

Nouvelles synthèses d'analogues de la S-adénosyl homocystéine et de la S-adénosyl-méthionine.

M. LEGRAVEREND $\diamond$ et R. MICHELOT.

Institut de Chimie des Substances Naturelles, CNRS, 91190 Gif-sur-Yvette, France.

(23-1-1976).

Summary. — With the aim of studying analogues of *S* adenosyl homocysteine and *S* adenosyl methionine as potential inhibitors of methyl-transferases, we describe the syntheses of such analogues, in which either the amino-acid chain is replaced by various aliphatic radicals of the *N* 6 amino group of adenine is substituted.

INTRODUCTION.

Au cours d'une étude sur la méthylation *in vitro* des RNA de transfert, nous avons été amenés à synthétiser différents composés analogues structuraux de la *S* adénosyl-méthionine (SAM) et de la *S* adénosyl-homocystéine (SAH) [1, 2]. Nous avons eu recours à la synthèse chimique car les enzymes capables de synthétiser la SAH sont généralement trop spécifiques du substrat [3] pour être utilisées dans la synthèse d'analogues structuraux.

Ce travail fait partie d'une étude sur l'inhibition de la méthylation des RNA de transfert par d'autres analogues de la SAH. Les modifications structurales ont été choisies pour compléter une étude de relations structure-activité entre les inhibiteurs et le site de la méthylation suivant un modèle hypothétique de complexe ternaire SAM-enzyme-tRNA [1]. D'ailleurs, depuis nos premiers travaux, des données plus récentes confirment un tel modèle [2, 4, 5].

Nous décrivons dans cet article la synthèse de nouveaux analogues de la SAM et de la SAH, obtenus par une méthode récente, plus rapide et dont les rendements sont généralement plus élevés que ceux des méthodes classiques utilisées jusqu'alors.

Les produits que nous avons synthétisés sont représentés sur la figure 1.

SYNTHESES.

Parmi les méthodes qui permettent d'accéder aux dérivés 5'thio-éthers de l'adénosine, celle de

Baddiley et Jamieson [6] a été largement utilisée [7, 8]. Elle consiste (fig. 2) à faire réagir le thiolate de sodium dans l'ammoniac liquide sur le nucléoside préalablement protégé en 2' et 3' et activé en position 5' par un groupement tosyle. Dans cette méthode, l'intermédiaire de synthèse, le dérivé 2'-3' isopropylidène, 5'-*O*-*p* toluène-sulfonyl-adénosine ne peut pas être conservé car il est instable [6] ; d'autre part, l'hydrolyse en milieu acide de l'isopropylidène entraîne toujours l'apparition de produits de dégradation car la liaison glycosidique est labile en milieu acide [9] et le rendement global est toujours faible (inférieur à 40 p. cent).

Nous avons donc préféré utiliser une nouvelle méthode de synthèse préconisée par Kikugawa et coll. [10] qui est plus rapide (deux étapes), (voir fig. 3) et qui permet d'obtenir directement des produits purs avec un rendement élevé. Le carbone 5' de l'adénosine substituée sur N⁶ est chloré grâce au chlorure de thionyle dans l'hexaméthylphosphotriamide selon la méthode décrite par Kikugawa et Ichino en 1971 [11].

La chloration du carbone 5' de l'adénosine modifiée, sur la base comme les cytokinines [13, 14] (N⁶ diméthyle, N⁶ éthyle, N⁶ isopentyle) et obtenues selon [15], conduit à des produits stables à température ordinaire, ce qui semble indiquer que la méthode de Kikugawa est généralisable. Quant à la synthèse des méthyl-sulfoniums, elle a été réalisée en utilisant une modification de la méthode de Baddiley et Jamieson [12] où nous avons remplacé l'anion associé I⁻ par un anion perchlorate volumineux et non réactif car peu nucléophile, et qui permet en outre d'obtenir un sel facilement cristallisable.

$\diamond$ A qui toute correspondance doit être adressée.

DESCRIPTION DES EXPERIENCES.

MATÉRIEL ET MÉTHODES.

Méthodes. — Les chromatographies analytiques sur couche mince de cellulose ont été réalisées sur plaque F « Merck » (voir texte pour le solvant utilisé). Les chromatographies analytiques sur couche mince de silice ont été réalisées sur pla-

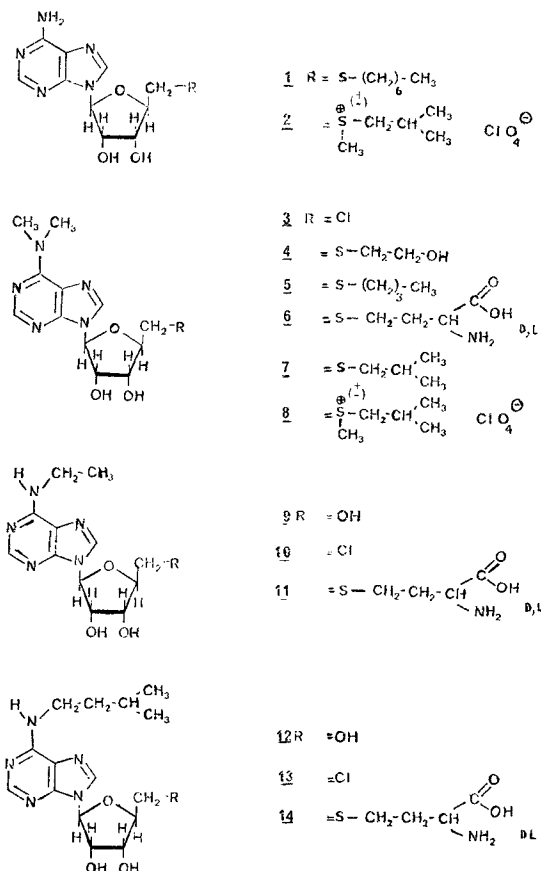


FIG. 1. — Analogues structuraux de la SAM et de la SAH ; 1 : 5'-déoxy-5'-S-heptyladénosine ; 2 : 5'-déoxy-5'-S méthyl-isobutyladénosine (perchlorate) ; 3 : N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-chloro-adénosine ; 4 : N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S éthanol adénosine ; 5 : N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S butyladénosine ; 6 : N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S DL-homocystéine adénosine ; 7 : N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S isobutyladénosine ; 8 : N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S méthyl, isobutyladénosine (perchlorate) ; 9 : N⁶ éthyl adénosine ; 10 : N⁶ éthyl-5'-déoxy-5'-chloro adénosine ; 11 : N⁶ éthyl-5'-déoxy-5'-DL homocystéine adénosine ; 12 : N⁶ isopentyl adénosine ; 13 : N⁶ isopentyl-5'-déoxy-5'-chloro adénosine ; 14 : N⁶ isopentyl-5'-déoxy-5'-S-DL homocystéine adénosine.

ques F 1500 LS 254 (Carl Schleicher et Schüll). Les plaques sont révélées sous lumière UV et/ou par pulvérisation d'une solution alcoolique de ninhy-

BIOCHIMIE, 1976, 58, n° 6.

drine, si la molécule comporte un groupement acide-aminé. Les spectres d'absorption ultraviolette ont été établis sur un spectrophotomètre « Gilford 240 ». Les pouvoirs rotatoires ont été

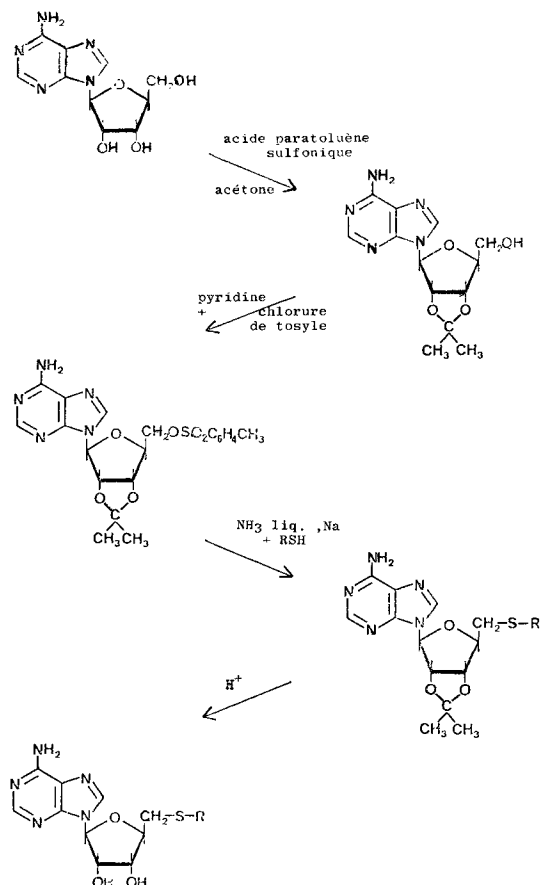


FIG. 2. — Synthèse des 5' thioéthers de l'adénosine d'après [6].

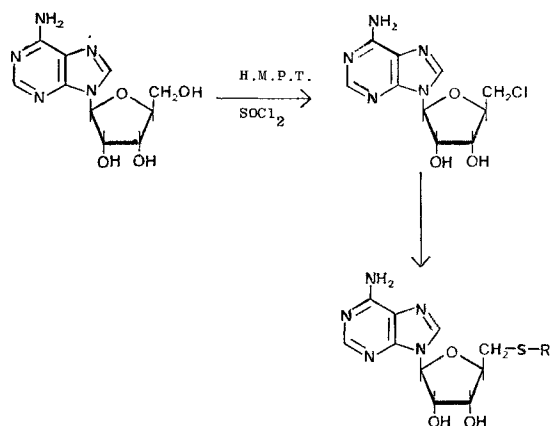


FIG. 3. — Synthèse des 5' thioéthers de l'adénosine d'après [10].

mesurés sur un polarimètre « Quick polarimètre » Roussel-Jouan (série 74417). Les points de fusion ont été déterminés sous microscope Reichert. Les spectres de RMN ont été effectués à 60 MHz sur appareil « Varian T60 ». Les déplacements chimiques, exprimés en ppm, sont comptés à partir de la raie du tétraméthylsilane prise comme référence ; pour les composés 2, 6, 8, 11 et 14 (spectre RMN dans D₂O) la référence est l'acide 3-triméthylsilyl propionique (sel de sodium), (water-soluble TMS). Les spectres de masse ont été enregistrés sur un appareil « MS9 » (AEI). Voir référence [16] pour la nomenclature utilisée dans la description des spectres de masse.

Chloration en 5' des nucléosides (Synthèse A).

A 60 ml d'hexaméthylphosphorotriamide (HMPT) distillé (Eb = 110° sous 20 mm de Hg), on ajoute 15 ml de chlorure de thionyle distillé (Eb = 75-76°). Il se produit un échauffement. Par étude RMN du mélange réactionnel, on observe un déplacement du doublet de HMPT vers les champs forts (pics à 2,73 et 2,57 ppm pour HMPT seul, déplacés à 2,66 et 2,50 ppm pour l'HMPT en présence de SOCl₂). En outre, il apparaît sur le spectre de l'HMPT en présence de SOCl₂, des pics supplémentaires à 2,98 et 2,80 ppm. L'HMPT forme donc très probablement un complexe avec SOCl₂.

Le mélange HMPT-SOCl₂ est refroidi dans la glace puis on ajoute 20 mM de nucléoside (N⁶ diméthyl-adénosine, N⁶ éthyladénosine ou N⁶ isopentyladénosine).

Le mélange réactionnel est agité jusqu'à dissolution complète du nucléoside. Après 24 heures à température ambiante, on ajoute 500 ml d'eau distillée puis le produit est purifié sur résine Amberlite IR 120 (colonne de 70 × 2 cm). La colonne est lavée avec 2 à 3 litres d'eau distillée jusqu'à pH neutre.

Le produit est élué avec une solution d'eau ammoniacale chaude (1 N, 50°C). Après évaporation de l'eau ammoniacale, le produit pur est obtenu par recristallisation à partir du méthanol.

Synthèse des 5'thio-éthers (Synthèse B).

La méthode générale consiste à dissoudre 7 mM de nucléoside chloré en 5' (5'-déoxy-5'-chloro nucléoside) dans 24 ml de NaOH 2N contenant environ 15 mM de thiol (*). Le mélange est chauffé à

(*) Heptanethiol (Eastman organic chemicals) dans le cas de 1 ; 2 mercaptoéthanol (Merck) dans le cas de 4 ; butane thiol (Fluka), cas de 5 ; DL homocystéine thiolactone (Schubart-Munchen) cas de 6, 11 et 14 ; isobutyl-thiol (Aldrich) cas de 7.

reflux dans un bain-marie à 80° pendant 90 minutes puis neutralisé à l'acide acétique et évaporé.

En général le résidu est résolubilisé dans un mélange benzène-éthanol 1/1. On évapore les solvants sous vide (20 mm de Hg). Cette opération recommencée deux ou trois fois permet de sécher le produit et d'enlever la forte odeur de thiol. Le produit pur est obtenu en général après recristallisation à partir de méthanol.

Synthèse des sulfoniums (Synthèse C).

A 2 mmoles de 5'-déoxy-5'-S isobutyl-adénosine pour la synthèse du composé 2 ou de N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S isobutyl adénosine pour la synthèse du composé 8, on ajoute 20 ml d'acide formique, 1,42 g (10 mM) d'ICH₃ et 2 g (10 mM) d'AgClO₄. Le mélange est agité toute la nuit puis on sépare le précipité jaune d'Ag I par filtration sur verre fritté. Ce précipité est lavé avec 10 ml d'HCOOH puis l'acide formique est évaporé à l'évaporateur rotatif (20 mm de Hg). On obtient après évaporation un résidu huileux soluble dans 1 à 2 ml de méthanol. On précipite le sulfonium par addition de 100 à 200 ml d'acétate d'éthyle. Le produit adhère aux parois du ballon. On enlève l'acétate d'éthyle puis le sulfonium est redissous dans 1 ml de méthanol et on le précipite à nouveau avec 100 ml d'acétate d'éthyle. On obtient finalement un précipité du perchlorate de sulfonium très blanc qui n'adhère plus aux parois du ballon. Après séchage du produit sous vide (0,1 mm de Hg), on obtient un produit pur (1 seule tache sur couche mince de cellulose). Ces produits sont hygroscopiques et non volatils, c'est pourquoi il n'a pas été possible d'en faire l'analyse et le spectre de masse. Ils ont été caractérisés par RMN.

Caractéristiques générales des produits.

Elles sont rassemblées dans les tableaux I et II.

5-déoxy-5' S heptyl-adénosine 1.

Voir synthèse B, tableau I et tableau II.

Le produit pur est obtenu après recristallisation à partir de méthanol.

Spectre de RMN dans CDCl₃ + 10 p. cent de DMSO d⁶.

8,24 et 8,43 (2 H ; 2 singulets) H₂ et H₈.
6,4 (2 H ; 1 singulet) : NH₂.
6,07 (1 H ; doublet) H 1'.
4,9 (1 H ; triplet) H 2'.
4,5 (2 H ; multiplet) H 3' et H 4'.
2,96 (2 H ; doublet) H 5'.
2,6 (2 H ; triplet) CH₂ en α du soufre.
1,27 (10 H ; massif) (CH₂)₅.
0,86 (2 H ; triplet) CH₃.

Anal. $C_{17}H_{27}N_5O_3S$.

Calc. C 53, 52 ; H 7, 13 ; N 18, 35.

Tr. C 52, 97 ; H 7, 12 ; N 18, 56.

4,66 ppm (2 H) H 3' et H 4'.

3,9 ppm (2 H ; doublet) CH_25' .3,26 ppm (2 H ; doublet) CH_2 en α du soufre.

TABLEAU I.

Données de la Spectrométrie de Masse.

Produit	B + H	B + 2H	B + 3H	B + 6H	Pic caractéristique	M
1 *	135	136	164	194	282 $[M-(CH_2)_6CH_3]$	381
3 **	163	164	192			313
4 **	163	164	192			355
5 **	163	164	192	222	310 $[M-(CH_2)_4CH_3]$	367
7 **	163	164	192	222		367
10 ***	163	164	192			313
11 ***	163	164	192	222		412
12 ***	205	206	234		248 $[M-89]$	337
13 ****	205	206	234		248 $[M-89]$	355

M : pic moléculaire.

(*) B : adénine.

(**) B : N⁶ diméthyladénine.(***) B : N⁶ éthyladénine.(****) B : N⁶ isopentyladénine.

5'-déoxy-5'-S méthyl, isobutyl adénosine, per-chlorate 2.

Voir synthèse C et tableau II.

Ce produit est hygroscopique et non volatil, c'est pourquoi il n'a pas été possible d'en faire l'analyse et le spectre de masse. Il a été caractérisé par son spectre RMN dans D_2O .

8,5 ppm (2 H ; singulet) H_2 et H_8 non séparés.

6,23 ppm (1 H ; doublet) H 1'.

5 ppm (1 H) H 2'.

2,93 ppm (3 H ; doublet très fin) CH_3 du sulfonium.2,2 ppm (1 H) CH en β du soufre.1,1 ppm (6 H ; multiplet) $(CH_3)_2$ de l'isobutyle.N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-chloro adénosine 3.

Voir synthèse A, tableaux I et II.

Le produit pur est obtenu par cristallisation dans le méthanol.

Anal. $C_{12}H_{16}O_3N_5Cl$ 1/2 H_2O .

TABLEAU II.

Produit	Point de fusion	Méthode de synthèse	Rendement	Chromatographie sur couche mince		Spectre UV (méthanol) $\varepsilon_{\lambda_{max}}$	$[\alpha]_D^{25}$ (méthanol)
				Rf (A)	Rf (B)		
1	159-160°	B	60 p. cent	0,82 (a)		$\varepsilon_{280 \text{ nm}} = 12100$	0° (c = 0,40)
2	Hygroscopique	C	50 p. cent		0,57		
3	153-155	A	60 p. cent	0,55 (a)		$\varepsilon_{276 \text{ nm}} = 19000$	+ 4° (c = 0,10)
4	75-80° puis 137-140°	B				$\varepsilon_{276 \text{ nm}} = 18000$	
5	123-125°	B	45 p. cent	0,25 (a)			
6	157-160°	B	80 p. cent	0,52 (b)		$\varepsilon_{276 \text{ nm}} = 19950$	+ 2° (c = 0,54)
7	134-136°	B	65 p. cent	0,77 (a)	0,47		
8	134-136°	B	90 p. cent	0,77 (a)		$\varepsilon_{276 \text{ nm}} = 19200$	0° (c = 0,32)
9	Hygroscopique	C	50 p. cent		0,86		
10	193-196°	ref [15]	78 p. cent	0,58 (b)			
11	168-170°	A	65 p. cent	0,81 (b)		$\varepsilon_{268-269 \text{ nm}} = 17700$	— 9° (c = 0,18)
12	193-195°	B	85 p. cent		0,28	$\varepsilon_{268-269 \text{ nm}} = 18000$	
13	160°	ref [15]	80 p. cent	0,75 (b)		$\varepsilon_{269 \text{ nm}} = 16700$	— 14° (c = 0,25)
14	75°	A	64 p. cent	0,90 (b)		$\varepsilon_{269 \text{ nm}} = 16300$	
14	82-86°	B	65 p. cent		0,84		

(A) = Rf sur silice : (a) acétate d'éthyle/méthanol 9/1 ; (b) acétate d'éthyle/méthanol 4/1.

(B) = Rf sur cellulose : Ethanol/eau 7/3.

Calc. C 44, 65 ; H 5, 30 ; N 21, 69 ; O 17, 34 ; Cl 10, 98.

Tr. C 44, 64 ; H 5, 40 ; N 21, 58 ; O 17, 80 ; Cl. 11, 11.

N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S éthanol-adénosine 4.

Voir synthèse B, tableaux I et II.

L'échantillon analytique est obtenu après double recristallisation dans le méthanol.

Spectre de RMN dans CD₃OD.

8,3 ppm (2 H ; singulet) H₂ et H₈ non séparés.

6,1 ppm (1 H ; doublet) H 1'.

4,36 ppm (2 H) H 2' et H 3'.

3,63 ppm (3 H) H 4' et CH₂-O.

3,53 ppm (6 H singulet) N⁶ diméthyle.

3,03 ppm (2 H ; doublet) CH₂5'.

2,76 ppm (2 H ; triplet) CH₂ en α du soufre.

Anal. C₁₄H₂₁N₅O₄S, H₂O.

Calc. C 45, 02 ; H 6, 20 ; N 18, 75 ; S 8, 58.

Tr. C 44, 94 ; H 6, 10 ; N 18, 82 ; S 8, 32.

N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S butyladénosine 5.

Voir synthèse B, tableau I et II.

Après évaporation à sec du mélange réactionnel en présence de benzène et d'éthanol, on peut extraire le produit par 100 ml de chloroforme en présence de 100 ml d'eau. La phase aqueuse est lavée deux fois avec 50 ml de chloroforme. Les phases organiques sont jointes, filtrées sur papier Whatman 1 PS, et évaporées sous vide à l'évaporateur rotatif. Le produit sec est soluble dans le méthanol chaud et cristallise à froid (+ 4°C).

Anal. C₁₆H₂₅N₅O₃S.

Calc. C 52, 29 ; H 6, 85 ; N 19, 05.

Tr. C 52, 52 ; H 7, 07 ; N 18, 41.

N⁶ diméthyl 5'-déoxy-5'-S homocystéine adénosine 6.

Voir synthèse B, tableau II.

La cristallisation ne permet pas dans ce cas de séparer les sels (acétate de sodium). Ceux-ci sont donc éliminés sur colonne de résine Amberlite IR 120 (30 × 1 cm). Cette résine a tout d'abord été lavée à l'eau distillée, lavée avec 1 litre d'H₂SO₄ N, puis neutralisée avec 400 ml d'eau distillée.

Le mélange réactionnel sec, dilué dans H₂SO₄ N, est alors déposé sur la colonne et celle-ci est lavée à l'eau distillée jusqu'à neutralité.

L'éluat n'absorbe pas la lumière UV. Ensuite, le produit cherché est élué avec une solution ammoniacale 1 N. On obtient alors après évaporation de l'ammoniac, 1,3 g de produit qui montre une tache principale sur plaque analytique de Silice (éthanol-eau 7/3) de Rf = 0,47. Cette tache absorbe la

lumière UV et est colorée par la ninhydrine. On peut observer aussi une tache qui absorbe faiblement la lumière UV de même Rf que le produit de départ (N⁶ diméthyl-5'-déoxy 5'-chloro-adénosine) qui n'est pas sensible à la ninhydrine. Rf = 0,68.

La colonne de résine Amberlite IR 120 a permis de séparer le produit de l'acétate de sodium. Sur le spectre du produit (D₂O), il n'y a pas de pic caractéristique de CH₃-COO, vers 2 ppm. Une chromatographie sur plaque préparative de silice fournit un produit pur.

Spectre de RMN dans D₂O, pics caractéristiques H₂ et H₈ vers 8,3 ppm ;

H 1' vers 6 ppm.

N⁶ diméthyl à 3,3 ppm.

CH₂5' à 3,1 ppm.

CH₂ en α du soufre (triplet) à 2,83 ppm.

N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S isobutyl adénosine 7.

Voir synthèse B, tableaux I et II.

Sur le spectre de masse (tableau I) on trouve un pic m/e = 222 (B + 60). Ce pic a été trouvé par Eggers [17] dans le spectre de masse de la puromycine comme résultant de la formation de l'ion B CHOH⁺CHOH. Or, dans la puromycine B est aussi la N⁶ diméthyl adénine [17].

Anal. C₁₆H₂₅N₅O₃S.

Calc. C 52,29 ; H 6,85 ; N 19,05 ; O 13,06 ; S 8,72.

Tr. C 52,26 ; H 6,89 ; N 18,77 ; O 13,53 ; S 8,55.

N⁶ diméthyl-5'-déoxy-5'-S méthyl, isobutyl adénosine, perchlorate 8.

Voir synthèse C et le tableau II.

Ce produit est hygroscopique et non volatil comme le produit 2 aussi il a été caractérisé par son spectre RMN dans D₂O.

8,4 ppm (2 H ; 2 singulets rapprochés) H₂ et H₈.

6,23 ppm (1 H ; doublet) H 1'.

5,02 ppm (1 H) H 2'.

4,66 ppm (2 H) H 3' et 4'.

3,93 ppm (2 H ; doublet) CH₂5'.

3,6 ppm (6 H ; singulet) N⁶ (CH₃)₂.

3,33 ppm (2 H ; doublet) CH₂ en α du soufre.

3 ppm (3 H ; doublet fin) CH₃ du sulfonium.

2,2 ppm (1 H ; multiplet) CH en β du sulfonium.

1,06 ppm (6 H ; multiplet) (CH₃)₂ de l'isobutyle.

N⁶ éthyl-adénosine 9.

Sur 5 g (12,1 mM) de 6-chloro-2'-3'-5' triacétyl-9β D-ribofuranosyl purine, dissous dans 10 ml de DMF distillé (Eb = 153°) conservé sur tamis mo-

léculeaire 4Å, on ajoute 2,7 g (60,5 mM) de éthylamine (Prolabo). Le ballon réactionnel est surmonté d'un réfrigérant refroidi par de la neige carbonique pour empêcher l'évaporation de l'éthylamine ($E_b = 16,6^\circ$). Après une nuit, le mélange est évaporé sous vide (20 mm de Hg puis 0,1 mm de Hg) en chauffant à $60-70^\circ$. Puis le produit est dissous dans 100 ml de méthanol saturé d'ammoniac. Après une nuit, on évapore les solvants, et on obtient le produit pur par recristallisation dans le méthanol.

Spectre RMN dans le DMSO D_6 .

8,2 et 8,3 ppm (2 H ; singulet) H_2 et H_8 purine.
7,76 ppm (1 H ; triplet) N^6H purine (échangeable).
5,93 ppm (1 H ; doublet) H_1' ribose.
5,1 à 5,5 ppm (3 H ; massif) 3 OH du ribose.
4,63 ppm (1 H ; quadruplet) H_2' ribose.
3,9 à 4,3 ppm (2 H ; massif des H_3' et $4'$ du ribose).
5,43 à 3,8 ppm (4 H ; massif des H_5' et du CH_2-N^6).
1,2 ppm (3 H ; triplet) CH_3 de N^6 éthyle).

N^6 éthyl-5'-déoxy-5' chloro-adenosine 10.

Voir synthèse A, tableaux I et II.

Le produit pur est séparé du nucléoside de départ qui n'a pas réagi par recristallisation dans le méthanol.

Anal. $C_{12}H_{16}N_5O_3Cl$, H_2O .
Calc. C 43,44 ; H 5,46 ; N 21,11 ; Cl 10,68.
Tr. C 43,30 ; H 5,56 ; N 20,66 ; Cl 10,73.

N^6 éthyl-5'-déoxy-5'-S-DL homocystéine adénosine 11.

Voir synthèse B, tableaux I et II.

D'après le spectre RMN, le produit cherché cristallise dans l'eau (+ 4°) avec 15 p. cent d'acétate de Na. Une chromatographie sur couche mince de cellulose (éthanol-eau 7/3) montre une tache principale (Rf 0,28) qui absorbe la lumière UV et qui est colorée par la ninhydrine, deux taches mineures, dont l'une (Rf 0,80) absorbe la lumière UV mais n'est pas colorée par la ninhydrine, elle correspond au dérivé 5' chloré de départ ; l'autre tache n'absorbe pas la lumière UV mais est révélée par la ninhydrine, elle correspond à une trace d'homocystéine.

Le produit purifié par chromatographie préparative sur papier Whatman n° 17 (éthanol-eau 7/3) à raison de 200 mg par feuille de papier. Le produit purifié sur papier est recristallisé dans l'eau.

BIOCHIMIE, 1976, 58, n° 6.

Spectre de RMN dans D_2O .

8,13 et 8,26 ppm (2 H ; 2 singulets) H_2 et H_8 purine.
6,06 ppm (1 H ; singulet) H_1' .
4,46 ppm (2 H) H_2' et H_3' .
3,95 ppm (1 H) H_4' .
3,53 ppm (2 H ; quartet) CH_2 en α de N^6 .
3,1 ppm (2 H ; doublet) CH_2 en $5'$.
2,8 ppm (2 H ; triplet) CH_2 en α du soufre.
2,33 ppm (2 H) CH_2 en β du soufre.
1,3 ppm (3 H ; triplet) CH_3 en β de N^6 .

Anal. $C_{16}H_{24}N_6O_5S$, H_2O .

Calc. C 44,56 ; H 5,84 ; N 19,69 ; O 22,37 ; S 7,54.

Tr. C 44,64 ; H 6,08 ; N 19,52 ; O 22,29 ; S 7,44.

N^6 -isopentyl-adenosine 12.

A 10 g (24,2 mM) de 6 chloro 2'-3'-5' tri-O-acétyl-9 β D ribofuranosyl purine, dissous dans 15 ml de DMF distillé ($E_b = 153^\circ$) conservés sur tamis moléculaire 4 Å, on ajoute 8,8 g (121 mM) de isopentyl amine (Prolabo). Le ballon réactionnel est surmonté d'un réfrigérant refroidi par de la neige carbonique pour empêcher l'évaporation de l'iso amyl amine. Après deux jours, le mélange est évaporé sous vide (20 mm de Hg puis 0,1 mm de Hg), en chauffant vers 70° . Le produit est alors dissous dans 100 ml de méthanol préalablement saturé par de l'ammoniac. Après une nuit à température ambiante, on évapore le méthanol et l'ammoniac sous 20 mm de Hg et on obtient le produit pur par recristallisation dans le méthanol (Voir tableaux I et II).

Spectre de RMN dans le DMSO d_6 ,

8,2 et 8,3 ppm (2 H ; singulet) H_2 et H_8 purine.
7,76 ppm (1 H ; triplet) N^6H purine.
5,93 ppm (1 H ; doublet) H_1' ribose.
5,1 et 5,5 ppm (3 H ; échangeables) 3 OH du ribose.
4,63 ppm (1 H ; quadruplet) H_2' du ribose.
3,9 à 4,3 ppm (2 H) H_3' et H_4' du ribose.
3,4 et 3,8 ppm (4 H) massif des H_5' et du CH_2-N^6 .
1,56 ppm (3 H) CH_2-CH de l'isopentyle.
0,9 ppm (6 H ; doublet) $(CH_2)_2$ de l'isopentyle.

Anal. $C_{15}H_{23}N_5O_4$.

Calc. C 53,40 ; H 6,87 ; N 20,75 ; O 18,96.

Tr. C 53,52 ; H 7,03 ; N 20,75 ; O 18,82.

N^6 isopentyl-5'-déoxy-5'-chloro adénosine 13.

Voir synthèse A, tableaux I et II.

Spectre de RMN dans le DMSO est le même que celui de N^6 isopentyl adénosine, on observe cependant la disparition des pics du OH $5'$.

Anal. $C_{15}H_{22}N_5O_3Cl$, 1/2 H_2O .

Calc. C 49,38 ; H 6,35 ; N 19,19 ; O 15,34 ; Cl 9,71.

Tr. C 49,59 ; H 6,25 ; N 19,02 ; O 14,85 ; Cl 10,15.

N^6 isopentyl-5'-déoxy-5'-S-DL homocystéine adénosine 14.

Voir synthèse B et tableau II.

On sépare l'acétate de sodium par chromatographie sur colonne de résine Amberlite IR 120 (1 $\times$ 20 cm). Voir, pour préparation de la résine, la synthèse de N^6 diméthyl(5'-déoxy 5'-S homocystéine) adénosine. On obtient un produit débarrassé des sels (pas de pic d'acétate à 2 ppm en RMN).

Rf 0,84 (cellulose éthanol-eau 7/3) (1 seule tache qui absorbe l'UV et est colorable par la ninhydrine).

Spectre de RMN dans D_2O : pics caractéristiques.

H_2 et H_8 vers 8,3 ppm.

$H_{1'}$ à 6 ppm.

$H_{5'}$ à 2,8 ppm.

CH_2 en α du soufre à 2,6 ppm.

$(CH_3)_2$ de N^6 isopentyl à 0,9 ppm (6 H).

RÉSUMÉ.

Nous décrivons la synthèse de quelques analogues de la S adénosyl homocystéine et de la S adénosyl méthio-

nine susceptibles d'inhiber les méthyl transférases. Les modifications portent soit sur le résidu homocystéine en 5' soit sur l'azote N^6 de l'adénine.

BIBLIOGRAPHIE.

1. Hildesheim, J., Blanchard, P. & Michelot, R. (1974) *Experientia*, **30**, 884-886.
2. Michelot, R., Legraverend, M., Farrugia, G. & Lederer, E. (1976) *Biochimie*, **58**, 201-205.
3. Zappia, V., Zydek-Cwick, C. R. & Schlenk, F. (1969) *J. Biol. Chem.*, **244**, 4499-4509.
4. Legraverend, M., Thèse Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay (10 Février 1975).
5. Forrester, P. I. & Hancock, R. L. (1974) *Nature*, **247**, 561-562.
6. Baddiley, J. & Jamieson, G. A. (1954) *J. Chem. Soc.*, 4280-4284.
7. Borchardt, R. T. & Wu, Y. S. (1974) *J. Med. Chem.*, **17**, 862-868.
8. Borchardt, R. T., Huber, J. A. & Wu, Y. S. (1974) *J. Med. Chem.*, **17**, 868-873.
9. Borchardt, R. T. & Wu, Y. S. (1975) *J. Med. Chem.*, **18**, 300-304.
10. Coward, J. K. & Sweet, W. D. (1972) *J. Med. Chem.*, **15**, 381-384.
11. Coward, J. K. & Slisz, E. P. (1973) *J. Med. Chem.*, **16**, 460-463.
12. Schlenk, F. & Zydek-Cwick, C. R. (1969) *Arch. Biochem. Biophys.*, **134**, 414-422.
13. Kikugawa, K., Iisuka, K., Higuchi, Y., Hirayama, H. & Ichino, M. (1972) *J. Med. Chem.*, **15**, 387-390.
14. Kikugawa, K. & Ichino, M. (1971) *Tetrahedron Letters*, 87-90.
15. Baddiley J. & Jamieson, G. A. (1955) *J. Chem. Soc.*, 1085-1089.
16. Fleishysher, M. H. (1972) *J. Med. Chem.*, **15**, 187-191.
17. Wainfan, E. & Landsberg, B. (1971) *FEBS Letters*, **19**, 144-148.
18. Zemlicka, J. & Sörm, F. (1965) *Czechoslov. Chem. Comm.*, **30**, 1880-1889.
19. Biemann & McCloskey, J. A. (1962) *J. Amer. Chem. Soc.*, **84**, 2005.
20. Eggers, S. H., Biedron, S. I. & Hawtrey, A. D. (1966) *Tetrahedron Letters*, 3271-3280.