

Article original

Synthèse et étude dipolométrique de thio-9 acridanones monomères diversement substituées: incidence sur les interactions avec l'ADN

Said AMMOR¹, Pierre BROUANT¹, Anne-Marie GALY¹, Derek SHARPLES²,
Jean-Pierre GALY¹, Jean-Claude SOYFER¹ et Jacques BARBE^{1*}

¹Groupe d'Etudes et de Recherches en Chimie Thérapeutique Organique et Physique,
Faculté de Pharmacie, 27, bd Jean-Moulin, 13385 Marseille cedex 5, France, and

²Department of Pharmacy, University of Manchester, M13 9PL Manchester, England

(Reçu le 28 mai 1986, accepté le 4 décembre 1986)

Résumé — On a préparé une série de dérivés acridiniques nouveaux porteurs en position 2 d'une fonction amine ou amide. Il s'est agi plus précisément de thio-9 acridanones et de thioalkyl-9 acridines. Une étude conformationnelle par diélectrochimie s'accorde avec une pliure des thiones alors que les thioéthers seraient plans. D'autre part, si les thioéthers interagissent avec l'ADN, il n'en est pas de même des thiones. Cependant, la comparaison de ces résultats avec ceux obtenus dans le cas d'un témoin de type acridanone-9 dialkylaminoalkyl substituée laisse à penser que l'absence d'interaction notée chez les thiones étudiées tient plus à l'absence d'azote protonisable extracyclique qu'à une géométrie réellement défavorable.

Summary — Synthesis and dipole moment measurement of diversely substituted 9-thioacridanone monomers: effect on their interactions with DNA. Some 9-thioacridanones and 9-thioalkoxy acridines substituted in position 2 by an amino or an amido group, have been prepared. Molecular geometries have been portrayed by using dipole moment measurements. These determinations showed 9-thioacridanones to be folded molecules, and 9-thioalkoxy acridines to be planar ones. In addition, the former do not interact with DNA, in contrast with the latter. This is presumably due to the lack of extracyclic amino groups capable of being protonated, rather than to the geometrical features, as indicated by the results obtained with a dialkylaminoalkyl-9-acridanone used as the test control.

9-thioacridanones / dipole moments / conformation / intercalation

Introduction

Un des problèmes fondamentaux que l'on doit résoudre si on veut prévoir ou, à défaut, expliquer l'activité biologique des acridiniques est, à coup sûr, celui de la géométrie moléculaire de ces composés. En effet, parmi les modes d'action probables de ces substances, l'interaction avec l'ADN reste un des mécanismes essentiels [1—13]. Deux processus ont été décrits [5,7—10]: une association électrostatique en surface [14] ou une intercalation entre deux paires de bases adjacentes [1]. De ce fait, il est utile de préciser la planéité ou la non-planéité de l'hétérocycle en chiffrant dans l'éventualité de ce dernier cas, l'écart à la planéité. Des travaux ayant déjà été consacrés aux acridanones-9 [15], on s'est intéressé ici aux thioéthers et aux thiones dont le détail est donné sur la Fig. 1.

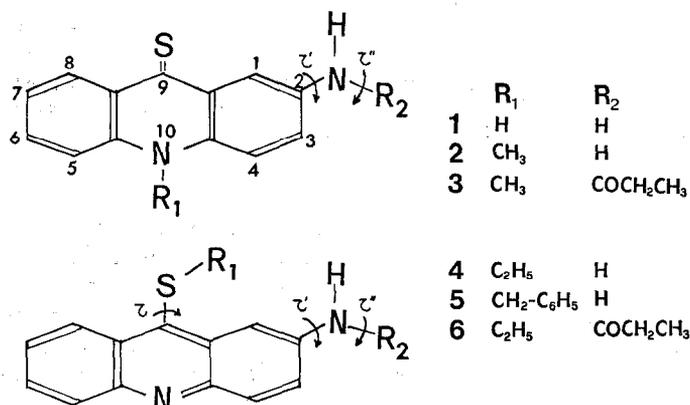


Fig. 1.

*Auteur à qui la correspondance doit être adressée.

L'existence dans ces molécules d'une multiplicité de centres polaires a permis une étude dipolométrique de leur structure.

Résultats et Discussion

On a donc appréhendé les conformations moléculaires des composés sélectionnés en comparant les valeurs mesurées de leur moment dipolaire à des valeurs calculées pour des conformations pré-établies selon une géométrie idéale.

Les valeurs calculées l'ont été par incrémentation vectorielle et par calculs quantiques. Dans le cas des calculs vectoriels, les molécules ont été sectorisées en fragments caractérisés par des moments incrémentiels connus. Les moments sélectionnés ont été les suivants: toluène, 0,40 D [16]; aniline, 1,48 D [16]; diphénylamine, 1,08 D [16]; thiométhylbenzène, 1,29 D [16]; propionamide, 3,73 D [16]; pyridine, 2,34 D [16]; thiobenzophénone, 3,40 D [16]; Csp³—Csp³, 0,07 D [17]; N—CH₃, 0,80 D [18]. De plus, si on a considéré les thioéthers comme des composés plans en raison de l'analogie structurale qu'ils présentent avec l'acridine elle-même, on a, en revanche, successivement considéré les thiones dans un état géométrique plan pliées selon un axe hypothétique C(9)—N(10).

Néanmoins, un calcul préliminaire du moment de **2**, basé sur la seule existence de la forme thione, car ce composé ne peut donner lieu à un éventuel équilibre thione \rightleftharpoons thiol, n'a conduit qu'à des résultats aberrants comme cela ressort du Tableau I.

Tableau I. Moments dipolaires de l'amino-2 méthyl-10 thio-9 acridanone, **2**, calculés par voie incrémentielle dans l'hypothèse d'une forme thione neutre.

μ exp. (D)	μ calculé (D) pour un angle de pliage de :			
	0°	5°	10°	15°
5,25 ± 0,05	2,26	2,59 (I)*	2,98 (I)	3,48 (I)
		2,05 (E)	2,03 (E)	2,24 (E)

* On différencie, en utilisant la convention proposée pour les phénouthiazines [18, 39], les orientations intra (I) et extra (E) dans l'espace du substituant sur N(10) lors de la pliure.

A cela il ne peut y avoir que deux causes possibles: soit une géométrie erronée, soit une incrémentation mal conçue. La simplicité de la molécule n'autorisant guère de choix structuraux, c'est donc la sélection des incréments qui est discutable. On a alors pensé que la divergence pouvait provenir d'une contribution importante d'une structure électromère transannulaire (N⁺S⁻), analogue à celle (N⁺O⁻) déjà constatée chez les acridanones-9 [15]. Dès lors, en l'absence de données précises et compte tenu des analogies dipolométriques souvent soulignées entre thiones et cétones, on a admis pour la structure pyridine-thione-4 la valeur incrémentielle de 6,00 D qui est celle de la pyridinone-4 [19]. Il est d'ailleurs raisonnable de

penser que la participation de formes électromères à moment électrique élevé provoque un effet de nivellement des valeurs des moments de ces deux substances.

Les moments dipolaires mesurés et les moments calculés sont donnés dans les Tableaux II, III et IV.

Tableau II. Moments dipolaires expérimentaux.

Composés	Moments en Debyes (Température)	Solvants
1	5,31 (15° C); 5,31 (25° C);	Dioxane 70 % Méthyl-2 butanol 30 %
	5,16 (35° C); 4,89 (45° C);	
	4,73 (50° C); 4,50 (60° C);	
	4,12 (70° C)	
2	6,56 (35° C); 6,41 (45° C);	Dioxane 95 % Pyridine 5 %
	5,82 (55° C); 5,65 (65° C);	
	5,27 (75° C)	
3	5,42 (37° C)	Dioxane
4	3,50 (15° C); 3,51 (25° C);	Dioxane
	3,44 (35° C); 3,45 (45° C)	
5	3,59 (15° C); 3,64 (25° C);	Dioxane
	3,67 (35° C); 3,43 (45° C);	
	3,48 (55° C); 3,70 (65° C)	
6	4,53 (37° C)	Dioxane

A la lecture de ces tableaux on remarque: (1) qu'il n'y a pas de corrélation entre les moments calculés par incrémentation pour une forme thione de **1** et la valeur du moment expérimental mesuré à température élevée. En revanche, une telle corrélation existe si on considère la valeur expérimentale mesurée à basse température et celle calculée pour une forme thione pliée aux environs de 160°—170° ou si on considère, d'une part, la valeur mesurée à température élevée et, d'autre part, la valeur calculée pour le tautomère thioéther dans une conformation privilégiée telle que 90° < τ < 180°.

Cela implique, en conséquence, à température ordinaire un équilibre où domine largement la forme thione. Il est à noter, par ailleurs, que la géométrie particulière, évoquée pour **1** sous sa forme thioéther, se retrouve pour **4** et **5**.

(2) qu'il existe aussi une bonne corrélation entre la valeur du moment expérimental mesuré à température élevée pour **2** et la valeur calculée pour une forme thione, dont on a déjà dit qu'elle était la seule accessible, pliée aux environs de 160°.

(3) qu'il n'y a pas réellement de géométrie unique pour **3**. On peut imaginer que coexistent toutes les formes envisagées. Néanmoins, il est connu que l'acétanilide, structuralement proche du fragment propionanilide, présente des conformations préférentielles [20] qui sont celles notées ici $\tau' = \tau'' = 0^\circ$ et $\tau' = 180^\circ$, $\tau'' = 0^\circ$. Les valeurs dès lors calculées tant dans l'hypothèse d'une libre rotation du substituant propionamide que dans celle d'un mélange structural restreint aux conformations stables de l'acétanilide en proportions égales, sont reportées dans le Tableau V. Il semble alors que les conformations stables de l'acétanilide puissent se retrouver dans le cas de **3** qui, en outre, serait plié aux environs de 160°—170° avec une orientation intra préférentielle pour la liaison N—CH₃.

Tableau III. Moments dipolaires des thioéthers.

Composés (Moments exp. en D)			Moments calculés *			
Angles de torsion			1 ** (3,60) ***	4 (3,47)	5 (3,60)	6 (4,53)
τ	τ'	τ''				
0	—	—	2,74 (0,95)	2,71 (1,48)	2,64 (1,74)	—
0	0	0	—	—	—	3,28 (2,50)
0	0	180	—	—	—	4,66 (3,30)
0	180	180	—	—	—	3,99 (3,62)
0	180	0	—	—	—	5,25 (4,79)
90	—	—	3,20 (1,91)	3,19 (2,31)	3,18 (2,34)	—
90	0	0	—	—	—	4,36 (4,50)
90	0	180	—	—	—	3,74 (2,98)
90	180	180	—	—	—	3,09 (2,84)
90	180	0	—	—	—	5,63 (4,07)
180	—	—	3,60 (2,49)	3,61 (3,27)	3,62 (3,37)	—
180	0	0	—	—	—	5,22 (5,66)
180	0	180	—	—	—	2,50 (1,05)
180	180	180	—	—	—	1,80 (0,81)
180	180	0	—	—	—	5,99 (5,30)

* A côté des valeurs calculées par incrémentation vectorielle, sont données, entre parenthèses, les valeurs calculées par CNDO/2.

** Il s'agit ici de la forme tautomère thiol.

*** Cette valeur est extrapolée à partir d'une courbe donnant $\mu(\text{exp}) f(T)$.

Tableau IV. Moments dipolaires des thiones.

Composés (Moments exp. en D)			Moments calculés *			
Angle de pliage α	Angles de torsion τ' τ''		Orientation du substituant sur N(10)	1 (3,60) **	2 (5,25) **	3 (5,42)
0	—	—	—	4,85 (3,82)	4,55 (3,77)	—
0	0	0	—	—	—	6,40 (6,36)
0	0	180	—	—	—	7,36 (6,19)
0	180	180	—	—	—	8,11 (5,60)
0	180	0	—	—	—	2,76 (1,46)
5	—	—	I	5,25 (4,06)	4,85 (3,99)	—
5	—	—	E	4,54 (3,54)	4,39 (3,51)	—
5	0	0	I	—	—	6,66 (6,54)
5	0	0	E	—	—	6,26 (6,13)
5	0	180	I	—	—	7,46 (6,32)
5	0	180	E	—	—	7,18 (6,04)
5	180	180	I	—	—	8,22 (5,73)
5	180	180	E	—	—	7,93 (5,36)
5	180	0	I	—	—	3,20 (1,78)
5	180	0	E	—	—	2,60 (1,24)
10	—	—	I	5,69 (4,24)	5,22 (4,15)	—
10	—	—	E	4,35 (3,22)	4,37 (3,24)	—
10	0	0	I	—	—	6,99 (6,68)
10	0	0	E	—	—	6,26 (5,92)
10	0	180	I	—	—	7,49 (6,39)
10	0	180	E	—	—	6,96 (5,80)
10	180	180	I	—	—	8,25 (5,80)
10	180	180	E	—	—	7,71 (5,11)
10	180	0	I	—	—	3,77 (2,07)
10	180	0	E	—	—	2,78 (1,03)
15	—	—	I	6,24 (4,37)	5,75 (4,27)	—
15	—	—	E	4,31 (2,88)	4,53 (2,92)	—
15	0	0	I	—	—	7,35 (6,79)
15	0	0	E	—	—	6,38 (5,69)
15	0	180	I	—	—	7,43 (6,40)
15	0	180	E	—	—	6,71 (5,44)
15	180	180	I	—	—	8,21 (5,81)
15	180	180	E	—	—	7,46 (4,90)
15	180	0	I	—	—	4,35 (2,33)
15	180	0	E	—	—	3,20 (0,82)

* A côté des valeurs calculées par incrémentation vectorielle, sont données, entre parenthèses, les valeurs calculées par CNDO/2.

** Ces valeurs sont extrapolées à partir des courbes donnant $\mu(\text{exp}) f(T)$.

Tableau V. Moments dipolaires de la propionamido-2 méthyl-10 thio-9 acridanone, **3**, pour des valeurs particulières des angles de torsion et de pliage.

Angle de pliage α	0°	5° (I)	5° (E)	10° (I)	10° (E)	15° (I)	15° (E)
Angles de torsion (0°)							
τ' τ''							
180 0	4,93 *	5,23 *	4,73 *	5,62 *	4,84 *	6,04 *	5,05 *
0 0							
Libre rotation	6,49	6,67	6,33	6,84	6,22	6,99	6,16

* Les moments ont été calculés pour un mélange en parts égales des deux conformères considérés.

(4) qu'une position privilégiée, caractérisée par $\tau = \tau' = 0^\circ$, $\tau'' = 180^\circ$, soit à retenir pour **6**. Cependant, on ne peut *a priori* écarter l'éventualité d'une libre rotation des substituants ce qui implique les calculs complémentaires présentés dans le Tableau VI.

Tableau VI. Moments dipolaires de la propionamido-2 thioéthoxy-9 acridine, **6**, pour des valeurs particulières des angles de torsion.

Angle de torsion ζ (°)		0	90	180	Libre rotation
Angles de torsion (°)					
ζ'	ζ''				
180	0	5,25 (4,79)*	5,63 (4,07)	5,99 (5,30)	5,63 (4,74)
180	180	3,99 (3,62)	3,09 (2,84)	1,80 (0,81)	3,09 (2,70)
0	180	4,66 (3,30)	3,74 (2,98)	2,50 (1,05)	3,74 (2,64)
0	0	3,28 (2,50)	4,36 (4,50)	5,22 (5,66)	4,36 (4,42)
Libre rotation		4,36 (3,65)	4,31 (3,67)	4,26 (3,93)	4,31 (3,74)
180	0	4,38 (3,82)**	5,04 (4,29)	5,62 (5,48)	5,04 (4,58)
0	0				

* A côté des valeurs calculées par incrémentation vectorielle, sont données, entre parenthèses, les valeurs calculées par CNDO/2.

** Les valeurs ont été calculées pour un mélange en parts égales des deux conformères considérés.

Des valeurs qui y figurent, on déduit le peu de probabilité d'une libre rotation générale mais la possibilité d'une libre rotation affectant l'un ou l'autre des substituants en position 2 ou 9. On déduit aussi de ce tableau la possibilité de ne trouver que des structures privilégiées, telles celle déjà mentionnée ou celle caractérisée par $\tau = 90^\circ$, $\tau' = \tau'' = 0^\circ$. On déduit enfin de ce tableau la probabilité d'un mélange structural analogue à celui décrit pour **3** et dans lequel le substituant S—R serait orienté dans le quadrant $0^\circ < \tau < 90^\circ$ si on considère les calculs vectoriels ou orienté dans le quadrant $90^\circ < \tau < 180^\circ$ si on considère les calculs quantiques. Cependant, ce dernier résultat doit être pris avec prudence sachant la surestimation systématique des moments dipolaires par la CNDO/2 [21]. Quoi qu'il en soit, en fait, ces résultats sont tous deux compatibles avec la conjugaison d'un des doublets du soufre et du nuage π de l'hétérocycle.

Quelques points doivent être soulignés dans l'étude diélectrique: (1) le choix de l'incrément pyridinethione-4

qui repose sur l'existence d'une interaction transannulaire; (2) l'existence d'un mélange thione—thiol dans le cas du composé **1**; (3) la prise en considération du seul tautomère amine chez ces amino-2 acridiniques.

On a cherché à savoir s'ils pouvaient être confirmés ou infirmés par spectroscopie infrarouge. Ainsi, pour ce qui concerne le premier de ces points, la grande intensité, chez les thiones et non chez les thioéthers, de la bande comprise entre $1\ 215\text{ cm}^{-1}$ et $1\ 255\text{ cm}^{-1}$ [1: $1\ 255\text{ cm}^{-1}$ (TF); 2: $1\ 240\text{ cm}^{-1}$ (TF); 3: $1\ 235\text{ cm}^{-1}$ (F); 4: $1\ 250\text{ cm}^{-1}$ (f); 5: $1\ 225\text{ cm}^{-1}$ (m); 6: $1\ 215\text{ cm}^{-1}$ (f)] suggère la participation des formes électromères déjà envisagées et ce à cause de l'hyperchromie due à un moment de transition qui augmente avec la polarisation, comme cela a d'ailleurs été montré dans le cas de l'ion acridinium [22]. D'autre part, on note chez les thiones des bandes d'absorption [2: $1\ 565\text{ cm}^{-1}$ (TF), $1\ 190\text{ cm}^{-1}$ (TF), 980 cm^{-1} (TF); 3: $1\ 565\text{ cm}^{-1}$ (TF), $1\ 195\text{ cm}^{-1}$ (TF), 990 cm^{-1} (F)] auxquelles contribuerait fortement la vibration de valence C=S [23,24] alors que la bande d'absorption proche de 700 cm^{-1} [4: 695 cm^{-1} (m); 5: 705 cm^{-1} (m); 6: 695 cm^{-1} (TF)] correspondrait à la vibration de valence C—S [25,26] des thioéthers. La présence simultanée de ces vibrations [$1\ 565\text{ cm}^{-1}$ (TF); $1\ 190\text{ cm}^{-1}$ (TF); 980 cm^{-1} (TF); 705 cm^{-1} (f)] laisse à penser qu'il doit y avoir dans le composé **1** et dans les conditions de l'expérience, un équilibre thione \rightleftharpoons thiol. Enfin, la bande $\delta\text{ NH}_2$ [1: $1\ 620\text{ cm}^{-1}$ (F); 2, 4, 5: $1\ 630\text{ cm}^{-1}$ (F)] implique, en accord avec des travaux antérieurs consacrés aux monoaminoacridiniques [27], la présence de la seule forme amine primaire aromatique.

La question est alors de savoir si les différences structurales qui viennent d'être soulignées entre les thiones et les thioéthers ont une répercussion sur le comportement biologique de ces substances. Du Tableau VII, il ressort que les thiones, qu'elles soient ionisées comme **1** et **2** ou non comme **3**, dans les conditions de l'expérience, n'auraient aucune affinité pour l'ADN. En revanche, il n'en serait pas de même pour les thioéthers **4** et **5** qui interagiraient fortement, les constantes de liaison étant sensiblement les mêmes chez l'un et l'autre de ces composés.

Pour ce qui est de **6**, l'affinité n'a pu être mesurée bien qu'une interaction soit probable à cause d'une diminution de la fluorescence de cette substance en présence d'un excès d'ADN. Il semble, par conséquent, que l'estérification de la fonction amine extracyclique modifie la phase de stabilisation de l'édifice ligande—acide nucléique.

Tableau VII. Données physicochimiques relatives à l'interaction avec l'ADN.

Composé	1	2	3	4	5	6	T*
pK _a	4,70	4,75	—	5,88	5,88	5,60	—
Ionisation (%)	20	20	0	90	90	80	—
Déplacement spectral (nm)	0	0	0	60	80	0	2
Constante d'affinité ($\times 10^5$)	0	0	0	10,84	11,15	**	9,62
Points isobestiques (nm)	—	—	—	395 510	420	—	—
N° de sites de liaison par mol d'ADN	0	0	0	0,2	0,3	**	0,2

* Le témoin choisi est la (diméthylamino-3'propyl)-10 acridanone-9. Les essais ont été pratiqués sur des solutions dans un tampon NaCl 0,05 M — Tris 0,008 M de pH 7,0.

** Ces grandeurs sont trop faibles pour pouvoir être mesurées.

Dans ces conditions, il pourrait paraître acquis que l'écart, même faible, à la planéité est suffisant pour prévenir toute interaction. De fait, il semble qu'il n'en soit rien, à considérer le témoin acridonique qui, possédant une géométrie du cycle voisin [15] mais avec un azote protoné extracyclique, interagit sensiblement comme les thioéthers. Cependant, la présence de points isobestiques dans les spectres obtenus avec les thioéthers 4 et 5 témoigne d'un processus d'intercalation [28] qui ne semble pas être celui des acridanones et donc des thiones.

Conclusion

Des études tant conformationnelle que biologique qui viennent d'être rapportées, on peut conclure qu'il existe chez les thioacridoniques témoins: (1) un équilibre thione—thiol lorsque, bien sûr, une telle tautomérie est chimiquement possible; (2) une plèvre des thiones aux environs de 160°—170°; (3) une planéité des thioéthers; (4) une conjugaison entre un des doublets libres du soufre et le nuage π de l'hétérocycle qui impose dans les thioéthers une orientation particulière au substituant S—R; mais que, (5) les différences structurales n'ont qu'une incidence minime sur l'interaction de ces substances avec l'ADN encore qu'elles semblent l'orienter vers l'un ou l'autre des processus déjà décrits.

Protocoles expérimentaux

Synthèses

Amino-2 thio-9 acridanone, 1

La thiation de l'amino-2 acridanone [29—31] est pratiquée selon le protocole décrit par Smolders et coll. [32].

On porte à reflux sous agitation pendant 2 h un mélange de 2,1 g d'amino-2 acridanone (10 mmol), 2,22 g de décalsulfure de tétraphosphore (10 mmol) et 30 cm³ d'hexaméthylphosphotriamide. On verse ensuite le mélange dans 450 cm³ d'eau froide. On obtient un précipité rouge brique qui est lavé plusieurs fois à l'eau puis recristallisé dans le méthanol.

Rdt % = 82; F° C = 242. ¹³C RMN DMSO-d₆, δ ppm = 108,64(C1); 145,05(C2); 125,33(C3); 119,87(C4); 118,34(C5); 132,18(C6); 122,25(C7); 129,77(C8); 191,00(C9); 128,47(C11); 130,85(C12); 134,89(C13); 128,36(C14).

Amino-2 méthyl-10 thio-9 acridanone, 2

On traite selon le protocole précédent l'amino-2 méthyl-10 acridanone [33, 34].

Rdt % = 70; F° C = 194. ¹³C NMR DMSO-d₆, δ ppm = 110,01(C1); 144,66(C2); 124,83(C3); 116,44(C4); 117,50(C5); 132,66(C6); 121,77(C7); 130,58(C8); 194,15(C9); 129,39(C11); 131,70(C12); 136,37(C13); 129,89(C14); 34,57(CH₃—N).

Propionamido-2 méthyl-10 thio-9 acridanone, 3

On dissout à chaud sous agitation 2,40 g de 2 (10 mmol) dans 50 cm³ de pyridine. On ajoute progressivement 0,88 cm³ de chlorure de propionyle (10 mmol). On laisse sous agitation pendant 1 h. On verse le mélange dans 200 cm³ d'eau. On recueille un précipité rouge qui est lavé plusieurs fois par de l'éthanol chaud.

Rdt % = 78; F° C = 154. ¹H RMN ATFA-d, δ ppm = 8,90(m, 2H); 8,75(m, 2H); 8,55(m, 2H); 8,15(m, 1H); 5,05(s, 3H); 2,75(qd, 2H); 1,40(t, 3H).

Amino-2 thioéthoxy-9 acridine, 4 et amino-2 thiobenzoyloxy-9 acridine, 5

On porte à reflux sous agitation pendant 1 h un mélange formé de 20 mmol d'halogénure d'alkyle additionné de 2,26 g de 1 (10 mmol), 2,13 g de bromure d'éthyle (20 mmol), 056 g de chlorhydrate de triéthylbenzyl ammonium (2,5 mmol), 150 cm³ de toluène et 75 cm³ d'une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium à 50 %. Après séparation de la phase organique, lavage à l'eau et séchage sur sulfate de sodium anhydre, on évapore le solvant et on recueille un résidu coloré qui est recristallisé dans l'éthanol.

Amino-2 thioéthoxy-9 acridine, 4 Rdt % = 65; F° C = 134. ¹H RMN ATFA-d, δ ppm = 9,70(m, 1H); 9,10(m, 1H); 8,35(m, 4H); 8,05(m, 1H); 3,55(qd, 2H); 1,40(t, 3H).

Amino-2 thiobenzoyloxy-9 acridine, 5 Rdt % = 68; F° C = 192. ¹H RMN ATFA-d, δ ppm = 9,55(m, 1H); 9,00(m, 1H); 8,30(m, 4H); 7,95(m, 1H); 7,00(m, 3H); 6,80(m, 2H); 4,50(sm, 2H).

Propionamido-2 thio-9 acridanone

On dissout à froid en agitant 2,26 g de 1 (10 mmol) dans 150 cm³ de pyridine. On ajoute goutte à goutte 0,52 cm³ de chlorure de propionyle (6 mmol) et on porte à reflux pendant 2 h. On étend la solution avec 200 cm³ d'eau distillée. On recueille un précipité qui est recristallisé dans l'éthanol.

Rdt % = 70; F° C = 345. ¹³C RMN ATFA-d, δ ppm = 121,45(C1); 140,07(C2); 137,04(C3); 116,45(C4); 127,54(C5); 140,61(C6); 134,88(C7); 130,89(C8); SNO(C9); 127,75(C11); 137,04(C12); 139,02(C13); 127,75(C14); 180,81(C1''); 32,21(C2''); 10,21(C3'').

Propionamido-2 thioéthoxy-9 acridine, 6

1^{er} procédé. On dissout 1,27 g de 4 (5 mmol) dans 15 cm³ de pyridine. On ajoute goutte à goutte 0,44 cm³ de chlorure de propionyle. On laisse sous agitation à température ordinaire pendant 2 h. On étend la solution par 200 cm³ d'eau. On recueille un précipité jaune-vif qui est recristallisé dans l'éthanol.

Rdt % = 72; F° C = 179—181. ¹H RMN ATFA-d, δ ppm = 9,60(m, 1H); 9,05(m, 1H); 8,25(m, 4H); 7,85(m, 1H); 3,40(qd, 2H); 2,65(qd, 2H); 1,35(t, 3H); 1,25(t, 3H).

2° procédé. On porte à reflux pendant 3 h un mélange formé de 1 g de propionamido-2 thio-9 acridanone (3,5 mmol), 0,30 cm³ de bromure d'éthyle (4 mmol), 120 cm³ de butanone et 60 cm³ d'une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium à 50 %. On filtre avant d'étendre le milieu avec 300 cm³ d'eau bouillante. Un précipité jaune se forme au cours du refroidissement. Il est recristallisé dans l'éthanol. Rdt % = 73; F°C = 179—181.

Etude conformationnelle

La pureté des produits a été vérifiée par chromatographie liquide haute performance en gradient de solvants. Les conditions initiales étaient méthanol (Carlo Erba RS-ACS) 80%—eau bidistillée 20%. Les conditions finales après 5 min avec un débit de 1,5 ml·min⁻¹, étaient méthanol 100%. On a utilisé un système formé d'une pompe M45 Waters Assoc. couplée avec une pompe M6000A Waters Assoc., un injecteur U6K Waters Assoc., un détecteur UV CE212 Cecil calé sur 254 nm, un enregistreur intégrateur Data Module Millipore et une colonne C18 μ -bondapack de 25 cm.

Diélectrochimie

Les mesures de permittivité et d'indice de réfraction ont respectivement été effectuées à l'aide d'un dipolmètre WTW DMO1 équipé d'une cellule DFL1 et d'un réfractomètre d'Abbe OPL à prismes interchangeables. La thermostatisation des appareils de mesure a été faite par circulation d'eau (ultrathermostat Haake) pour les températures inférieures à 45°C et par circulation de glycérine (ultrathermostat Lauda) pour les températures supérieures.

Les moments dipolaires ont été mesurés pour des solutions dans différents systèmes de solvants. Les permittivités et les indices de réfraction ont été extrapolés à dilution infinie selon les méthodes de Guggenheim [35] et Smith [36].

Spectrophotométrie infrarouge

Les spectres ont été enregistrés à température ambiante sur un spectrophotomètre Perkin—Elmer 157. On a opéré après pastillage dans le KBr.

Calculs quantiques

On a utilisé le programme CNDO/2 QCPE 91 avec une résolution de l'équation séculaire modifiée par L. Bouscasse.

Les longueurs de liaisons et les angles retenus pour les géométries idéales étudiées sont: C_{arom}—C_{arom} = 1,40 Å; C_{sp2} = N_{sp2} = 1,40 Å; C_{sp2}—N_{sp3} = 1,40 Å; C_{sp3}—N_{sp3} = 1,47 Å; C_{sp2} = S = 1,70 Å; C_{sp2}—S = 1,78 Å; C_{sp3}—S = 1,82 Å; C = O = 1,22 Å; N_{sp3}—H = 1,01 Å; C_{sp3}—H = 1,09 Å; C_{sp2}—H = 1,08 Å; C_{sp3}—C_{sp3} = 1,54 Å; C_{sp3}—C_{sp2} = 1,52 Å; angles des liaisons autour d'un atome sp² = 120° et angles des liaisons autour d'un atome sp³ = 109,47°.

Interaction avec l'ADN

La liaison des substances avec l'ADN a été étudiée par déplacement spectral et titration spectrophotométrique.

Déplacement spectral

On a préparé quatre solutions d'acridiniques à la concentration de 2.10 mol·l⁻¹ dans un tampon acide citrique 0,00865 mol·l⁻¹, phosphate acide de disodium 0,018 mol·l⁻¹ de pH = 5,0. Dans ces solutions on a ajouté des quantités variables d'ADN de telle sorte que le rapport ADN/ligand soit, *in fine*, de 0, 5, 10 et 15. On a comparé les spectres de ces solutions dans la zone du maximum d'absorption (350—550 nm) au moyen d'un spectrophotomètre Cecil CE 202. Le pH 5,0 retenu est dû à la nécessité d'opérer avec des ligands ionisés. On a vérifié sur un témoin (amino-3 thio-9 acridanone) que cette valeur de pH n'avait pas d'incidence majeure sur la liaison avec l'ADN.

Titration spectrophotométrique

On a préparé dans le même tampon que ci-dessus, des solutions d'acridiniques à 5.10⁻⁵ mol·l⁻¹. A un volume précis de ces solutions (3 cm³),

on a ajouté des fractions connues d'une solution d'ADN de concentration 1 mg·ml⁻¹. Après chaque addition et équilibrage de 2 min, on a mesuré le coefficient d'absorption molaire de mélange. La fraction x de ligand lié se calcule par la relation $x = (\epsilon_1 - \epsilon_{\text{obs}})/(\epsilon_1 - \epsilon_i)$ [37] dans laquelle ϵ_1 représente le coefficient molaire d'absorption du ligand libre; ϵ_i le coefficient d'absorption molaire du ligand lié et ϵ_{obs} le coefficient molaire d'absorption observé. ϵ_i est déterminé par extrapolation de la courbe donnant $\epsilon_{\text{obs}} f([\text{ligand}]/[\text{ADN}])$. Les mesures ont été pratiquées sur un spectrophotomètre Pye—Unicam SP1750 à la température constante de 25°C. Les paramètres de liaison: constante d'affinité et nombre de sites, ont été ultérieurement calculés par la méthode de Scatchard [38].

Références

- Lerman L. S. (1961) *J. Mol. Biol.* 3, 18
- Lerman L. S. (1963) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 49, 94
- Waring M. J. (1965) *J. Mol. Biol.* 13, 269
- Muller W. & Crothers D. M. (1968) *J. Mol. Biol.* 35, 35
- Blake A. & Peacock A. R. (1968) *Biopolymers* 6, 1225
- Gilbert M. & Claverie P. (1968) *J. Theoret. Biol.* 18, 330
- Bradley D. F. & Lifson F. (1968) *Mol. Assoc. Biol. Proc. Intern. Symp.* (1967) (Pullman B., ed.), Acad. Press, New York, p. 261
- Jordan D. O. *Ibid.* p. 221
- Gilbert M. & Claverie P. *Ibid.* p. 245
- Li H. J. & Crothers D. M. (1969) *J. Mol. Biol.* 39, 461
- Muller W. & Crothers D. M. (1975) *Eur. J. Biochem.* 54, 267
- Georghiou S. (1977) *Photochem. Photobiol.* 26, 59
- Robbie M. & Wilkins R. J. (1984) *Chem. Biol. Interactions* 49, 189
- Peacock A. R. & Skerrett J. N. (1956) *Trans. Faraday Soc.* 52, 261
- Galy A. M., Barbe J., Galy J. P. & Lanza J. P. (1981) *Farmaco Ed. Sci.* 36, 38
- Mc Clellan A. L. (1974) *Tables of Experimental Dipole Moments* Rahara Enter., El Cerrito, pp. 999
- Barbe J., Galy J. P. & Hurwic J. (1971) *C. R. Acad. Sci. Paris* 273C, 98
- Levayer C., Galy A. M. & Barbe J. (1980) *J. Pharm. Sci.* 69, 116
- Leis D. G. & Curran B. C. (1945) *J. Am. Chem. Soc.* 67, 79
- Brown C. J. & Corbridge D. E. (1954) *Acta Crystallogr.* 7, 711
- Ferre Y., Faure R. & Vincent E. J. (1972) *J. Chim. Phys.* 69, 861
- Brigodiot M. & Lebas J. M. (1972) *J. Chim. Phys.* 69, 964
- Spinner E. (1960) *J. Chem. Soc.* 1237
- Rao C. N. & Venkataraghavan R. (1962) *Spectrochim. Acta* 18, 541
- Trotter J. F. & Thompson H. W. (1946) *J. Chem. Soc.* 481
- Sheppard N. (1950) *Trans. Faraday Soc.* 46, 429
- Acheson R. M. (1973) *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Vol. 9, The Acridines.* J. Wiley & Sons, New York, pp. 666
- Waring M. J. (1972) *The Molecular Basis of Antibiotic Action* (Gale E. F., Cundliffe E., Waring M. J., Reynolds P. E. & Richmond M. H., eds.), Wiley-Interscience, New York, pp. 224
- Ullman F. & Kipper H. (1907) *Ann. Chem.* 355, 342
- Albert A. & Linnell W. H. (1936) *J. Chem. Soc.* 88, 1618
- Villemey L. (1950) *Ann. Chim.* 5, 570
- Smolders R. R., Hanuise J., Coomans R., Proietto V., Voglet N. & Waefelaer A. (1982) *Synthesis* 493
- Glen K. & Schubert A. (1940) *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 73, 757
- Cain B. F., Atwell G. J. & Denny W. A. (1976) *J. Med. Chem.* 19, 722
- Guggenheim E. A. (1949) *Trans. Faraday Soc.* 45, 714
- Smith J. W. (1950) *Ibid.* 46, 394
- Double J. C. & Brown J. R. (1975) *J. Pharm. Pharmacol.* 27, 502
- Scatchard G. (1949) *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 51, 660
- Malrieu J. P. & Pullman B. (1964) *Theoret. Chim. Acta* 2, 293