

Synthèse et propriétés biologiques photoinduites de dioxinocoumarines linéaires

Gérald GUILLAUMET¹, Mohamed HRETANI¹, Gérard COUDERT², Dietrich AVERBECK³ et Simone AVERBECK³

¹Laboratoire de Chimie Bio-Organique et Analytique, Université d'Orléans, BP 6759, 45067 Orléans Cédex 2;

²Laboratoire de Biochimie Pharmacologique, Université de Nancy I, CNRS UA 597, 30, rue Lionnois, 54000 Nancy;

³Service de Radiologie et Génétique, Institut Curie, Section de Biologie, CNRS, UA 237, 26, rue d'Ulm, 75231 Paris Cédex 05, France

(Reçu le 28 octobre 1988; accepté le 21 juin 1989)

Résumé — Diverses dioxinocoumarines, substituées ou non sur le motif coumarinique, ont été synthétisées à partir de l' amino-6 benzodioxanne-1,4-commercial. Parmi les dérivés, la 5H [2] benzopyranno [3,4-g] benzodioxinne-1,4 one-5 exerce, sous irradiation UV, dans des essais qualitatifs d'inhibition de croissance de la levure *Saccharomyces cerevisiae* des effets situés entre ceux observés pour le 8-MOP et l'angélicine; la méthyl-9 7H-pyranno [2,3-g] benzodioxinne-1,4 one-7 s'avère, pour sa part, légèrement moins active que l'angélicine.

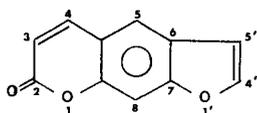
Summary — **Synthesis and photoinduced biological properties of linear dioxinocoumarins.** Several dioxinocoumarins with a substituted or unsubstituted coumarin moiety were synthesized from commercially available 6-amino-1,4-benzodioxan. Qualitative assays on the photoinduced inhibition of growth in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* indicate that two dioxinocoumarins are photobiologically active.

The 5H- [2] benzopyrano [3,4-g] [1, 4] benzodioxin-5-one **1d** is more active than angelicin but less active than 8-MOP. The 9-methyl-7H-pyrano [2,3-g] [1, 4] benzodioxin-7-one **1c** is slightly less active than angelicin.

dioxinocoumarins / photobiological activity / photosensitization / *Saccharomyces cerevisiae* yeast

Introduction

Les furocoumarines linéaires, nommées psoralènes [1–3] constituent une famille d'agents photobiologiques qui a fait l'objet jusqu'à ce jour d'un nombre considérable de travaux. Les psoralènes sont en effet des substances utilisées en photochimiothérapie pour le traitement de diverses maladies de la peau: psoriasis [4], vitiligo [5] et mycosis fongoides [6].



Psoralène

L'activité biologique de ces dérivés a été attribuée à leur réactivité, sous irradiation (UVA), avec les acides nucléiques. Il a été montré que cette photoréaction met

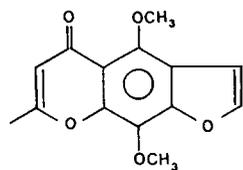
en jeu la double liaison 5, 6 des bases pyrimidiques et les doubles liaisons 3, 4 et 4', 5' des psoralènes pour conduire à la formation de mono et / ou de biadduits [7, 8]. L'existence de monoadduits provient de l'établissement de liaisons covalentes entre les sommets 5, 6 des pyrimidines et l'une des insaturations des deux cycles oxygénés tandis que la formation des biadduits résulte de la création d'un pont entre les deux brins de l'ADN par suite d'une double cycloaddition [2 + 2] [7, 8]. Cependant, les psoralènes qui réagissent suivant le mode dit "bifonctionnel" sont connus pour posséder d'importantes propriétés mutagènes dans les systèmes procaryotes et eucaryotes [9]. De ce fait, les recherches récentes réalisées dans le domaine des agents photochimiothérapeutiques concernent la préparation et l'étude de composés nouveaux susceptibles de donner lieu à un processus purement monofonctionnel lors de leur liaison photo-induite avec l'ADN. Pour atteindre cet objectif, différentes approches ont été envisagées et en particulier:

— L'introduction de divers substituants sur l'un des sites photoréactifs afin de diminuer sa réactivité [10–14].

– Le remplacement du cycle furannique par un autre motif hétérocyclique tel que pyrane [15–18] ou pyrrole [19, 20].

– La suppression de la réactivité d'une double liaison par intégration de cette dernière au sein d'un quatrième cycle [21–24].

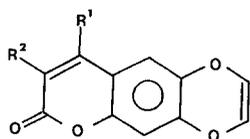
Les furochromones telles que la khelline ou son analogue desméthoxy la visnagine, présentent une structure voisine des psoralènes sans toutefois posséder comme ces derniers un motif divinylbenzène. Il a certes été montré [25–28] que ces dérivés peuvent, dans certains cas former des pontages avec l'ADN, mais en fait la formation de biadduits n'est jamais mise en évidence lorsque les doses d'UVA sont significatives sur le plan physiologique [29]. Les furochromones se comportent donc vis-à-vis de l'ADN lors des réactions de photoaddition essentiellement comme un agent monofonctionnel.



Khelline

Afin de poursuivre et compléter ces différents travaux, il nous a semblé intéressant d'envisager une nouvelle structure également biétylénique mais présentant un motif dioxinique proche de la planéité (Hoggan *et al.* résultats non publiés) en lieu et place de l'entité furannique. Si l'on considère la structure des dioxinocoumarines, elle comporte une analogie évidente avec les psoralènes mais aussi avec la khelline. En effet, comme pour cette dernière l'enchaînement divinylbenzène est rompu du fait de l'existence d'un éther vinylique. Avec les dioxinocoumarines, nous pouvons donc espérer obtenir lors des réactions photobiologiques, un comportement monofonctionnel identique à celui de la khelline.

Dans le cadre de cette étude, nous avons donc réalisé la synthèse des dioxinocoumarines **1a–d** substituées ou non et étudié leurs activités photobiologiques sur l'inhibition de croissance cellulaire.



- 1a** $R_1 = R_2 = H$
1b $R_1 = H, R_2 = COOMe$
1c $R_1 = CH_3, R_2 = H$
1d $R_1 - R_2 = \text{divinyl}$

Synthèses

La séquence réactionnelle la plus efficace pour la préparation de la dioxinocoumarine linéaire **1a** [30] fait appel comme matière première au dihydro-2,3 amino-6 benzodioxinne-1,4 commercial **2** (Schéma 1). Après diazotation de **2**, l'hydrolyse du sel de diazonium obtenu engendre le dihydro-2,3 hydroxy-6 benzodioxinne-1,4 **3** [31] qui par méthylation au moyen du sulfate de méthyle en milieu potassique [32] conduit à l'éther méthylique correspondant **4**. L'aldéhyde **5** préparé par une formylation de Vilsmeier–Haack utilisant l'oxychlorure de phosphore et la diméthylformamide [33] est déméthylé en aldéhyde hydroxylé **6** par le chlorure d'aluminium au sein du dichlorométhane. Le motif coumarinique de **8** est ensuite élaboré par cyclisation thermique de l'hydroxyester **7**, lui-même synthétisé par une réaction de Wittig réalisée entre l'aldéhyde **6** et le carbéthoxyméthylène triphénylphosphorane [34]. La double liaison benzodioxinnique de **1a** est introduite par une séquence de bromation (NBS)–débromation (NaI) antérieurement mise au point dans notre laboratoire [35].

Le processus utilisé pour accéder au dérivé **1b** (Schéma 2) fait appel au procédé classique de formation des coumarines à partir des hydroxy-2 benzaldéhydes [36]. Ainsi, le traitement du dihydro-2,3 formyl-7 hydroxy-6 benzodioxinne-1,4 **6** par le malonate de méthyle, dans l'éthanol,

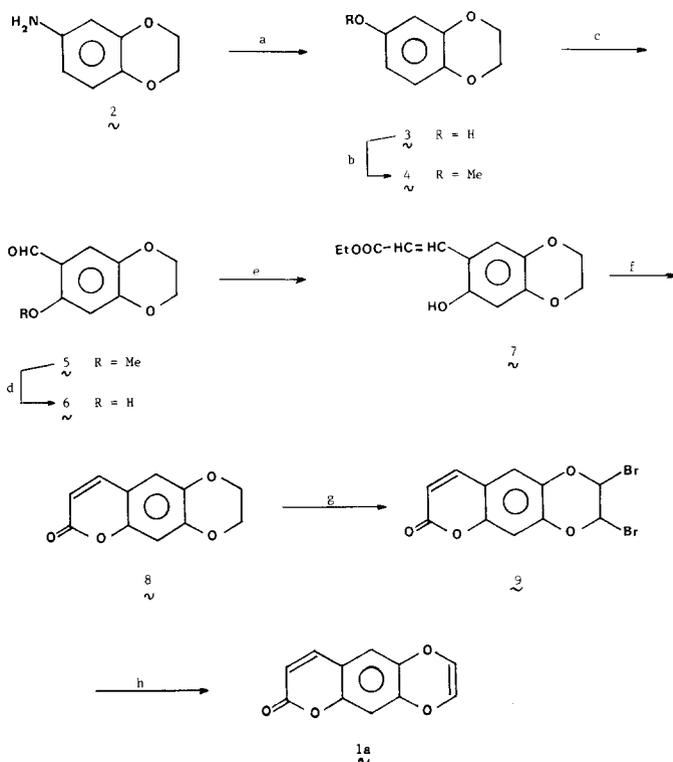


Schéma 1. a) $\text{NaNO}_2, \text{H}_2\text{O}, \text{H}_2\text{SO}_4, 0^\circ\text{C}$; puis $\text{H}_2\text{O}, \text{H}_2\text{SO}_4, 80^\circ\text{C}$ (70%); b) $\text{KOH}, \text{Me}_2\text{SO}_2$ (90%); c) $\text{POCl}_3, \text{DMF}$ (77%); d) $\text{AlCl}_3, \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (97%); e) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}-\text{COOEt}$, toluène (87%); f) 240°C (82%); g) NBS, CCl_4 (71%); h) NaI, acétone (81%).

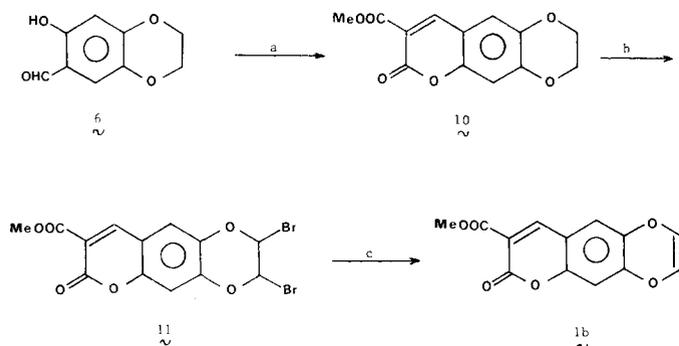


Schéma 2. a) Malonate de méthyle, pipéridine, éthanol (89%); b) NBS, CCl_4 ; c) NaI , acétone (36% à partir de **10**).

en présence de pipéridine fournit le composé recherché **10** avec un excellent rendement (98%). Soumis à la séquence de bromation radicalaire déjà utilisée, la dioxannocoumarine **10** engendre le dérivé bromé **11** qui, fragile, doit être utilisé sans purification préalable dans l'étape suivante de débromation (NaI -acétone). La dioxinnocoumarine recherchée **1b** est alors isolée, après passage sur colonne de silice, avec un rendement global de 36% calculé à partir de l'analogue saturé **10**.

L'obtention de la dioxinnocoumarine méthylée **1c** peut être envisagée par différentes voies. La dioxannocoumarine **12** (Schéma 3) est aisément préparée avec un rende-

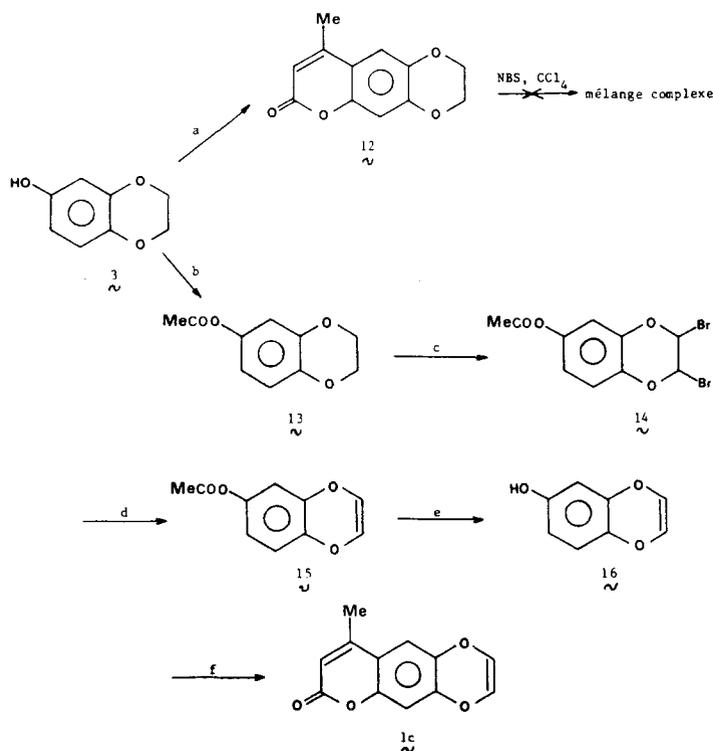


Schéma 3. a) Acétylacétate d'éthyle, H_2SO_4 (69%); b) $(\text{MeCO})_2\text{O}$, NaOH (85%); c) NBS, CCl_4 (84%); d) NaI , acétone (78%); e) NaOH , H_2O (85%); f) acétylacétate d'éthyle, POCl_3 , benzène (10% + 55% produit **16** résiduel).

ment de 69% grâce à une réaction de Pechmann [37] réalisée entre le dihydro-2,3 hydroxy-6 benzodioxinne-1,4 **3** et l'acétylacétate d'éthyle en milieu sulfurique. Par contre, il s'avère impossible d'utiliser le procédé de bromation radicalaire précédemment décrit en raison de la présence d'atomes d'hydrogène en position allylique, la réaction conduisant en effet à un mélange complexe difficile à exploiter du point de vue synthétique. Nous avons donc opté pour une méthodologie différente consistant à créer préalablement l'entité benzodioxinnique puis générer dans un deuxième temps la coumarine méthylée (Schéma 3). Les diverses tentatives de bromation du dihydro-2,3 hydroxy-6 benzodioxinne-1,4 **3** ou de son homologue méthyle **4** par le *N*-bromosuccinimide s'étant révélées inopérantes pour obtenir le dérivé recherché, nous avons fait appel à une méthode indirecte. Ainsi, l'acétate **13**, préparé avec un rendement de 85% par estérification du phénol **3** au moyen d'anhydride acétique en présence de soude, permet d'accéder lors de l'action radicalaire du *N*-bromosuccinimide au composé dibromé escompté **14** (rendement 84%). La débromation réalisée par traitement de **14** avec l'iodure de sodium au sein de l'acétone conduit au produit **15** (rendement 78%) qui, par saponification, engendre l'hydroxy-6 benzodioxinne-1,4 **16** avec un rendement de 85%. La dioxinnocoumarine **1c** est alors préparée par une réaction de Pechmann entre le phénol **16** et l'acétylacétate d'éthyle. Toutefois, en raison de la fragilité en milieu acide de **16**, les rendements restent faibles quelles que soient les conditions opératoires utilisées. Les meilleurs résultats sont obtenus avec l'oxychlorure de phosphore qui permet d'isoler 10% du dérivé recherché et 55% de produit de départ.

Le processus choisi pour synthétiser la dioxinnocoumarine **1d** utilise comme matière première le dihydro-2,3 hydroxy-6 benzodioxinne-1,4 **3** déjà mentionné (Schéma 4). Le traitement de ce dérivé par la carbéthoxy-2

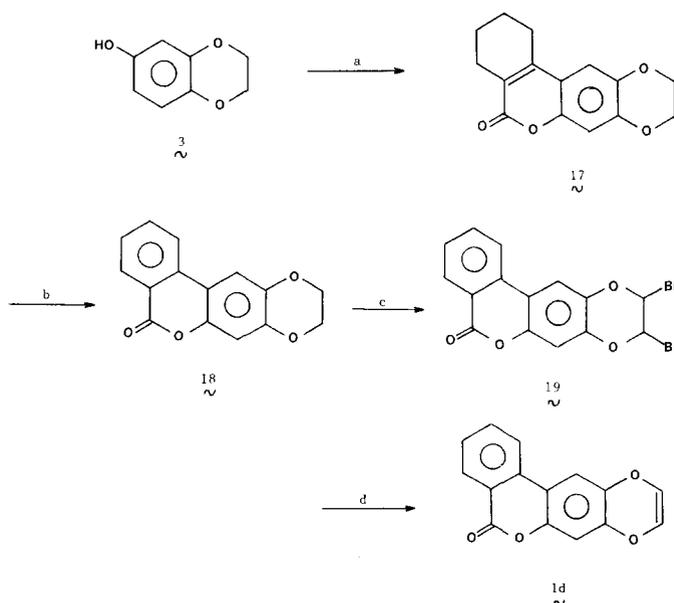


Schéma 4. a) Carbéthoxy-2 cyclohexanone, H_2SO_4 (75%); b) Pd/C , Ph_2O reflux (62%); c) NBS, CCl_4 ; d) NaI , acétone (70% à partir de **18**).

cyclohexanone en milieu sulfurique donne naissance, selon une réaction de Pechmann, au dérivé tétracyclique **17** avec un rendement de 75% [21]. L'aromatisation de **17** par chauffage au sein du diphenyléther à reflux en présence de palladium sur charbon permet d'isoler le composé attendu **18** avec un rendement de 62%. L'introduction de la double liaison du motif dioxinique est réalisée par bromation-débromation [35]. Le rendement global des deux étapes atteint 70%.

Etude biologique

Les activités biologiques photo-induites éventuelles des composés **1a**, **1b**, **1c** et **1d** ont été évaluées par comparaison avec celles du méthoxy-8 psoralène (8-MOP), furocoumarine bifonctionnelle utilisée en photochimiothérapie [38] et celle de l'angélicine, furocoumarine monofonctionnelle [7]. Pour cette évaluation deux souches haploïdes de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) ont été utilisées, l'une des deux souches N123 étant de type sauvage, l'autre étant un triple mutant *rad2rad6rad52* sensible aux radiations entraînant une réparation incomplète des lésions photo-induites dans l'ADN. Nous avons suivi la méthodologie habituelle de nos tests [15], à savoir:

- Mise en culture des deux souches dans un milieu complet de croissance à 30°C pendant 48 h afin d'amener la croissance à une phase stationnaire.

- Ultrasonication des cultures afin de désagréger les amas cellulaires caractéristiques des souches haploïdes en culture et lavage par centrifugation des cultures en eau distillée.

- Incubation de 30 min dans le noir et à température ambiante des cellules ($4 \cdot 10^7$ cellules/ml) avec les produits à tester, en solution dans l'éthanol, à une concentration de $1 \cdot 10^{-4}$ M, ce qui fait 2,6% d'éthanol, concentration non toxique pour les cellules.

- Etalement de $2 \cdot 10^7$ cellules par boîte de Pétri contenant un milieu gélosé complet de croissance [39].

- Exposition des boîtes de Pétri, comportant un cache opaque partiel, à une source de lumière de longueur d'ondes >320 nm (débit égal à $230 \text{ J m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ mesuré avec une thermopile YSI, Yellow Springs Instruments, OH, USA) provenant d'un simulateur solaire à Xénon (Schoeffel) [40]. Les durées de l'exposition étaient de 3 min pour le mutant, de 3 et 15 min pour le type sauvage.

- Incubation des cellules à 30°C, au noir, pendant 24 h.

L'appréciation de la photoréactivité des produits se fait par comparaison de la croissance des cellules protégées de la lumière par le cache et de la croissance des cellules non protégées. Il s'agit donc d'un test qualitatif.

Les produits testés sont le méthoxy-8 psoralène (8-MOP), l'angélicine et les dioxinnocoumarines **1a**, **1b**, **1c** et **1d**. Un témoin UVA seul a été également effectué.

Les résultats montrent pour le mutant sensible irradié pendant 3 min les photoactivités suivantes: nulle pour les UVA seuls, élevée pour le 8-MOP, moyenne pour l'angélicine, nulle pour les produits **1a** et **1b**, faible pour le

produit **1c** moins efficace que l'angélicine, élevée pour le produit **1d** qui, par ailleurs, montre une toxicité évidente en absence de lumière dans la partie protégée par le cache.

Etant donné l'absence de phototoxicité des dérivés **1a** et **1b** sur le mutant pourtant très sensible et la phototoxicité nette des produits **1c** et **1d**, il nous a paru opportun de tester ces deux composés sur une souche de type sauvage bien plus résistante à l'irradiation du fait de l'intégrité des systèmes de réparation. Les résultats ont montré les photoactivités suivantes après 2 irradiations de 3 et 15 min:

- Pour 3 min: nulle pour les UVA seuls, élevée pour le 8-MOP, moyenne pour l'angélicine, élevée pour les produits **1d** (avec toxicité intrinsèque), nulle pour le composé **1c**.

- Pour 15 min: nulle pour les UVA seuls, élevé pour le 8-MOP, moyenne pour l'angélicine, élevée pour le produit **1d** et faible pour le dérivé **1c** (un peu moins efficace que l'angélicine).

En résumé, les dioxinnocoumarines **1a** et **1b** ne possèdent aucune photoactivité en supposant qu'elles aient atteint la cible ADN. En terme de pouvoir inhibiteur vis-à-vis de la croissance de la levure, le produit **1c** se révèle beaucoup moins photoactif que le 8-MOP et un peu moins actif que l'angélicine. Ce résultat laisserait supposer que le produit **1c** forme avec l'ADN des monoadditions et occasionne ainsi des lésions facilement réparables. Enfin le dérivé **1d** paraît aussi cytotoxique que le 8-MOP mais sa toxicité intrinsèque diminue l'exactitude de cette appréciation. Sa cytotoxicité est certainement due à la formation dans l'ADN de lésions difficilement réparables.

En conséquence, les effets phototoxiques des nouveaux composés étudiés dans cette article peuvent être classés dans l'ordre suivant par rapport au 8-MOP et à l'angélicine.

8-MOP \geq **1d** > angélicine > **1c** >>> **1a**, **1b**.

En conclusion, ces premiers résultats montrent une nette différence d'activité entre les furocoumarines et leurs analogues dioxiniques. Des études théoriques sont en cours de réalisation afin de tenter d'expliquer les divergences rencontrées. D'autre part, les valeurs obtenues semblent indiquer que l'accolement d'un cycle benzénique supplémentaire augmente l'activité biologique. Des études physicochimiques et photochimiques seront nécessaires pour démontrer si ce résultat est attribuable à une éventuelle augmentation du pouvoir d'intercalation et de la photoréactivité de **1d** avec l'ADN.

Protocoles expérimentaux

Les points de fusion ont été déterminés au banc de Kofler; ils ne sont pas corrigés. Les spectres IR ont été enregistrés sur un spectromètre Perkin-Elmer 297; les spectres de masse sur un appareil Nermag R-10-10C/Sidar par introduction directe des échantillons en impact électronique à 70 eV. Les spectres UV ont été réalisés sur un appareil Perkin-Elmer Lambda 15 UV/VIS. Les spectres de RMN ^1H ont été effectués sur des appareils Hitachi-Perkin R-24 B à 60 MHz, Perkin-Elmer R-32 à 90 MHz et Bruker AM 300-300 MHz en utilisant le tétraméthylsilane

comme référence interne. Les déplacements chimiques sont donnés en δ (ppm). Tous les nouveaux composés synthétisés fournissent des analyses centésimales conformes à la théorie ($\pm 0,4\%$).

La pureté des produits a été contrôlée par HPLC sur un appareil Shimadzu LC-6A à détecteur UV SPD-6A ($\lambda = 270$ nm) avec une colonne Zorbax ODS (longueur 15 cm). La silice employée pour la chromatographie sur colonne est le Kieselgel 0,05–0,2 mm (Merck) avec pour éluant des mélanges croissants éther de pétrole (100–0%) – éther (0–100%). Les chromatographies sur couche mince ont été effectuées sur gel de silice 60 F₂₅₄ (Merck).

Dihydro-2,3 hydroxy-6 benzodioxanne-1,4 3

Ce composé est obtenu avec un rendement global de 70% par le procédé de Heertjes *et al.* [27].

RMN (CDCl₃): δ 4,10 (s, 4H, OCH₂), 5,00 (s, 1H, OH), 6,10–6,70 (m, 3H, protons aromatiques); IR (film): 3600–3100 cm⁻¹ (OH); 1150, 1060 cm⁻¹ (C–O); Anal. C₈H₈O₃ (C, H).

Dihydro-2,3 méthoxy-6 benzodioxanne-1,4 4

A 3,00 g (19,70 mmol) de dihydro-2,3 hydroxy-6 benzodioxanne-1,4 3 dissous dans 10 ml de KOH 2 N, on additionne goutte à goutte 2,7 g (21,4 mmol) de sulfate de méthyle en 15 min, puis on porte à reflux pendant 30 min. Après retour à température ambiante, on extrait au dichlorométhane et enfin chasse les solvants sous pression réduite. L'huile obtenue est purifiée par chromatographie sur colonne de silice, ce qui permet d'isoler le dérivé 4 pur (rendement 89%).

RMN (CDCl₃): δ 3,60 (s, 3H, OCH₃); 4,00 (s, 4H, OCH₂), 6,00–6,70 (m, 3H, protons aromatiques); IR (film): 1150, 1070 cm⁻¹ (C–O); Anal. C₉H₁₀O₃ (C, H).

Dihydro-2,3 formyl-7 méthoxy-6 benzodioxanne-1,4 5

A 0,65 ml (8,40 mmol) de diméthylformamide (DMF) refroidie à 0°C, on additionne 0,36 ml (3,40 mmol) de POCl₃. On laisse alors le mélange revenir à température ambiante puis on ajoute 500 mg (3,01 mmol) de dihydro-2,3 méthoxy-6 benzodioxanne-1,4 4 dissous dans 0,65 ml de DMF. On chauffe ensuite à 110°C pendant 3 h. Une fois le mélange réactionnel revenu à température ambiante, on hydrolyse à l'eau, extrait au dichlorométhane et sèche sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, on obtient un produit brut qui est purifié par chromatographie sur colonne de silice pour donner le dérivé 5 pur avec un rendement de 77%. F = 130–131°C.

RMN (CDCl₃): δ 3,81 (s, 3H, OCH₃), 4,20 (s, 4H, OCH₂), 6,40 (s, 1H, proton aromatique), 7,25 (s, 1H, proton aromatique), 10,26 (s, 1H, CHO); IR (KBr): 1665 cm⁻¹ (C=O); 1140, 1070 cm⁻¹ (C–O); Anal. C₁₀H₁₀O₄ (C, H).

Dihydro-2,3 formyl-7 hydroxy-6 benzodioxanne-1,4 6

Après 2 h d'agitation de 1,00 g (7,49 mmol) de AlCl₃ en suspension dans 10 ml de dichlorométhane, on ajoute, en une seule fois, 400 mg (2,06 mmol) de 5 en solution dans 10 ml de CH₂Cl₂. Après agitation du mélange réactionnel à température ambiante pendant 1 h, on hydrolyse avec une solution froide de HCl 1 N, extrait au CH₂Cl₂ et sèche sur MgSO₄. Une fois le solvant évaporé, une purification par chromatographie sur colonne de silice permet d'isoler le dérivé 6 pur avec un rendement de 97%. F = 114–115°C.

RMN (CDCl₃): δ 4,13 (s, 4H, OCH₂), 6,20 (s, 1H, proton aromatique), 9,30 (s, 1H, CHO), 10,83 (s, 1H, disparaît par addition de D₂O, OH); IR (KBr): 3600–3300 cm⁻¹ (OH); 1070 cm⁻¹ (C–O); Anal. C₉H₈O₄ (C, H).

(Dihydro-2,3 hydroxy-7 benzodioxanne-1,4 yl-6)-3 propène-2 oate d'éthyle 7

A 200 mg (1,11 mmol) de 6 en solution dans 10 ml de toluène, on ajoute 575 mg (1,65 mmol) de carbéthoxyméthylène triphénylphosphorane. Après chauffage pendant 2 h à reflux, on évapore le solvant, puis chromatographie le résidu sur colonne de silice. On isole ainsi l'hydroxyester 7 pur avec un rendement de 87%. F = 144–145°C.

RMN (CD₃COCD₃): δ 1,16 (t, J = 7 Hz, 3H, CH₃), 3,90–4,30 (m, 6H, OCH₂), 6,20 (d, J = 16 Hz, proton éthylénique), 6,25 (s, 1H, proton aromatique H₈), 6,78 (s, 1H, proton aromatique H₅), 7,60 (d, J = 16 Hz, 1H, proton éthylénique), 8,41 (s, 1H, disparaît par addition de D₂O, OH); IR (KBr): 3500–3050 cm⁻¹ (OH); 1675 cm⁻¹ (C=O); 1070 cm⁻¹ (C–O); Anal. C₁₃H₁₄O₅ (C, H).

Dihydro-2,3 7H-pyranno [2,3-g] benzodioxanne-1,4 one-7 8

On place sous argon, 560 mg (2,24 mmol) de l'hydroxyester 7 dans un appareil à sublimer puis on chauffe à 240°C pendant 2 h à pression atmosphérique. Après recristallisation du produit brut formé dans un mélange benzène–chloroforme (6/4), on obtient à l'état pur le dérivé 8 avec un rendement de 82%. F = 220–221°C.

RMN (CD₃COCD₃): δ 4,30–4,39 (m, 4H, OCH₂), 6,22 (d, J_{3,4} = 9 Hz, 1H, proton éthylénique H₈), 6,80 (s, 1H, proton aromatique H₅), 7,13 (s, 1H, proton aromatique H₁₀), 7,83 (d, J_{3,4} = 9 Hz, 1H, proton éthylénique H₉); IR (KBr): 1700 cm⁻¹ (C=O); 1070 cm⁻¹ (C–O); Anal. C₁₁H₈O₄ (C, H).

Dibromo-2,3 7H-pyranno [2,3-g] benzodioxanne-1,4 one-7 9

A 200 mg (0,98 mmol) de 8 en solution dans 200 ml de tétrachlorure de carbone, on ajoute 800 mg (4,49 mmol) de N-bromosuccinimide et 20 mg de peroxyde de benzoyle. On chauffe le milieu réactionnel à reflux pendant 2,5 h. Après refroidissement, filtration du succinimide et évaporation du solvant, la chromatographie du résidu sur colonne de silice permet d'isoler le dérivé 9 pur avec un rendement de 71%. F = 158–159°C.

RMN (CDCl₃): δ 6,27 (d, J_{3,4} = 9 Hz, 1H, proton éthylénique H₈), 6,63 (s, 2H, OCHBr), 6,93 (s, 1H, proton aromatique H₅), 7,06 (s, 1H, proton aromatique H₁₀), 7,60 (d, J_{3,4} = 9 Hz, 1H, proton éthylénique H₉); IR (KBr): 1720 cm⁻¹ (C=O); 1120 cm⁻¹ (C–O).

7H-pyranno [2,3-g] benzodioxanne-1,4 one-7 1a

A 222 mg (0,61 mmol), de 9 en solution dans 15 ml d'acétone anhydre, on ajoute 460 mg (3,06 mmol) d'iode de sodium sec. On chauffe le milieu réactionnel à reflux pendant 7 h. Après refroidissement et évaporation de l'acétone, on ajoute 10 ml d'eau, extrait au CH₂Cl₂, lave avec une solution saturée de thiosulfate de sodium et sèche sur MgSO₄. Une fois le solvant évaporé, le produit brut est purifié par chromatographie sur colonne de silice (rendement 81%). F = 215–216°C.

RMN (CD₃COCD₃): δ 6,18–6,23 (m, 2H, OCH=CHO), 6,28 (d, J_{3,4} = 9 Hz, 1H, proton éthylénique H₈), 6,68 (s, 1H, proton aromatique H₅), 6,98 (s, 1H, proton aromatique H₁₀), 7,78 (d, J_{3,4} = 9 Hz, 1H, proton éthylénique H₉). IR (KBr): 1700 cm⁻¹ (C=O); 1140 cm⁻¹ (C–O); UV (éthanol): $\lambda_{\max} = 261$ nm ($\epsilon = 12742$), $\lambda_{\max} = 365$ nm ($\epsilon = 8587$); SM, m/e: 202 (M⁺); Anal. C₁₁H₆O₄ (C, H).

Dihydro-2,3 oxo-7 7H-pyranno [2,3-g] benzodioxanne-1,4 carboxylate-8 de méthyle 10

A 200 mg (1,11 mmol) de 6 en solution dans 4 ml d'éthanol, on ajoute 161 mg (1,22 mmol) de malonate de méthyle et une goutte de pyridine. On chauffe le milieu réactionnel sous forte agitation pendant 7 h à 110°C. On obtient un solide qui est purifié par recristallisation dans l'éthanol (rendement 89%). F = 224–225°C.

RMN (CDCl₃): δ 3,93 (s, 3H, CH₃), 4,27–4,30 (m, 4H, OCH₂), 6,81 (s, 1H, proton aromatique H₅), 7,04 (s, 1H, proton aromatique H₁₀), 8,45 (s, 1H, proton éthylénique H₉); IR (KBr): 1740 cm⁻¹ (C=O); 1070 cm⁻¹ (C–O); Anal. C₁₃H₁₀O₆ (C, H).

Dibromo-2,3 oxo-7 7H-pyranno [2,3-g] benzodioxanne-1,4 carboxylate-8 de méthyle 11

A 150 mg (0,57 mmol) de 10 dissous dans 225 ml de tétrachlorure de carbone, on ajoute 268 mg (1,71 mmol) de N-bromosuccinimide et 15 mg d'azobisisobutyronitrile. On porte à reflux pendant 7 h puis refroidit, filtre et évapore le solvant. Une chromatographie sur colonne de silice permet d'isoler un échantillon de 11 pur. F = 94–95°C.

RMN (CDCl₃): δ 3,94 (s, 3H, CH₃), 6,65 (s, 1H, OCHBr), 6,70 (s, 1H, OCHBr), 7,06 (s, 1H, proton aromatique H₅), 7,25 (s, 1H, proton aromatique H₁₀), 8,50 (s, 1H, proton éthylénique H₉); IR (KBr): 1740 cm⁻¹ (C=O); 1110 cm⁻¹ (C–O).

Oxo-7 7H-pyranno [2,3-g] benzodioxanne-1,4 carboxylate-8 de méthyle 1b

Après dissolution du résidu brut précédemment obtenu dans 25 ml d'acétone anhydre, on ajoute 7 équivalents d'iodure de sodium puis chauffe à reflux durant 2 h. Le mode opératoire est ensuite identique à celui décrit pour la synthèse de 1a. On isole ainsi le dérivé 1b pur avec un rendement de 36%, calculé à partir de la dioxannocoumarine 10. F = 205–206°C.

RMN (CDCl₃): δ 3,94 (s, 3H, CH₃), 5,94–6,00 (m, 2H, OCH=CHO), 6,61 (s, 1H, proton aromatique H₅), 6,77 (s, 1H, proton aromatique

H_{10}), 8,31 (s, 1H, proton éthylénique H_9); IR (KBr): 1730 cm^{-1} (C=O); 1135 cm^{-1} (C-O); UV (éthanol): $\lambda_{max} = 273,9$ nm ($\epsilon = 9591$); $\lambda_{max} = 402$ nm ($\epsilon = 6524$); SM m/e : 260 (M^+); Anal. $C_{13}H_8O_6$ (C, H).

Dihydro-2,3 méthyl-9 7H-pyranno [2,3-g] benzodioxinne-1,4 one-7 12

On additionne 1 ml d'acide sulfurique concentré à un mélange de 500 mg (3,28 mmol) de phénol **3** et 512 mg (3,93 mmol) d'acétylacétate d'éthyle refroidi à 0°C. Le mélange réactionnel est maintenu sous forte agitation pendant 2 h à cette même température. Après addition d'eau glacée, on agite 1 h supplémentaire, filtre les cristaux formés puis recristallise dans l'éthanol absolu (rendement 69%). F = 153–154°C.

RMN ($CDCl_3$): δ 2,33 (s, 3H, CH_3), 4,30 (s, 4H, OCH_2), 6,06 (s, 1H, proton éthylénique H_8), 6,66 (s, 1H, proton aromatique H_5), 6,96 (s, 1H, proton aromatique H_{10}); IR (KBr): 1720 cm^{-1} (C=O); 1150 cm^{-1} (C-O); Anal. $C_{12}H_{10}O_4$ (C, H).

Dihydro-2,3 acétoxy-6 benzodioxinne-1,4 13

A 2,10 g (13,80 mmol) du phénol **3**, on ajoute, sous courant d'azote, 0,60 g (15 mmol) de soude. L'agitation est poursuivie à température ambiante pendant 2 h. On additionne ensuite goutte à goutte 1,53 g (15,00 mmol) d'anhydride acétique. Après 1 h d'agitation à température ambiante, on effectue un lavage avec de la soude à 5%, on extrait à l'éther puis sèche sur $MgSO_4$. Une fois les solvants évaporés, on obtient une huile brute qui est purifiée par chromatographie sur colonne de silice (rendement 85%).

RMN ($CDCl_3$): δ 2,10 (s, 3H, CH_3CO), 4,00 (s, 4H, OCH_2), 6,10–6,60 (m, 3H, protons aromatiques); IR (film): 1750 cm^{-1} (C=O); 1150 cm^{-1} (C-O); Anal. $C_{10}H_{10}O_4$ (C, H).

Dibromo-2,3 acétoxy-6 benzodioxinne-1,4 14

On dissout dans 20 ml de tétrachlorure de carbone, 0,90 g (4,64 mmol) d'acétoxy-6 benzodioxanne-1,4 **13**, 1,82 g (10,20 mmol) de NBS et 40 mg de peroxyde de benzoyle. On porte à reflux sous agitation pendant 5 h. Après filtration du succinimide formé et évaporation du solvant, on obtient le composé **14** brut qui est purifié par chromatographie sur colonne de silice (rendement 84%). F = 84–85°C.

RMN ($CDCl_3$): δ 2,10 (s, 3H, CH_3CO), 6,40 (s, 2H, $OCHBr$), 6,50–6,90 (m, 3H, protons aromatiques); IR (KBr): 1750 cm^{-1} (C=O); 1170, 1050 cm^{-1} (C-O).

Acétoxy-6 benzodioxinne-1,4 15

A 1,40 g (3,90 mmol) du composé **14** dissous dans 20 ml d'acétone anhydre, on ajoute 3,75 g (25,00 mmol) d'iode de sodium puis chauffe à reflux pendant 2 h. Le mode opératoire est ensuite identique à celui précédemment décrit. Le produit **15** est isolé pur avec un rendement de 78%. F = 50–51°C.

RMN ($CDCl_3$): δ 2,03 (s, 3H, CH_3CO), 5,73 (s, 2H, $OCH=CHO$), 6,06–6,66 (m, 3H, protons aromatiques); IR (KBr): 1750 cm^{-1} (C=O); 1670 cm^{-1} (C=C); 1130, 1065 cm^{-1} (C-O); Anal. $C_{10}H_8O_4$ (C, H).

Hydroxy-6 benzodioxinne-1,4 16

On chauffe à reflux pendant 30 min 600 mg (3,12 mmol) d'ester **15** en suspension dans 5 ml d'une solution de soude à 5%. Après refroidissement, on acidifie par une solution d'HCl 1 N, extrait au CH_2Cl_2 puis sèche sur $MgSO_4$. Après évaporation du solvant, le dérivé **16** est isolé pur par chromatographie sur colonne de silice (rendement 85%). Huile.

RMN ($CDCl_3$): δ 5,76 (s, 2H, $OCH=CHO$), 5,86 (s, 1H, disparaît par addition de D_2O , OH), 6,06–6,66 (m, 3H, protons aromatiques); IR (film): 3600–3120 cm^{-1} (OH); 1668 cm^{-1} (C=C); 1140 cm^{-1} (C-O); Anal. $C_8H_6O_3$ (C, H).

Méthyl-9 7H-pyranno [2,3-g] benzodioxinne-1,4 one-7 1c

On additionne 229 mg (1,50 mmol) d'oxychlorure de phosphore à une solution de 225 mg (1,5 mmol) d'hydroxy-6 benzodioxinne-1,4 **16** et 390 mg (3 mmol) d'acétylacétate d'éthyle dans 5 ml de benzène. Après 2,5 h, on refroidit le milieu réactionnel, hydrolyse, extrait au CH_2Cl_2 et sèche sur $MgSO_4$. Une fois les solvants évaporés, le résidu brut est chromatographié sur colonne de silice donnant ainsi le composé recherché **1c**–F = 205–206°C– (rendement 10%) à côté de 55% de produit de départ résiduel.

RMN ($CDCl_3$): δ 2,30 (s, 3H, CH_3), 5,90 (s, 2H, $OCH=CHO$), 6,15 (s, 1H, proton éthylénique H_8), 6,60 (s, 1H, proton aromatique H_5), 6,68 (s, 1H, proton aromatique H_{10}); IR (KBr): 1710 cm^{-1} (C=O); 1150 cm^{-1} (C-O); UV (éthanol): $\lambda_{max} = 260,5$ nm ($\epsilon = 10800$); $\lambda_{max} = 365,5$ nm ($\epsilon = 7743$); SM m/e : 216 (M^+); Anal. $C_{12}H_8O_4$ (C, H).

Hexahydro-1,2,3,4,9,10 5H-[2] benzopyranno [3,4-g] benzodioxinne-1,4 one-5 17

A un mélange de 500 mg (3,28 mmol) de dihydro-2,3 benzodioxinne-1,4 **3** et 0,699 g (3,93 mmol) de carbéthoxy-2 cyclohexanone refroidie à 0°C, on ajoute 1 ml d'acide sulfurique concentré puis maintient le milieu réactionnel sous forte agitation à cette même température durant 2,5 h. On hydrolyse avec de l'eau glacée, agite 1 h, filtre et recristallise dans l'éthanol. On obtient ainsi le composé **17** pur avec un rendement de 75%. F = 242–243°C.

RMN ($CDCl_3$): δ 1,56–2,83 (m, 8H, protons du motif cyclohexène), 4,30 (s, 4H, OCH_2), 6,83 (s, 1H, proton aromatique H_7); 7,00 (s, 1H, proton H_{12}); IR (KBr): 1690 cm^{-1} (C=O); 1150 cm^{-1} (C-O); Anal. $C_{15}H_{14}O_4$ (C, H).

Dihydro-9,10 5H-[2] benzopyranno [3,4-g] benzodioxinne-1,4 one-5 18

A 260 g (1 mmol) de **17** dissous dans 8 ml de diphényléther, on ajoute 162 mg de Pd/C (à 10% de Pd). On chauffe à reflux pendant 2,5 h. Après refroidissement du mélange réactionnel, on filtre sur célite pour éliminer le catalyseur, on additionne 50 ml d'éther de pétrole puis laisse agiter 1 h. Après filtration, on obtient **18** à l'état pur avec un rendement de 62%. F = 186–187°C.

RMN ($CDCl_3$): δ 4,27–4,38 (m, 4H, OCH_2), 6,82 (s, 1H, proton aromatique H_7), 7,40 (s, 1H, proton aromatique H_{12}), 7,50 (t, $J_{3,4} = J_{2,3} = 8,1$ Hz, 1H, proton aromatique H_3), 7,75 (t, $J_{2,3} = J_{1,2} = 8,1$ Hz, proton aromatique H_2), 7,86 (d, $J_{1,2} = 8,1$ Hz, 1H, proton aromatique H_1), 8,30 (d, $J_{3,4} = 8,1$ Hz, 1H, proton aromatique H_4); IR (KBr): 1715 cm^{-1} (C=O); 1070 cm^{-1} (C-O); Anal. $C_{15}H_{10}O_4$ (C, H).

Dibromo-9,10 5H [2] benzopyranno [3,4-g] benzodioxinne-1,4 one-5 19

On porte à reflux, pendant 6,5 h, 100 mg (0,40 mmol) du composé **18** en solution dans 50 ml de CCl_4 , 211 mg (1,191 mmol) de NBS et 5 mg d'azobisisobutyronitrile. Après refroidissement, filtration et évaporation du solvant on isole le dérivé **19** brut.

RMN (CD_3COCD_3): δ 7,18, 7,23 et 7,25 (3s, 3H, proton aromatique H_7 et $OCHBr$), 7,71 (t, $J_{3,4} = J_{2,3} = 7,5$ Hz, 1H, proton aromatique H_3), 7,96 (t, $J_{2,3} = J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H, proton aromatique H_2), 8,05 (s, 1H, proton aromatique H_{12}), 8,32 (d, $J_{1,2} = 7,5$ Hz, 1H, proton aromatique H_1), 8,37 (d, $J_{3,4} = 7,5$ Hz, 1H, proton aromatique H_4); IR (KBr): 1710 cm^{-1} (C=O); 1070 cm^{-1} (C-O).

5H [2] benzopyranno [3,4-g] benzodioxinne-1,4 one-5 1d

Au résidu brut précédemment isolé dissous dans 50 ml d'acétone anhydre, on ajoute 416 mg (2,77 mmol) d'iode de sodium sec. On porte le milieu réactionnel à reflux durant 6 h. Le mode opératoire est ensuite identique à celui antérieurement décrit pour la préparation de **1a**. Le produit **1d** est isolé pur avec un rendement global de 70% pour les deux étapes. F = 183–184°C.

RMN (CD_3COCD_3): δ 6,19 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H, O-CH=), 6,22 (d, $J = 3,5$ Hz, 1H, O-CH=), 6,72 (s, 1H, proton aromatique H_7), 7,56 (s, 1H, proton aromatique H_{12}), 7,65 (t, $J_{3,4} = J_{2,3} = 7$ Hz, 1H, proton aromatique H_3), 7,91 (t, $J_{2,3} = J_{1,2} = 7$ Hz, 1H, proton aromatique H_2), 8,22 (d, $J_{1,2} = 7$ Hz, 1H, proton aromatique H_1), 8,37 (d, $J_{3,4} = 7$ Hz, 1H, proton aromatique H_4); IR (KBr): 1720 cm^{-1} (C=O); 1080 cm^{-1} (C-O); UV (éthanol): $\lambda_{max} = 216,3$ nm ($\epsilon = 33837$); $\lambda_{max} = 257,3$ nm ($\epsilon = 27335$); $\lambda_{max} = 226$ nm ($\epsilon = 14676$); $\lambda_{max} = 351$ nm ($\epsilon = 8837$); SM, m/e : 252 (M^+); Anal. $C_{15}H_8O_4$ (C, H).

Remerciements

L'un d'entre nous (M.H.) remercie le laboratoire de Chimie Organique de la Faculté des Sciences d'Alep (Syrie) pour son aide financière.

Références

- Musajo L. & Rodighiero G. (1962) *Experientia* 18, 153
- Song P.S. & Tapley K.J. (1979) *Photochem. Photobiol.* 29, 1177
- Parsons B.J. (1980) *Photochem. Photobiol.* 32, 813
- Parrish J.A., Fitzpatrick T.B., Tanenbaum L. & Pathak M.A. (1974) *N. Engl. J. Med.* 291, 1207
- Fitzpatrick T.B., Arndt K.A., Tanenbaum L. & Pathak M.A. (1966) *Arch. Dermatol.* 93, 589
- Gilchrest B.A., Parrish J.A., Tanenbaum L., Haynes H.A. &

- Fitzpatrick T.B. (1976) *Cancer* 38, 683
- 7 Dall'Acqua F., Marciani S., Ciavatta L. & Rodighiero G. (1971) *Z. Naturforsch.* 26, 561
- 8 Cole R.S. (1971) *Biochim. Biophys. Acta* 254, 30
- 9 Ben-Hur E. & Song P.S. (1984) *Adv. Radiat. Biol.* 11, 131
- 10 Kanne D., Rapoport H. & Hearst J.E. (1984) *J. Med. Chem.* 27, 531
- 11 Queval D. & Bisagni E. (1974) *Eur. J. Med. Chem.* 9, 335
- 12 Vedaldi D., Dall'Acqua F., Caffieri S. & Rodighiero G. (1979) *Photochem. Photobiol.* 29, 277
- 13 Bender D.R., Kanne D., Frazier J.D. & Rapoport H. (1983) *J. Org. Chem.* 48, 2709
- 14 Royer R., Faulques M., Demerseman P. & Averbeck D. (1986) *Eur. J. Chem.* 48, 173
- 15 Faulques M., René L., Royer R., Averbeck D. & Moradi M. (1983) *Eur. J. Med. Chem.* 18, 9
- 16 Averbeck D., Moradi M., Faulques M., René L. & Royer R. (1983) *Eur. J. Med. Chem.* 18, 15
- 17 Faulques M., René L., Royer R. & Averbeck D. (1984) *Eur. J. Med. Chem.* 19, 365
- 18 Rodighiero P., Manzini P., Pastorini G., Bordin F. & Guiotto A. (1987) *J. Heterocyclic Chem.* 23, 485
- 19 Quanten E., Adrians P., De Schryver F.C., Roelandts R. & Degreef H. (1986) *Photochem. Photobiol.* 43, 485
- 20 Rodighiero P., Chilin A., Pastorini G. & Guiotto A. (1987) *J. Heterocyclic Chem.* 24, 1041
- 21 Confalone P.N. & Confalone D.L. (1983) *Tetrahedron* 30, 1265
- 22 Moron J., Nguyen C.H. & Bisagni E. (1983) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 225
- 23 Rodighiero P., Palumbo M., Marciani Magno S., Manzini P., Gia O., Piro R. & Guiotto A. (1986) *J. Heterocyclic Chem.* 23, 1405
- 24 Palumbo M., Rodighiero P., Gia O., Guiotto A. & Marciani Magno S. (1986) *Photochem. Photobiol.* 44, 1
- 25 Cassuto E., Gross N., Bardwell E. & Howard-Flanders P. (1977) *Biochim. Biophys. Acta* 475, 589
- 26 Abeysekera B.F., Abramowski Z. & Towers G.H.N. (1983) *Photochem. Photobiol.* 38, 311
- 27 Altamirano-Dimas M., Hudson J.B., Abramowski Z. & Towers G.H.N. (1985) *Photobiochem. Photobiophys.* 10, 121
- 28 Vedaldi D., Caffieri S., Dall'Acqua F., Andreassi L., Bovalini L. & Martelli L. (1988) *Farm. Ed. Sci.* 43, 333
- 29 Morliere P., Hönigsmann H., Averbeck D., Dardalhon M., Hüppe G., Ottel B., Santus R. & Dubertret L. (1988) *J. Invest. Dermatol.* 90, 720
- 30 Guillaumet G., Hretani M. & Coudert G. (1988) *Tetrahedron Lett.* 29, 2665
- 31 Heertjes P.M., Knape B.J., Van Beek H.C.A. & Van Den Boogart K. (1957) *J. Chem. Soc.* 3445
- 32 Achet D., Rocrette D., Murengezi I., Delmas M. & Gaset A. (1986) *Synthesis* 642
- 33 Godfrey I.M., Sergent M.V. & Elix J.A. (1974) *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1354
- 34 Mali R.S., Yadav V.J. & Zaware R.N. (1982) *Ind. J. Chem.* 21B, 759
- 35 Coudert G., Guillaumet G. & Loubinoux B. (1978) *Tetrahedron Lett.* 1059
- 36 Joule J.A. & Smith G.F. (1978) in: *Heterocyclic Chemistry*. Van Nostrand Reinhold Co., Londres, pp. 179
- 37 Sethna S. & Phadke R. (1960) *Org. React.* 7, 1
- 38 Anderson T.F. & Voorhes J.J. (1980) *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 20, 235
- 39 Averbeck D. (1985) *Mutat. Res.* 151, 217
- 40 Averbeck D., Averbeck S. & Cundari E. (1987) *Photochem. Photobiol.* 45, 371