ETUDE CONFORMATIONNELLE DE DEUX TRIAZOLINE-1,2,4-THIONES-5

C. GORS* et V. WARIN

Laboratoire de Dynamique des Cristaux Moléculaires (E.R.A. 465), Université de Lille 1 - 59655 Villeneuve d'Ascq (France)

J. P. HENICHART

Unité INSERM U16, Place de Verdun, 59045 Lille (France)

R. HOUSSIN

Institut de Chimie Pharmaceutique, Rue du Professeur Laguesse, 59045 Lille (France) (Reçu le 25 mars 1980; en forme finale le 3 juin 1980)

ABSTRACT

Structural studies of 4-(2-morpholinoethyl)- Δ 2-1,2,4-triazoline-5-thione and of 3-(2-morpholinoethyl)-4-benzyl- Δ 2-1,2,4-triazoline-5-thione have been carried out in solution and in the solid state. NMR and X-ray data are discussed in relation to the biological properties of the molecules and the putative binding at the histamine receptors.

RESUME

(Morpholino-2 éthyl)-4 \triangle -2 triazoline-1,2,4 thione-5 et (morpholino-2 éthyl)-3 benzyl-4 \triangle -2 triazoline-1,2,4 thione-5 sont des analogues structuraux de l'histamine. L'étude de leur structure, en solution par RMN et à l'état solide par radiocristallographies a permis de préciser dans quelle mesure les deux molécules étaient susceptibles d'agir en compétition avec le médiateur chimique au niveau de ses récepteurs spécifiques.

INTRODUCTION

Nous avons montré récemment [1] que la structure du méthyl-1 salicyloyl-4 thiosemicarbazide (1a), molécule biologiquement active, présentait deux formes distinctes aussi bien en solution qu'à l'état cristallin. L'obtention de 1a consiste en une réaction d'addition entre l'isothiocyanate de méthyle et le salicyloylhydrazide. Appliquée à des composés de départ comportant un groupement fonctionnel à caractère basique marqué tel qu'un substituant alkylaminoéthyle, la méthode conduit d'emblée à la formation de triazoline-1,2,4 thiones-5 (2) correspondant à la déshydratation cyclisante des acylthiosemicarbazides intermédiaires non isolés. Un mécanisme rendant compte du rôle du groupement amine tertiaire a été proposé [2].

Nous reportons ici l'étude conformationnelle de deux représentants 2a et 2b (Fig. 1) de cette famille de nouvelles triazolinethiones. Ces composés



Fig. 1. 1 Acylthiosemicarbazide. 2 Triazoline-1,2,4 thione-5. 3 Histamine (3a, tautomère N^{π} —H; 3b, tautomère N^{τ} —H).

sont des analogues structuraux de l'histamine (3) et ont été étudiés pour leurs propriétés antagonistes au niveau des récepteurs de ce médiateur chimique [3].

Les récepteurs de l'histamine sont de deux types: les récepteurs H_1 qui contrôlent les effets de l'histamine en stimulant la contraction des muscles lisses [4], et les récepteurs H_2 impliqués dans des manifestations pharmacologiques très spécifiques telles que la stimulation de la sécrétion gastrique ou l'inhibition des contractions de l'utérus [5]. La conformation de l'histamine est déterminée par trois angles de torsion θ_1 , θ_2 et θ_3 (Fig. 2).

Ce médiateur chimique agit au niveau des récepteurs H_1 sous une forme " H_1 essentielle" expansée pour laquelle les atomes de carbone et l'atome d'azote de la chaîne latérale sont dans le plan du cycle imidazole, de telle manière que $\theta_1 = 0^\circ$, $\theta_2 = 180^\circ$ et que la distance $NH_2 - N^{\pi} = 5,1$ Å [6]. Cette forme a été plus explicitement définie par des calculs d'énergie de conformation [7]. Il semble au contraire que l'histamine n'adopte pas cette conformation au niveau des récepteurs H_2 . Le noyau imidazole y joue un rôle prépondérant: il faut qu'il puisse librement agir, par tautomérie annulaire, comme agent de transfert de proton [8].

Les composés triazoliques dont deux représentants sont décrits ici, ont été étudiés pour leurs propriétés pharmacologiques au niveau des récepteurs H_1 et H_2 de l'histamine. Il nous a semblé tout-à-fait utile de déterminer leurs



Fig. 2. Conformations de l'histamine déterminées par les angles de torsion θ_1 , θ_2 et θ_3 .

220

conformations tant pour 2a pour lequel la chaîne aminoalkylée est attachée à un atome d'azote que pour 2b dont la chaîne latérale est liée à un carbone du cycle. Ces composés pourront être comparés avec les antihistaminiques H_1 "classiques" et les antagonistes H_2 tels que Metiamide ou Cimetidine pour lesquels des relations entre conformation et activité ont déjà été établies [9, 10].

PARTIE EXPERIMENTALE

Composés

(Morpholino-2 éthyl)-4 \triangle -2 triazoline-1,2,4 thione-5 (2a)

Une solution éthanolique d'un mélange équimolaire de formylhydrazide et de morpholinoethylisothiocyanate [11] est maintenue à reflux pendant 6 h, sous agitation. Le produit brut (98%), obtenu après évaporation du solvant est recristallisé dans l'éthanol. $F = 142^{\circ}$. Spectre de masse: m/z (abondance relative): 214 (5,M⁺), 113 (100), 100 (45), 83 (14), 55 (47), 42 (30), 28 (23).

(Morpholino-2 éthyl)-3 benzyl-4 \triangle -2 triazoline-1,2,4 thione-5 (2b)

2b est obtenu dans les mêmes conditions que 2a à partir de morpholino-3 propionohydrazide [12] et de benzylisothiocyanate avec un rendement de 85%. $F = 173^{\circ}$ (éthanol). Spectre de masse: 304 (4,M⁺), 100 (100), 91 (57), 42 (12), 28 (34).

Appareillage

Les spectres IR ont été réalisés en pastilles de bromure de potassium sur un appareil Perkin-Elmer 177. Les spectres de RMN ont été enregistrés sur un appareil JEOL JNM-MH-60, le tétraméthylsilane étant utilisé comme référence interne. Les intensités des rayons X diffractés par un monocristal ont été collectées sur diffractomètre automatique Philips PW 1100 à la longueur d'onde du molybdène ($\lambda \operatorname{MoK}_{\alpha} = 0,7107$ Å) avec un monochromateur au graphite. Les structures ont été résolues à l'aide du programme MULTAN [13] et affinées par moindres carrés par le programme ORION [14].

Analyse conformationnelle en solution

Les triazolinethiones peuvent théoriquement exister sous quatre formes tautomères (Fig. 3).

Les spectres de résonance magnétique nucléaire de 2a et 2b montrent clairement la présence d'un proton NH libre ($\delta = 13,8$ ppm), l'équilibre tautomère A \Leftrightarrow B \Leftrightarrow C \Leftrightarrow D est donc très en faveur du composé A. Ceci confirme les résultats de différentes études de la conformation en solution de composés du même type [15-17].



Fig. 3. Formes tautomères (A, B, C, D) et dimère (E) des triazolinethiones.

Les déterminations spectroscopiques en RMN ¹H ont été réalisées dans le DMSO- d_6 (Tableau 1). Le déblindage marqué du proton NH est en faveur de la formation de liaisons hydrogène intra ou intermoléculaires. Il est tout à fait concevable que ces liaisons intermoléculaires puissent conduire à la formation d'un dimère E dont la structure est comparable à celle du complexe décrit par Tsuge et coll. [18] pour les triazolones. Aucune liaison intermoléculaire de type soluté—solvant ne semble par contre se former dans le DMSO puisque la dilution n'a aucun effet sur la valeur du glissement chimique du proton NH.

Structure à l'état solide

Spectroscopie infrarouge

Les spectres infrarouge, réalisés sur échantillons de 2a et 2b en phase solide, révèlent de même l'existence d'un groupement thione avec une bande

TABLEAU 1

RMN 'H de 2a et 2b: les δ sont exprimés en ppm; les signaux apparaissent sous forme de singulet (s) ou de triplet (t); les constantes de couplage sont exprimées en Hz.

		δ (10 ⁻⁶)	Multiplicité	Intensité	J (Hz)
	1	3,55	t	4	$J_{1-2} = 4$
	2	2,40	t	4	
	3	2,58	t	2	
	4	4.0	t	2	$J_{3-4} = 6$
	5	13.80	S	1	(système
s N I	6	8,33	S	1	$(\mathbf{A}_{2}\mathbf{X}_{2})$
н _е					
20					
	1	3,50	t	4	$J_{1-2} = 4$
	2	2,35	t	4	
	3	2,62	t	2	$J_{3-4} = 6$ (système
	4	2,47	t	2	
	5	13,80	S	1	
N: 1	6	8,30	S	2	A ₂ D ₂)
Η ₅	7	7,32	S	5	
2b					

caractéristique à 1210 cm⁻¹ attribuable à la vibration de la liaison C=S [19] et une autre à 1460—1480 cm⁻¹ correspondant à la liaison C—N du groupe > N—C=S [17]. Le fait que la forme thione soit également représentée à l'état solide confirme les résultats de Blackman et Polya [20].

Analyse aux rayons X

(Morpholino-2 éthyl)-4 \triangle -2 triazoline-1,2,4 thione-5 (2a) (Fig. 4). Les cristaux se présentent sous forme de parallélépipèdes rectangles transparents. Le composé cristallise en une maille orthorhombique de groupe spatial Pbca et de paramètres: a = 15,560(30) Å, b = 11,808(23) Å, c = 11,772(22) Å.

Tous les atomes lourds sont apparus dès la première série de Fourier. Les positions des atomes d'hydrogène ont été soit déterminées au cours de l'affinement dans les séries de Fourier différence, soit calculées géométriquement. Un dernier affinement de toutes les coordonnées atomiques et des facteurs de température anisotropes des atomes lourds donne un facteur résiduel de 0,043 pour 1 867 réflexions $(I > 3\sigma(I))$.



Fig. 4. Vue de la molécule de 2a et numérotation des atomes.



Fig. 5. Projection de Newman le long de la liaison C(3)-C(4) de 2a.

Les deux atomes d'azote N(3) et N(4) sont en position décalée *trans* (Fig. 5). Le cycle morpholine présente une forme chaise. Le cycle triazole est plan (écart maximum au plan moyen: 0,002 Å). Les valeurs des angles et distances interatomiques sont voisines des valeurs précédemment observées par Goldstein et coll. [21] pour cet hétérocycle. Une délocalisation importante des électrons π se manifeste par une double liaison longue C(1)=S (1,67 Å) assortie d'une liaison relativement courte (1,34 Å) pour C(1)-N(1).

(Morpholino-2 éthyl)-3 benzyl-4 \triangle -2 triazoline-1,2,4 thione-5 (2b). (Fig. 6). La cristallisation plus difficile que pour le composé précédent, ne donne que des plaquettes de faible épaisseur. Le composé cristallise en une maille triclinique centrée, de paramètres: a = 11,757(23) Å, b = 11,661(22) Å, c = 6,915(23) Å, $\alpha = 116^{\circ}53$, $\beta = 95^{\circ}52$, $\gamma = 104^{\circ}31$.

Vingt atomes lourds ont été localisés par la série de Fourier. Une série directe a été nécessaire pour trouver un dernier atome du cycle benzénique. Les positions des atomes d'hydrogène ont été déterminées par cinq séries différence au cours de l'affinement. Le facteur résiduel final est de 0,042.

Les cycles morpholine et triazole présentent la même conformation que précédemment.

Néanmoins, la présence du groupe benzyle modifie notablement la conformation de la chaîne dialkylaminée; la projection de Newman (Fig. 7) au niveau du groupe éthyle (C(3)---C(4)) révèle une forme éclipsée imparfaite.

Calcul d'énergie de conformation

Nous avons évalué les variations d'énergie intramoléculaire induites par toute déformation: pour chacune des positions atomiques, générées par ces déformations, nous avons calculé l'énergie de conformation à l'aide du potentiel d'intéraction atome—atome proposé par Kitaigorodski [22]:



Fig. 6. Vue de la molécule 2b et numérotation des atomes.



Fig. 7. Projection de Newman le long de la liaison C(3)-C(4) de 2b.

$$V_{ij} = -\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{6}} + \frac{B_{ij} \exp(-C_{ij} r_{ij})}{r_{ij}^{d} r_{ij}}$$

avec pour $A_{ij}, B_{ij}, C_{ij}, d_{ij}$, les valeurs données par Giglio [23].

Nous avons supposé: (1) que les liaisons covalentes et les angles intramoléculaires restaient égaux à eux-mêmes lors de la solvatation; (2) que les cycles benzénique et triazolique étaient peu susceptibles de distorsion du fait de leur caractère aromatique; (3) que le cycle morpholine conservait la conformation "chaise", celle-ci étant la plus stable énergétiquement.

Les modifications à envisager sont donc des rotations de blocs rigides autour des liaisons simples. Le zéro de la variation angulaire (τ) et le zéro d'énergie correspondent à la conformation cristalline.

(Morpholino-2 éthyl)-4 \triangle -2 triazoline-1,2,4 thione-5 (2a). Nous avons envisagé trois rotations simultanées, τ_1 autour de N(3)–C(3), τ_2 autour de C(3)–C(4), τ_3 autour de C(4)–N(4).

Les courbes isoénergie à τ_1 = constante, τ_2 et τ_3 variables (Fig. 8) présentent trois minima: A ($\tau_1 = 0^\circ$, $\tau_2 = 0^\circ \rightarrow 20^\circ$, $\tau_3 = 0^\circ$) qui correspond à la conformation cristalline, B ($\tau_1 = 0^\circ$, $\tau_2 = 100^\circ \rightarrow 120^\circ$, $\tau_3 = 0^\circ$) et C ($\tau_1 = 0^\circ$, $\tau_2 = 120^\circ$, $\tau_3 = 80^\circ$) pour lesquels les atomes N(3) et N(4) sont en position décalée gauche.

Notons, dans les courbes isoénergie à τ_3 = constante (Fig. 9) des zones (hachurées) d'énergie inférieure (-1 kcal) à l'énergie de conformation



Fig. 8. Courbe isoénergie de 2a à $\tau_1 = 0^\circ$. L'énergie est donnée en kcal.



Fig. 9. Courbe isoénergie de 2a à $\tau_3 = 0^\circ$. Les zones hachurées correspondent à des énergies inférieures à l'énergie de la conformation cristalline.

cristalline. Ces courbes montrent quatre minima: A' $(\tau_1 = 0^\circ \rightarrow 40^\circ, \tau_2 = 0^\circ \rightarrow 20^\circ, \tau_3 = 0^\circ)$ et B' $(\tau_1 = 0^\circ \rightarrow 40^\circ, \tau_2 = 100^\circ \rightarrow 120^\circ, \tau_3 = 0^\circ)$ identiques aux points A et B, C' $(\tau_1 = 170^\circ \rightarrow 200^\circ, \tau_2 = -10^\circ \rightarrow 30^\circ, \tau_3 = 0^\circ)$ et D' $(\tau_1 = 170^\circ \rightarrow 200^\circ, \tau_2 = 70^\circ \rightarrow 120^\circ, \tau_3 = 0^\circ)$ qui correspondent à des conformations obtenues à partir de A' et B' par une symétrie par rapport au plan du cycle triazole. Pour toutes ces conformations, l'éloignement des cycles tend à être maximum.

(Morpholino-2 éthyl)-3 benzyl-4 Δ -2 triazoline-1,2,4 thione-5 (2b). Le composé possède cinq liaisons simples permettant une libre rotation. Dans un premier temps, nous avons effectué cinq rotations par pas de 60°, ce qui nous a permis de vérifier que la conformation cristalline était proche du minimum (τ_1 autour de C(2)-C(3), τ_2 autour de C(3)-C(4), τ_3 autour de C(4)-N(4), τ_4 autour de N(3)-C(9), τ_5 autour de C(9)-C(10)).

Les propriétés histaminiques semblent fonction de la chaîne C(2)-C(3)-C(4)-N(4); de ce fait, nous avons préféré faire une étude plus détaillée à $\tau_4 = \tau_5 = 0^{\circ}$.

La rotation du cycle morpholine provoque les mêmes variations que précédemment. Les courbes isoénergie ($\tau_3 = 0^\circ$, τ_1 et τ_2 variables) montrent



Fig. 10. Courbe isoénergie du 2b à $\tau_3 = 0^\circ$.

des zones (Fig. 10) d'énergie plus faible que l'énergie de conformation cristalline. La position d'énergie minimum (notée +) correspond à $\tau_1 = 120^\circ$, $\tau_2 = 120^\circ$ donc à une position décalée *trans* des atomes C(2) et N(4).

Si l'on considère, comme auparavant, qu'une variation ΔE de 1 kcal est faible, la zone dans laquelle la molécule peut évoluer est très vaste. La mobilité de la chaîne dialkylaminée autour de C(3)—C(4) n'est pas gênée par la présence du groupe phényle. La conformation cristalline (notée*) est certainement très influencée par le champ cristallin. Le passage en solution devrait être capable de modifier notablement la conformation.

CONCLUSION

Les données cristallographiques et les calculs d'énergie montrent clairement que la conformation privilégiée de 2a est telle que les atomes d'azote N(3) (du triazole) et N(4) (de la morpholine) sont en position *trans* par rapport à la liaison C(3)—C(4), les atomes N(3), C(3), C(4) et N(4) étant compris dans le même plan. La molécule apparaît alors dans une conformation "expansée" favorable à l'accès aux récepteurs H_1 de l'histamine (Fig. 11).

Par contre, l'influence du substituant benzyle pour 2b modifie l'arrangement de la chaîne morpholinoéthyle par rapport au noyau triazole. L'atome



Fig. 11. Positions relatives des cycles triazole (T) et morpholine (M) par rapport à la liaison C3-C4.



Fig. 12. Rôle de la tautomérie des triazolinethiones dans le mécanisme supposé de transfert de proton.

d'azote est beaucoup plus proche du noyau triazole et l'accès aux récepteurs H_1 n'est pas favorisé. Le mécanisme d'action de l'histamine, de ses agonistes ou de ses antagonistes au niveau des récepteurs H_2 est différent et concerne surtout le noyau hétérocyclique. Ces substances agiraient comme transporteurs de protons [8] et ce rôle catalytique serait responsable de la réponse pharmaco-logique H_2 [24]. Le mécanisme de transfert d'hydrogène évoqué ici serait analogue à celui qui implique les résidus histidyle dans les sites catalytiques de certains enzymes, pour la chymotrypsine en particulier. Un tel mécanisme a bien été étudié sur les bases de calcul théorique par Weinstein et coll. [25]. Le noyau triazolinethione pour lequel une tautomérie est évidente mais où la forme thione est prépondérante — ceci a été montré en solution et à l'état solide — est tout à fait favorable à un tel transfert de proton d'un site A vers un site B comme le montre la Fig. 12.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 C. Gors, F. Baert, J. P. Hénichart et R. Houssin, J. Mol. Struct., 55 (1979) 223.
- 2 J. P. Hénichart, R. Houssin, B. Lablanche, C. Lespagnol, J. Navarro et A. Perio, Eur. J. Med. Chem., 12 (1977) 117.
- 3 J. P. Hénichart et R. Houssin, travaux non publiés.
- 4 A. S. F. Ash et H. O. Schild, Br. J. Pharmac. Chemother., 27 (1966) 427.
- 5 J. W. Black, W. A. M. Duncan, G. J. Durant, C. R. Ganellin et M. E. Parsons, Nature, 236 (1972) 385.
- 6 C. R. Ganellin, J. Med.Chem., 16 (1973) 620.
- 7 L. Farnell, W. G. Richards et C. R. Ganellin, J. Med. Chem., 18 (1975) 662.
- 8 C. R. Ganellin, dans E. D. Bergmann et B. Pullman (Eds.), Molecular and Quantum Pharmacology, Reidel, Dordrecht, 1974, pp. 43-53.

- 9 G. J. Durant, J. C. Emmett, C. R. Ganellin, P. D. Miles, H. D. Prain, M. E. Parsons et G. R. White, J. Med. Chem., 20 (1977) 901.
- 10 G. J. Durant, J. C. Emmett et C. R. Ganellin, dans W. L. Burland et M. A. Simkius (Eds.), Cimetidine – Proceedings of the Second International Symposium on Histamine H₂ – Receptor Antagonists, Excerpta Medica, Amsterdam, 1977, pp. 1–12.
- 11 J. P. Hénichart, R. Houssin, B. Lablanche, L. Devos et F. Baert, J. Heterocycl. Chem., 14 (1977) 439.
- 12 J. P. Hénichart, R. Houssin et B. Lablanche, C.R. Acad. Sci. (C), 282 (1976) 857.
- 13 G. Germain, P. Main et M. M. Woolfson, Acta Crystallogr., Sect. A, 27 (1971) 368.
- 14 D. André, R. Fourme et M. Renaud, Acta Crystallogr., Sect B, 27 (1971) 2371.
- 15 S. Kubota, M. Uda et M. Ohtsuka, Chem. Pharm. Bull., 19 (1971) 2331.
- 16 S. Kubota et M. Uda, Chem. Pharm. Bull., 21 (1973) 1342.
- 17 A. J. Blackman et J. B. Polya, J. Chem. Soc. C, (1971) 1016.
- 18 O. Tsuge, S. Kanemasa et M. Tashiro, Tetrahedron, 24 (1968) 5205.
- 19 L. J. Bellamy, The Infrared Spectra of Complex Molecules, 3rd edn., Chapman and Hall, London, 1975, p. 401.
- 20 A. J. Blackman et J. B. Polya, J. Chem. Soc. C, (1970) 2403.
- 21 P. Goldstein, J. Ladell et G. Abowitz, Acta Crystallogr., Sect. B, 25 (1969) 135.
- 22 A. I. Kitaigorodski, in R. Brill (Ed.), Advances in Structure Research by Diffraction Methods, Vol. 3, 1970, p. 173.
- 23 E. Giglio, Nature, 222 (1969) 339.
- 24 G. J. Durant, C. R. Ganellin et M. E. Parsons, J. Med. Chem., 18 (1975) 905.
- 25 H. Weinstein, D. Chou, C. L. Johnson, S. Kang et J. P. Green, Mol. Pharmacol., 12 (1976) 738.