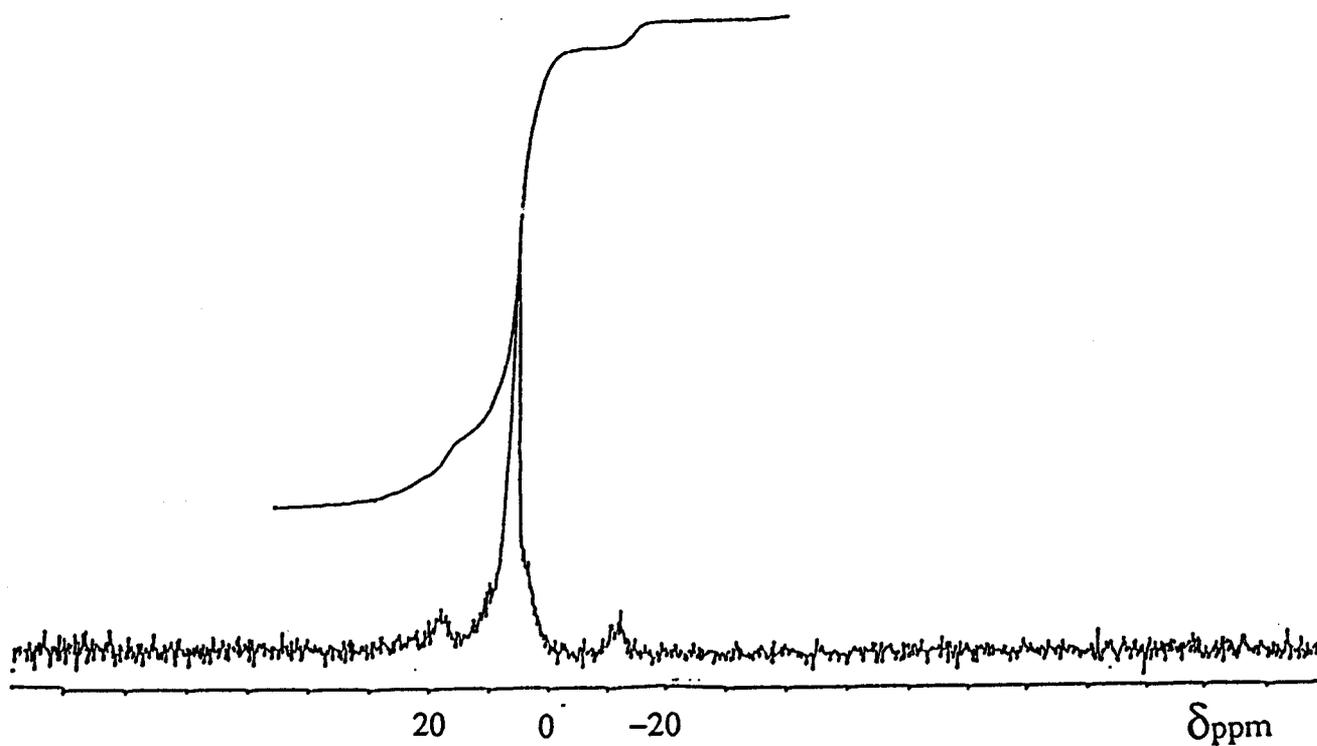
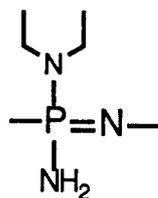
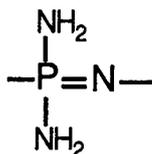


Figure 55 Spectre RMN du ^{31}P du produit de la réaction de (XXVI) avec l'ammoniac (gaz) dans l'acétone.

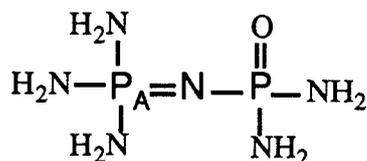
A ce singulet on ne peut donc attribuer que le motif



Le signal à $\delta = -11,8\text{ppm}$ (6% des atomes de phosphore) est représentatif du phosphore présent dans (XXVI) résiduel, celui très faible à $\delta = +18\text{ppm}$ (8% des atomes de phosphore) devant correspondre au phosphore présent dans le motif



[On a vu précédemment, qu'après réaction avec la diéthylamine il pouvait subsister encore quelques motifs $\text{-NPCl}_2\text{-}$ (le signal correspondant aux atomes de phosphore P_A dans



est situé à $\delta = +20,5\text{ppm}$ ¹⁸⁾]

III.2. Réaction de $(\text{NPCl}_2)_n$ avec la bCEA en présence de DMAP et de triéthylamine.

Après avoir confirmé l'effet catalytique du DMAP pour les réactions des amines secondaires avec le poly(dichlorophosphazène) nous avons essayé d'en tirer parti pour fixer sur ce dernier des groupements bCEA (La bCEA est moins réactive que la diéthylamine).

Trois essais ont été effectués avec les mêmes rapports $b\text{CEA}/[\text{NPCl}_2]_n = \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3/[\text{NPCl}_2]_n = 3,5$ dans le benzène à température ambiante et en utilisant le catalyseur DMAP. Le mode opératoire est identique à celui des essais précédents.

Tout comme dans le cas de la diéthylamine, le produit final obtenu après évaporation de solvant n'est plus soluble dans la plupart des solvants organiques sauf l'acétone. Sa solution dans ce dernier présente en RMN du ^{31}P un signal large à $\delta = -7,2\text{ppm}$.

Un suivi par RMN du ^{31}P de la réaction a été réalisé. les résultats obtenus sont les suivants:

- Après 1H de réaction le spectre de la solution présente deux massifs à $\delta = [-7, -10]\text{ppm}$ et $\delta = [-18, -22]\text{ppm}$ auxquels correspondent respectivement 70% et 30% des atomes de phosphore (fig 56a).

- Un deuxième prélèvement effectué après 24heures de réaction montre les mêmes massifs mais avec des pourcentages d'atomes de phosphore respectifs de 79 et 21% (fig 56b). (On note dans le spectre une simplification du massif à $\delta = -7, -10\text{ppm}$.)

- Ces pourcentages sont encore de 85% et 15% au bout de trois jours (fig 56c).

En fin de réaction le mélange réactionnel est filtré et le solvant évaporé. Le produit obtenu présente dans l'acétone deux signaux à $\delta_1 = -7,5\text{ppm}$ (95%P) et $\delta_2 = -22\text{ppm}$ (5%P) (fig 56d). Cela correspond à un taux de substitution de 47,5%.

-RMN du ^{13}C

Le spectre RMN du ^{13}C laisse apparaître deux signaux à $\delta = 48,7$ et $41,2\text{ppm}$ que nous attribuons respectivement aux atomes de carbone en α et β de l'azote dans les groupements bCEA fixés sur la chaîne polymère.

Les résultats sont donc identiques à ceux obtenus dans le cas de la diéthylamine. La substitution du poly(dichlorophosphazène) par la N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine n'étant encore une

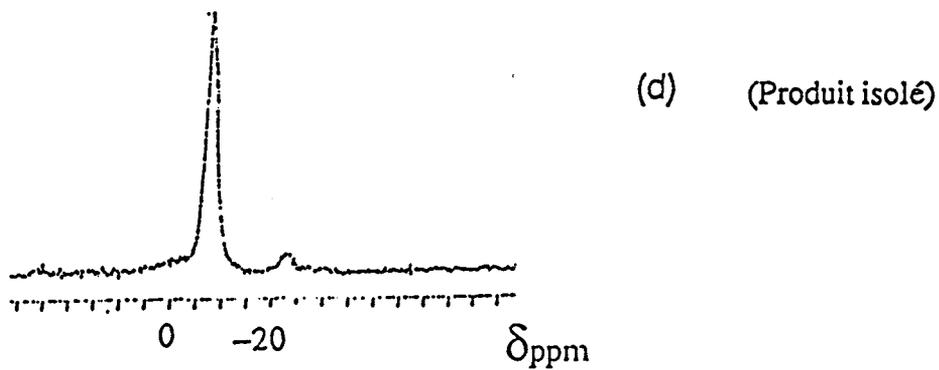
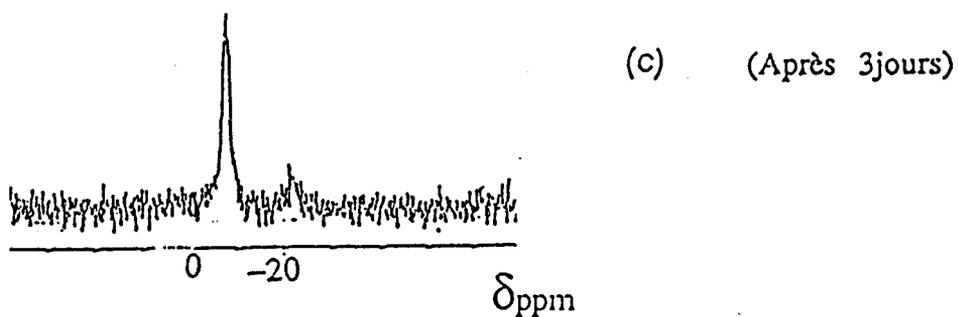
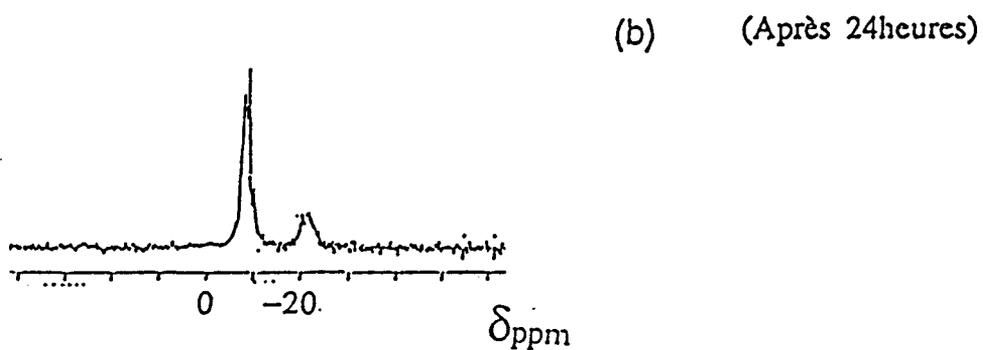
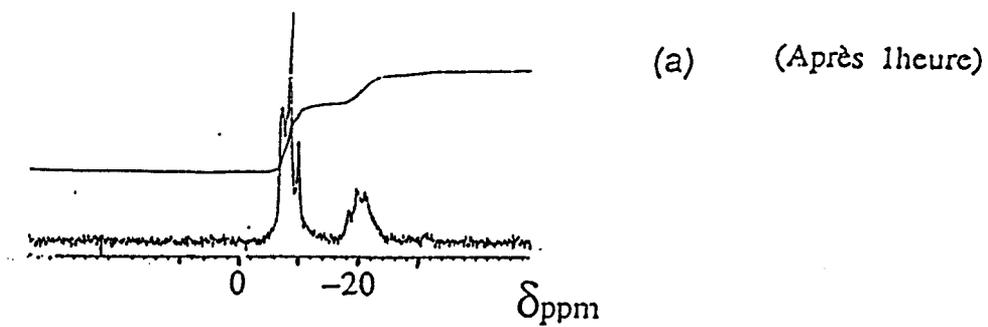


Figure 56 Suivi RMN du ^{31}P de la réaction $(\text{NPCl}_2)_n + \text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ dans C_6H_6 .

fois que partielle, il était donc logique de tenter la synthèse du copolymère de type $[NP(N(CH_2CH_2Cl)_2)_x(NHCH_2C(O)OEt)_{2-x}]_n$ par réactions successives de $(NCl_2)_n$ avec la bCEA et le glycinat d'éthyle.

Dans ce cas le taux de bCEA fixé devant être peu élevé, l'utilisation de la DMAP ne se justifiait donc pas.

IV) Synthèse du copolymère



La préparation du composé (XXVII) comporte deux étapes. La première consiste en la substitution partielle des atomes de chlore dans $(NCl_2)_n$ par des groupements N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine, la seconde en la réaction du polymère ainsi formé avec le glycinat d'éthyle (GE).

Plusieurs essais ont été pratiqués en faisant varier les rapports bCEA/ $(NCl_2)_n$ $N(C_2H_5)_3/(NCl_2)_n$ et GE/ $(NCl_2)_n$) ainsi que le solvant (C_6H_6 , THF). Dans tous les cas nous avons travaillé avec un large excès en amines qu'il s'agisse des réactifs ou de l'accepteur de HCl. Les caractéristiques RMN du ^{31}P des produits de réaction obtenus dans les différents essais étant sensiblement identiques nous nous contenterons ici de décrire un seul essai.

Déroulement de la réaction :

IV.1. Préparation de l'amine libre $HN(CH_2CH_2Cl)_2$.

Un mélange de chlorhydrate de bCEA (30g: 168mmoles) et de triéthylamine distillée sur KOH juste avant utilisation (24ml:173mmoles) est chauffé au reflux du benzène (400ml) pendant 5heures et à 50°C pendant 12heures. Après élimination par filtration du chlorhydrate de

triéthylamine formé et du chlorhydrate de bCEA résiduel, on obtient un liquide incolore contenant l'amine libre bCEA et le reste de la triéthylamine.

IV.2. Substitution partielle des atomes de chlore par bCEA.

Au liquide précédent, introduit dans un réacteur, est ajoutée goutte à goutte une solution de $(\text{NPCl}_2)_n$ (3g:26mmoles) dans le benzène (150ml).

Le montage réactionnel est le même que celui utilisé pour les réactions décrites dans le chapitre 1.

Après une journée à température ambiante un léger précipité apparait. Le mélange réactionnel est ensuite chauffé une semaine à 40°C. Le précipité formé est éliminé par décantation et la solution récupérée pour la suite de la substitution. Le solide de masse 2,1g analysé par RMN du ^{13}C présente les deux signaux correspondant au chlorhydrate de triéthylamine. La masse recueillie traduit une substitution de l'ordre de 29% des atomes de chlore.

IV.3. Substitution par la glycine éthyl ester (GE) du reste des atomes de chlore .

La solution obtenue précédemment est ajoutée goutte à goutte à température ambiante à une solution de glycinat d'éthyle, préparée à partir de son chlorhydrate (26g: 186mmoles) dans C_6H_6 (350ml) selon la méthode décrite dans le chapitre (II).

Après une semaine de réaction à cette température le chlorhydrate formé est éliminé par filtration et le solvant évaporé . L'huile ainsi obtenue est introduite dans du n-heptane. On obtient un produit pâteux qui est soluble dans CHCl_3 , C_6H_6 et le THF et insoluble dans l'eau et le n-heptane et que nous avons caractérisé par RMN du ^{31}P et ^{13}C et par IR.

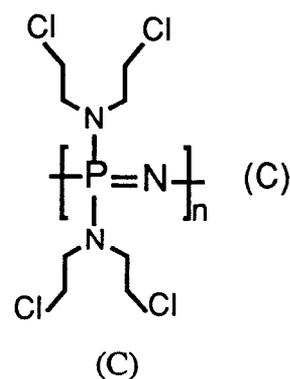
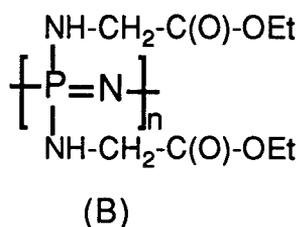
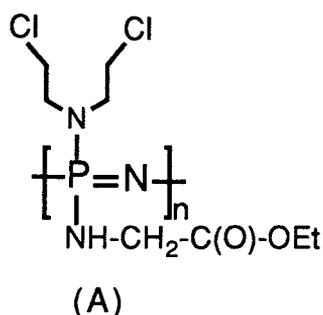
IV.4. Caractérisation

- RMN du ^{31}P

Le spectre RMN du ^{31}P d'une solution chloroformique du composé (XXVII) présente deux massifs larges centrés l'un sur $\delta=+18\text{ppm}$, l'autre (dédoublé) sur $\delta=+6,5\text{ppm}$. (Fig 57a)

Au vu des résultats des réactions effectuées précédemment l'absence de signaux à déplacements chimiques négatif traduit une substitution complète des atomes de chlore.

Les motifs susceptibles d'être présents dans la chaîne sont de type A, B et C.



Comme il n'est pas possible de fixer deux groupements bCEA sur un même atome de phosphore (ceci a été démontré précédemment), nous pouvons donc rejeter, à priori, la structure (C).

Le pourcentage de phosphore correspondant au premier signal étant sensiblement égal à 32% [proche de celui correspondant aux atomes de chlore substitués par les groupements bCEA au cours de la première étape de la réaction (29%)] il est logique de lui faire correspondre le motif (A).

Nous pouvons donc attribuer au motif (B) le signal à $\delta=+6,5\text{ppm}$. Rappelons que l'homopolymère poly(bis(éthylglycino)phosphazène) présente un signal à $\delta=+4\text{ppm}$ (paragraphe I).

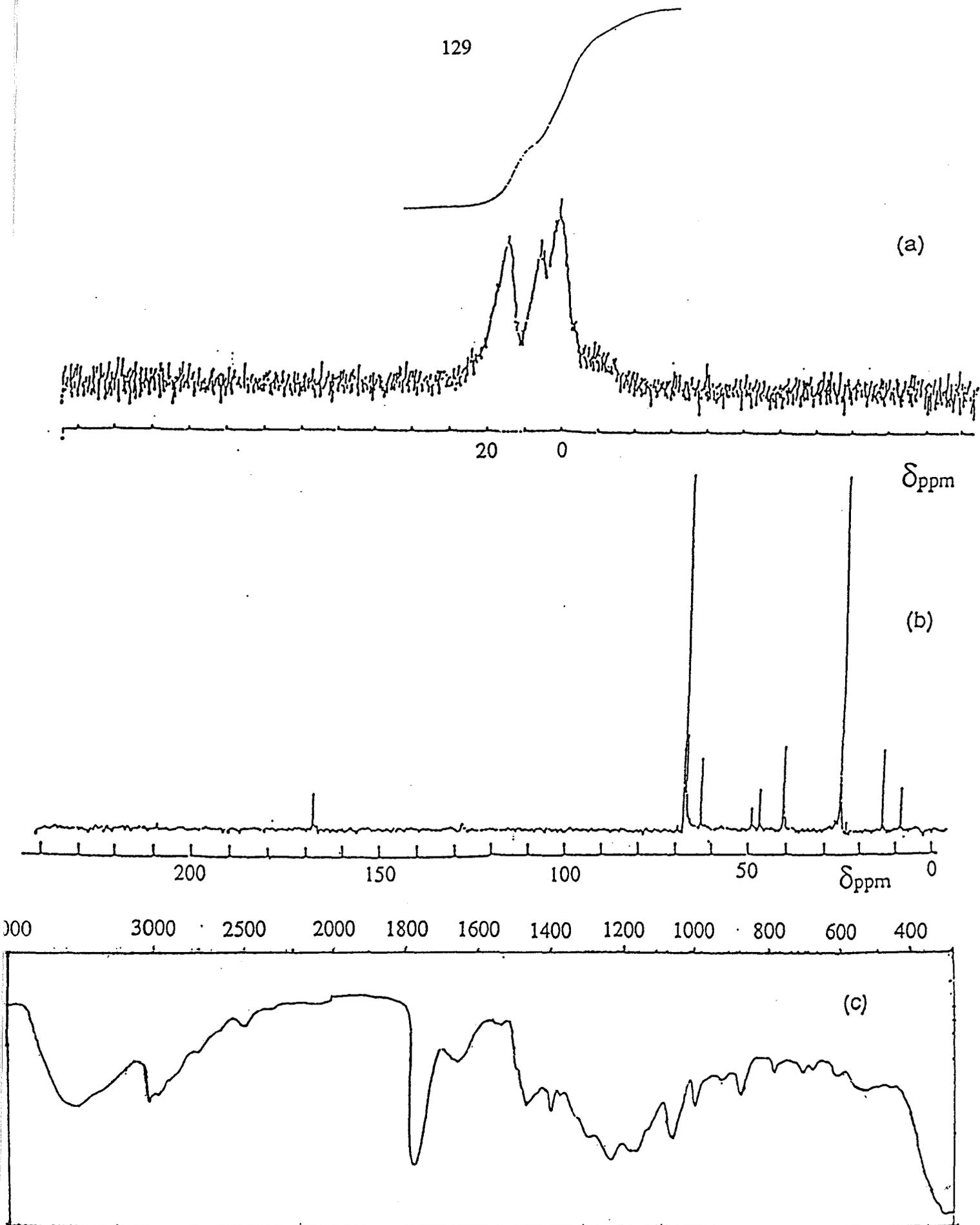


Figure 57 Spectres du copolymère $[\text{NP}(\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2)(\text{NHCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt})]_n$:
 - (a) RMN du ^{31}P dans THF.
 - (b) RMN du ^{13}C dans THF.
 - (c) Infrarouge

- RMN du ^{13}C

Le spectre RMN du ^{13}C est représenté (fig 57b). Il laisse apparaître, en dehors des signaux du solvant, ceux des groupements (GE) ($\delta=14; 41,1; 63,6; 168,6\text{ppm}$), bCEA ($\delta=41,1; 49,7\text{ppm}$) et ceux correspondant à des traces de triéthylamine ($\delta=9,1; 47,4\text{ppm}$).

- Infrarouge

Le spectre Infrarouge du composé (XXVII) a été réalisé (fig 57c). On y trouve les bandes caractéristiques des liaisons P=N ($1270\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$), C-N (1150 cm^{-1}), C=O (1740 cm^{-1}), NH (3350 cm^{-1}) et C-H ($2970\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$).

V) Conclusion :

Nous avons donc montré dans ce chapitre qu'il était possible, en tirant parti de la réactivité du poly(dichlorophosphazène) vis à vis des amines secondaires qui n'est que partielle, de synthétiser un copolymère porteur du principe actif la N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine et du substituant glycine éthyl ester $[\text{NP}(\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2)_{0,6}(\text{NHCH}_2\text{COOEt})_{1,4}]_n$.

Ce résultat qui est intéressant au niveau des études de réactivité de $(\text{NPCI}_2)_n$, l'est beaucoup moins au niveau des propriétés antitumorales du copolymère si l'on se réfère aux résultats des tests concernant l'évaluation de ces dernières (chapitre V).

Pour les améliorer (sans toutefois présager du résultat) une des premières solutions consisterait à rendre le produit hydrosoluble. Pour cela on pourrait envisager la synthèse d'un copolymère porteur de groupements bCEA, éthylglycino et de substituants hydrophiles pouvant être de type, méthylamine, polyether, glucosyl ou imidazol.

Bibliographie:

- 1) D. P. Craig, N. C. Paddock, Nonbenzenoid aromatics. Academic Press, New York (1971).
- 2) Y. Chatani, K. Yatsuyanagi. *Macromolécules* 20, 1042 (1987).
- 3) R. W. Allen, H.R. Allcock, *Macromolécules* 9, 956 (1976)
- 4) A.Wilson, J.Coated. Fabr. 7, 233 (1978)
- 5) Widenor, W.M. " Models fire tests on polyphosphazenes Rubber and polyvinylchlorid (PVC)/Nitrile Rubber foams"
D.W.Taylor, N.Ship RSD center Annapolis, MD NASA TM-78523, N79-12029 (1978).
- 6) C.W.Grolleman ; Thèse Université libre d'Amsterdam (1984).
- 7) H.R.Allcock, *Sci.Prog.Oxf.* 66, 355 (1980).
- 8) H.R.Allcock, T.J.Fuller, D.P.Mack, K.Matsumura, K.M.Smeltz ; *Macromolecules* 10, 4 (1977).
- 9) H.R.Allcock; *Makromol. Chem. Suppl.* ; 4, 3(1981).
- 10)R.E.Singler, N.S.Schneider, G.L.Hagnauer; *Poly. Eng. Sci.* ; 15, 321(1975)
- 11) H.R.Allcock ; *Polymer* 21, 673(1980).
- 12) D.P.Tate ; *J.Poly.Sci. : Symposium N.48*, 33(1974).
- 13) G.S.Kyber, T.A.Antkowiak; *Rubber. Chem. Tech.* ; 47, 32 (1974).
- 14) R.De Jaeger, M.Helioui, E.Puskaric; Brevet N° 7924037 déposé le 27/9/1979.
- 15) H.R.Allcock, W.J.Cook, D.P.Mack ; *Inorganic Chemistry* ; 11, 2584(1972).
- 16) D. G.Gabler, J. F. Haw; *Macromolecules* 24 (14), 4218-20 (1991) ; France.
- 17) H.R.Allcock, P. E.Austin, T. X. Neenan ; *Macromolecules*, 15, N.3, 689(1982).
- 18) A. Manenc ; Thèse, Lille (Octobre 1991).

CHAPITRE 5

TESTS BIOLOGIQUES

Quatre composés ou mélanges de composés notés A [(I),(II)], B[(X),(XIV)], (XIV), C [(XI),(XX)] et (XXVII) (tableau 13) ont été étudiés dans le modèle de la leucémie lymphocytaire P388 sur des souris CDF1, au laboratoire de pharmacodynamie clinique du centre Oscar Lambret de Lille.

Le protocole utilisé est celui publié par le NCI¹. Il est détaillé ci dessous.

I) Protocole d'étude .

- Pour les études de screening primaire, l'inoculation de la tumeur se fait par voie intrapéritonéale (I.P.), la drogue étant administrée par voie intrapéritonéale en traitement réitéré à J₁, J₅, et J₉. (J₁ : premier jour)

- Pour les études de screening secondaire, la drogue est administrée en traitement réitéré en augmentant la dose et la fréquence de J₁ à J₉.

Le paramètre considéré pour l'évaluation de l'efficacité antitumorale est le temps médian de survie.

Dans notre étude les modes de transplantation et de traitement de la leucémie P388 sont les suivants:

Localisation de la tumeur.	Voie d'administration des produit	Nombre d'animaux
I. P.	I. P.	4 ou 6 par lot traité. Lot de contrôle $2N^{1/2}$ (N étant le nombre total d'animaux

A) Transplantation tumorale:

- Implant: Injection I.P.
- Volume: 0,1ml d'ascite diluée contenant 10^6 cellules.
- Jour de transfert pour la propagation: J₉.

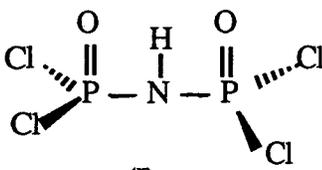
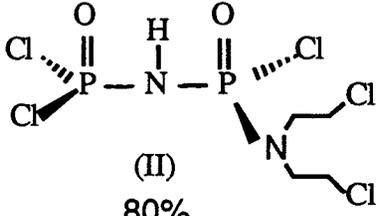
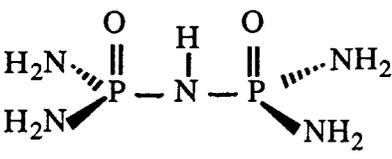
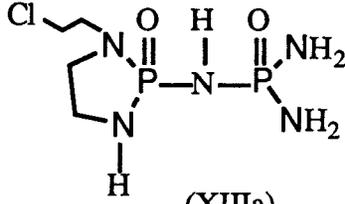
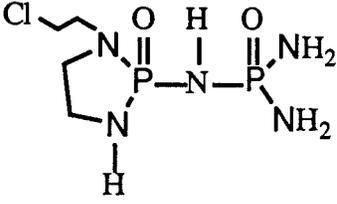
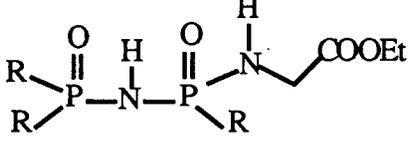
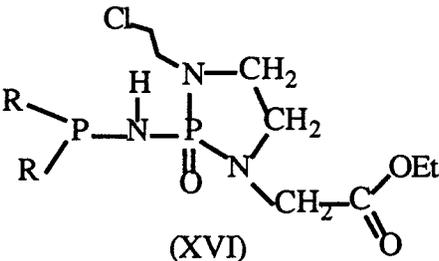
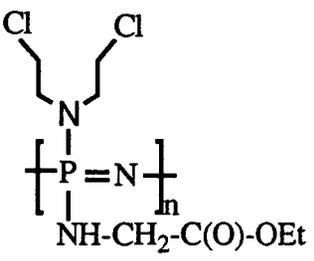
A (I,II)	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>(I) 20%</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(II) 80%</p> </div> </div>
B X, XIV	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>(X) 14%</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(XIIIa) 86%</p> </div> </div>
(XIV)	<div style="text-align: center;">  </div>
C XI, XX	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>(XV) 43%</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>(XVI) 57%</p> </div> </div> <p style="text-align: center;">R: NHCH₂C(O)OEt</p>
XXVII	<div style="text-align: center;">  </div>

Tableau (13)

- Les pourcentages indiqués dans le tableau sont des pourcentages molaires

- Jour de transfert pour le test: J₀.

B) Schéma de l'expérimentation.

- Implantation de la tumeur: J₀.
- Randomisation des animaux: J₀.
- Préparation du matériel et pesée des produits: J₀.
- Ouverture du dossier : J₀.
- Pesée individuelle des souris: Tous les jours.
- Administration I.P du produit (0,1ml/10g de poids du corps): J₁, J₅, J₉ ou J₁ à J₉.
- Enregistrement des animaux survivants: Quotidien.
- Sacrifice des survivants: J₃₀. Les animaux sacrifiés à cette date sont considérés comme vivants à long terme.

C) Contrôle de qualité :

- Jour médian de survie acceptable pour le lot contrôle: entre J₉ et J₁₁.
- Jour de mort précoce dans le lot contrôle: J₈.
- Jour de non prise de la tumeur dans le lot contrôle: J₁₈.
- Produit contrôle positif: Cyclophosphamide.
- Valeur du T/C requise pour le produit contrôle positif *: 135% (valeur seuil).

D) Evaluation:

- Calculer les poids moyens** des animaux tous les jours pour chaque lot.
- Calculer le jour médian de survie, animaux survivant inclus, pour chaque lot.
- Etablir le T/C % pour chaque lot.

$$*T/C \% = \frac{\text{Jour médian de survie des animaux traités}}{\text{Jour médian de survie des animaux contrôles}} \times 100$$

- Une valeur de T/C < 85% signe une toxicité du produit à la dose considérée.
- Une valeur de T/C > 135% permet de considérer comme significative l'activité antitumorale.

** Une diminution du poids > 4g est un signe de toxicité dans ce test.

E) Administration des produits:

- Solutions des produits:

- Les composés (A), (B), (C) et (XIIIa) ainsi que le cyclophosphamide (Produit de référence) sont mis en solution dans l'eau distillée.

Le polymère (XXIV) est mis en solution dans le THF puis dilué par H₂O.*

Les solutions et dilutions sont préparées extemporanément.

II) Résultats :

Les valeurs du rapport T/C qui évalue la survie des animaux traités sont reportées dans le tableau (14). Y figurent également tous les paramètres utiles: dose, nombre d'animaux, jour médian de survie, nombre de survivants à long terme.

Produit	Dose	Nombre d'animaux	Jour médian de survie	T/C %	Nombre de survivants à long terme
contrôle (A)	-	10	10	--	0
	25mg/kg, J ₁ , J ₅ , J ₉ .	03	14	140	0
contrôle Cyclophosphamide (A) (A)	-	10	09	--	0
	25mg/kg, J ₁ -- J ₉ .	06	> 30	>333	6/6
	50mg/kg, J ₁ -- J ₉ .	06	14	156	0
(A)	75mg/kg, J ₁ -- J ₃ .	06	12	133	0
Contrôle (B) (XX) (C)	---	06	10	---	0
	25mg/kg, J ₁ , J ₅ , J ₉ .	04	11,5	115	0
	25mg/kg, J ₁ , J ₅ , J ₉ .	04	11,5	115	0
	25mg/kg, J ₁ , J ₅ , J ₉ .	04	11,5	115	0
Contrôle (XXVII) (XXVII)	----	12	11	--	0
	0,5mg/kg, J ₁ , J ₅ , J ₉ .	06	10	91	0
	5mg/kg, J ₁ , J ₅ , J ₉ .	06	10	91	0

Tableau (14)

Il a été vérifié qu'une injection de 0,1ml de THF entraînait la mort immédiate de la souris.

- Remarque

On remarque que seul le mélange (A) présente une activité significative T/C=156% à 50mg/kg/injection avec injections répétées de J₁ à J₉. Cette efficacité est cependant beaucoup moins bonne que celle du cyclophosphamide, ceci bien que la dose soit doublée par rapport à ce dernier.

Il n'est pas possible de l'améliorer en augmentant la dose injectée puisque dans ce cas (Ex. 75mg/kg/injection) les injections doivent être arrêtées au troisième jour pour des raisons de toxicité.

Les produits (B), (XIV), (C) et (XXVII) sont inactifs aux doses testées.

Le graphe de la figure (58) représente les courbes de survie actuarielle relatives aux souris traitées avec le cyclophosphamide (a), aux souris contrôles (b) et à celles traitées avec le produit (A) (c).

Elles mettent en évidence la parfaite efficacité du cyclophosphamide ainsi que celle relative de (A).

Le graphe de la figure (59) représente l'évolution du poids moyen des souris témoins, traitées par le cyclophosphamide et par (A).

On peut remarquer que l'augmentation de poids visible à partir du 5^{ème} jour chez les souris témoins, et qui est dûe au développement de liquide d'ascite, n'est pas visible dans le cas du cyclophosphamide.

Dans le cas des souris traitées par (A), on note une augmentation similaire à celle des témoins mais avec un retard puisque l'on passe de 5 à 7 ou 8 jours.

La faible diminution de poids relevée de J₁ à J₅ (pour les souris traitées par (A) et le cyclophosphamide) est caractéristique d'une faible toxicité des produits.

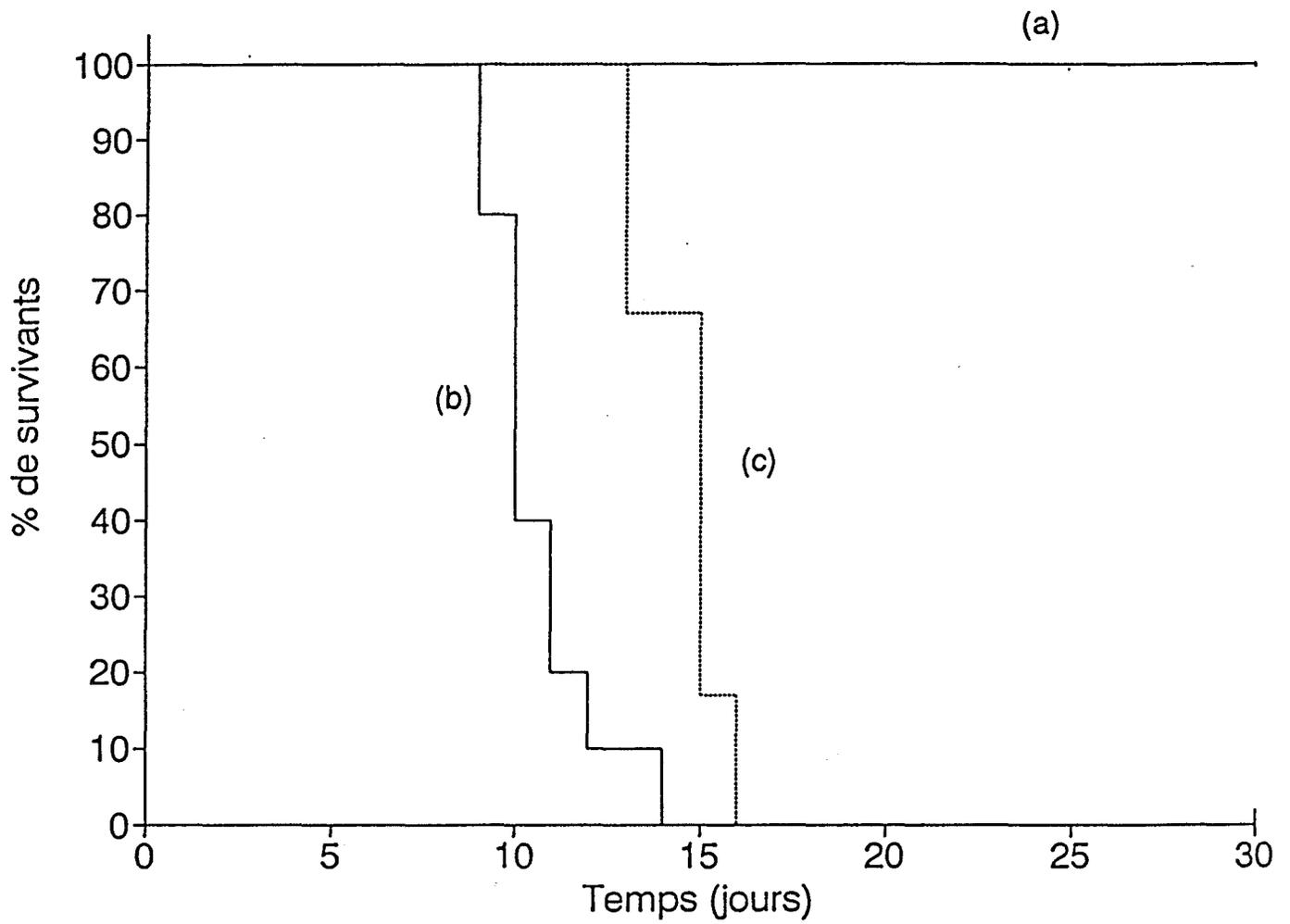


Fig 58 Courbes de survie actuarielle
a) souris traitées avec le cyclophosphamide.
b) souris témoins.
c) souris traitées avec (A).

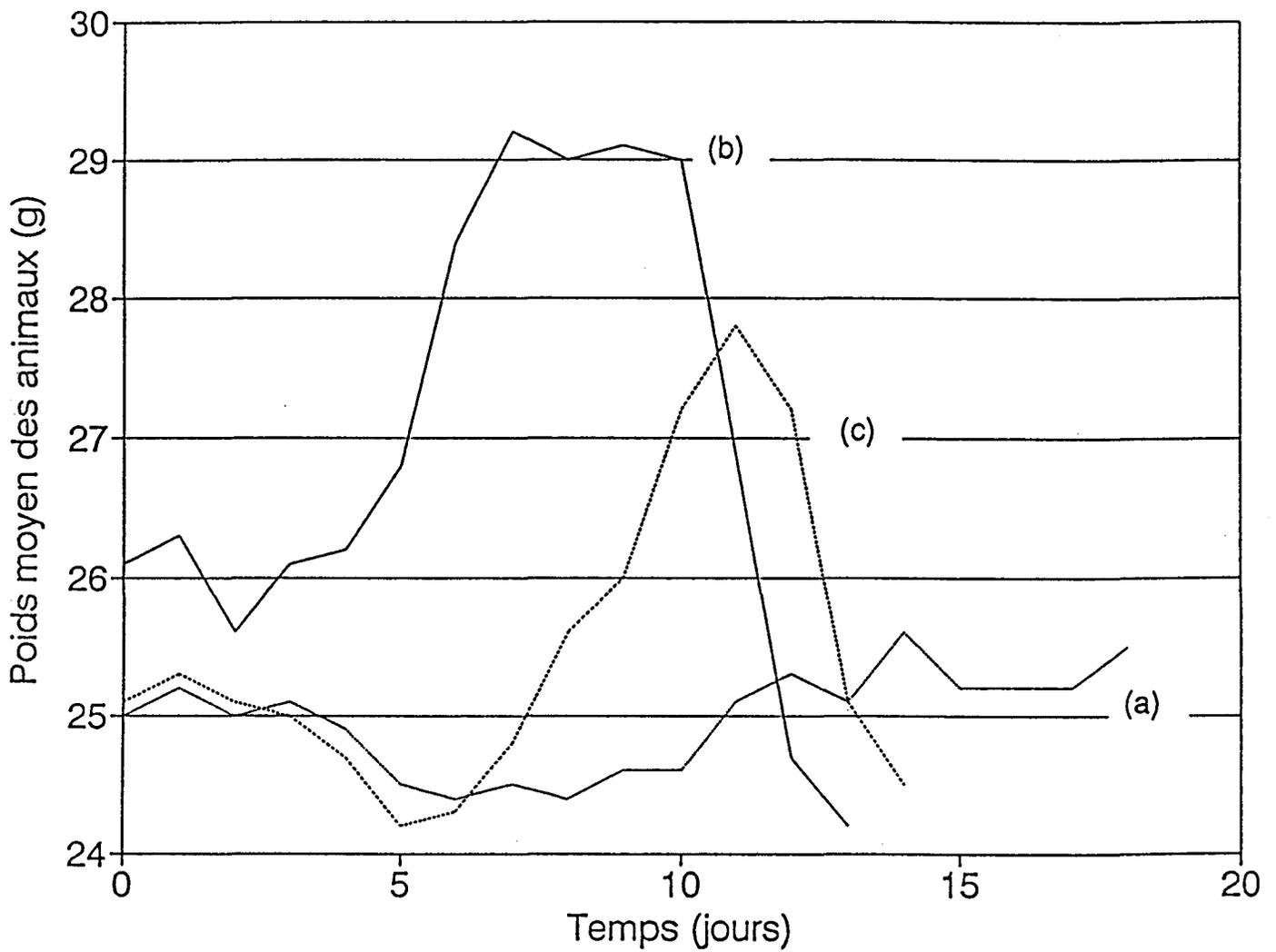


Fig 59 Evolution du poids moyen des souris
a) traitées par le cyclophosphamide
b) témoins.
c) traitées avec (A).

III) Conclusion

On remarque que parmi les produits testés seul (A) possède une relative efficacité. Or il s'agit du mélange contenant (II) qui est le seul composé possédant le groupement N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine. C'est à dire le seul ayant la structure d'un agent alkylant bifonctionnel.

Cette remarque confirme donc les conclusions de Lovelless et Ross ² selon lesquelles l'efficacité de tels agents est plus grande que celle des alkylants analogues monofonctionnels. (C'est le cas pour les dérivés (XIV) et (XX)).

Cela semble donc bien montrer aussi que l'inactivation de l'ADN par réticulation est en relation directe avec le pouvoir cytotoxique des agents alkylants bifonctionnels.

L'efficacité de (II) est du même ordre de grandeur que celle trouvée pour le composé $(HO)_2(O)PNHP(O)(OH)(N(CH_2CH_2Cl)_2)$ (8) qui n'est autre que le produit d'hydrolyse de (II).

Il est vraisemblable que la trop grande stabilité de (8) est à l'origine du faible pouvoir cytotoxique de (II), et les résultats obtenus dans le chapitre (III) devront être exploités pour le vérifier.

En ce qui concerne le polymère (XXVII), son manque de solubilité n'a pas permis de le tester à des doses comparables à celles des autres produits, ce qui explique les résultats obtenus. Son utilisation sous la forme d'implant solide mériterait cependant d'être testée.

Bibliographie:

1) A. Goldin, J. M. Venditti, S. K. Carter ; Screening at the National Cancer Institut in
N.C.I. Monograph-45-USA-USSR Monograph.

Methods of developement of New Anticancer Drugs, 37-48 (1977).

2) B.A.Chabner, J.M.Collins ; Cancer Chemotherapy Principles and Practices ; Lippincott
copmany, Philadelphia, Chap.11, 276(1990).

CONCLUSION

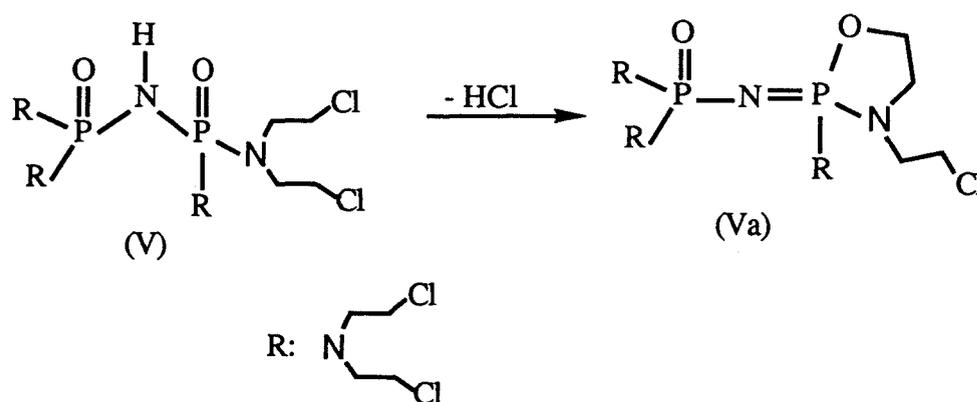
Conclusion

Notre travail avait deux objectifs:

- Le premier contribuer à une meilleure connaissance de la réactivité du di(dichlorophosphoryl)imide $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ (I) vis à vis des amines en particulier.

- Le second synthétiser des molécules de type diphosphorylimide contenant le groupement N, N-bis(chloro-2 éthyl)amine et susceptibles de présenter des propriétés antitumorales. Ce dernier objectif devait permettre de compléter un premier travail réalisé au laboratoire par OUASSINI relatif à la synthèse de telles molécules à partir du P-trichloro N-dichlorophosphoryle monophosphazène $\text{Cl}_3\text{PNP}(\text{O})\text{Cl}_2$.

Nous avons donc dans un premier temps étudié les réactions de (I) avec la N, N-bis(chloro-2 éthyl)amine en variant les conditions expérimentales (rapports molaires, solvant, température, catalyseur ...). Nous avons mis en évidence la formation des dérivés de mono, di et tétrasubstitution ainsi que l'existence de diastéréoisomères pour les dérivés monosubstitué et bismonosubstitué. L'utilisation conjointe de la RMN (^{31}P , ^1H et ^{13}C) et de la spectrométrie de masse a permis de montrer que le dérivé tétrasubstitué (V) $\text{R}_2(\text{O})\text{PNHP}(\text{O})\text{R}_2$ $\text{R}=\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ n'est pas stable et qu'il se transforme en (Va) par réaction de O-alkylation selon



Cela montre, que si l'on veut à l'avenir tirer parti de cette instabilité (qui constitue un élément favorable si l'on considère l'éventuelle efficacité antitumorale) la fonctionnalisation devra concerner une molécule déjà porteuse du groupement N, N-bis(chloro-2 éthyl)amine.

Le laboratoire possédant une certaine expérience dans la synthèse des polyorganophosphazènes, nous avons ensuite entrepris l'étude comparée de la substitution du poly(dichlorophosphazène) (XXIII) par la glycine éthyl ester et par les amines secondaires $\text{HN}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$ et $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$. Celles ci n'étant que partielle dans les deux derniers cas (on ne peut remplacer plus de 50% des atomes de chlore dans (XXIII)) il nous a alors été possible par substitutions successives de synthétiser et caractériser un copolymère de type $[\text{NP}[\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2]_x(\text{NHCH}_2\text{COOEt})_{2-x}]_n$ $x=0,6$.

Enfin l'efficacité antitumorale de cinq composés ou mélanges de composés préparés au cours de ce travail a pu être évaluée dans le modèle de la leucémie lymphocitaire P388 sur des souris CDF1.

Cette évaluation a permis de montrer que seul le dérivé ayant conservé la structure d'un agent alkylant bifonctionnel (II) présentait une relative efficacité (T/C= 156%).

En ce qui concerne cette activité antitumorale, l'ensemble des résultats obtenus, nous laisse penser que la conception d'une molécule de type diphosphorylimide sur laquelle seraient fixés un groupement N, N-bis(chloro-2 éthyl)amine et des groupements sarcosine éthyl ester $\text{HN}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ partiellement fonctionnalisés par des fonctions acides carboxyliques pourrait s'avérer intéressante.

ANNEXE

I) Synthèse du P-trichloro N-dichlorophosphoryle monoposphazène $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$
(P_2NOCl_5)

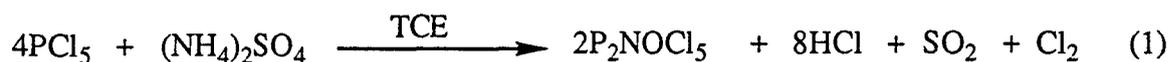
Parmi les nombreuses méthodes de synthèses existantes ¹⁻⁷, deux ont été utilisées:

La première est celle proposée par Emsley et coll ¹, la seconde par Seglin et coll ⁷.

Procédé Emsley:

Il consiste à faire réagir le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ avec le pentachlorure de phosphore PCl_5 dans le tétrachloroéthane symétrique pendant une heure au reflux.

La réaction est la suivante (1):



-Mode opératoire

39,6g (0,3mole) de sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et 280,5g (1,345mole) de pentachlorure de phosphore PCl_5 sont introduits dans 600ml de tétrachloroéthane symétrique. Le mélange est porté à reflux pendant une heure, puis ramené à l'ambiante. On élimine l'excès de PCl_5 , par filtration, et le solvant T.C.E. sous pression réduite à température ambiante.

$\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$ (P_2NOCl_5) est enfin obtenu par distillation sous vide (0,1torr) à 85°C. La masse obtenue est de l'ordre de 343,5g. (Rendement : 95%).

Procédé Seglin:

Il comprend deux étapes. La première consiste dans la réaction du pentachlorure de phosphore (PCl_5) sur le chlorure d'ammonium (NH_4Cl) qui est réalisée dans l'oxychlorure de phosphore POCl_3 comme solvant. La seconde dans la réaction de , l'intermédiaire ionique formé $(\text{Cl}_3\text{PNPCl}_3)^+ \text{PCl}_6^-$, avec l'anhydride phosphorique P_2O_5 , selon (2) :

-Analyse élémentaire:

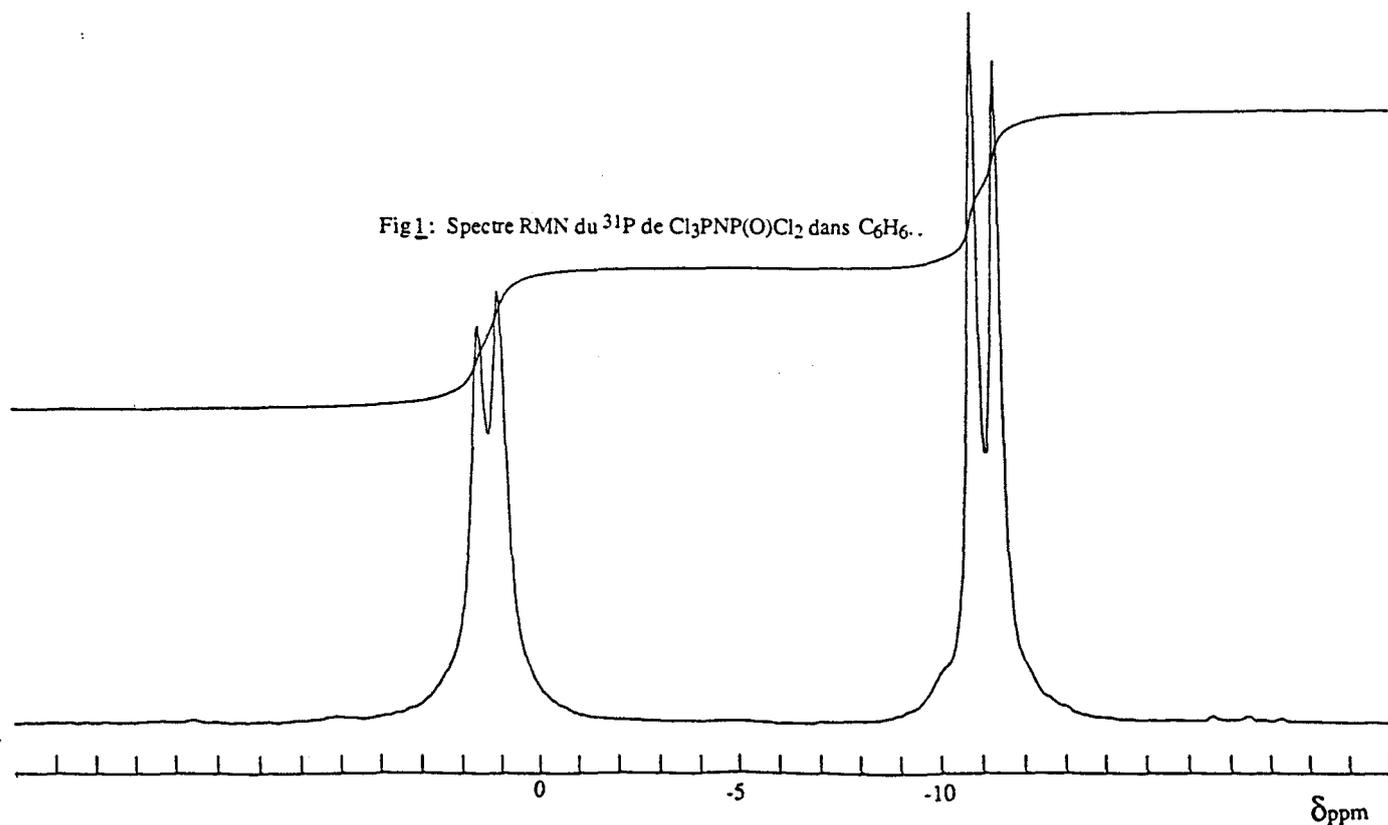
Les résultats de l'analyse élémentaire sont les suivants:

Elément	%P	%N	%Cl
Calculé:	23	5,19	65,86
Trouvé:	23,89	5,19	66,52

-RMN du ^{31}P :

Il présente en solution dans le benzène deux doublets centrés sur $\delta=+1,2$ et $-11,2\text{ppm}$ avec une constante de couplage J_{PNP} de l'ordre de 17Hz (Fig 1).

-Température de distillation: 85°C sous pression réduite de $0,1\text{torr}$.



- Méthode Heubel

Elle repose sur l'hydrolyse par l'eau liquide de $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$ selon (4):



-Mode opératoire:

A une solution de 56,6 g (0,21 mole) de $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$ dans 92 g de nitrométhane maintenue par un courant d'azote sec sur la pastille frittée du réacteur (figure 2) on ajoute goutte à goutte 3,4 g d'eau liquide (0,19 mole) sous agitation magnétique à température ordinaire. On règle l'écoulement de façon à éviter tout échauffement et emballement de la réaction (2 à 3 heures). La solution se trouble et en arrêtant l'agitation on observe la formation de deux couches liquides.

On laisse la suspension sous brassage d'azote pendant au moins 15 heures. $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ cristallise.

Il suffit alors d'inverser le courant d'azote pour provoquer la filtration. Le solide est lavé 4 fois avec 20 ml de nitrométhane puis séché sous courant d'azote sec. On recueille 24,4 g de cristaux (51,5% de la théorie).

Le filtrat contient $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$ et $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ qui continue à cristalliser lentement. Le rendement peut être amélioré en augmentant le temps de la réaction. Après deux jours, il atteint 80%.

Caractérisation de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$.

L'analyse gravimétrique donne les résultats suivants :

Elément	P	N	Cl
%(théor)	24,7	5,86	56,6
%(trouvé)	25	5,7	56,9

Le spectre RMN du ^{31}P d'une solution benzénique de (I) ne comporte qu'un singulet à $\delta = 0,4\text{ppm}$ fig(3). Celui de RMN du ^1H un singulet à $\delta = 14\text{ppm}$ (CDCl_3) fig(4).

Comme nous l'avons signalé dans le chapitre (I) le déplacement chimique de ce dernier varie fortement en fonction du milieu.

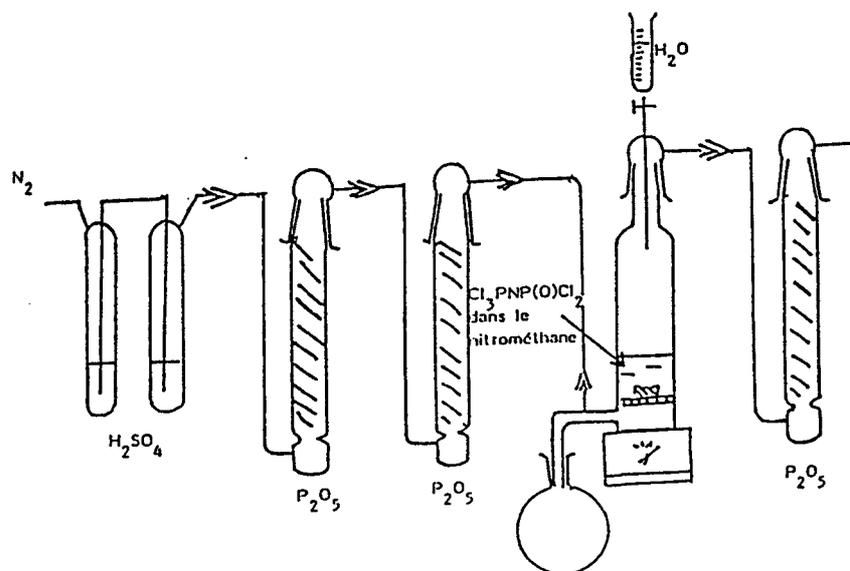


Fig 2 : Montage de la synthèse de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$.

Fig 3 : Spectre RMN du ^{31}P de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ dans C_6H_6

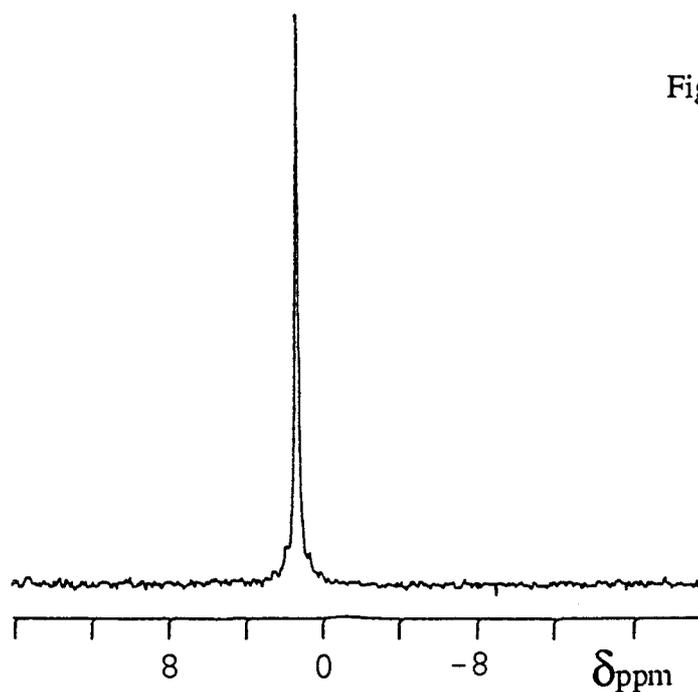
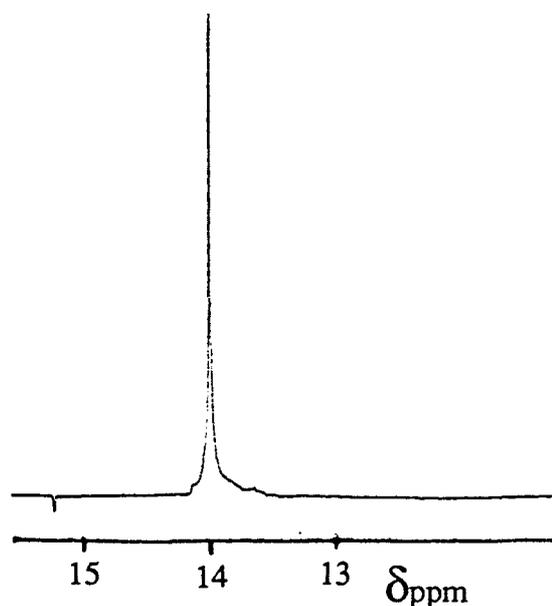


Fig 4 : RMN du ^1H de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ dans CDCl_3 .



III) Synthèse du sel de sodium de (I) : $\text{NaN}(\text{POCl}_2)_2$.¹⁰

$\text{NaN}(\text{POCl}_2)_2$ est synthétisé à partir de nitrite de sodium et P_2NOCl_5 selon la réaction (5)



- Mode opératoire:

7,3g (0,1mole) de nitrite de sodium (NaNO_2), sec et broyé, et 28g (0,1mole) de P_2NOCl_5 sont introduits dans 250ml de nitrométhane.

Le mélange est laissé réagir à température ambiante pendant 24 heures. Dès les premiers instants apparait un précipité de grains peu denses. Ce précipité blanc est isolé par filtration, lavé par le nitrométhane puis l'éther diéthylique et enfin séché sous pression réduite. Le filtrat est exempt de P_2NOCl_5 .

Le dosage des éléments P, N, Cl et Na a donné les résultats suivant:

Elément	P	N	Cl	Na
% theorique	22,71	5,13	52,01	8,42
% trouvé	22,01	5,04	48,63	8,05

La masse de solide obtenue est de l'ordre de 24,4g, qui correspond à un rendement molaire de 90%. $\text{NaN}(\text{POCl}_2)_2$ est insoluble dans la plupart des solvants organiques usuels sauf le DMF où il présente un singulet à $\delta = -15,7\text{ppm}$. Fig (5)

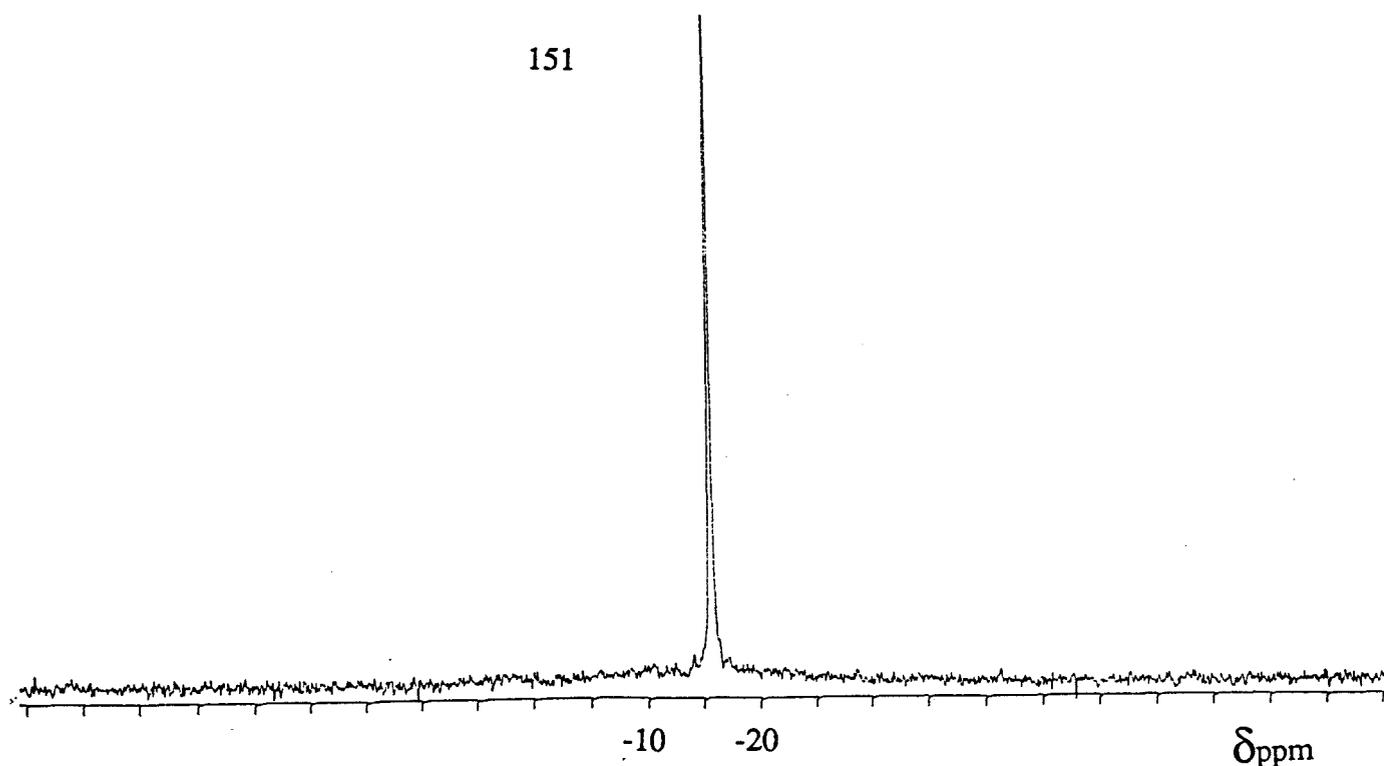


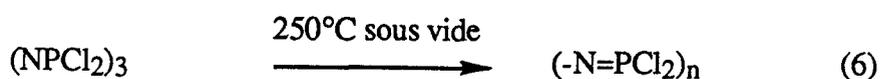
Fig 5 Spectre RMN du ^{31}P de $\text{NaN}(\text{POCl}_2)_2$ dans DMF.

IV) Synthèse du polydichlorophosphazène : $(\text{NPCl}_2)_n$.

Il existe trois procédés essentiels de synthèse (Schéma 1):

Le premier procédé (Hornbaker et Li) consiste à polymériser thermiquement les oligomères de type $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}(-\text{PCl}_2=\text{N}-)_n\text{PCl}_3^+\text{PCl}_6^-$ ¹¹. Il mène à des polymères de faibles poids moléculaires, souvent impurs ou réticulés et nécessite des étapes délicates d'extraction par solvants.

Le second procédé (Allcock et Kugel) qui a été découvert par stocks ¹² puis optimisé par Allcock ^{13,14} concerne la polymérisation thermique de $(\text{NPCl}_2)_3$ selon (6).

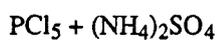
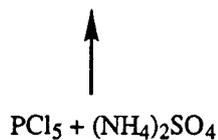
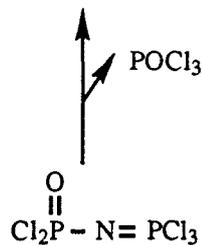
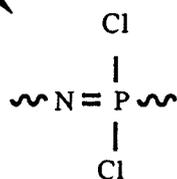
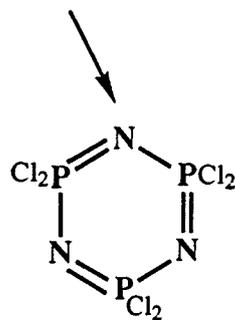
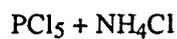
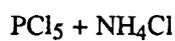


La troisième voie de préparation est celle mise au point au laboratoire par De Jaeger et coll ¹⁵⁻¹⁷ qui consiste en la polycondensation du monomère P_2NOCl_5 selon (7).



Voie ALLCOCK et KUGEL

Voie HORNBAKER et LI



Schema 1

Cette réaction se déroule à une température comprise entre 230 et 280°C à la pression atmosphérique.

Le tableau (1) donne le détail d'une manipulation. $(\text{NPCl}_2)_n$ obtenu a été caractérisé par RMN du ^{31}P . Il présente un singulet à $\delta = -16,6\text{ppm}$ (C_6H_6) (fig 6).

Analyse :

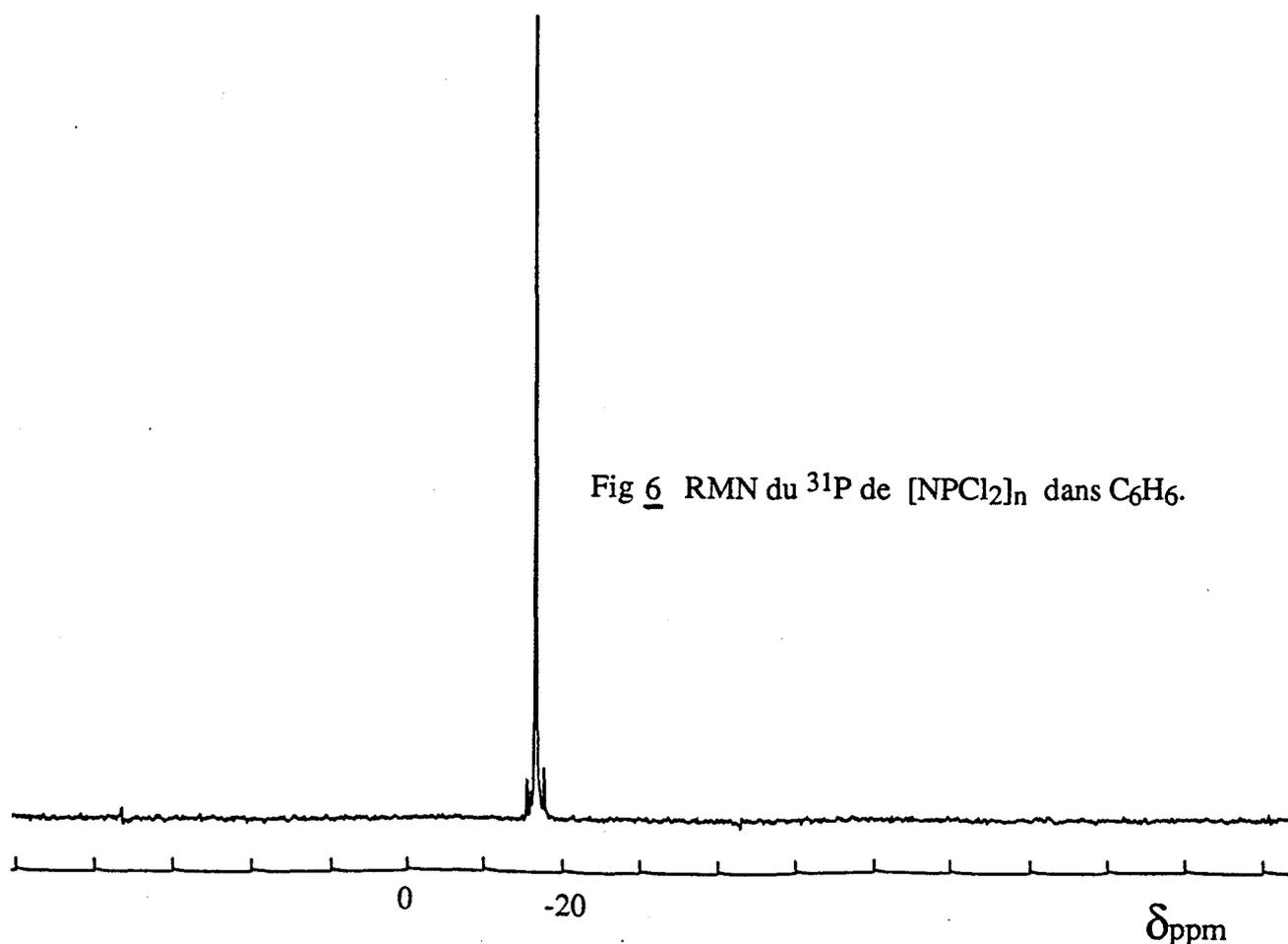
Elément	N	Cl	P
% (Trouvé)	11,90	61,52	26,80
% (Calculé)	12,07	61,21	26,72

	masse de monomère (g)	masse de solvant (g)	Durée (H)	viscosité ml/g
Solvant: TCBP T: 263°C C=5,22mole/l	156,32	152,53	20	33

TCBP: Trichlorbiphényl .

Tableau (1)

Le polydichlorophosphazène utilisé dans ce travail a été préparé suivant ce dernier procédé.

Fig 6 RMN du ^{31}P de $[\text{NPCl}_2]_n$ dans C_6H_6 .

V) Préparation de l'amine libre N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine (bCEA).

La N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine est commercialisée sous la forme de chlorhydrate. Nous avons donc préparé l'amine libre en traitant ce dernier par une solution de soude dans des proportions stoechiométriques.

Les deux phases ainsi obtenues sont séparées par décantation. La phase dense, qui contient l'amine, est recueillie dans le solvant de la réaction prévue en présence de sulfate de sodium (Na_2SO_4) comme desséchant.

Après quelques heures ce dernier est éliminé par filtration et le filtrat est recueilli.

- Caractérisation

- RMN du ^{13}C

Le spectre RMN du ^{13}C de la solution de N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine dans du chloroforme est représenté fig(7). Il laisse apparaître deux singulets à $\delta=45$ et $50,8\text{ppm}$.

Le premier correspond aux atomes de carbone en β de l'azote dans bCEA ($\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$) celui à $\delta=50,8\text{ppm}$ est attribué à ceux en α de l'azote.

- RMN du ^1H

Le tableau (2) suivant regroupe les données RMN du ^1H . Le spectre est représenté figure(8).

$\delta(\text{ppm})$	Multiplicité	$J_{\text{H-H}}(\text{Hz})$	Attributions
1,95	Singulet		$\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$.
2,8	Triplet	5,5	$\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$.
3,49	Triplet	5,5	$\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$.

tableau (2)

155

CHCl₃

100

50

0

δ_{ppm}

Fig 7 : Spectre RMN du ¹³C de HN(CH₂CH₂Cl)₂ dans CHCl₃.

6

4

2

0

δ_{ppm}

Fig 8 : Spectre RMN du ¹H de HN(CH₂CH₂Cl)₂ dans CDCl₃.

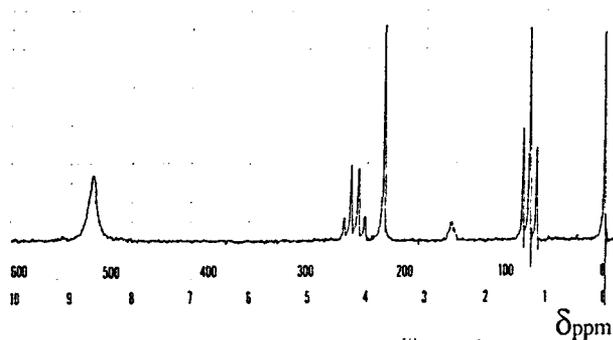


Fig 10 Spectre RMN du ^1H de HCl , $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ dans DMSO-d_6 .

Fig 11: Spectre RMN du ^{13}C de HCl , $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ dans CH_3OH .

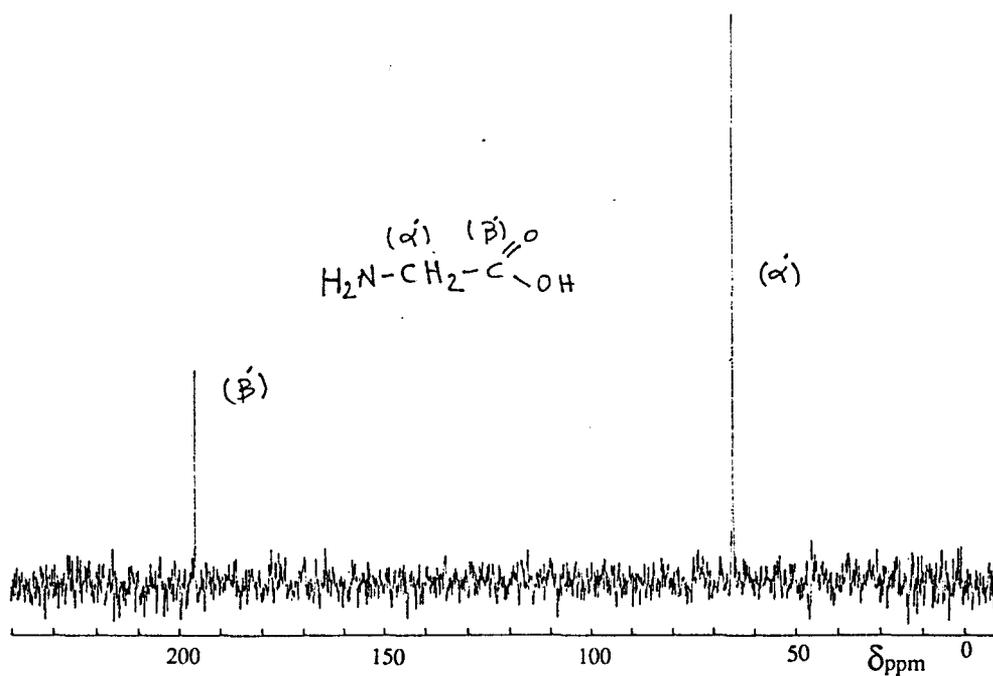
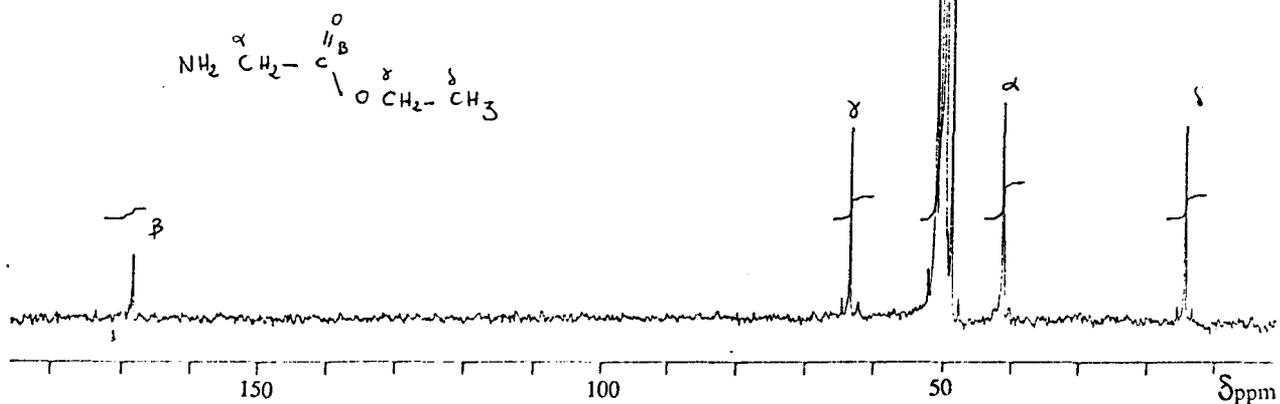


Fig 12 Spectre RMN du ^{13}C de la glycine ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$) dans H_2O .

VI) Tests de biocompatibilité relatifs au composé (XXIV) réalisés par SANOFI.

Polymère	Administration	OBSERVATIONS			
		3 j.	1 sem.	2 sem.	4 sem.
Polyphosphazène (XXIV) [NP(NHCH ₂ C(O)OEt) ₂] _n	Implant s.c.	Légère réaction proliférative.	Légère réaction proliférative non granulomat	R.A.S très légère	R.A.S
		Produit liquide	Produit liquide poche s.c.	Plus de Produit	Plus de Produit

Commentaires

Le polyphosphazène poly[bis(ethylglycino)phosphazène] testé a provoqué, durant la première semaine, une légère réaction proliférative non granulomateuse.

Dès le troisième jour, le produit s'est trouvé sous forme liquide. Après deux semaines, aucune trace de produit n'était détectable.

Le polyphosphazène étudié peut être considéré comme bien toléré localement.

Spectroscopie RMN

Les spectres RMN ont été réalisés pour certains sur un spectromètre Bruker WP80, et WP400 pour d'autres.

Pour le signal de lock, nous avons utilisé soit un capillaire concentrique (8mm pour ^{31}P et ^{13}C) contenant D_2O soit un solvant deutérié (pour ^1H et ^{15}N).

Les déplacements chimiques sont exprimés par rapport à H_3PO_4 85% pour ^{31}P , TMS pour ^1H et ^{13}C et CH_3NO_2 pour ^{15}N .

La convention utilisée est : champ faible δ positif.

Analyse élémentaire.

Les analyses élémentaires ont été faites au service central de microanalyse du CNRS, Vernaison.

Spectroscopie Infrarouge

Les spectres ont été obtenus à partir de films entre faces KBr ou en pastillage sur un spectrophotomètre Bomem Modèle MB100.

Spectrométrie de masse.

les spectres ont été enregistrés pour certains sur un spectromètre NERMAG R10-10B par impact électronique et sur un spectromètre KRATOS CONCEPT II H.H (Manchester) en FAB pour d'autres.

100

Bibliographie.

- 1) J. Emsley, J. Moore, P. B. Udy; J. Chem. Soc. (A) 2863-2864 (1971).
- 2) M. B. Goehring, W. Gehrman and W. Goetze, Z. Anorg. Allg. Chem., 326, 127(1963).
- 3) W. Haubold, M. B. Goehring, Z. Anorg. Allg. Chem., 352, 113 (1967).
- 4) Inv : V. S. Yakubovich, I.V. Lebedeva, A. YA. Yakubovich, N. I. Shvestov; Chem. Abstr. 64, 11397d (1967).
- 5) E. J. Kahler, US Patent 2,925, 320 (1960) Chem. Abstr. 54, 15592, (1958).
- 6) L. P. Zhuravleva, M. A. Grinyuk, A. V. Kirsanov ; Zh. Obshch. Khim., 35(6), 998 (1965).
Chem. Abstr. ,63, 9799f (1965).
- 7) US Patent 3,231,327 (1966) F.M. Corp. Inv. L. Seglin, M. R, Lutz and H. Stange, Chem. Abstr., 64, 10810 (1966)
- 8) L. Riesel, A. Pfützner, E. Herrmann ; Z. Anorg. Allg. Chem., 23, 344 (1983)
- 9) J. Heubel, Y. Hammoutou, R. De Jaeger ; Phosphorus, Sulfur and Silicon, 63, 19-31(1991).
- 10) R. De Jaeger, J. Belky, T. Abou Chakra, J. Heubel; Revue de chimie minérale, 20, 463(1983).
- 11) E. D. Hornbaker and H. M. Li, Brevet US 4198381 (1978).
- 12) N. S. Stokes, Am. Chem. J., 19, 782 (1978).
- 13) H. R. Allcock and R.L. Kugel, Brevet US 3370020 (1968).
- 14) H. R. Allcock, Phosphorus-Nitrogen compounds, Academic Press, New York, (1972).
- 15) R. De Jaeger, M. Heloui and E. Puskaric; Brevet F 2466435 (1981).
- 16) M. Helioui, R. De Jaeger, E. Puskaric and J. Heubel; Makromol. Chem., 183, 113, (1982).
- 17) T. Abou Chakra, R. De Jaeger, Brevet F 2548652 (1985).

