Article original

Étude de germathiazolidines et de dithioacétals germaniés dérivés de la cystéamine et méthylcystéamine *N*-substituées: synthèse et activité radioprotectrice

Marc FATOME¹, Henri SENTENAC-ROUMANOU², Claude LION ³, Jacques SATGÉ^{4*} et Ghassoub RIMA⁴

¹Division de Radiobiologie et Radioprotection, Centre de Recherches du Service de Santé des Armées,

1 bis, rue du Lieutenant-Raoul-Batany, 92141 Clamart,

²Direction des Recherches Etudes et Techniques, 26, bd Victor, 75996 Paris Armées,

³Institut de Topologie et de Dynamique des Systèmes de l'Université de Paris VII,

Associé au CNRS, 1, rue Guy-de-la-Brosse, 75005 Paris, et

⁴Laboratoire de Chimie des Organominéraux, UA477 du CNRS, Université Paul-Sabatier,

118, route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex, France

(Reçu le 7 juillet 1987, accepté le 1^{er} février 1988)

Résumé — La synthèse et l'étude pharmacologique (toxicité, activité radioprotectrice) de nouvelles germathiazolidines *N*-substituées et de dithioacétals germaniés préparés à partir de la cystéamine et méthylcystéamine *N*-substituées par un groupement acétyle, $-(CH_2)_3NH_2$ ou un reste aminoacide $-C--CHNH_2 \cdot HBr$ sont décrites.

|| | O R''

0 R''

On observe une diminution notable de la toxicité et généralement une augmentation assez nette de l'activité radioprotectrice de ces nouvelles molécules organométalliques par rapport aux motifs organiques de base (cystéamine et méthylcystéamine N-substitutées).

Summary — Study of germathiazolidines and germylated dithioacetals derived from N-substituted cysteamine and methylcysteamine: synthesis and radioprotective activity. Synthesis and pharmacological studies (toxicity, radioprotective activity) of new N-substituted germathiazolidines and germylated dithioacetals prepared from N-substituted cysteamine and methylcysteamine by an acetyl group, $-(CH_2)_3NH_2$, or a partial amino acid $-C--CHNH_2 \cdot HBr$ are described.

A notable decrease in the toxicity and a rather important increase in the radioprotective activity of these new organometallic molecules compared to N-substituted cysteamine and methylcysteamine have been observed.

germathiazolidines / germylated dithioacetals / cysteamine / methylcysteamine / radioprotective activity

Introduction

Nous avons présenté dans deux publications antérieures, une étude sur l'activité radioprotectrice de germa- et silathiazolidines [1] et de dithioacétals germaniés de la cystéamine et méthylcystéamine [2].

L'activité radioprotectrice de ces dérivés est nettement supérieure à celle de leurs isologues carbonés (thiazolidines et dithioacétals de la cystéamine et de la méthylcystéamine). Le remplacement du carbone par le germanium dans ces structures conduit à de nouveaux dérivés organométalliques avec augmentation nette du pouvoir radioprotecteur malgré des quantités administrées nettement plus faibles (en mmol).

Cette substitution n'entraîne pas généralement d'accroissement notable de la toxicité.

Nous présentons dans cette publication, une étude sur la synthèse, la toxicité et le pouvoir radioprotecteur de

^{*}Auteur à qui la correspondance doit être adressée.

nouvelles germathiazolidines N-substituées par un groupement acétyle ou un reste aminoacide $-C-CH-NH_2$ ·HBr. $\parallel \mid \mid O$ R''

Cette étude a été étendue à des dithioacétals germaniés de la cystéamine et méthylcystéamine N-substituées par des groupements $COCH_3$, $-(CH_2)_3NH_2$ ou un reste aminoacide $-COCHNH_2 \cdot HBr$. La toxicité et l'activité

Ŕ″

radioprotectrice de ces dérivés germaniés ont été comparées dans la plupart des cas à celles des dérivés de base purement carbonés (cystéamine ou méthylcystéamine *N*-substituées par les mêmes groupements).

Chimie

Synthèse des germathiazolidines de la cystéamine et méthylcystéamine N-substituées

Les germathiazolidines de la cystéamine et de la méthylcystéamine N-substituées ont été préparées selon deux méthodes d'hétérocyclisation déjà décrites dans la littérature [1, 3, 4].

Méthode A

L'action de dichlorures germaniés sur la cystéamine ou la méthylcystéamine N-substituées en présence de triéthylamine, conduit par réaction de cyclisation avec formation d'acide chlorhydrique à partir des groupements Ge—Cl et SH, NH [1] aux germathiazolidines correspondantes avec des rendements de l'ordre de 45%.

$$RR'GeC1_{2} + CH_{3}CNHCH_{2}CHSH \xrightarrow{Et_{3}N} RR'Ge \xrightarrow{N}^{R''} + 2 Et_{3}N.HC1$$

R, R' = groupements alkyles ou aryles $O^{C-CH_{3}}$
R'' = H, CH₃

Méthode B

L'action de la cystéamine ou de la méthylcystéamine Nsubstituées sur les *bis*(diméthylamino)germanes en quantité stoechiométrique conduit à une scission des liaisons Ge—N par les groupements SH et NH (réaction de transamination) [1, 4—6] avec hétérocyclisation et formation des germathiazolidines correspondantes avec de bons rendements, de l'ordre de 47 à 98%.



Synthèse de dithioacétals germaniés

Méthode C

La synthèse des dérivés acycliques S-germaniés de la cystéamine ou de la méthylcystéamine N-substituées (dithioacétals germaniés) a mis à profit la grande sensibilité des liaisons Ge—N vis-à-vis de réactifs protoniques [4-6]comme les groupements SH. La synthèse correspond à l'action de deux moles de cystéamine ou méthylcystéamine N-substituées sur une mole de *bis*(diéthylamino)-germane.

$$\begin{array}{cccc} RR'Ge(NEt_2)_2 + 2 & HSCHCH_2NHY \rightarrow & & & & | & RR'Ge[SCHCH_2NHY]_2 + 2 & Et_2NH \\ & & & R'' & & | & & \\ R'' & & & & | & & \\ R,R' & = & groupements & alkyles & ou aryles \\ R'' & = & CH_3, & Y & = & COCH_3, & (CH_2)_3NH_2 \\ R'' & = & H, & Y & = & COCHNH_2 \cdot HBr \\ & & & & | & \\ & & & CH_2 & & \\ & & & & i \\ & & & iPr \end{array}$$

On peut postuler la formation préalable de germathiazolidine (cf. Méthode A) dont la liaison Ge—N serait clivée par une deuxième molécule de cystéamine ou méthylcystéamine N-substituées. Les rendements varient de 38 à 94% (cf. Tableau).

Résultats et Discussion

Nous observons dans le Tableau I que les germathiazolidines N-acétylées ont une toxicité plus faible et une activité radioprotectrice supérieure à celle des motifs de base: N-acétylcystéamine et N-acétylméthylcystéamine (voir Tableaux I et II), malgré une quantité administrée nettement inférieure particulièrement si on l'exprime en mmol/kg.

La contribution positive du germanium aussi bien dans le pouvoir radioprotecteur que dans la toxicité est bien établie à partir du dérivé **1** (DL_{50} : 1000 mg/kg taux de survie 93% à la $DL_{100}/30$ jours après 15 min d'irradiation à 8,5 grays comparée au dérivé **5**, DL_{50} : 700 mg/kg, taux de survie 20% à la $DL_{100}/30$ jours après 15 min d'irradiation à 9,5 grays et 90% contre 20% de survie quand l'injection a été faite 2 h avant l'irradiation).

L'analyse du Tableau II nous permet de relever l'activité radioprotectrice d'une série de germathiazolidines N-substituées par un reste aminoacide.

Les germathiazolidines 7 et 8, dérivées de la cystéamine couplées avec la leucine ont une toxicité nettement plus faible et une activité radioprotectrice légèrement supérieure à celle du motif de base 12.

Les germathiazolidines 9 et 10, dérivées de la cystéamine couplée avec la glycine ont une toxicité faible (DL_{50} : 1500) et une activité radioprotectrice moyenne mais comparable aux germathiazolidines 7 et 8.

La germathiazolidine 11 dérivée de la cystéamine couplée avec la valine a par contre une toxicité supérieure et une activité radioprotectrice très inférieure au motif de base 13 (facteur de réduction de dose (FRD): 1,55).



	R	R′	R″	М	DL ₅₀ mg/kg (mmol)	Dose injectée (mg/kg)	Irradiation (Gy) (t ^a , min)	Taux de survie (%)	FRD
1	<i>i-</i> C ₅ H ₁₁	<i>i-</i> C₅H11	Н	Ge	1000 (3,02)	500 125 500 500	8,5 (15) 8,5 (15) 8,5 (120) 11 (15)	93 50 90 0	1,3
2	C_6H_5	CH₃	Н	Ge	800 (2,84)	400 100 400 400	9 (15) 9 (15) 9 (120) 11 (15)	87 0 20 0	1,3
3	<i>i</i> -C ₅ H ₁₁	<i>i</i> -C₅H ₁₁	CH₃	Ge	1000 (2,89)	500 125 500 500 62,5	8,5 (15) 8,5 (15) 8,5 (120) 10,5 (15) 9 (15)	100 80 90 10 20	1,35
4	C ₆ H ₅	CH₃	CH₃	Ge	900 (3,04)	450 112 450 450	9 (15) 9 (15) 11 (15) 9 (120)	93 50 10 80	1,35

$\begin{array}{cccc} HS-CH-CH_2-NH-C--CH_3\\ | & ||\\ R^{\prime\prime\prime} & O \end{array}$

5	ŋ.	Н	01 1	700 (5,88)	350 87,5 350 350	9,5 (15) 9,5 (15) 9,5 (120) 11,5 (15)	20 10 20 0	1,05
6		CH3		700 (5,26)	350 82,5 350 350	9,5 (15) 9,5 (15) 9,5 (120) 11,5 (15)	50 50 0 0	1,1

 $a_t =$ intervalle de temps entre administration du produit et irradiation.

Tableau II.



	R	R'	R″	Μ	DL ₅₀ mg/kg (mmol)	Dose injectée (mg/kg)	Irrad (Gy)	liation (t ^a , min)	Taux de survie (%)	FRD
7	<i>i</i> -C ₈ H ₁₁	<i>i</i> -C₅H ₁₁	i-PrCH ₂	Ge	1500 (3,10)	1000 250 1000 1000	9 9 9 11	(15) (15) (120) (15)	70 0 0 0	1,25
8	C_6H_5	$\mathrm{CH}_{\mathfrak{d}}$	i-PrCH ₂	Ge	1500 (3,46)	1000 250 1000 1000	9 9 9 11	(15) (15) (120) (15)	80 0 30 0	1,25
9	<i>i</i> -C ₅ H ₁₁	<i>i</i> -C ₅ H ₁₁	н	Ge	1500 (3,51)	1000 250 1000 1000	9 9 9 11	(15) (15) (120) (15)	80 0 0 0	1,25
10	C ₆ H ₅	CH3	н	Ge	1500 (3,97)	1000 250 1000 1000	9 9 9 11	(15) (15) (120) (15)	70 0 30 0	1,25
11	<i>i</i> -C ₅ H ₁₁	<i>i</i> -C ₅ H ₁₁	<i>i-</i> Pr	Ge	800 (1,70)	400 100 400 400	9 9 9 11	(15) (15) (120) (15)	30 10 40 0	1,1
				HŞCH₂CH₂N	/HC—CH—NH₂· O R''	HBr				
12			<i>i</i> -PrCH ₂		800 (2,95)	400 100 400 400	9 9 9 11	(15) (15) (120) (15)	60 0 10 0	1,2

(5,25) (15) (15) (15) (120) (15)

1,55

at = intervalle de temps entre administration du produit et irradiation.

i-Pr

Cette faible activité radioprotectrice pourrait s'expliquer par les faibles doses du dérivé **11** administrées: $DL_{50}/2$: 400 mg (0,85 mmol) comparativement au dérivé **13** $DL_{50}/2$: 750 mg (2,62 mmol).

Remarquons cependant qu'à la $DL_{50}/8$, la germathiazolidine 11 a une activité radioprotectrice légèrement supérieure au dérivé 13, bien que les mmol de produits administrés soient respectivement de 0,213 pour 11 contre 0,972 pour 13.

Sur l'ensemble des résultats présentés dans le Tableau II, on peut en conclure à une contribution plutôt positive du germanium aussi bien dans le domaine de la toxicité que de la radioprotection.

L'analyse des résultats consignés sur le Tableau III qui correspond à des dithioacétals de la cystéamine et méthylcystéamine N-substituée appelle les remarques suivantes: 1) Les dérivés germaniés de la méthylcystéamine N-substituée par le groupement — $(CH_2)_3NH_2$ 14 et 15 ont une toxicité comparable mais une activité radioprotectrice supérieure au motif de base HSCH(CH₃)CH₂NH- $(CH_2)_3NH_2$ 19. 2) Soulignons que le dérivé 14, en particulier, a une activité radioprotectrice intéressante, 90% de survie à la $DL_{50}/8$ dans le délai de 15 min. 3) Les dérivés 16 et 17 ont une toxicité faible et une activité radioprotectrice moyenne assez comparable ou légèrement supérieure au motif de base 6 acétylméthylcystéamine.

Notons cependant que les doses injectées des dérivés 16 et 17 correspondent respectivement à 0,815 mmol et 1,05 mmol contre 2,63 mmol pour la $DL_{50}/2$ du motif de base 6.

Ceci démontre la contribution positive du germanium dans ces structures.

Le dithioacétal germanié 18, dérivé de la cystéamine couplée avec la leucine a une toxicité très nettement inférieure au produit de base 12, et une activité radioprotectrice supérieure, bien que les quantités en mmol administrées sont inférieures pour 18 (1,06 mmol) comparativement à 12 (1,47 mmol).

Les *FRD* indiqués dans les Tableaux I, II et III correspondent à une administration à la $DL_{50}/2$ 15 min avant

Tableau III.

RR'Ge[SCHCH2NHY]2

'nk″

	R	R'	R''	Y	DL ₅₀ mg/kg (mmol)	Dose injectée (mg/kg)	Irra (Gy)	diation) (t ^a , min)	Taux de survie (%)	FRD
14	<i>i</i> -C₅H11	<i>i</i> -C ₅ H ₁₁	CH ₃	(CH ₂) ₃ NH ₂	300 (0,59)	150 37,5 150 150	9 9 11 9	(15) (15) (15) (120)	87 90 40 40	1,4
15	C_6H_5	CH ₃	CH₃	(CH ₂) ₃ NH ₂	400 (0,87)	200 50 200 200	9 9 11 9	(15) (15) (15) (120)	50 10 40 0	1,35
16	C_6H_5	CH3	CH₃	CH₃CO	700 (1,63)	350 87,5 350 350	9 9 11 9	(15) (15) (15) (120)	79 10 10 10	1,30
17	<i>i</i> -C ₅ H ₁₁	i - C_5H_{11}	CH₃	CH3CO	1000 (2,09)	500 125 500 500	9 9 9 11	(15) (15) (120) (15)	30 20 40 0	1,1
18	C_6H_5	CH₃	Н	CCHNH3, Br OCH2 /-Pr	1500 (2,13)	1000 250 1000 1000	9 9 9 11	(15) (15) (120) (15)	80 0 20 10	1,3
19	HSCHCH │ CH₃	I2NH(CH2)3NH	H2	•••	350 (2,36)	175 175	9 11	(15) (15)	80 20	1,3

 a_t = intervalle de temps entre administration du produit et irradiation.

irradiation. Les solvants utilisés sont le miglyol pour les dérivés de 1 à 6 et de 14 à 17. Les autres dérivés de 7 à 13 et 18, 19 ont été étudiés en solution dans l'eau immédiatement après dissolution.

En conclusion, l'analyse des résultats de 14 dérivés germaniés de la cystéamine et méthylcystéamine N-substituées par des groupements acétyle, amino-3 propyl ou aminoacyl, nous montre d'une façon générale, une diminution quelquefois importante de la toxicité de ces dérivés organométalliques par rapport aux dérivés organiques de départ, ainsi qu'une augmentation assez notable du pouvoir radioprotecteur, en particulier pour les dérivés 1, 2, 3, 4 (Tableau I), 14 et 15 (Tableau III) comparativement aux motifs organiques de base.

Les S- et N-substitutions par des groupements diorganogermaniés dans des molécules biologiquement actives dérivées de la cystéamine et de la méthylcystéamine exaltent généralement l'activité de ces molécules en particulier dans le domaine de la radioprotection. On observe parallèlement une diminution quelquefois assez importante de la toxicité.

Ces résultats confirment nos travaux antérieurs sur les sila- et germathiazolidines dérivées de la cystéamine et méthylcystéamine [1] qui ont montré que l'activité radioprotectrice était exaltée par le remplacement d'un atome de carbone par un atome de silicium ou de germanium, la toxicité étant généralement diminuée



L'effet retard est également appréciable puisque la PhMesi s c_{H_3} assure 100% de protection après 2 h d'irradiation à 9.5 Gy.

Dans le domaine des thioacétals germaniés, dérivés de la méthylcystéamine la S-substitution par des groupements germaniés accroît nettement l'activité radioprotectrice du motif de base (méthylcystéamine, *FRD*: 1,5), malgré une quantité administrée nettement plus faible exprimée en mmol [2], par exemple:

$$\begin{array}{ccc} RR'Ge(SCHCH_2NH_2)_2 \\ | \\ CH_3 \end{array} \\ R = Me, \ R' = Ph \ (FRD > 1,6) \\ R = Me \ (FRD > 1,6) \\ R = Me \ (FRD = N \ (FRD > 1,6) \\ R = Me \ (FRD = N \ (FRD = N$$

La contribution positive de l'hétéroélément métallique (Ge ou Si) est nettement démontrée.

L'activité pharmacologique des dérivés organogermaniés a par ailleurs été citée dans le domaine de l'activité antitumorale [7-13] ainsi que les domaines des activités antimicrobiennes, psychotrope, cardiovasculaire, *etc.* [13-15]. En série isologue organosiliciée, les travaux de Voronkov et al, et Tacke et al. ont montré que dans de nombreuses catégories de dérivés biologiquement actifs, l'activité pharmacologique était exaltée par le remplacement d'un atome de carbone par un atome de silicium $[16^{-9}-19]$.

diate

Protocoles expérimentaux

Chimie

Généralités et techniques physiques

Les synthèses de germathiazolidines et dérivés acycliques S-germaniés de la cystéamine et de la méthylcystéamine N-substituées ont été effectuées sous atmosphère contrôlée (lampe à vide sous argon).

L'analyse chromatographique en phase vapeur de nos dérivés a été réalisée sur chromatographie Varian A 90 P (gaz vecteur hélium, détection par thermistance), colonne SE 30 sur chromosorb et Varian 1200 (gaz vecteur hydrogène).

Les spectres de RMN ¹H ont été enregistrés sur spectromètres Varian T 60 ou Bruker WH 90. Toutes les valeurs des déplacements chimiques (δ ·10⁻⁶) sont données par rapport au tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne. Les spectres infrarouges ont été effectués sur spectrographe Perkin–Elmer 457 à réseaux.

Les analyses élémentaires C, H, N, S, *etc.* ont été faites au Laboratoire de Microanalyse du CNRS à Vernaison. Elles ont donné des résultats conformes aux normes habituelles $(\pm 0.4\%)$ de la théorie).

Synthèse

1,5)

Les germathiazolidines de la cystéamine ou de la méthylcystéamine N-substituées ont été préparées selon deux méthodes: A et B, méthodes déjà décrites dans la partie théorique.

Acétyl-3 phényl-2 méthyl-2 germa-2 thiazolidine-1,3 (Méthode A) 2



A 7,9 g (0,033 mol) de PhMeGeCl₂ en solution dans 100 cm³ de benzène anhydre, sont ajoutés goutte à goutte 4 g (0,033 mol) de cystéamine *N*-acétylée puis 7,5 g (0,074 mol) de triéthylamine. Le mélange est porté au reflux du benzène pendant 3 h sous agitation: formation d'un précipité dense, filtration sous argon, concentration puis distillation.

Acétyl-3 diisopentyl-2,2 germa-2 thiazolidine-1,3 (Méthode B) 1 A 6 g (0,017 mol) de bis(diéthylamino)diisopentyl germane en solution dans 100 cm³ de benzène anhydre, sont ajoutés goutte à goutte 4 g (0,017 mol) de cystéamine N-acétylée en solution dans 40 cm³ de benzène anhydre. Le mélange est porté au reflux du benzène pendant 3 h sous agitation, concentré puis distillé.

3 h sous agitation, conceptré puis distillé. La synthèse des dérivés acycliques S-germaniés de la cystéamine et méthylcystéamine N-substituées, a été effectuée par la méthode C décrite dans la partie théorique.

Exemple: synthèse de bis(acétyl-2 amino-2 éthylthio)phénylméthyl-germane.

PhMeGe[SCHCH₂NHCCH₃]₂ | || CH₃ O

A 2,12 g (0,016 mol) de mercapto-2 propylamine N-acétylée en solution dans 100 cm³ de benzène anhydre, sont ajoutés goutte à goutte 2,5 g (0,008 mol) de *bis*(diéthylamino)phénylméthylgermane. Le mélange est porté au reflux du benzène pendant 3 h sous agitation. On chasse le solvant et la diéthylamine sous vide, le produit peu stable thermiquement, n'a pas été distillé.

Tableau IV.

	Méthode	E°C/mmHg	R.M.N. (solvant) (réf. interne TMS δ ppm	Rdt Z
(3) $i - Am_2 Ge \xrightarrow{N}_{C-CH_3} CH_3$	В	145/4.10 ⁻¹	$\delta_{(CH_3)_2C} = 0.95 (d), \ \delta_{CH_3C0} = 2 (s) (CC1_4)$ $\delta_{\underline{CH_3}CH} = 1.15 (d)$ $\delta_{\underline{CH_3}CH} = \delta_{\underline{CH_2N}} \text{ entre } 2.6_j \text{ et } 3.4$ $\delta_{\underline{CH}-(CH_2)_2} = 2-3 (m)$	94
(4) PhMeGe S CH_3 D CH_3 O CH_3	В	164/4.10 ⁻¹	$\delta_{CH_3} = 1,1$ (s), $\delta_{C_6H_5} = 7,2-7,9$ (m) (CC1 ₄) $\delta_{CH_5CH} = 1,2$ (d) $\delta_{CHS} = t \delta_{CH_2N} = tre 2,6 et 3,5$ $\delta_{CH_3CO} = 2,000$ (s)	98
(16) CH_3 PhMeGe $\begin{bmatrix} SCHCH_2NHCCH_3\\ O \end{bmatrix}_2$	С	-	$\begin{split} \delta_{\rm CH_3} &= 0,9 \ ({\rm s}), \ \delta_{\rm C_{6H_5}} &= 7,3-7,7 \ ({\rm m}) \ ({\rm CC1}_4) \\ \delta_{\rm CHCH_3} &= 3,7-4,1 \ ({\rm m}), \ \delta_{\rm CH_3-CH} &= 1,17 \ ({\rm d}) \\ \delta_{\rm CH_2} &= 2,5-2,8 \ ({\rm m}), \ \delta_{\rm CH_3CO} &= 1,95 \ ({\rm s}) \end{split}$	75
(1) (i-c ₅ H ₁₁) ₂ Ge N o ^l C-CH ₃	В	150/1		70
(2) PhMeGe S N 0 C-CH3	A	166/1	$\delta_{CH_3} = 1,12 \text{ (s)}, \ \delta_{C_6H_5} = 7,2-7,8 \text{ (m)}$ $\delta_{CH_2S} \text{ et } \delta_{CH_2N} \text{ entre 2,7 et 3,5}$ $\delta_{CH_3C0} = 2 \text{ (s)}$	45
(14) $(i-C_5H_{11})_2 \text{Ge}\left[\text{schch}_2\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2\right]_2$	с	-		82
(15) CH_{3} PhMeGe $\left[\operatorname{SCHCH}_{2} \operatorname{NH} (\operatorname{CH}_{2})_{3} \operatorname{NH}_{2} \right]_{2}$	с	-	$ \delta_{CH_3} = 0,95 (s), \ \delta_{C_6H_5} = 7,2-7,7 (m) (CC1_4) $ $ \delta_{CH_3} - CH = 1,1 (d), \ \delta_{NH_2} = 1,1 (s) $ $ \delta_{CHS} et \ \delta_{CH_NN} \ entre \ 2,4 \ et \ 3,1 $ $ \delta_{(CH_2)_3NH_2} entre \ 1,2 \ et \ 2,5 $	94
(17) iAm ₂ Ge [SCHCH ₂ NHCCH ₃] ₂	с	-	$ (CC1_4) $ $ \delta_{(CH_3)_2C} = 0.95 (d) , $ $ \delta_{CH_3CO} = 1.95 (s) $ $ \delta_{CHS} \text{ et } \delta_{CH_2N} \text{ entre } 2.5 \text{ et } 2.8 $ $ \delta_{CH_3-CH} = 1.17 (d) $	80
(18) $C_{6}H_{5}$ CH_{3} $Ge\left[S(CH_{2})_{2}NHCCHNH_{2} HBr\right]_{2}$ OCH_{2} iPr	с	-	$(C_{6}D_{6} + DMSO_{d_{6}})$ $\delta_{CH_{3}} = 0,92 (s)$ $\delta_{(iPrCH_{2})}$ entre 0,85 et 1,6 $\delta_{CH_{2}S}$ et $\delta_{CH_{2}N}$ entre 2,2 et 3,2 $\delta_{CH_{C}} = 3,95 (t)$, $\delta_{C_{6}H_{5}} = 7,1-7,8 (m)$	38

Tableau IV. (suite)

	Méthode	E°C/mmHg	R.M.N. (solvant) (réf. interne TMS & ppm	Rdt %
(7) (ic ₅ H ₁₁) ₂ Ge N of CCHNH ₂ .HBr of CH ₂ ipt	в	-	$\delta_{iC_{5}H_{11}} = 0,95-1,60 \qquad (C_{6}D_{6}+DMSO_{4})$ $\delta_{CH_{2}S} \text{ et } \delta_{CH_{2}N} \text{ entre } 2,1 \text{ et } 3,2$ $\delta_{(iPrCH_{2})} = 0,85-1,6 \qquad , \delta_{CHCO} = 3,95 \text{ (t)}$	47
(8) C ₆ H ₅ CH ₃ CH ₃ CCHNH ₂ .HBr O ^C CHNH ₂ .HBr	B	-	$(C_6D_6+DMSO_d^{-1})$ $\delta_{CH_3} = 0.95 (s)$, $\delta_{(iPrCH_2)} = 0.85-1.6 (m)$ $\delta_{CHCO} = 3.95 (t)$, $\delta_{C_6H_5} = 7.1-7.8 (m)$ δ_{CH_2S} et δ_{CH_2N} entre 2.2 et 3.3	68
(9)			(C ₆ D ₆ +DMSO _{d₆})	
(ic ₅ H ₁₁) ₂ Ge CCH ₂ NH ₂ ·HBr	в	-	$\delta_{iC_5H_{11}} = 0,93-1,62 \text{ (m)}, \delta_{CH_2CO} = 3,80 \text{ (d)}$ $\delta_{CH_2S} = \delta_{CH_2N} = \text{ntre } 2,8 \text{ et } 3,4$	73
(10) $C_6^{H_5}$ Ge S CH ₃ Ge CH ₂ NH ₂ .HBr	в	-	$(c_6 b_6 + DMSO_{d_6})$ $\delta_{CH_3} = 1,05$ (s) , $\delta_{CH_2CO} = 3,80$ (d) δ_{CH_2S} et δ_{CH_2N} entre 2,8 et 3,4 $\delta_{C_6H_5} = 7,1-7,8$ (m)	77
(11) (iC ₅ H ₁₁) ₂ Ge CCHNH ₂ .HBr	В	-	$(C_6 D_6 + DMSO_d)$ $\delta_{iC_5 H_{11}} = 0.91 - 1.62 \text{ (m)}, \delta_{(CH_3)_2 C} = 0.86 \text{ (d)}$ $\delta_{CH} = 2.1 \text{ (m)}, \delta_{CHCO} = 3.95 \text{ (d)}$ $\delta_{CH_2 S} \text{ et } \delta_{CH_2 N} \text{ entre } 2.8 \text{ et } 3.4$	54
(5)			(C ₆ D ₆)	
ch ₃ conhch ₂ ch ₂ sh		140/17	$\delta_{CH_3C} = 1,82$ (s) $\delta_{CH_2S} = \delta_{CH_2N}$ entre 2,38 et 3,18	46
(6) CH ₃ CONHCH ₂ (CH ₃)CHSH		150/15	(cc1 ₄) $\delta_{CH_3CO} = 1,95$ (s), $\delta_{CH_2} = 2,4-2,7$ (m) $\delta_{CH_3} = 1,2$ (d), $\delta_{\underline{CH}-CH_3} = 3,7-4,1$ (m)	40
(12)		1	(D ₂ 0)	
HSCH ₂ CH ₂ NHCOCHNH ₂ .HBr iPrCH ₂			$\delta_{(iPrCH_2)} = 0,83-1,6$, $\delta_{CHCO} = 3,80$ (t) $\delta_{CH_2S} = \delta_{CH_2N}$ entre 2,8 et 3,4	92
(13) HSCH ₂ CH ₂ NHCOCHNH ₂ .HBr iPr			voir partie expérimentale	90
(19) HSCH(CH ₃)CH ₂ NH(CH ₂) ₃ NH ₂		82/0,2	$\delta_{\text{CHS}} = \delta_{\text{CH}_2\text{N}} = 1,12 \text{ (d)}$, $\delta_{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2} = 1,36 \text{ (q)}$	65

Synthèse de la N-acétylcystéamine et N-acétylméthylcystéamine L'action de chlorure d'acétyle sur le groupement amino, de la cystéamine ou de la méthylcystéamine, a été réalisée mol à mol dans le benzène anhydre au reflux en présence de la triéthylamine.

$$CH_{3}COCl + HSCHCH_{2}NH_{2} \xrightarrow{C_{6}H_{6}} CH_{3}CONHCH_{2}CHSH + Et_{3}N \cdot HCl$$

$$| \qquad R \qquad R$$

$$R = H, CH_{3}$$

Synthèse de la cystéamine N-substituée par un bromhydrate d'aminoacide La synthèse de la cystéamine couplée avec divers aminoacides a été effectuée selon le schéma réactionnel suivant:

Synthèse de: HSCH(CH₃)CH₂NH(CH₂)₃NH₂ $H_2N(CH_2)_3NH_2 + \underbrace{CH_3 \rightarrow HSCH(CH_3)CH_2NH(CH_2)_3NH_2}_{S}$

A 74 g de diamino-1,3 propane (1 mol) dans 350 ml de benzène anhydre, on ajoute 9,25 g de méthylthiiranne (0,125 mol) dans 100 ml de benzène anhydre sous agitation et goutte à goutte en maintenant le reflux du benzène. L'addition terminée, le mélange réactionnel est laissé 2 h au reflux. On concentre le benzène et on distille.

L'ouverture du méthylthiiranne fournit un seul produit (cf. spectre de RMN), l'attaque nucléophile du groupement NH2 ayant lieu sur le carbone du thiiranne le moins encombré.

Les constantes physiques de ces dérivés et leurs caractéristiques de RMN sont consignées dans le Tableau IV.



Exemple: bromhydrate de valinyl N-(S-acétyl)-cystéamine.

Carbobenzoxy-valinyl N-(S-acétyl)-cystéamine

Une solution de 11,06 g (0,044 mol) de carbobenzoxy-L-valine dans 100 ml de tétrahydrofuranne (THF), est agitée à 0°C avec 4,54 g (0,022 mol) de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) préalablement dissout dans 40 ml de THF. Au bout de 30 min d'agitation à 0°C, on ajoute 4,8 ml de triéthylamine et on laisse l'agitation 30 min. On verse une solution de 6,84 g (0,044 mol) de chlohydrate de S-acétylcystéamine dans 100 ml de THF. On agite pendant 30 min à 0°C, puis on laisse reposer pendant 3 h à température ambiante en maintenant le pH basique par addition de triéthylamine. On évapore le solvant et on reprend le précipité par 500 ml d'acétate d'éthyle et 2 fois 200 ml de bicarbonate de sodium aqueux saturé. La phase organique est ensuite décantée et lavée avec 2 fois 200 ml d'acide chlorhydrique aqueux à 5% et avec 2 fois 200 ml d'eau glacée puis séchée sur sulfate de sodium et évaporée à sec sous vide. On recueille 10 g du produit attendu PF = 122°C. Spectre de RMN (C₆D₆ + DMSO-d₆): réf. interne TMS δ ppm: (CH₃)₂C = 1,0 (d); CH₃CO = 1,95 (s); CH = 2,05 (m); CH₂S et CH₂N entre 2,9 et 3,5 (m); CHCO = 4,4 (d); $C_6H_5 = 7.3$ (m); $CH_2O = 5.1$ (s).

Carbobenzoxy-valinyl N-cystéamine

Une solution de 2,8 g (8 mmol) de carbobenzoxy-valinyl N-(S-acétvl)cystéamine dans 40 ml de méthanol est traitée par 5 ml de méthylate de sodium (0,263 g de sodium dans 5 ml de méthanol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante durant 1 h puis amené à pH 1,2 par de l'acide chlorhydrique concentré, on évapore à sec sous vide la solution. On recueille un produit solide. F = 159-161 °C. Spectre de RMN (C₆D₆ + DMSO-d₆): réf. interne TMS δ ppm: (CH₃)₂C = 1,0 (d); CH = 2,05 (m); CH₂S et CH₂N entre 2,6 et 3,4; CHCO = 4,4 (d); C₆H₅ = 7,3 (m); CH₂O = 5,1 (s); SH = 1,4(t).

Déblocage de l'aminoacide avec formation de bromhydrate

On agite à une température inférieure à -5°C, sous atmosphère d'argon, en l'absence de lumière, un mélange de 4,65 g (0,015 mol) de carbobenzoxyvalinyl N-cystéamine et de 12 ml d'une solution d'acide acétique glacial saturé d'acide bromhydrique. Après 30 min d'agitation, on précipite le bromhydrate par addition de 160 ml d'éther anhydre glacé puis la phase éthérée est décantée. On répète 5 fois l'opération de lavage. L'huile résiduelle est ensuite reprise par 90 ml d'eau distillée et liophylisée. Le produit apparaît sous forme d'une pâte blanche très hygroscopique. Il sera conservé sous atmosphère d'argon. Spectre de RMN (D₂O): réf. externe TMS δ ppm: (CH₃)₂C = 1,4 (d); CH = 2,2 (m); CHCO = 4,2 (d); CH_2S et CH_2N entre 2,9 et 3,3.

Pharmacologie

Les animaux utilisés pour cette étude ont été des souris mâles CDI de Charles River France de 3 mois et pesant 30 g en moyenne.

L'irradiation a été délivrée avec une source de cobalt 60 avec un débit de dose compris entre 0,5 et 0,6 Gy/min selon l'époque de l'expérimentation. La dosimétrie a été effectuée à l'aide d'une chambre d'ionisation de type Baldwin-Ionex.

La toxicité a été déterminée par l'évaluation de la dose létale 50%. Il s'agit de toxicités aiguës dans tous les cas.

Le pouvoir radioprotecteur a été évalué par le calcul du facteur de réduction de dose (FRD) qui est le rapport de la DL_{50} irradiation/ 30 jours des animaux ayant reçu la substance testée à celle des animaux témoins. Ces DL₅₀ irradiation sont calculées d'après les valeurs des taux de survie obtenus après l'irradiation de lots de 20 souris à différentes doses. La DL₅₀/30 jours de la souche est déterminée tous les trois mois avec 8 lots irradiés à des doses croissantes entre 6 et 9,5 Gy. Elle était comprise entre 7,7 et 8 Gy aux différentes périodes de l'expérimentation.

Les substances ont été injectées par voie intrapéritonéale 15 min ou 2 h avant l'irradiation, à dose égale à la moitié ou au huitième de leur DL50.

Malgré la détermination régulière de la radiosensibilité de la souche, lors de l'étude toxicologique préalable, un lot de témoins irradiés à la $DL_{100}/30$ jours ne recevant pas de produit testé et un lot de témoins de toxicité sont prévus au cours de chaque séance d'irradiation.

Les témoins d'irradiation sont tous décédés alors que les témoins de toxicité ont tous survécu.

Références

- Satgé J., Cazes A., Bouchaut M., Fatome M., Sentenac-Roumanou H. & Lion C. (1982) Eur. J. Med. Chem. 17, 433-436 1
- Fatome M., Sentenac-Roumanou H., Lion C., Satgé J., Four-2 tinon M. & Rima G. (1984) Eur. J. Med. Chem. 19, 119-122
- Dousse G., Satgé J. & Rivière-Baudet M. (1973) Synth. Inorg. Metal. Org. Chem. 3, 11-21 Lesbre M., Mazerolles P. & Satgé J. (1973) in: The Organic
- Compounds of Germanium, John Wiley & Sons, New York, pp. 1-701
- Satgé J., Lesbre M. & Baudet M. (1964) C. R. Acad. Sci. Paris 5 Sér. C 259, 4733–4736 Satgé J. & Baudet M. (1966) C. R. Acad. Sci. Paris Sér. C 263,
- 6 435-438
- 7 Rice L. M. (1973) Ger. Offen. 2,243,550; (1973) Chem. Abstr. 79, 42680h

- (1985) Rev. Silicon, Germanium, Tin, Lead Compd. 8, 157-168 Kakimoto N., Matsui M., Takada T. & Akiba M. (1985) Hetero-9
- cycles 23, 2681—2684 Miyamoto T. K., Sugita N., Matsumoto Y., Sasaki Y. & Bunkyo-10
- 11
- Miyamoto I. K., Sugita N., Matsumoto Y., Sasaki Y. & Bunkyo-ku H. (1983) Chem. Lett. 1695–1698 Lukevics E., Ignatovich L. M., Zidermane A. & Dauvarte A. (1984) Latv. PSR Zinat. Akad. Vestis Kim. Ser. 4, 483–486 Lukevics E., Germane S., Zidermane A., Dauvarte A., Krav-chenko I. M., Trusule M., Mironov V. F., Gar T. K. et al. (1984) Khim, Farm. Zh. 18, 114–119 12
- Satgé J. (1981) Rapport de mise au point, Association pour 13 l'étude des Problèmes Avancés (AEPA), Paris
- 14 Rijkens F. (1960) in: Organogermanium Compounds, Germanium Research Committee, Utrecht Rijkens F. & Van der Kerk G. J. M. (1964) in: Investigation
- 15 in the field of organogermanium Chemistry, Germanium Research Committee, Utrecht Voronkov M. G., (1969) Pure Appl. Chem. 19, 399–416 Voronkov M. G., Zelchan G. I. & Lukevics E. (1975) in: Silicon
- 16
- 17 and Life Berlin Akad. Verlag
- Tacke R. & Wannagat U. (1979) Top. Curr. Chem. 84, 1–175 Voronkov M. G., Lukevics E., Wannagat U., Levier R. R., Chandler M. L., Wendel S. R. & Strindberg B. (1978) in: Bio-chemistry of Silicon and Related Problems (Bendz G. & Lund-18 19 quist I., eds.), Plenum Press, New York, pp. 395--515