

**Synthèse de métallohaptènes.
Comportement singulier d'un ester «activé» du ferrocène :
Fc COONCOCH₂CH₂CO vis-à-vis des amines secondaires**

Isabelle Lavastre^a, Jack Besançon^{*a}, Claude Moïse^a, Pierre Brossier^b

^a Laboratoire de Synthèse et d'Electrosynthèse Organométalliques associé au CNRS (URA 1685)

^b Unité d'Immunoanalyse, Université de Bourgogne, BP 138, 21034 Dijon Cedex, France

(reçu le 24 octobre 1994, accepté le 12 janvier 1995)

Summary – Synthesis of metallohaptenes. An unexpected behavior of the “activated” ferrocenic ester

FcCOONCOCH₂CH₂CO towards secondary amines. Ferrocenoyl chloride FcCOCl **1** (Fc = C₅H₅FeC₅H₄-) reacts with primary or secondary amine drugs (amphetamine : **a**; desipramine : **b**; nortriptyline; **c**) to give the expected metallohaptenes **3a,b,c** : FcCONRR'. The organometallic labeled compound **3a** is also obtained from the ferrocenic ester

FcCOONCOCH₂CH₂CO **2** and the corresponding primary amine **a**, whereas surprisingly, secondary amines **b** and **c**, lead to the metallohaptenes FcCOONHCOCH₂CH₂CONRR' **4b** and **4c**. These structures have been fully characterized by spectroscopic analyses (IR, ¹H and ¹³C NMR and their mass spectra). These results can therefore be explained by a nucleophilic attack on the carbonyl group of the N-succinimidyl fragment.

organometallic labels / ferrocene / metallohaptene / metallotracer / drugs

Introduction

L'utilisation de fragments organométalliques comme marqueurs de substances thérapeutiques ou d'intérêt biologique en vue de fournir des métallotraceurs connaît depuis ces dernières années un essor important et offre à la chimie organométallique un nouveau domaine d'applications et de valorisation ; les travaux de Cais [1] et de Jaouen [2] ont décrit les premiers exemples d'immunos dosage et de détection de récepteurs hormonaux à l'aide de ces nouveaux traceurs non radioactifs. Nous nous sommes orientés, quant à nous, vers le marquage d'haptènes (métallohaptènes) [3] pour la mise au point de nouveaux tests immunologiques [4], et dans ce but, nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux possibilités offertes par un greffon dérivé du ferrocène. Au cours de différents essais de condensation sur des substances médicamenteuses (haptènes) présentant un groupement fonctionnel amino, la copule métallocénique a manifesté un comportement inattendu, notamment vis-à-vis d'amines secondaires, que nous souhaitons rapporter et discuter dans ce présent mémoire.

Résultats et discussion

Les substances qui ont fait l'objet des essais de marquage par un fragment ferrocénique sont d'une part

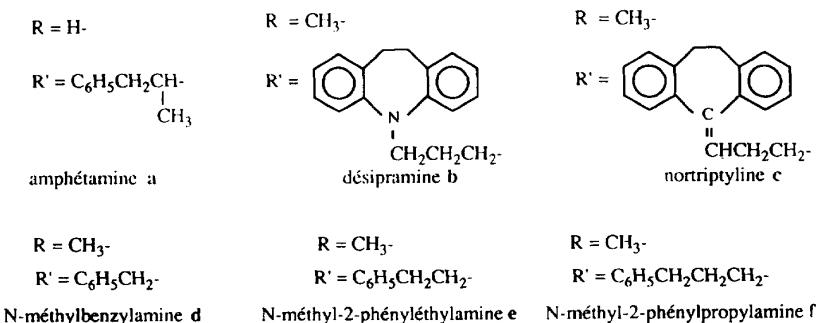
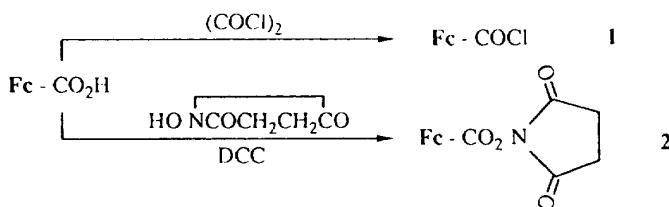
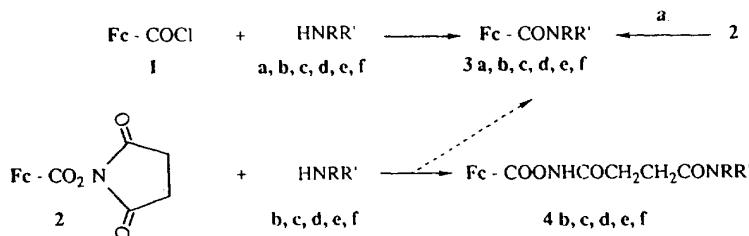
une amine primaire à propriétés psychostimulantes, l'amphétamine **a** et d'autre part les deux amines tricycliques secondaires aux vertus antidépressives, la désipramine **b** et la nortriptyline **c** (fig 1).

Compte tenu de la nature des groupes fonctionnels présents dans les trois haptènes «cibles», nous avons choisi deux types de marqueurs ferrocéniques respectivement porteurs d'une fonction chlorure d'acide, le chlorure de ferrocényle **1**, et d'une fonction ester, le ferrocénoate de *N*-succinimidyle **2**. Ces deux composés sont aisément accessibles à partir de l'acide ferrocénecarboxylique lui même par les simples transformations schématisées dans la figure 2.

L'ester **2** est facilement caractérisé par l'ensemble de ses données spectroscopiques qui sont mentionnées en partie expérimentale.

Les métallohaptènes recherchés Fc CO NRR' **3a b c** sont obtenus avec des rendements de l'ordre de 50% par réaction du chlorure d'acide **1** sur les trois amines **a b c** : on note en particulier la présence en IR de l'absorption du CO amidique située selon les dérivés entre 1 610 et 1 620 cm⁻¹. L'utilisation de l'ester **2** donne un résultat identique avec l'amphétamine **a** mais la désipramine **b** et la nortriptyline **c** – toutes deux amines secondaires – conduisent aux métallohaptènes respectifs Fc COONHCOCH₂CH₂CONRR' **4 b c** (fig 3).

* Correspondance et tirés à part

**Fig 1.** Amines $HNRR'$ a, b, c, d, e, f.**Fig 2****Fig 3**

Ce type de structure a pu être établi à l'aide d'une molécule «modèle» **4d** (fig 4) obtenue par condensation de l'ester **2** sur l'amine secondaire **d** ($R = CH_3$; $R' = C_6H_5CH_2^-$), la *N*-méthylbenzyl amine (fig 1). Le produit obtenu dans ce cas présente alors des caractéristiques IR semblables à celles des dérivés **4b** et **4c**: on observe notamment la présence de trois absorptions carbonyle à 1758 , 1691 , 1630 cm^{-1} et une forte bande centrée à 3185 cm^{-1} qui peut être attribuée à un groupe NH probablement engagé dans une liaison hydrogène.

Une dégradation de la structure carbonée sous l'action du *tert*-butanolate de potassium [5] permet d'isoler et d'identifier trois composantes de la molécule originale : l'acide ferrocénique **Fc - COOH**, la *N*-méthylbenzylamine **d** et le fragment **d'**. L'identité de ce fragment est établie sans ambiguïté par réaction de la *N*-méthylbenzylamine **d** avec l'anhydride succinique (fig 4).

Cet ensemble de données, associé à celle de l'analyse élémentaire et à celle de la spectrométrie de masse concluent à la structure **4d** dans laquelle on retrouve donc de façon inattendue le fragment succinimidyle dans son intégralité.

Des produits de structure analogue **4e**, **f** sont obtenus à partir des homologues supérieurs de la *N*-méthylbenzylamine $C_6H_5(CH_2)_nNHCH_3$ ($n = 2$ et $n = 3$) respectivement **e** et **f** (fig 1). On note toutefois dans ces deux derniers cas la formation en faible quantité (10%) de métallohaptènes **3e** et **3f** (fig 3).

On assiste donc à une orientation très différente pour la réaction de condensation selon que l'ester de *N*-succinimidyle est confronté à une amine primaire (attaque 1) ou à une amine secondaire (attaque 2) (fig 5).

Une interprétation rigoureuse de cette régiosélectivité apparaît difficile à proposer et doit très certainement prendre en compte à la fois des facteurs stériques et des considérations d'ordre électronique; par ailleurs, ce comportement inattendu s'avère spécifique de la série ferrocénique, puisque des essais comparatifs réalisés en série du cymantrene et du benchotréne ont montré dans tous les cas une totale identité réactionnelle entre le chlorure d'acide et l'ester de *N*-succinimidyle [3a,b].

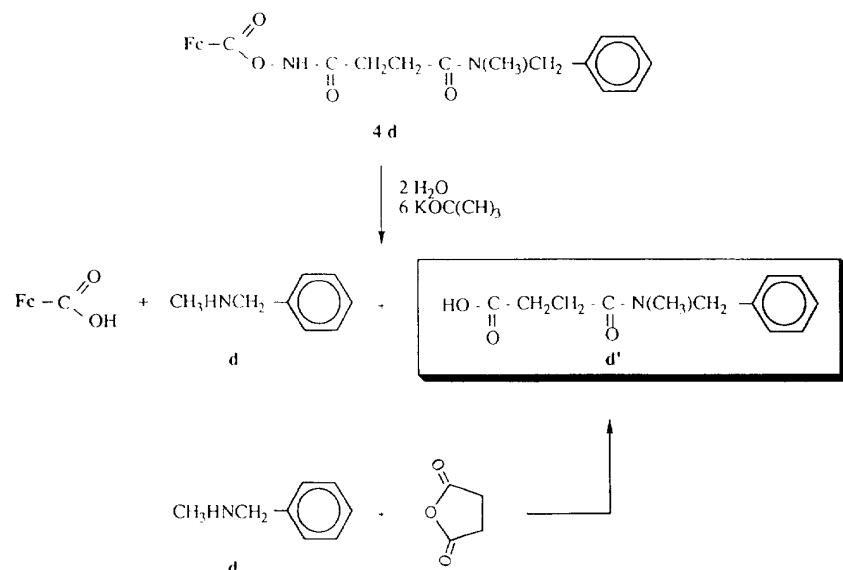


Fig 4

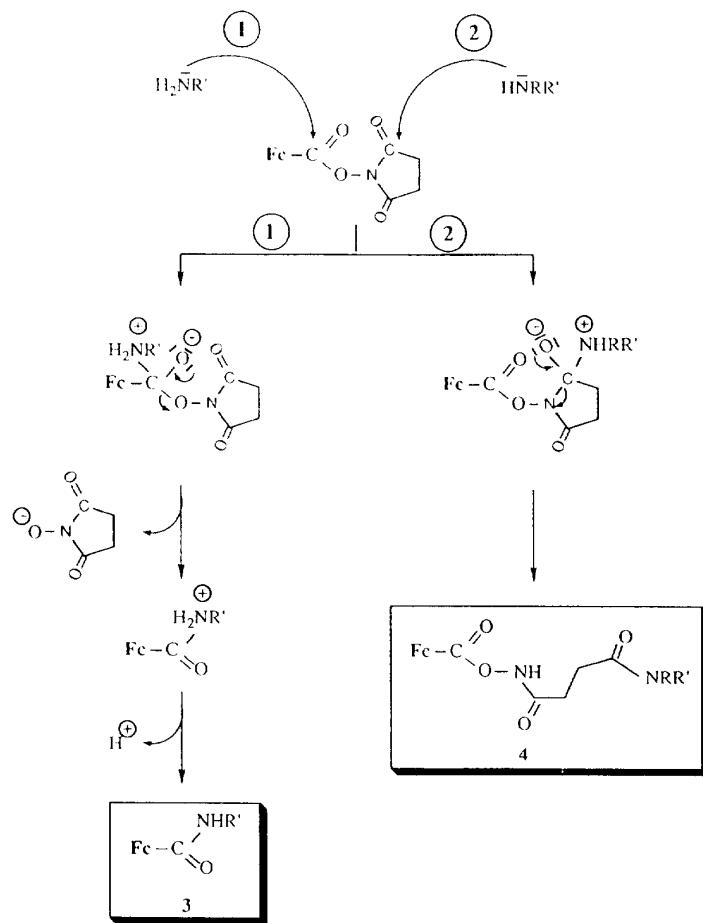


Fig 5

Tableau. Caractéristiques RMN ^1H du composé modèle **4d**.

Composé 4d	RMN ^1H a) (400 MHz; DMSO)						
	C ₅ H ₅	C ₅ H ₄	NH	δ ppm/TMS; J et $\Delta\nu$ en Hertz	CH ₂ CH ₂	NCH ₃	CH ₂
A + A'	4,41 s et 4,42 s $\Delta\nu \neq 4$	4,88 m 4,62 m	11,7 s b)	2,78 m 2,68 m	2,85 s et 2,98 s $\Delta\nu = 52$,	4,64 s et 4,56 s $\Delta\nu = 32$	7,45 à 7,19 m
	4,26 s $\Delta\nu = 0$	4,76 m 4,49 m	12,1 s b)	c)	2,93 s et 2,97 s $\Delta\nu = 56$	4,66 s et 4,54 s $\Delta\nu = 48$	7,46 à 7,19 m

a) caractère gras : isomère majoritaire.

b) signal élargi.

c) signal masqué par le signal du solvant deutérié.

Comportement RMN des métallohaptènes 4

L'examen des spectres RMN des composés **4** montre l'existence de plusieurs espèces dont le nombre dépend du solvant utilisé ; nous avons réalisé une étude complète à partir du composé repère **4d** issu de la *N*-méthylbenzylamine.

Deux espèces **A** et **A'** sont nettement visibles lorsque le spectre est enregistré à partir d'une solution dans CD₃COCD₃ ou C₆D₆ (cf *partie expérimentale*). L'utilisation du DMSO fait apparaître deux espèces supplémentaires **B** et **B'** et les principales caractéristiques de ces deux ensembles sont résumées dans le tableau ci-dessus.

On remarquera que l'anisochronie des protons cyclopentadiéniques est faible pour le couple **A**, **A'** et nulle dans le cas de **B**, **B'**. Les protons benzyliques ainsi que les groupes *N*-méthyle apportés par l'amine sont par contre nettement différenciés.

Une étude en montée de température dans le DMSO fait apparaître une diminution progressive des espèces **A** et **A'** tandis que croît simultanément la proportion du couple **B**, **B'**.

Pour une température de 52°C, **A** et **A'** ont totalement disparu et ne restent visibles que les espèces **B** et **B'**. Une élévation progressive de la température amène alors un phénomène de coalescence ($\theta = 80^\circ\text{C}$) avec une seule forme décelée dans le milieu ; un retour à la température ambiante régénère **B** et **B'** mais aucune trace de **A** et **A'** n'est présente.

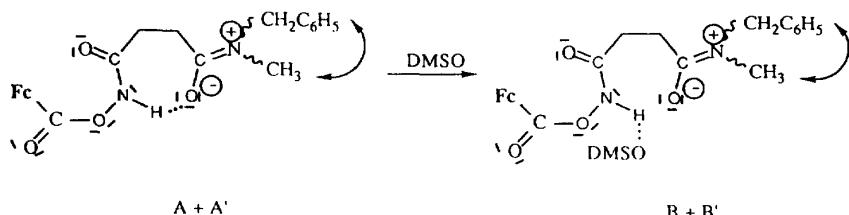
Cette évolution progressive en fonction de la température peut être interprétée en faisant appel d'une part au phénomène de rotation restreinte bien connu chez les amides et en considérant ce que d'ailleurs

suggéraient les données IR l'existence d'une liaison hydrogène intramoléculaire (fig 6).

Dans un milieu peu dissociant comme le benzène ou l'acétone les deux stéréoisomères de rotation **A** et **A'** coexistent. Placés dans un milieu polaire et de haut pouvoir dissociant comme le DMSO, on assiste alors à une ouverture progressive de la structure cyclique et l'on retrouve deux stéréoisomères à «chaîne ouverte» **B** et **B'**.

Pour une température de 52°C la structure cyclique à liaison hydrogène a complètement disparu et à 80°C la rotation est devenue suffisamment rapide pour donner le phénomène de coalescence. Le retour à la température ambiante redonne naissance tout naturellement à cette stéréoisomérie de rotation mais les espèces cycliques **A** et **A'** ne peuvent être reformées puisque le DMSO demeure lié à la molécule et interdit une régénération de la liaison hydrogène intramoléculaire. Dans chacun des couples **A**, **A'** et **B**, **B'**, les environnements des groupes -CH₃ et -CH₂C₆H₅ sont nettement différenciés et l'anisochronie qui en résulte s'avère importante ; il n'en est pas de même pour les noyaux ferrocéniques qui par suite de leur éloignement ne perçoivent que faiblement ces modifications d'environnement et donnent des signaux de résonance pratiquement inchangés.

Une étude analogue de RMN ^1H en milieu CD₃COCD₃ et dans le DMSO en fonction de la température a été réalisée à partir du composé **4f** issu de la *N*-méthyl-2-phénylamine **f**. Les résultats détaillés rapportés dans la partie expérimentale font également nettement ressortir la présence de quatre espèces : le couple de stéréoisomères à chaîne ouverte de type **B** + **B'** et le couple de stéréoisomères à liaison hydrogène intramoléculaire de type **A** + **A'**.

**Fig 6**

Conclusion

La possibilité d'obtenir des métallohaptènes marqués par un fragment ferrocényle **4 b, c** ouvre des perspectives intéressantes d'un point de vue immunologique. La mise en œuvre d'un immunodosage nécessite en effet l'emploi d'anticorps qui reconnaissent le métallohaptène ainsi que l'haptène non marqué (analyte). La présence d'une chaîne carbonée qui éloigne le grefon métallique du site de reconnaissance par les anticorps doit induire une immunoréactivité très semblable à celle de la molécule non marquée et laisse ainsi prévoir une sensibilité du dosage sensiblement améliorée [6].

Partie expérimentale

Appareillage et méthodologie générale

Les manipulations sont effectuées sous atmosphère d'argon en utilisant la technique du tube de Schlenck. L'isolement et la purification des produits peu sensibles sont effectués à l'air. Solvants et réactifs sont séchés, dégazés et distillés sous argon immédiatement avant emploi. Le transfert est effectué à l'aide de seringues purgées à l'argon.

Les purifications chromatographiques ont été réalisées en analytique (CCM) sur couche de gel de silice 5553 Merck de 0,2 mm d'épaisseur et en préparative sur couche de gel de silice 7731 G Merck de 0,5 mm d'épaisseur ou sur colonne de gel de silice 7732 G Merck.

Les spectres de RMN ^1H et de ^{13}C ont été enregistrés sur un appareil Jeol FX 100 ou Bruker WM 400. Les déplacements chimiques sont donnés par rapport au TMS en référence interne, en ppm et les couplages sont exprimés en hertz. Les valeurs m/i utilisées indiquent :

- la multiplicité (m), les abréviations suivantes ont été retenues : s = singulet, d = doublet, t = triplet, q = quadruplet, quintuplet, h = heptuplet, m = multiplet.
- l'intensité relative (i) du signal.

Les spectres IR ont été tracés sur un appareil Perkin-Elmer 580B à partir d'échantillons en dispersion dans le bromure de potassium.

Les spectres de masse ont été relevés à l'aide

- d'un appareil Finnigan 3003 par ionisation électronique (ie) : tension d'accélération 70 eV.
- ou d'un appareil Kratos concept 32 par ionisation électronique (ie) : tension d'accélération 70 eV ; par ionisation FAB (FAB) : «Fast Atom Bombardement», matrice : 3-nitrobenzylalcool (NBA).

Chlorure de ferrocényle : Fc-COCl **1**

Le mode opératoire décrit par Lau et Hart [7] a été modifié comme ci-dessous.

A une suspension d'acide ferrocénecarboxylique [8] (1,58 g; 6,87 mmol) dans le dichlorométhane (30 mL) est ajouté goutte à goutte le chlorure d'oxalyle (1,8 mL; 21 mmol). Après 3 h d'agitation, la solution rouge foncée est évaporée sous pression réduite. On isole le chlorure de ferrocényle par recristallisation dans le pentane (1,1 g; Rdt : 64%). F : 56-57°C (litt [7] : 49°C), aiguilles rouges.

Ferrocénate de N-succinimidyle **2**

L'acide ferrocénecarboxylique (2 mmol), le *N*-hydroxy-succinimidyle (2,2 mmol) et le 1,3-dicyclohexylecarbodiimide (2,2 mmol) sont agités à température ambiante pendant 24 h

dans le THF (20 mL). Le milieu réactionnel est filtré afin d'éliminer le précipité blanc de 1,3-dicyclohexylurée, puis évaporé. L'ester **2** est purifié par simple recristallisation dans le mélange toluène/hexane. F : 172°C, aiguilles oranges (Rdt : 67%).

IR (KBr) : $\nu_{\text{C=O}}$ = 1 798 (faible), 1 765 (moyenne), 1 735 (intense) cm^{-1} .

RMN ^1H (400 MHz; CD₃COCD₃) : 4,92 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 1,95$); 4,65 (t, 2H, $^3J_{\text{HH}} = 1,95$) C₅H₄; 4,40 (s, 5H, C₅H₅); 2,92 (s, 4H, COCH₂CH₂CO).

RMN ^{13}C (100 MHz; CD₃COCD₃) : 65,92 s, 71,7 dq, $^1J_{\text{CH}} = 180$, $^2J_{\text{CH}} = 7$, 74,1 dq, $^1J_{\text{CH}} = 178$, $^2J_{\text{CH}} = 5$ (C₅H₄); 71,9 dq, $^1J_{\text{CH}} = 176$, $^2J_{\text{CH}} = 7$ (C₅H₅); 26,7 t, $^1J_{\text{CH}} = 138$ (CH₂CH₂); 171,3 s, 168,2 s (C=O).

SM (ie), *m/z* (intensité relative) : 327 (100; M⁺); 213 (29; M - 114⁺).

Anal C₁₅H₁₃FeNO₄ : Calc % C 55,04; H 3,97; N 4,28. Tr % C 55,02; H 4,23; N 4,37.

Métallohaptènes **3** et **4**

• Mode opératoire général

Méthode A. A partir du chlorure de ferrocényle **1**. A une solution d'amine (0,5 mmol) dans le THF (5 mL) est ajouté le chlorure d'acide **1** (0,5 mmol) dans le même solvant (5 mL). A cette solution est additionnée la pyridine (0,5 mL). Ce mélange est agité pendant 24 h à la température ambiante sous argon. Le milieu réactionnel est filtré pour éliminer les sels de pyridinium puis évaporé. Le résidu est dissous dans le dichlorométhane. La solution obtenue est lavée à l'acide chlorhydrique dilué, à l'eau, à une solution de soude (0,1 mol L⁻¹), à l'eau et enfin séchée sur le chlorure de calcium. Après évaporation le produit brut est chromatographié sur colonne ou sur plaque de gel de silice.

Méthode B. A partir de l'ester de N-succinimidyle **2**. L'ester **2** (0,5 mmol) en solution dans le THF (10 mL) est ajouté sous agitation à l'amine (1 mmol) dans le même solvant (10 mL) sous argon. L'évolution de la réaction est contrôlée par CCM. Après la disparition de l'ester **2**, la solution est filtrée puis évaporée. Le brut réactionnel est chromatographié sur plaque de gel de silice.

Les rendements ont été calculés d'après le poids de produit brut obtenu après purification chromatographique.

Remarque : L'action de la désipramine **b** et de la nortriptyline **c** sur l'ester **2** conduit à trois composés. La purification sur plaques de gel de silice ne permet d'isoler que le métallohaptène **4** correspondant. Dans le cas des amines CH₃HN(CH₂)_nC₆H₅ (*n* = 1 : **d**; *n* = 2 : **e**; *n* = 3 : **f**), la purification sur plaques de silice permet d'isoler deux fractions : ces deux fractions contiennent respectivement les métallohaptènes **3** (1^{re} fraction) et les métallohaptènes **4** (2^{me} fraction) correspondants.

Dérivés de l'amphétamine **a**

• d,l-Amphétamine (d,l-1-Phényl-2-aminopropane) **a**

L'amphétamine est conditionnée sous la forme d'un sel de sulfate. La base **a** est préparée suivant le mode opératoire décrit dans la littérature [9].

• Fc CO amphétamine **3a**

Méthode A

F : 160°C, solide orange. *Rf* : 0,56 (éluant : toluène/acétone, 10/3). Rendement : 21%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 621, 1 531 (CONH), 3 292 (NH).

RMN ^1H (400 MHz; CD₃COCD₃) : 4,02 (s, 5H, C₅H₅); 4,26 (m, 2H) et 4,72 (m, 2H, C₅H₄); 6,90 (d élargi, 1H, NH);

4,35 (m, 1H, CH_X), 1,17 (d, 3H, ³J_{HH} = 6,6, CH₃) ; 2,92 (m, 1H, ³J_{HAX} = 7,7 et 2,77 (m, 1H, ³J_{BHX} = 6,7, ²J_{HAB} = 13,6, CH_ACH_B système ABX) ; 7,35-7,14 (m, 5H, C₆H₅).

RMN ¹³C (100 MHz; CD₃COCD₃) : 70,58 (d, ¹J_{CH} = 177, C₅H₅) ; 78,47 (s), 70,91 (d, ¹J_{CH} = 172), 69,25 (d, ¹J_{CH} = 177) et 68,95 (d, ¹J_{CH} = 178, C₅H₄) ; 169,46 (s, CONH) ; 47,63 (d, ¹J_{CH} = 140,8, CH) ; 21,35 (q, ¹J_{CH} = 126,8, CH₃) ; 43,66 (t, ¹J_{CH} = 126,8, CH₂) ; 140,8 (s), 130,4 (d, ¹J_{CH} = 154,9), 129,42 (d, ¹J_{CH} = 154,6) et 127,28 (d, ¹J_{CH} = 159,6, C₆H₅).

Méthode B

Réaction : durée : 24 h ; température : celle du laboratoire. Rendement : 31%.

Dérivés de la désipramine b

- Désipramine (10,11-Dihydro-N-méthyl-5H-dibenzo[b,f]azépine-5-propanamine) b

La désipramine base b de départ est synthétisée suivant le mode opératoire suivant. La désipramine chlorhydrate (300 mg; 1 mmol) est agitée dans une solution de soude à 7 mol dm⁻³ (15 mL) jusqu'à dissolution totale. Le milieu réactionnel est extrait à l'éther. Les extraits éthérisés sont séchés sur le sulfate de magnésium et évaporés. La désipramine base est isolée sous la forme d'un solide blanc (208 mg; rendement : 79%).

- Fc COdésipramine 3b
et Fc COONHCOCH₂CH₂COdésipramine 4b

Méthode A

3b : F : 122°C, solide beige. Rf : 0,67 (éluant : toluène/acétone, 10/2). Rendement : 52%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 611 (CO).

RMN ¹H (100 MHz; CD₃COCD₃) : 4,50 (m, signal élargi, 2H) et 4,25 (t, 2H, ³J_{HH} = 1,8, C₅H₄) ; 4,12 (s, 5H, C₅H₅) ; 2,84 (s, 3H, N(CH₃)) ; 3,83 (t, 2H, ³J_{HH} = 6,6, CH₂N(CH₃)) ; 1,97 signal en partie masqué par l'acétone deutérié, CH₂CH₂N(CH₃)) ; 3,57 (t, 2H, ³J_{HH} = 6,9, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)) ; 3,16 (s, 4H, CH₂CH₂) ; 6,80-7,18 (m, 8H, C₆H₄).

Méthode B

4b : F : 126°C, poudre orange. Rf : 0,67 (éluant : toluène/acétone, 10/2). Rendement : 65%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 755, 1 705, 1 625 (CO).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃COCD₃) :

isomères A et A'

isomère minoritaire 47% : 7,19-6,85 (m, C₆H₄) ; 3,18 (s, CH₂CH₂) ; 3,42 (m, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)) ; 1,87 (qui, ³J_{HH} = 6,9, CH₂CH₂N(CH₃)) ; 3,75 (t, ³J_{HH} = 6,45, CH₂N(CH₃)) ; 2,76 (s, N(CH₃)) ; 2,65 (t, ³J_{HH} = 6,5) et 2,57-2,37 (m, COCH₂CH₂CO) ; 10,5 (s, signal élargi, NH) ; 4,82 (t, ³J_{HH} = 1,7) et 4,52 (m, C₅H₄) ; 4,36 (s, C₅H₅).

isomère majoritaire 53% : 7,19-6,85 (m, C₆H₄) ; 3,14 (s, CH₂CH₂) ; 3,47 (m, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)) ; 1,76 (qui, ³J_{HH} = 6,9, CH₂CH₂N(CH₃)) ; 3,83 (t, ³J_{HH} = 6,9, CH₂N(CH₃)) ; 2,95 (s, N(CH₃)) ; 2,65 (t, ³J_{HH} = 6,5) et 2,57-2,37 (m, COCH₂CH₂CO) ; 10,5 (s, signal élargi, NH) ; 4,82 (t, ³J_{HH} = 1,7) et 4,52 (m, C₅H₄) ; 4,34 (s, C₅H₅).

SM (FAB), m/z (intensité relative) : 593 (76; M⁺) ; 616 (55; M + 23⁺).

Dérivés de la nortriptyline c

- Nortriptyline 3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5-ylidene)-N-méthyl-1-propanamine c

La préparation de la nortriptyline base c à partir de la nortriptyline chlorhydrate est identique à celle de la désipramine base b. Rendement : 94%.

• Fc CONortriptyline 3c

et Fc COONHCOCH₂CH₂CONortriptyline 4c

Méthode A

3c : Huile marron. Rf : 0,36 (éluant : toluène/acétone, 10/1). Rendement : 51%.

IR (NaCl) : ν (cm⁻¹) : 1 615 (CO).

RMN ¹H (100 MHz; C₆D₆) : 4,52 (m signal élargi, 2H) et 3,97 (t, 2H, ³J_{HH} = 1,8, C₅H₄) ; 4,09 (s, 5H, C₅H₅) ; 2,12 (s, 3H, N(CH₃)) ; 2,29 (m, 2H, CH₂CH₂N(CH₃)) ; 3,31 (m, 2H, CH₂N(CH₃)) ; 5,75 (t, 1H, ³J_{HH} = 6,7, CH) ; 2,66 (s, 4H, CH₂CH₂) ; 7,1 (m, 8H, C₆H₄).

Méthode B

4c : F : 151°C, poudre orange. Rf : 0,67 (éluant : toluène/acétone, 10/2). Rendement : 72%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 755, 1 705, 1 621 (CO).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃COCD₃) :

isomères A et A'

isomère minoritaire 49% : 5,93 (t, ³J_{HH} = 7,6, CH) ; 2,77 (s, N(CH₃)) ; 4,36 (s, C₅H₅).

isomère majoritaire 51% : 5,86 (t, ³J_{HH} = 7,6, CH) ; 2,97 (s, N(CH₃)) ; 4,35 (s, C₅H₅).

Signaux non attribués : 7,33-6,99 (m, C₆H₄) ; 2,85 (s, CH₂CH₂) ; 3,48 (t, ³J_{HH} = 7,1) et 3,32 (signal élargi, CH₂N(CH₃)) ; 2,68 (t, ³J_{HH} = 6,5) et 2,50-2,33 (m, CHCH₂ et COCH₂CH₂CO) ; 10,58 (s, signal élargi, NH).

SM (FAB), m/z (intensité relative) : 590 (39; M⁺) ; 613 (45; M + 23⁺).

Dérivés de la N-méthylbenzylamine d

- FcCON(CH₃)CH₂C₆H₅ 3d

et FcCOONHCOCH₂CH₂CON(CH₃)CH₂C₆H₅ 4d

Méthode A

3d : F : 81-83°C, poudre orange. Rf : 0,5 (éluant : toluène/acétone, 10/2). Rendement : 50%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 615 (CO).

RMN ¹H (100 MHz, CD₃COCD₃) : 4,22 (s, 5H, C₅H₅) ; 4,8 (t, signal élargi, 2H) et 4,33 (t, 2H, ³J_{HH} = 2, C₅H₄) ; 4,63 (s, signal élargi, 2H, CH₂) ; 3,09 (s, 3H, N(CH₃)).

SM (ie), m/z (intensité relative) : 333 (100, M⁺) ; 186 (48, M-PhCH₂N(CH₃)CO⁺).

Méthode B

1^{re} fraction : **3d**. Rendement 15%.

2^{me} fraction : **4d** : F : 118°C, poudre orange. Rf : 0,24 (éluant : toluène/acétone, 10/2). Rendement 57%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 758, 1 691, 1 630 (CO), 3185 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃COCD₃) :

isomères A et A'

isomère minoritaire 36% : 7,18-7,39 (m, C₆H₅) ; 10,65 (signal élargi, NH) ; 2,79 (m) et 2,64 (m, CH₂CH₂) ; 2,86 (s, N(CH₃)) ; 4,66 (s, CH₂) ; 4,83 (m) et 4,52 (m, C₅H₄) ; 4,36 (s, C₅H₅).

isomère majoritaire 64% : 7,18-7,39 (m, C₆H₅) ; 10,65 (signal élargi, NH) ; 2,79 (m) et 2,64 (m, CH₂CH₂) ; 3,00 (s,

N(CH₃)) ; 4,60 (s, CH₂) ; 4,83 (m) et 4,52 (m, C₅H₄) ; 4,37 (s, C₅H₅).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO) :

isomères A et A'

isomère minoritaire 38% : 7,19-7,45 (m, C₆H₅) ; 11,7 (s, NH) ; 2,78-2,68 (m, CH₂CH₂) ; 2,85 (s, N(CH₃)) ; 4,64 (s, CH₂) ; 4,88 (m) et 4,62 (m, C₅H₄) ; 4,41 (s, C₅H₅).

isomère majoritaire 62% : 7,19-7,45 (m, C₆H₅) ; 11,7 (s, NH) ; 2,78-2,68 (m, CH₂CH₂) ; 2,98 (s, N(CH₃)) ; 4,56 (s, CH₂) ; 4,88 (m) et 4,62 (m, C₅H₄) ; 4,42 (s, C₅H₅).

isomères B et B'

isomère minoritaire 37% : 7,19-7,46 (m, C₆H₅) ; 12,1 (s, NH) ; signal en partie masqué par DMSO (CH₂CH₂) ; 2,83 (s, N(CH₃)) ; 4,66 (s, CH₂) ; 4,76 (m) et 4,49 (m, C₅H₄) ; 4,26 (s, C₅H₅).

isomère majoritaire 63% : 7,19-7,46 (m, C₆H₅) ; 12,1 (s, NH) ; signal en partie masqué par DMSO (CH₂CH₂) ; 2,97 (s, N(CH₃)) ; 4,54 (s, CH₂) ; 4,76 (m) et 4,49 (m, C₅H₄) ; 4,26 (s, C₅H₅).

Signaux de B et B' à la coalescence

7,24-7,42 (m, C₆H₅) ; 12,1 (s, NH) ; 2,64 (m) et signal masqué par DMSO (CH₂CH₂) ; 2,95 (s, N(CH₃)) ; 4,59 (s, CH₂) ; 4,78 (m) et 4,49 (m, C₅H₄) ; 4,27 (s, C₅H₅).

SM (ie), *m/z* : 442 (FcCOOCOFc⁺).

SM (FAB), *m/z* (intensité relative) : 448 (54, M⁺) ; 471 (59, M + 23⁺).

Anal C₂₃H₂₄FeN₂O₄ : Calc %, C : 61,60, H : 5,36, N : 6,25. Tr % C : 61,00, H : 5,37, N : 5,92.

• HOOCCH₂CH₂CON(CH₃)CH₂C₆H₅ d'

A une solution de *N*-méthylbenzylamine (605 mg, 5 mmol) dans l'éthanol (20 mL) est ajouté l'anhydride succinique (500 mg, 5 mmol). Après 48 h sous agitation à l'abri de la lumière, la solution est évaporée. L'huile jaune est dissoute dans 10 mL d'une solution de soude à 1 mol L⁻¹. La solution obtenue est lavée à l'éther, acidifiée à l'acide chlorhydrique 5 mol L⁻¹ puis extraite à l'éther. Les extraits éthérisés sont séchés sur MgSO₄, filtrés puis évaporés. Après lavage au pentane un solide blanc est obtenu (773 mg; rendement : 70%). F : 86°C.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 719 (large), 1 595 (large, CO).

RMN ¹H (100 MHz, CD₃COCD₃) :

isomère minoritaire 32% : 7,27 (m, C₆H₅) ; 4,59 (m, CH₂) ; 2,99 (s, N(CH₃)) ; 2,52-2,72 (m, CH₂CH₂) ; 8,66 (signal élargi, COOH).

isomère majoritaire 64% : 7,27 (m, C₆H₅) ; 4,65 (m, CH₂) ; 2,86 (s, N(CH₃)) ; 2,52-2,72 (m, CH₂CH₂) ; 8,66 (signal élargi, COOH).

Dérivés de la *N*-méthyl-2-phényléthylamine e

• FcCON(CH₃)(CH₂)₂C₆H₅ 3e

et FcCOONHCOC₂CH₂CH₂CON(CH₃)(CH₂)₂C₆H₅ 4e

Méthode A

3e : F : 117°C, poudre orange. *Rf* : 0,57 (éluant : toluène/acétone, 10/2). Rendement : 72%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 611 (CO).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃COCD₃) : 7,18-7,48 (m, 5H, C₆H₅) ; 2,91 (m, 2H, CH₂) ; 3,69 (signal élargi, 2H, CH₂N(CH₃)) ; 3,12 (signal élargi, 3H, N(CH₃)) ; 4,29 (t, 2H, ³J_{HH} = 1,9) et 4,57 (signal élargi, 2H, C₅H₄) ; 4,16 (s, 5H, C₅H₅).

Méthode B

1^{re} fraction : **3e**. Rendement : 18%.

2^{me} fraction : **4e**. F : 114°C, poudre orange. *Rf* : 0,34 (éluant : toluène/acétone, 10/2). Rendement : 58%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 765, 1 701, 1 621 (CO) ; 3 185 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃COCD₃) :

isomères A et A'

isomère minoritaire : 7,32-7,09 (m, C₆H₅) ; 8,1 (s, NH) ; 2,88 (s, N(CH₃)) ; 4,83 (m) et 4,52 (m, C₅H₄) ; 4,34 (s, C₅H₅).

isomère majoritaire : 7,32-7,09 (m, C₆H₅) ; 8,1 (s, NH) ; 2,98 (s, N(CH₃)) ; 4,83 (m) et 4,52 (m, C₅H₄) ; 4,36 (s, C₅H₅).

signaux non attribués : 3,61 (m) et 3,56 (m, CH₂N(CH₃)) ;

2,93 (m) et 2,88 (m, CH₂CH₂N(CH₃)) ; 2,68 (m), 2,58 (m) et 2,49 (m, CH₂CH₂).

SM (FAB), *m/z* (intensité relative) : 462 (12, M⁺) ; 485 (9, M + 23⁺).

Dérivés de la *N*-méthyl-2-phénylpropylamine f. Préparation de f

• (COH)HN(CH₂)₃C₆H₅

Le formiate d'éthyle (9,5 mL; 0,12 mmol) est ajouté à une solution de 3-phénylpropylamine (10 mL; 0,07 mmol) dans le benzène (35 mL). Le milieu réactionnel est chauffé à reflux pendant 15 h. Après évaporation du solvant, le résidu est distillé sous pression réduite. Eb_{2 mm Hg} : 152-160°C. (9,35 g; rendement : 82%).

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 675 (CO).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃COCD₃) : 7,28-7,18 (m, 5H, C₆H₅) ; 2,9 (signal élargi, 1H, NH) ; 3,26-3,21 (m, 2H, CH₂NH) ; 1,8 (qui, 2H, ³J_{HH} = 7,6, CH₂CH₂NH) ; 2,64 (t, 2H, ³J_{HH} = 7,6, CH₂CH₂CH₂NH) ; 8,11 (s, 1H, CHO).

• CH₃HN(CH₂)₃C₆H₅ f

A une solution éthérée (20 mL) de LiAlH₄ (1,62 g; 42,6 mmol) est ajoutée goutte à goutte une solution du composé précédent (4 g, 24,5 mmol) dans le THF (15 mL). Après 15 h d'agitation, le milieu réactionnel est hydrolysé, filtré sur coton de verre puis séché sur potasse. Une huile jaunâtre est obtenue après évaporation à l'évaporateur rotatif. L'amine est isolée par distillation sous pression réduite Eb_{3 mm Hg} = 122-125°C (2,3 g; rendement : 63%).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃COCD₃) : 7,28-7,10 (m, 5H, C₆H₅) ; 2,32 (s, 3H, NCH₃) ; 2,51 (t, 2H, ³J_{HH} = 7,1, CH₂NH) ; 1,73 (qui, 2H, ³J_{HH} = 7,6, CH₂CH₂NH) ; 2,63 (t, 2H, ³J_{HH} = 7,8, CH₂CH₂CH₂NH).

• Fc CON(CH₃)(CH₂)₃C₆H₅ 3f et

Fc COONHCOC₂CH₂CH₂CON(CH₃)(CH₂)₃C₆H₅ 4f

Méthode A

3f : F : 86°C, poudre orange. *Rf* : 0,42 (éluant : toluène/acétone, 10/2). Rendement : 44%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 601 (CO).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃COCD₃) : 7,32-7,12 (m, 5H, C₆H₅) ; 3,15 (signal élargi, 3H, NCH₃) ; 3,53 (t, signal élargi, 2H, CH₂N(CH₃)) ; 1,95 (qui, 2H, ³J_{HH} = 7,1, CH₂CH₂N(CH₃)) ; 2,65 (t, 2H, ³J_{HH} = 7,8, CH₂CH₂CH₂N(CH₃)) ; 4,28 (t, signal élargi, 2H) et 4,57 (signal élargi, 2H, C₅H₄) ; 4,17 (s, 5H, C₅H₅).

Méthode B

1^{re} fraction : **3f**. Rendement : 10%.

2^{me} fraction : **4f**. F : 101°C, poudre orange. *Rf* : 0,17 (éluant : toluène/acétone, 10/2). Rendement : 64%.

IR (KBr) : ν (cm⁻¹) : 1 745, 1 714, 1 625 (CO) ; 3 199 (NH).

RMN ¹H (400 MHz, CD₃COCD₃) :

isomères A et A'

isomère cycle minoritaire 41% : 7,33-7,09 (m, C₆H₅) ; 2,87 (s, NCH₃) ; 3,40 (t, ³J_{HH} = 7,32, CH₂N(CH₃)) ; 1,94 (m,

$CH_2CH_2N(CH_3)$; (signal masqué par celui de CH_2CH_2 , $CH_2CH_2CH_2N(CH_3)$); 2,70-2,64 (m) et 2,60-2,56 (m, CH_2CH_2); 9,34 (s, signal élargi, NH); 4,82 (m) et 4,51 (m, C_5H_4); 4,34 (s, C_5H_5).

isomère cycle majoritaire 59% : 7,33-7,09 (m, C_6H_5); 3,03 (s, NCH_3); 3,41 (t, $^3J_{HH} = 7,32$, $CH_2N(CH_3)$); 1,82 (m, $CH_2CH_2N(CH_3)$); (signal masqué par celui de CH_2CH_2 , $CH_2CH_2CH_2N(CH_3)$); 2,70-2,64 (m) et 2,60-2,56 (m, CH_2CH_2); 9,34 (s, signal élargi, NH); 4,82 (m) et 4,51 (m, C_5H_4); 4,34 (s, C_5H_5).

RMN 1H (400 MHz, DMSO) :

isomères A et A'

isomère minoritaire 45% : 7,37-7,15 (m, C_6H_5); 2,86 (s, NCH_3); 3,37 (m, $CH_2N(CH_3)$); 1,89 (m, $CH_2CH_2N(CH_3)$); (signal masqué par celui de CH_2CH_2 , $CH_2CH_2CH_2N(CH_3)$); 2,48 (m) et 2,63 (m, CH_2CH_2); 11,67 (s, signal élargi, NH); 4,67 (m) et 4,87 (m, C_5H_4); 4,40 (s, C_5H_5).

isomère majoritaire 55% : 7,37-7,15 (m, C_6H_5); 2,99 (s, NCH_3); 3,37 (m, $CH_2N(CH_3)$); 1,79 (m, $CH_2CH_2N(CH_3)$); (signal masqué par celui de CH_2CH_2 , $CH_2CH_2CH_2N(CH_3)$); 2,48 (m) et 2,63 (m, CH_2CH_2); 11,67 (s, signal élargi, NH); 4,67 (m) et 4,87 (m, C_5H_4); 4,39 (s, C_5H_5).

isomères B et B'

isomère minoritaire 44% : 7,38-7,13 (m, C_6H_5); 2,83 (s, NCH_3); 3,34 (t, $^3J_{HH} = 7$, $CH_2N(CH_3)$); 1,88 (m, $CH_2CH_2N(CH_3)$); 2,63 (t, $^3J_{HH} = 8$, $CH_2CH_2CH_2N(CH_3)$); 2,48 (m), (m, CH_2CH_2); 12,13 (s, signal élargi, NH); 4,49 (m) et 4,76 (m, C_5H_4); 4,26 (s, C_5H_5).

isomère majoritaire 56% : 7,38-7,13 (m, C_6H_5); 2,98 (s, NCH_3); 3,34 (t, $^3J_{HH} = 7$, $CH_2N(CH_3)$); 1,76 (m, $CH_2CH_2N(CH_3)$); 2,63 (t, $^3J_{HH} = 8$, $CH_2CH_2CH_2N(CH_3)$); 2,48 (m), (m, CH_2CH_2); 12,13 (s, signal élargi, NH); 4,49 (m) et 4,76 (m, C_5H_4); 4,26 (s, C_5H_5).

signaux de B à B' à la coalescence

7,36-7,17 (m, C_6H_5); 2,94 (s, NCH_3); 3,37 (m, $CH_2N(CH_3)$); 1,89 (m, $CH_2CH_2N(CH_3)$); (signal masqué par celui de CH_2CH_2 , $CH_2CH_2CH_2N(CH_3)$); 2,52 (m) et 2,63 (m, CH_2CH_2); 11,54 (s, signal élargi, NH); 4,29 (m) et 4,78 (m, C_5H_4); 4,26 (s, C_5H_5).

SM (FAB), m/z (intensité relative) : 478 (8, M^+), 499 (6, $M + 23^+$).

Anal $C_{25}H_{28}FeN_2O_4$: Calc % C : 63,02, H : 5,88, N : 5,88.
Tr % C : 63,29, H : 6,24, N : 5,90.

Références

- 1 a) Cais M, Dani S, Eden Y, Gandolfi O, Horn M, Isaacs EE, Josephy Y, Saar X, Solvin E, Snarky L, *Nature* (1977) 270, 534
b) Cais M, *L'Actualité Chimique* (1979) 14
c) Cais M, *Methods in Enzymology*, Langone JJ et Van Vunakis H Eds, Academic, New York (1983) 92, 445
- 2 a) Salmain M, Vessières A, Brossier P, Butler IS, Jaouen G, *J Immunol Methods* (1992) 148, 65
b) Salmain M, Vessières A, Brossier P, Jaouen G, *Anal Biochem* (1993) 208, 117
c) Philomin V, Vessières A, Gruselle M, Jaouen G, *Bioconjugate Chemistry* 4:6 (Nov-Dec 1993), 419
d) Salmain M, Gunn M, Gorfti A, Top S, Jaouen G, *Bioconjugate Chemistry* 4:6 (Nov-Déc 1993), 425
e) Varenne A, Vessières A, Brossier P, Jaouen G, *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* 84:1 (Apr 1994), 81
- 3 a) Lavastre I, Besançon J, Brossier P, Moïse C, *Appl Organomet Chem* (1990) 4, 9
b) Lavastre I, Besançon J, Brossier P, Moïse C, *Appl Organomet Chem* (1991) 5, 143
c) Szymonik J, El Mouatassim B, Besançon J, Moïse C, Brossier P, *Tetrahedron* (1993) 49, 3109
- 4 a) Remy I, Brossier P, Lavastre I, Besançon J, Moïse C, *J Pharm Biomed Anal* (1991) 9, 965
b) Remy I, Brossier P, *Analyst* (1993) 118, 1021
- 5 Gassman PG, Hodgson PKG, Balchunis RJ, *J Am Chem Soc* (1976) 98, 1275
- 6 Tiefenbauer LX, Bodmer DM, Frei W, Andres RY, *J Steroid Biochem* (1989) 32, 251
- 7 Lau HH, Hart H, *J Org Chem* (1959) 24, 280
- 8 Rinehart KL, Motz JKL, Moon S, *J Am Chem Soc* (1957) 79, 2749
- 9 Eremin SA, Gallacher G, Lotey H, Smith DS, Landon J, *Clin Chem* (1987) 33, 1903