



Ces travaux ont permis en outre de montrer que le mode de dégradation observé *in vivo* paraît proche de celui observé *in vitro* et notamment que la biotransformation de la partie alkylante passe par un intermédiaire  $^+CH_2CH_2Cl$ : en effet la présence de chloroéthanol dans le plasma est à cet égard significative.

Il semble établi que l'action cytostatique des chloroéthylnitrosourées soit due au pontage interbrin  $N_1$  guanine— $N_1$  cytidine par le cation chloro-2 éthyle [11].

Les données décrites dans la littérature [12] montrent que les fluoroéthyl nitrosourées ont une capacité plus faible à effectuer ces pontages. On peut penser qu'en série fluorée, le pouvoir cytostatique dû à l'alkylation suivie du pontage interbrin est moindre, ce qui pourrait d'autre part entraîner une diminution de la toxicité générale.

Par ailleurs, des travaux menés par Johnston *et al.* [13] sur des fluoroéthylnitrosourées (PFNU) ont montré que l'efficacité de ces composés était au moins égale à celle des homologues chlorés sur certains types de tumeurs murines (carcinome de Lewis).

Sur la base de l'ensemble de ces travaux, nous avons préparé les analogues fluorés des composés 1 et 3 dans le but de les comparer aux dérivés fluorés actifs (Fig. 1).

Notre objectif était d'obtenir des composés aussi efficaces et moins toxiques.

## Chimie

La synthèse des deux composés a été réalisée selon le Schéma 1. Le carbamate activé I est préparé par action du *para*-nitrophényl chloroformiate sur la fluoro-2éthylamine, la nitrosation à  $-20^\circ C$  dans la pyridine par le chlorure de nitrosyle permet d'obtenir le nitroso carbamate activé II. La chloro-2 éthylnitrosourée III sélectivement nitrosée est facilement synthétisée par action du nitroso carbamate II sur la méthylthioéthylamine. Enfin, le sulfoxyde IV et la sulfone V sont isolés après oxydation du soufre par  $H_2O_2$  dans l'acide formique.

## Pharmacologie

L'activité anti-tumorale des deux composés fluorés  $FMSOEN_2$  et  $FMSO_2EN_2$  a été évaluée comparativement à celle de leurs analogues chlorés  $CMSOEN_2$  et  $CMSO_2EN_2$  sur la leucémie L1210 implantée par voie *i.p.* sous forme ascitique chez la souris. Des souris hybrides  $F_1$  ( $DBA_2 \times C57BL/6$ ) (23—25 g) reçoivent par voie *i.p.*  $10^5$  cellules au jour 0. Les composés en solution dans le sérum physiologique sont injectés par voie *i.v.* dans la veine de la queue aux jours 1, 5 et 9. La médiane de survie des animaux témoins dans ces conditions expérimentales est de 9—10 jours.

Nos résultats résumés sur le Tableau I appellent deux commentaires: 1) les intervalles de dose à efficacité maximale (dose guérissant 50—100% des animaux) sont plus larges pour les deux composés fluorés que pour leurs analogues chlorés. Ils sont de 10—30 mg/kg pour  $FMSOEN_2$  (5—

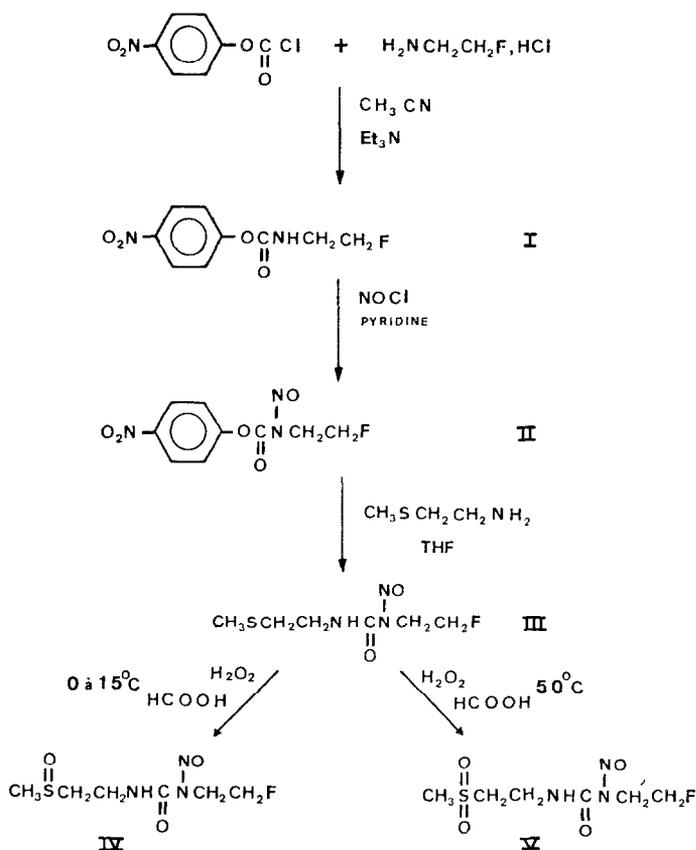


Schéma 1

Tableau I. Activité anti-tumorale sur la leucémie L1210 greffée par voie *i.p.* chez la souris.

Composé	Dose <sup>a</sup> mg/kg	Médiane <sup>b</sup> de survie	Moyenne de survie	Nombre de survivants à 100 jours
$CMSOEN_2$	3,25	17,0	17,2	0/8
	5,0	$\infty^c$	31,0	4/8
	7,5	$\infty$	> 100	8/8
	10	$\infty$	> 100	8/8
$CMSO_2EN_2$	15	13,0	13,9	0/8
	7,5	29,0	30,0	0/8
	10	$\infty$	> 100	8/8
	15	$\infty$	> 100	8/8
$FMSOEN_2$	20	$\infty$	> 100	8/8
	40	2,5	2,5	0/8 (toxique)
	5	19,0	18,6	0/8
	10	$\infty$	42,5	6/8
	15	$\infty$	> 100	8/8
	20	$\infty$	32,0	7/8
$FMSO_2EN_2$	25	$\infty$	27,0	7/8
	30	$\infty$	18,0	6/8
	35	28	27,0	1/8
	5	18,0	17,7	0/8
	10	26,0	25,7	1/8
	15	$\infty$	> 100	8/8
	20	$\infty$	> 100	8/8
	25	$\infty$	> 100	8/8
30	$\infty$	> 100	8/8	
35	$\infty$	24,2	4/8	

<sup>a</sup>Traitement par voie *i.v.* aux jours 1, 5 et 9. <sup>b</sup> $T/C \times 100$ : médiane de survie des animaux traités/médiane de survie des animaux témoins  $\times 100$ ; Médiane de survie des animaux témoins: 9 ou 10 jours. <sup>c</sup> $\infty$ : 50—100% des animaux sont guéris.

10 mg/kg pour CMSOEN<sub>2</sub>) et de 15–35 mg/kg pour FMSO<sub>2</sub>EN<sub>2</sub> (10–20 mg/kg pour CMSO<sub>2</sub>EN<sub>2</sub>). Notre hypothèse d'une toxicité générale diminuée mais d'une activité anti-tumorale conservée est donc vérifiée. 2) comme dans le cas des dérivés chlorés, les doses à efficacité maximale des dérivés sulfones sont plus élevées et l'intervalle plus large que celles du sulfoxyde ce qui va dans le sens d'une moindre toxicité mais d'une plus grande efficacité des produits les plus oxydés.

L'ensemble de ces résultats serait donc très satisfaisant si nous n'avions constaté en cours d'expérimentation une toxicité générale immédiate des seuls composés fluorés apparaissant dans la première heure après l'injection et se traduisant par un état «semi-comateux» des animaux mais qui, aux doses utilisées (5–35 mg/kg), récupèrent leur vitalité dans les heures suivantes. En fait, si l'on applique le schéma de dégradation commun à toutes les chloro-2 éthylnitrosourées pour lesquelles on observe la formation de chloro-2 éthanol, les homologues fluorés vont libérer du fluoro-2 éthanol dont la toxicité bien que peu étudiée, a été reconnue [14]. Ce composé dans l'organisme se transformerait en fluoroacétate puis en fluorocitrate (Schéma 2), un poison de l'enzyme aconitase, empêchant ainsi l'oxydation du citrate dans le cycle de Krebs. Nous avons d'ailleurs pu vérifier qu'une dose de 10 mg/kg de fluoro-2 éthanol administrée par voie intraveineuse représentait une DL<sub>100</sub> chez la souris.

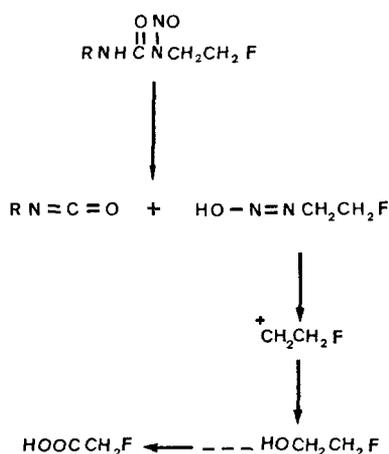


Schéma 2

Ces résultats sont un peu décevants non pas par la très bonne activité anti-tumorale de ces composés sur la leucémie L1210 chez la souris mais par la toxicité engendrée par un de leurs métabolites (même si elle est réversible aux doses curatives). Cette étude a toutefois apporté des éléments positifs pour la compréhension du mécanisme d'action des fluoro-2 éthylnitrosourées et permet de mieux saisir les raisons non signalées à notre connaissance dans la littérature pour lesquelles ces composés n'ont pas subi de développement en clinique humaine.

## Protocoles expérimentaux

Les points de fusion sont déterminés au banc Köfler. Les spectres IR sont enregistrés sur un appareil Perkin—Elmer 398. Les spectres de RMN du proton sont effectués sur un spectromètre Jeol PMX 60 avec le tétraméthylsilane comme référence interne, les déplacements chimiques sont donnés en valeur  $\delta$ . Les chromatographies sur couche mince sont réalisées sur des plaques plastiques de silice Merck Si 60 F 254. La chromatographie liquide—liquide basse pression est menée sur colonne de silice Merck (70—230 mesh).

### Nitro-4 phényl(fluoro-2 éthyl) carbamate I

On ajoute 50 mmol de chlorhydrate de fluoro-2 éthylamine à une solution de 50 mmol de nitro-4 phényl chloroformiate dans 100 ml d'acétonitrile. On additionne ensuite goutte à goutte à température ordinaire 100 mmol de triéthylamine et laisse sous agitation une nuit. On jette sur glace et filtre le précipité obtenu. Après chromatographie liquide—liquide basse pression sur colonne de silice du produit brut, on obtient le carbamate I. Rdt: 50%; F = 132—134°C. CCM: R<sub>f</sub> 0,25 éluant CHCl<sub>3</sub>. IR: KBr ( $\nu$  cm<sup>-1</sup>) 3300 (NH), 3100—3300 (CH aromatique) 2900—3000 (CH), 1710 (C=O), 1520 (NHCO). RMN: CDCl<sub>3</sub> 3,33—3,50 (m, 1, CH N); 3,66—4 (m, 1, CHN); 4,16 (t, 1, CHF); 4,93 (t, 1, CHF); 5,16—5,76 (m, 1, NH); 7,10—8,30 (m, 4,  $\Phi$ -H).

### Nitro-4 phényl(fluoro-2 éthyl) nitrosocarbamate II

A la solution de 25 mmol de carbamate I dans 30 ml de pyridine refroidie à -25°C, on ajoute 3 ml de chlorure de nitrosyle et laisse 1,5 h sous agitation à cette température. On jette sur glace et filtre le précipité. On lave à l'eau glacée, sèche au dessiccateur sur P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Le produit est utilisable sans purification. Rdt: 95%, F = 75—78°C. CCM silice R<sub>f</sub> 0,50 (éluant chloroforme). IR (KBr) ( $\nu$  cm<sup>-1</sup>): 3100—3000 (CH aromatique); 1750 (CO); 1520 (NHCO); 1480 (N—NO). RMN: CDCl<sub>3</sub>: 3,93—4,16 (m, 2, CH<sub>2</sub>N); 4,33 (t, 1, CHF); 4,83 (t, 1, CHF); 7,16—8,43 (m, 4,  $\Phi$ -H).

### N'-(Fluoro-2-éthyl) N'-[(méthylthio)-2 éthyl] N'-nitrosourée III

A la solution agitée de 20 mmol de nitrosocarbamate 2 solubilisées dans 50 ml de THF, on ajoute rapidement 21 mmol de méthylthio-2 éthylamine et poursuit la réaction pendant 2 h à température ordinaire. On chasse le THF, dépose le résidu sur colonne de silice. L'éluion menée par le chloroforme permet d'isoler la nitrosourée 3 sous forme d'une huile. Rdt: 90%. CCM: R<sub>f</sub> 0,45 (éluant CHCl<sub>3</sub>). IR: KBr ( $\nu$  cm<sup>-1</sup>) 3350 (NH), 2900—3000 (CH), 1720 (CO), 1520 (NHCO), 1480 (N—NO). RMN: CDCl<sub>3</sub> 2,10 (s, 3, CH<sub>3</sub> S); 2,76 (t, 2, CH<sub>2</sub> S); 3,50—3,86 (m, 2, CH<sub>2</sub> NH); 3,86—4,10 (m, 2, CH<sub>2</sub> N—NO); 4,33 (t, 1, CHF); 4,73 (t, 1, CHF); 7,13—7,73 (m, 1, NH).

### N'-(Fluoro-2 éthyl) N'-[(méthylsulfinyl)-2 éthyl] N'-nitrosourée IV

A la solution de 8 mmol de sulfure 3 dans 20 ml d'acide formique refroidie à 0,5°C, on ajoute 1 ml d'eau oxygénée à 110 volumes. La température monte entre 15 et 20°C. On laisse une minute à cette température puis jette sur glace. On extrait par le chloroforme, sèche, et dépose le résidu sur colonne de silice. L'éluion est menée avec un gradient d'éthanol dans le chloroforme (0—4%). On isole 4,8 mmol de sulfoxyde 4. Rdt: 60%; F = 80—84°C. CCM: R<sub>f</sub> 0,25 éluant CHCl<sub>3</sub>/EtOH (95:5). IR: KBr ( $\nu$  cm<sup>-1</sup>) 3250 (NH), 2900—3000 (CH), 1705 (CO), 1520 (NHCO) 1480 (N—NO), 1040 (SO). RMN: CDCl<sub>3</sub> 2,60 (s, 3, CH<sub>3</sub>SO); 2,83—3,16 (m, 2, CH<sub>2</sub>SO); 3,80—4,16 (m, 4, CH<sub>2</sub>NH, CH<sub>2</sub>N—NO); 4,33 (t, 1, CHF); 4,73 (t, 1, CHF) 7,66—8,10 (m, 1, NH).

### N'-(Fluoro-2 éthyl) N'-[(méthylsulfonyl)-2 éthyl] N'-nitrosourée V

A la solution de 8 mmol de nitrosourée 3 dans 20 ml d'acide formique refroidie à 0,5°C, on ajoute 5 ml d'eau oxygénée à 110 volumes. La température s'élève immédiatement à 20°C, on chauffe alors à 50°C pendant 2—3 min, jette sur glace eau et extrait par le chloroforme. Après avoir séché la phase organique sur MgSO<sub>4</sub>, on évapore le solvant et dépose le résidu sur colonne de silice. L'éluion menée avec un gradient d'éthanol dans le chloroforme (0—2%) permet d'isoler 5 mmol de sulfone 5. Rdt: 62,5%, F = 102—104°C. CCM: R<sub>f</sub> (0,5) éluant CHCl<sub>3</sub>/EtOH (95:5). IR: KBr ( $\nu$  cm<sup>-1</sup>) 3360 (NH), 2900—3000 (CH), 1720 (CO), 1520 (NHCO), 1480 (N—NO), 1135 (SO<sub>2</sub>). RMN: CDCl<sub>3</sub> 2,96 (s, 3, CH<sub>3</sub> SO<sub>2</sub>); 3,36 (t, 2, CH<sub>2</sub> SO<sub>2</sub>); 3,83—4,16 (m, 4, CH<sub>2</sub> NH, CH<sub>2</sub> N—NO); 4,30 (t, 1, CHF); 4,73 (t, 1, CHF); 7,36—7,83 (m, 1, NH).

## Remerciements

Nous remercions Mesdames N. Gallais et M. Rapp pour leur collaboration technique ainsi que Mesdames M. Bayle et J. Lefrançois pour la réalisation du manuscrit.

## Références

- 1 Martinez J., Oiry J., Imbach J. L. & Winternitz F. (1982) *J. Med. Chem.* 25, 178
- 2 Oiry J. & Imbach J. L. (1984) *Eur. J. Med. Chem.* 19, 305
- 3 Oiry J., Pompon A., Madelmont J. C. & Imbach J. L. (1984) *Eur. J. Med. Chem.* 19, 315
- 4 Madelmont J. C., Moreau M. F., Parry D., Godenèche D., Duprat J., Meyniel G., Oiry J. & Imbach J. L. (1983) *J. Lab. Comp. Radiopharm.* 20, 7
- 5 Godenèche D., Madelmont J. C., Moreau M. F., Duprat J., Chabard J. L., Plagne R. & Meyniel G. (1985) *Drug Metab. Disp.* 13, 220
- 6 Bourut C., Chenu E., Godenèche D., Madelmont J. C., Maral R., Mathé G. & Meyniel G. *Br. J. Pharmacol.* (sous presse)
- 7 Madelmont J. C., Godenèche D., Parry D., Duprat J., Chabard J. L., Plagne R., Mathé G. & Meyniel G. (1985) *J. Med. Chem.* 28, 1346
- 8 Madelmont J. C., Parry D., Godenèche D. & Duprat J. (1985) *J. Lab. Comp. Radiopharm.* 22, 851
- 9 Madelmont J. C., Godenèche D., Oiry J., Imbach J. L., Moreau M. F., Parry D. & Meyniel G. Brevet Français, 11.4.1984, No. 84.05.733
- 10 Madelmont J. C., Godenèche D., Oiry J., Imbach J. L., Moreau M. F., Parry D. & Meyniel G. Brevet International, 12.10.85, No. 817,836
- 11 Tang W. P., Kirk M. C. & Ludlum D. B. (1982) *Cancer Res.* 42, 3102
- 12 Tang W. P., Kohn K. W. & Ludlum D. B. (1982) *Cancer Res.* 42, 4460
- 13 Johnston T. P., Kussner C. L., Carter R. L., Frye J. L., Lomax N. R., Plowman J. & Narayanan V. L. (1984) *J. Med. Chem.* 27, 1422
- 14 Hashimoto Y. (1969) *Med. Trib. Med. News* 10, 2