

This article was downloaded by:

On: 28 January 2011

Access details: *Access Details: Free Access*

Publisher *Taylor & Francis*

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713618290>

Reactivite du Bis(dichlorophosphoryl)imide Vis a Vis de La N,N-Bis(2-chloroéthyl)-amine Application a la Synthese de Molecules Susceptibles de Presenter une Activite Antitumorale

Abdellah Lacherai^a; Ahmed Mazzah^b

^a Laboratoire de Chimie Bio-Organique, Agadir Maroc ^b Université des Sciences et Technologies de Lille, Villeneuve d'Ascq

Online publication date: 27 October 2010

To cite this Article Lacherai, Abdellah and Mazzah, Ahmed(2003) 'Reactivite du Bis(dichlorophosphoryl)imide Vis a Vis de La N,N-Bis(2-chloroéthyl)-amine Application a la Synthese de Molecules Susceptibles de Presenter une Activite Antitumorale', *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 178: 7, 1441 — 1456

To link to this Article: DOI: 10.1080/10426500307864

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/10426500307864>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

REACTIVITE DU BIS(DICHLOROPHOSPHORYL)- IMIDE VIS A VIS DE LA N,N-BIS(2-CHLOROÉTHYL)- AMINE APPLICATION A LA SYNTHÈSE DE MOLECULES SUSCEPTIBLES DE PRESENTER UNE ACTIVITE ANTITUMORALE

Abdellah Lacherai^a et Ahmed Mazzah^b
Laboratoire de Chimie Bio-Organique, Agadir Maroc^a
et Université des Sciences et Technologies de Lille,
Villeneuve d'Ascq^b

(Received July 16, 2002; accepted December 19, 2002)

*The reaction of bis(dichlorophosphoryl)imide $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1**, with N,N-bis(2-chloroethyl)amine $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (bCEA), has been studied in order to synthesize Phosphorus-Nitrogen derivatives which present anti-tumoral activity. It has been possible to show the formation of the mono **2**, di **3** and tetrasubstituted **4** derivatives as well as the existence of diastereoisomers for **2** and **3**. The combined use of NMR (^3P , ^{13}C) and mass spectrometry has allowed us to show the instability of the tetrasubstituted derivative which is transformed to the O-alkylated compound **4a** with elimination of HCl. We studied also the cosubstitution reactions of **1** by $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ and ammonia on the one hand, $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ and glycine ethyl ester on the other hand. Spectroscopic studies of the resulting products revealed the involvement of N-alkylation reactions leading to **6** and **7**. The study of the antitumoral activity of these compounds was undertaken. Only the phosphazene derivative **2** which contains a bifunctional alkylating agent exhibited a moderate anti-tumoral activity.*

Keywords: Antitumoral activity; bis(dichlorophosphoryl)imide; NMR; N,N-bis(2-chloroethyl)-amine; reactivity

*Le présent travail concerne l'étude de la réactivité du bis(dichlorophosphoryl)imide $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1** vis à vis de la N,N-bis(2-chloroéthyl)amine (bCEA) qui avait comme objectif la synthèse de*

Les auteurs remercient Messieurs Bernard Hecquet et Charles Fournier (Laboratoire de Pharmacodynamique Clinique- Centre Oscar Lambret de Lille) pour la réalisation des tests biologiques.

Address correspondence to A. Mazzah, Laboratoire de Spectrochimie Infrarouge et Raman, UMR 2631 Bât C5, Université des Sciences et Technologies de Lille, 59650 Villeneuve d'Ascq. E-mail: Ahmed.Mazzah@univ-lille1.fr

*molécules présentant une activité antitumorale. Cette étude a permis de mettre en évidence la formation des dérivés de $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1** sous forme mono **2**, di **3** et tétrasubstitué **4**, ainsi que l'existence de deux formes diastéréoisomères pour **2** et **3**. L'utilisation conjointe de la RMN (^{31}P , ^{13}C) et de la spectrométrie de masse a permis de montrer l'instabilité de **4** qui se transforme en dérivé O-alkylé **4a** avec perte de HCl. Nous avons ensuite étudié les réactions de co-substitution de **1** par la bis (2-chloroéthyl)amine (bCEA) et l'ammoniac d'une part, la bCEA et le glycinate d'éthyle d'autre part. Les études spectroscopiques des produits formés montrent dans ce cas l'intervention de réactions de N-alkylation conduisant respectivement aux dérivés **6** et **7**. L'activité antitumorale de ces nouveaux composés a été évaluée. Cette étude a permis de montrer que seul le dérivé **2** ayant conservé la structure d'un agent alkylant bifonctionnel présentait une relative activité antitumorale.*

Mots-clés: Activité antitumorale; bis(dichlorophosphoryl)imide; N,N-bis(2-chloroéthyl)-amine; réactivité; RMN

Si parmi les travaux consacrés à l'étude de la réactivité de $\text{CH}_3\text{N}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$, vis à vis des amines, certains concernent la substitution partielle des atomes de chlore,^{1,2} il n'en est pas de même pour le di(dichlorophosphoryl)imide $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1**, puisque dans ce cas les réactions étudiées, ne concernent que sa substitution totale.³⁻⁵

Une méthode simple de préparation de **1** (qui n'est autre que le produit d'hydrolyse du P-trichloro-N-dichlorophosphoryle monophosphazène $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$) ayant été mise au point au laboratoire,⁶ il était logique de chercher à en tirer parti pour une meilleure connaissance de sa réactivité vis à vis des amines et en particulier de la N,N-bis(chloro-2 éthyl) amine $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$.

Cette étude s'inscrit en effet dans la continuation d'un premier travail relatif à la synthèse de composés phosphorés présentant des propriétés antitumorales,⁷ dans lequel plusieurs dérivés contenant le groupement $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ avaient été synthétisés à partir de $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$. L'un d'entre eux, $(\text{HO})_2\text{P}(\text{O})\text{NHP}(\text{O})(\text{OH})\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$, de structure diphosphorylimide, ayant présenté une relative activité antitumorale, il était logique de reprendre ce travail en utilisant cette fois la forme hydrolysée de $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$ soit **1** comme réactif de départ.

RESULTATS ET DISCUSSION

Réaction de $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1** Avec la N,N-bis(chloro-2 éthyl)amine (bCEA)

Les réactions ont été réalisées dans l'éther diéthylique ou le benzène comme solvants, en utilisant un rapport molaire bCEA/**1** = 1 en

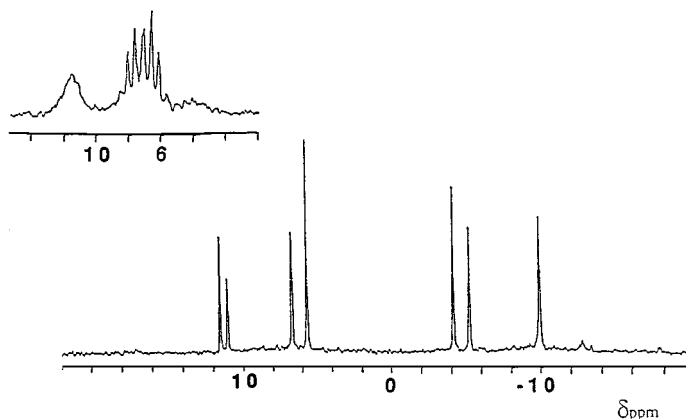


FIGURE 1 Spectre RMN ^{31}P : $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1** + $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (bCEA) (bCEA/**1** = 1).

présence de triéthylamine comme accepteur de HCl , ou avec un rapport supérieur à 1 sans triéthylamine. Le suivi RMN ^{31}P d'une réaction réalisée dans le benzène (bCEA/**1** = 1, $\text{NEt}_3/\textbf{1}$ = 1) permet de montrer la formation d'un composé auquel correspondent deux doublets à $\delta_1 = 6.2$ ppm et $\delta_2 = -4.6$ ppm, $^2J_{\text{PNP}} = 34$ Hz. On note également la présence du singulet représentatif de **1** à $\delta = -10$ ppm.⁶

Dans le spectre couplé phosphore–proton le doublet (δ_1) se transforme en quadruplet ($J_{\text{P-H}} = 14$ Hz), les autres signaux restant inchangés (Figure 1).

Les deux doublets sont donc attribués respectivement aux phosphores P_b et P_a du dérivé monosubstitué **2** (Schéma 1).

En RMN du ^{13}C , on met en évidence (en plus des deux signaux caractéristiques de la bCEA libre à $\delta = 38.4$ et $\delta = 48.9$ ppm) deux doublets à $\delta = 50.3$ ppm ($J_{\text{C-P}} \# 5\text{Hz}$) et $\delta = 41.9$ ppm ($J_{\text{C-P}} \# 4\text{Hz}$) attribuables respectivement aux atomes de carbone en α et β de l'azote dans le groupement $\text{P}_b(\text{O})\text{CIN}(\text{C}_\alpha\text{H}_2\text{C}_\beta\text{H}_2\text{Cl})_2$.

L'effet de la triéthylamine sur le taux de conversion de la réaction a été mis en évidence par deux essais effectués avec des rapports molaires $\text{NEt}_3/\textbf{1} = 1$ et $\text{NEt}_3/\textbf{1} = 3$ et un même rapport molaire bCEA/**1** = 1. Dans le 1^{er} cas ($\text{NEt}_3/\textbf{1} = 1$), **1** est largement majoritaire, alors que le dérivé monosubstitué **2** le devient dans le second cas ($\text{NEt}_3/\textbf{1} = 3$).

On note également sur le spectre RMN ^{31}P la présence de deux singulets, d'intensités sensiblement égales, à $\delta = 11.6$ et 11.1 ppm. Ces derniers n'apparaissant qu'après la formation de **2**, il ne peut leur correspondre qu'un ou deux composés de degré de substitution plus élevé. Dans un spectre couplé phosphore–proton ces signaux se transforment

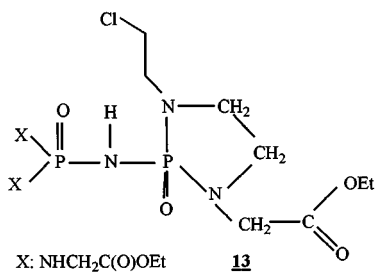
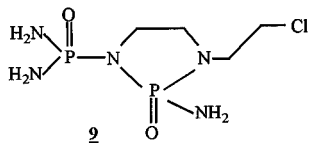
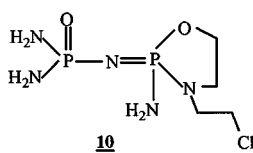
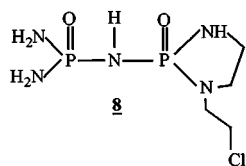
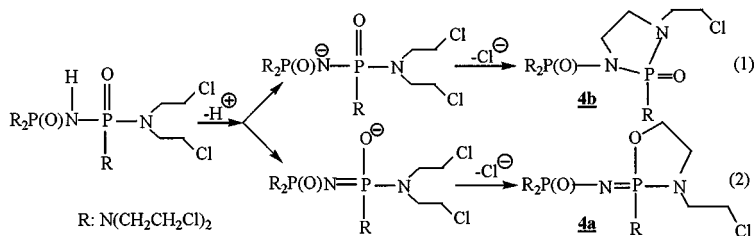
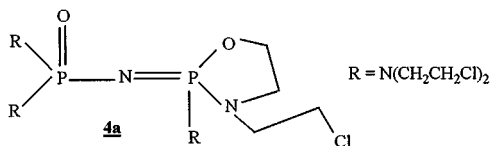
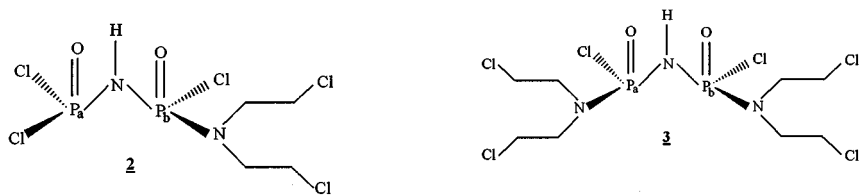


SCHÉMA 1

en un multiplet (Figure 1). Par analogie aux travaux d'Irvine et al.¹ et de Haegele et al.,² qui concernent les substitutions de $\text{CH}_3\text{N}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ par les amines, et à un travail réalisé dans notre laboratoire concernant la réaction de **1** avec des mélanges $\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_3$,⁸ nous attribuons ces deux singulets à un mélange de stéréoisomères du dérivé bismonosubstitué **3** dans lequel les deux atomes de phosphore sont asymétriques (Schéma 1).

Lorsque la réaction est réalisée dans le benzène avec un excès de bCEA ($\text{bCEA}/\mathbf{1} = 5$) sans triéthylamine, un spectre RMN ^{31}P fait après 20 heures de réaction à la température ambiante présente en plus des signaux déjà mis en évidence, deux doublets centrés sur $\delta = 9.3$ et -6.2 ppm (Figure 2a). Il leur correspond une constante de couplage $^2J_{\text{PNP}} = 35$ Hz comparable à celle relevée pour les doublets attribués

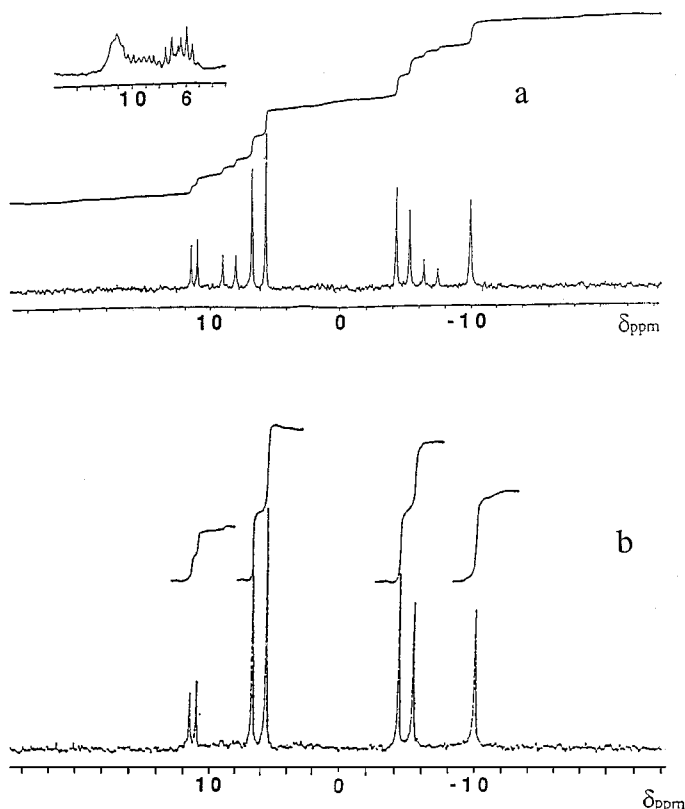


FIGURE 2 Spectre RMN ^{31}P : $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1** + $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (bCEA) ($\text{bCEA}/\mathbf{1} = 5$); (a) Après 20 h de réaction; (b) après 20 h de réaction et chauffage à reflux dans le benzène pendant 2 h.

à **2**. Le doublet à $\delta = -6.2$ ppm reste inchangé dans un spectre couplé phosphore–proton alors que celui à $\delta = 9.3$ ppm se transforme en un multiplet auquel correspond une constante de couplage J_{P-H} de l'ordre de 12 Hz également comparable à celle relevée pour le produit **2**.

Le même phénomène est constaté lorsque la réaction est effectuée avec un rapport bCEA/1 = 1 en présence d'un excès de triéthylamine. Etant donné leur ordre d'apparition (après les deux singulets à $\delta = 11.6$ et $\delta = 11.1$ ppm), la première hypothèse consisterait à les attribuer au dérivé disubstitué dissymétrique $[\text{ClCH}_2\text{CH}_2)_2\text{N}]_2\text{P}(\text{O})\text{NHP}(\text{O})\text{Cl}_2$. Celle-ci ne peut cependant être retenue.

En fait, l'absence de couplage phosphore–proton pour l'un des signaux, les valeurs rapprochées des déplacements chimiques par rapport au composé **2**, ainsi que la similitude des constantes de couplage nous incite à faire correspondre aux quatre doublets du spectre, un mélange de stéréoisomères du dérivé monosubstitué **2** dans lequel un atome de phosphore est asymétrique.

Cette hypothèse est confirmée par le fait que l'évaporation du solvant, une augmentation de température ou simplement une prolongation du temps de réaction se traduit par la disparition de ces deux nouveaux doublets et une augmentation concomitante du pourcentage des atomes de phosphore relatifs aux doublets à $\delta = 4.7$ et à $\delta = -6.2$ ppm, ceci sans apparition d'espèces nouvelles.

Cela est montré dans la Figure 2 qui représente les spectres obtenus après 20 h de réaction à la température ambiante dans le benzène (Figure 2a) et après chauffage au reflux pendant deux heures supplémentaires (Figure 2b). L'évaluation des intégrations nous permet de montrer que dans les deux cas, le pourcentage de phosphore sous formes **3** et **1** reste sensiblement constant alors que celui des atomes de phosphore sous forme **2** dans le spectre b correspond à la somme des pourcentages de phosphore impliqués dans les quatre doublets du spectre a.

La formation de **2** et de **3** étant prouvée, il était intéressant de poursuivre cette étude par un suivi en RMN ^{31}P de la réaction en fonction du rapport molaire bCEA/1, afin de mettre en évidence l'ensemble des composés susceptibles de se former.

L'évolution des spectres en fonction de ce rapport se caractérise par l'apparition en plus des signaux déjà signalés et correspondant à **2** et **3**, d'un singulet à $\delta = 12.6$ ppm qui devient unique pour un rapport supérieur à 4. A ce singulet ne peut correspondre que le terme ultime de la réaction c'est à dire le dérivé tétrasubstitué $\text{R}_2(\text{O})\text{PNHP}(\text{O})\text{R}_2$ **4** ($\text{R}=\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$).

4 étant le seul composé susceptible d'être isolé, il était logique que nous tentions de le préparer afin de pouvoir le caractériser de manière

approfondie. Pour cela, plusieurs essais de synthèse directe ont été réalisés. Dans tous les cas les réactions ont été conduites en présence de triéthylamine avec des rapports molaires bCEA/1 compris entre 4 et 6, ou supérieur à 10 sans triéthylamine. 4 étant partiellement soluble dans l'éther de pétrole, l'huile obtenue après réaction et évaporation du solvant, a été traitée par ce dernier.

La Figure 3 représente les spectres RMN ^{31}P des phases solubles après une extraction (spectre 3a) et deux extractions (spectre 3b). Au

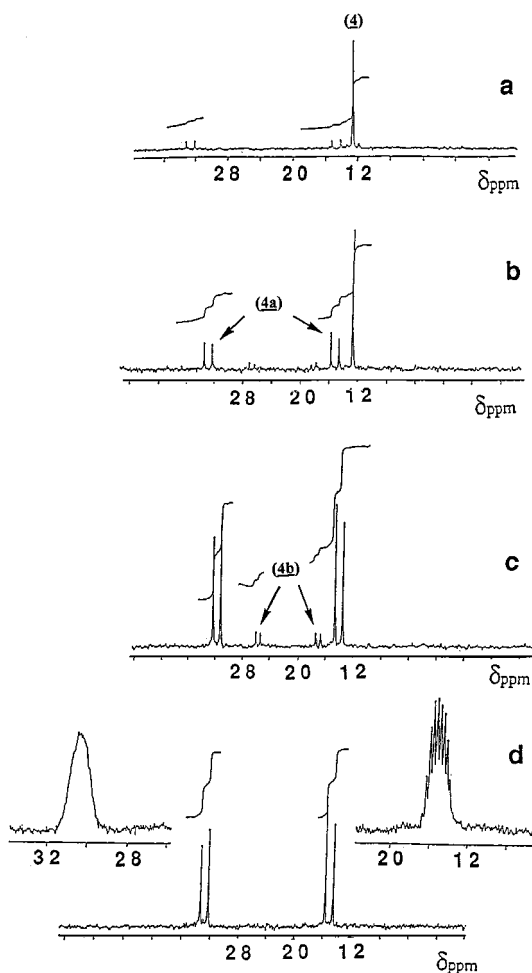


FIGURE 3 RMN ^{31}P : Evolution de la réaction $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ 1 + $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (bCEA) (bCEA/1 = r, r = 4, 6 en présence de $\text{N}(\text{Et})_3$, r = 10 en absence de $\text{N}(\text{Et})_3$).

produit obtenu, et laissé plusieurs jours à température ambiante correspond le spectre 3c.

L'évolution de ces spectres se caractérise par la disparition progressive du singulet représentatif de **4** à $\delta = 12.6$ ppm, l'apparition et l'augmentation d'intensité de deux doublets à $\delta = 14.2$ et 32.5 ppm ($J_{\text{PNP}} = 35$ Hz) auxquels nous faisons correspondre un composé **4a**, et l'apparition de deux autres à $\delta = 16.6$ et 25.4 ppm ($J_{\text{PNP}} = 22$ Hz) dont les intensités restent faibles (composé **4b**). Cette évolution cessant à partir de la disparition du singulet, **4a** et **4b** proviennent de la transformation de **4**.

4a étant nettement majoritaire dans le mélange, il a été possible par extractions répétées avec l'éther de pétrole de l'isoler sous la forme d'une huile. Son spectre RMN du ^{31}P est représenté dans la Figure 3d. On remarque que le doublet à $\delta = 32.5$ ppm se transforme par couplage phosphore-proton en un multiplet large et mal résolu, alors que celui à $\delta = 14.2$ ppm se transforme en un multiplet à huit composantes équidistantes de 11 Hz.

Par analogie avec le signal relevé à $\delta = 12.6$ ppm dans le cas de **4**, et avec les travaux de Ouassini et al.^{7,9} relatifs au composé $\text{R}_2(\text{O})\text{P}-\text{N}=\text{PR}_3$, $\text{R}=\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (dont le spectre présente une grande similitude avec celui de **4a** tant au niveau des constantes de couplage $^2J_{\text{PNP}}$ et $J_{\text{P-H}}$ que de leur multiplicité), nous attribuons le signal à $\delta = 14.2$ ppm à l'atome de phosphore dans le groupement $>\text{N}-\text{P}(\text{O})[\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2]_2$.

Le spectre RMN ^{13}C comporte en plus des signaux attribuables à la bCEA libre (qu'il n'a pas été possible d'éliminer) et de ceux caractéristiques de la bCEA engagée dans les produits de substitution de **1**. un signal à $\delta = 65.5$ ppm caractéristique d'un atome de carbone présent dans le groupement $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-$. Ce carbone résonne à $\delta = 65.9$ ppm dans les polyalcoxyphosphazènes $[\text{NP}(\text{OCH}_2\text{R})_2]_n$,¹⁰ entre $\delta = 60$ et $\delta = 70$ ppm dans les dérivés alcoylés de $\text{Cl}_2\text{P}(\text{O})-\text{N}=\text{PCl}_3$,¹¹ et $\delta = 66.4$ ppm dans le composé **5**¹² (Schéma 2).

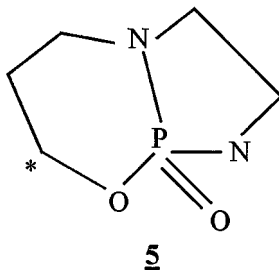


SCHÉMA 2

L'entité mise en évidence en spectrométrie de masse correspond à la masse de **4**—HCl soit $\text{Cl}_7\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{N}_5\text{P}_2\text{O}_2$ dont le spectre simulé est identique au spectre expérimental. Tous ces résultats sont donc en accord avec l'intervention d'une réaction de O-alkylation conduisant à la formation d'un cycle à cinq chaînons auquel correspond la structure **4a** (Schéma 1).

Les travaux de Engle¹³ et Bauermeister¹⁴ relatifs aux réactions de N ou O-alkylation intervenant dans le cas des composés **6** et **7** confirment cette hypothèse (Schéma 3).

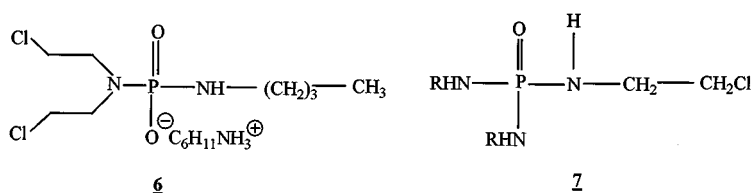


SCHÉMA 3

Dans notre cas, le dérivé **4** subit donc des réactions de N ou O-alkylation selon les réactions (1) ou (2) (Schéma 1). Il est logique de penser que la réaction 1 est responsable de la formation de **4b**, même si la concentration toujours très faible de ce dernier n'a pas permis de le confirmer.

Dans le but d'augmenter la solubilité dans l'eau de ces composés phosphorés ayant au moins un groupement bCEA, nous avons également entrepris des essais de réactions de cosubstitution avec l'ammoniac liquide et le glycinate d'éthyle.

Réaction de **1** Partiellement Substitué par la bCEA Avec l'ammoniac Liquide et le Glycinate d'éthyle

Réaction Avec L'ammoniac Liquide

Le dérivé **2** n'étant pas isolable, le produit de départ était un mélange de **2** et **3** que nous avons traité par l'ammoniac liquide en solution dans le chloroforme à -40°C . Après réaction, un solide a été isolé et traité par la diéthylamine dans le chloroforme à reflux en vue d'éliminer le chlorure d'ammonium formé au cours de la réaction. Le produit obtenu a été caractérisé par RMN ^{31}P , ^{13}C , et ^1H ainsi que par spectrométrie de masse, infrarouge et analyse élémentaire.

Spectrométrie de Masse. Le spectre de masse présente le pic moléculaire à $m/e = 261$ et le pic $M + 2$ (30% par rapport au pic

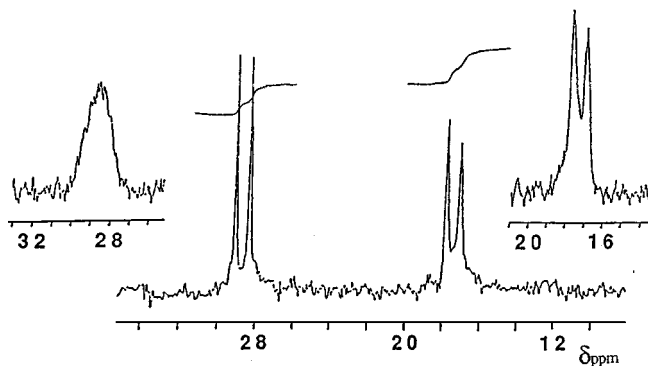


FIGURE 4 RMN ^{31}P . Le produit de la réaction $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1** + $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (bCEA) (bCEA/**1** = 1) traité par l'ammoniaque liquide dans CHCl_3 .

moléculaire confirmant ainsi la présence d'un seul atome de chlore dans la molécule).

RMN du ^{31}P . Le spectre RMN ^{31}P (Figure 4) présente deux doublets d'intensités égales à $\delta = 17.3$ et 28.6 ppm ($^2J_{\text{PNP}} = 24.1$ Hz). Seul le dernier se transforme en un multiplet non résolu par couplage phosphore—proton. Au signal à $\delta = 17.3$ ppm on peut sans ambiguïté faire correspondre le groupement $\text{P}(\text{O})(\text{NH}_2)_2$, ($\delta = +17.3$ ppm dans le composé $\text{HN}[\text{P}(\text{O})(\text{NH}_2)_2]_2$). Par contre, on ne peut pas, par référence au spectre de **2**, faire correspondre au doublet à $\delta = 28.6$ ppm l'atome de phosphore d'un groupement $-\text{P}(\text{O})\text{NH}_2[\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2]$. Il était donc logique de penser ici encore à une réaction de cyclisation pouvant conduire à **8**, **9**, ou **10** (Schéma 1).

Les structures **9** et **10** ne sont pas concevables. Dans le premier cas l'atome de phosphore du groupement $-\text{P}(\text{O})(\text{NH}_2)_2$ devrait être couplé aux protons de type méthylène portés par l'atome d'azote du pont P-N-P et dans le second, la constante de couplage $^2J_{\text{PNP}}$ paraît trop faible pour une structure phosphazène.⁵

L'étude des spectres RMN du ^{13}C et du ^1H permet de retenir la structure **8** dont la formation n'est pas surprenante compte tenu des travaux de Bauermeister et al. relatifs à la réactivité des N(2-chloroéthyl)phosphotriamidates $(\text{R NH})_2\text{P}(\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$.¹⁴

RMN du ^{13}C . Le spectre RMN ^{13}C comprend 8 signaux que l'on peut regrouper en quatre doublets à $\delta = 46.2$ ($J_{\text{C-P}} = 4.9$ Hz), 44.7 ($J_{\text{C-P}} = 8.6$ Hz), 43.9 ppm ($J_{\text{C-P}} = 9.7$ Hz) et 43.1 ($J_{\text{C-P}} = 4.9$ Hz) ppm. En se basant sur les données bibliographiques^{2,7} et sur les spectres de la bCEA et de **2**, nous pouvons faire correspondre:

- aux doublets à $\delta = 46.2$ et 43.1 ppm respectivement les atomes de carbone C_α et C_β dans le groupement $-N-C_\alpha H_2-C_\beta H_2-Cl$
- aux doublets à $\delta = 44.7$ et 43.9 ppm les atomes de carbone du cycle à cinq chaînons de type **11** (Schéma 4).

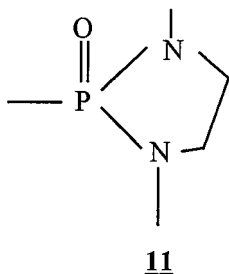


SCHÉMA 4

L'absence de signal à champ plus faible (entre 60 et 70 ppm) confirme l'absence de réaction de O-cyclisation.

RMN du 1H . Le spectre RMN 1H réalisé dans D_2O présente deux multiplets et un triplet centrés respectivement sur $\delta = 3.4$; 3.6 et 3.8 ppm d'intégrations respectives 2-1-1.

Le triplet à $\delta = 3.8$ ppm peut être attribué aux protons H_b dans $N-C(H_a)_2-C(H_b)_2Cl$ ($^2J_{Hb-Ha} = 6.2$ Hz), ($^2J_{Hb-Ha} = 5.6$ Hz dans $HN[C(H_a)_2C(H_b)_2Cl]_2$) et le multiplet à $\delta = 3.6$ ppm aux protons H_a dans le même groupement.

Au signal centré sur $\delta = 3.4$ ppm correspondent donc les protons des groupements méthylène dans le cycle. Bauermeister et al.¹⁴ leur attribuent un multiplet centré sur $\delta = 3.1$ ppm dans le composé 1,3,2-diazaphospholidine $RHNP(O)NHCH_2CH_2NR$, $R=Me$.

Spectroscopie IR. Le spectre infrarouge confirme: l'absence de chlorure d'ammonium, la présence des groupements phosphoryle (bande $\nu(P=O)$ à 1200 cm^{-1}), l'existence des liaisons $P-NH_2$ (présence des bandes d'absorption entre 3150 et 3300 cm^{-1} et à 1560 cm^{-1} caractéristiques respectivement des modes $\nu(N-H)$ et $\delta(N-H)$), l'existence de liaisons $N-C$ avec deux bandes à 1040 et 1105 cm^{-1} (ν_s et ν_{as} $(P)-N-C$), et enfin la présence de liaisons $C-H$ (bandes d'absorptions à $2830-2980\text{ cm}^{-1}$).

Réaction Avec le Glycinate d'éthyle

Le mélange de départ, constitué cette fois-ci de **1** et **2** (**2** étant majoritaire), a été traité par un excès de glycinate d'éthyle dans le benzène.

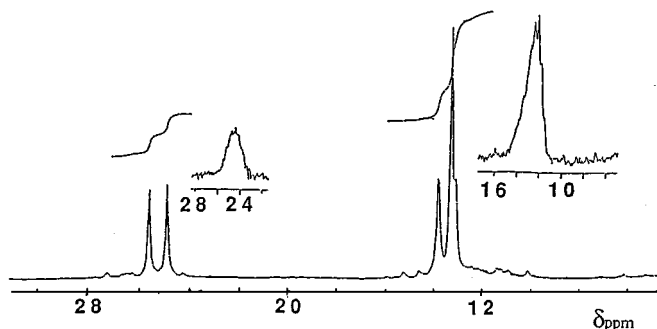


FIGURE 5 RMN ^{31}P : Le produit de la réaction $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1** + $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (bCEA) (bCEA/**1** = 1) traité par le glycinate d'éthyle dans CHCl_3 .

Le solide obtenu à la fin de la réaction, après élimination du solvant et traitement par l'éther de pétrole, a été caractérisé par RMN ^{31}P et ^1H et par spectrométrie de masse.

RMN du ^{31}P . Le spectre (solution dans le chloroforme, Figure 5) présente:

- deux doublets centrés sur $\delta = 13.4$ et 25.3 ppm ($^2J_{\text{PNP}} = 23$ Hz).
- 1 singulet à $\delta = 13.3$ ppm (superposé à l'une des composantes du doublet à $\delta = 13.4$ ppm) Par couplage phosphore–proton, tous ces signaux sont affectés.

La synthèse et l'étude du spectre du composé tétrasubstitué $\text{R}_2\text{P}(\text{O})\text{NHP}(\text{O})\text{R}_2$ ($\text{R}:\text{NHCH}_2\text{COOEt}$) **12** permet d'attribuer à ce dernier le singulet à $\delta = 13.3$ ppm.

Les deux doublets sont donc caractéristiques du produit de la réaction de **2** avec le glycinate d'éthyle, et la valeur élevée du déplacement chimique relevé à $\delta = 25.3$ ppm laisse encore prévoir l'intervention d'une réaction de N-alkylation qui pourrait conduire à la structure **13** Schéma 1).

RMN du ^1H . Les signaux supplémentaires par rapport à ceux relevés dans le cas du dérivé tétrasubstitué **12** sont deux multiplets à $\delta = 3.2$ et 3.3 ppm et un triplet à $\delta = 3.6$ ppm. Ils sont attribués dans les deux premiers cas aux protons des groupements $>\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}<$ (cycle) et $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, le triplet étant représentatif de $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$.

Spectrométrie de Masse. Le spectre de masse du mélange (**12**, **13**) présente en plus des pics relevés dans celui de **12**, un pic à $m/e = 520$ qui correspond à l'entité $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{ClN}_5\text{O}_8\text{P}_2$ soit $[\text{M}(\text{13}) + 1]^+$.

TESTS BIOLOGIQUES

Trois composés ou mélanges de composés ont été étudiés dans le modèle de la leucémie lymphocytaire P388 sur des souris CDF1 selon le protocole publié par le NCI.¹⁵ Il s'agit des mélanges [**1**(20%), **2**(80%)], [**12**(43%), **13**(57%)] et du composé **8**.

Seul le mélange (**1**, **2**) présente une relative activité ($T/C = 156\%$) à 50 mg/Kg/injection avec injections répétées de J1 à J9,* les autres produits étant inactifs aux doses testées. **2** étant le seul composé possédant le groupement N,N-bis(2-chloroéthyl)amine, c'est à dire ayant la structure d'un agent alkylant bifonctionnel, cela confirme les conclusions de Chabner et Collins¹⁶ selon lesquelles l'efficacité de tels agents est plus grande que celle des alkylants monofonctionnels, comme les composés **8** et **13**.

CONCLUSION

Le présent travail concerne la réactivité du bis(dichlorophosphoryl)imide, $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ **1**, vis à vis de la N,N-bis(chloro-2éthyl)amine (bCEA) avec comme objectif la synthèse de molécules présentant une activité antitumorale tout en évitant la production de produits annexes toxiques.

Nous avons pu mettre en évidence la formation des dérivés de mono **2**, di **3** et tetrasubstitution **4**, ainsi que l'existence de diastéréoisomères pour les dérivés mono et bismonosubstitués.

L'utilisation conjointe de la RMN (^{31}P , ^{13}C , ^1H) et de la spectrométrie de masse a permis de montrer l'instabilité du dérivé tetrasubstitué **4** qui se transforme en dérivé O-alkylé **4a** avec perte de HCl .

Nous avons ensuite étudié les réactions de cosubstitution de $\text{HN}(\text{POCl}_2)_2$ **1** par la bCEA et l'ammoniac d'une part, le bCEA et la glycine ethyl ester d'autre part. Les études spectroscopiques des produits formés montrent dans ce cas l'intervention de réaction de N-alkylation.

L'efficacité antitumorale de mélanges de composés (**1**, **2**) et (**12**, **13**) et du composé **8** a été évaluée. Cette évaluation a permis de montrer que seul le dérivé ayant conservé la structure d'un agent alkylant bifonctionnel présentait une activité antitumorale.

* $T/C\% = [\text{Jour médian de survie des animaux traités} / \text{Jour médian de survie des animaux contrôles}] \times 100$. Une valeur de $T/C < 85\%$ signe d'une toxicité du produit à la dose considérée. Une valeur de $T/C > 135\%$ permet de considérer comme significative l'activité antitumorale.

DONNEES EXPERIMENTALES

Toutes les réactions ont été conduites sous atmosphère d'Azote sec. Les solvants, qualité pour analyse, sont utilisés après distillation simple et conservation sur tamis moléculaires. $\text{HN}(\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2)_2$ **1** est obtenu par réaction de H_2O sur $\text{Cl}_3\text{P}=\text{N}-\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$.⁶

Les amines libres $\text{HN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (bCEA) et $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ sont préparées à partir de leur chlorhydrate. La première s'obtient par traitement du chlorhydrate avec NaOH (10%) puis séchage sur Na_2SO_4 ,¹⁷ la seconde par chauffage au reflux dans le benzène du chlorhydrate en présence de triéthylamine.¹⁸ Les spectres RMN ont été réalisés sur un spectromètre Bruker WP80 (^{13}C et ^{31}P), et WP400 (^1H , ^{15}N). Pour le signal du lock, nous avons utilisé soit un capillaire concentrique (8 mm pour ^{31}P et ^{13}C) contenant D_2O , soit un solvant deutéré (pour ^1H et ^{15}N). Les déplacements chimiques sont exprimés par rapport à H_3PO_4 (85%) pour la RMN ^{31}P , TMS pour les RMN ^1H et ^{13}C et CH_3NO_2 pour la RMN ^{15}N .

Les spectres infrarouge ont été obtenus à partir de films entre faces en KBr ou par pastillage sur un spectrophotomètre Bomem, MB100.

Les spectres de masse ont été enregistrés soit en impact électronique sur un spectromètre NERMAG R10-10B soit en FAB sur un spectromètre KRATOS CONCEPT II H.H. (Manchester).

Les analyses élémentaires ont été réalisées au service central de microanalyse du CNRS, Vernaison.

Préparation du Composé (8)

Un mélange de **2** et **3** est préparé par réaction de la bCEA (15.05 g, 106 mmol) sur **1** (13.05 g, 52 mmol) en présence de Et_3N (16.16 g, 160 mmol) dans le benzène à température ambiante. Après 24 h, le chlorhydrate formé est séparé par filtration et le benzène est éliminé sous pression réduite. On obtient une huile brune (mélange de **2** et **3**, **3** étant légèrement majoritaire).

Le mélange **2** et **3** est ensuite dissous dans CHCl_3 puis introduit goutte à goutte dans une solution de NH_3 dans CHCl_3 contenue dans un réacteur à double enveloppe de manière à maintenir une température inférieure à -40°C . Un précipité apparaît dès le début de l'ajout.

Après réaction, le mélange réactionnel est filtré et le solide résiduel purifié soit par lavages successifs avec l'ammoniac liquide soit préférentiellement, par traitement avec la diéthylamine dans le chloroforme au reflux.

On obtient finalement un solide blanc dont la caractérisation est décrite dans le texte.

Analyse élémentaire:

$C_4H_{14}ClP_2N_5O_2$ (261.5 g/mole) Calculé: P 23.71 N 26.77 Cl 13.57

Trouvé: P 23.65 N 25.84 Cl 13.47

Préparation du Composé $HN[PO(NHCH_2C(O)OEt)_2]_2$ 12

A une solution de glycinate d'éthyle (49.85 g, 484 mmol) dans 400 ml de benzène contenant le catalyseur diméthylaminopyridine (DMAP) (2.44 g, 20 mmol), on ajoute goutte à goutte une solution de **1** (12.05 g, 48 mmol) dans le benzène (100 ml) à température ambiante. Après 24 h le mélange réactionnel est porté au reflux pendant 90 min. Le chlorhydrate du glycinate d'éthyle formé est éliminé par filtration. Le solvant est ensuite évaporé pour donner une huile qui est traitée trois fois par un mélange chloroforme-heptane. Un solide jaunâtre est obtenu avec un rendement de 85%. Il est soluble dans la plupart des solvants organiques usuels sauf le n-heptane et l'éther diéthylique. Ce solide a été caractérisé par RMN (^{31}P , ^{13}C , 1H et ^{15}N), IR et spectrométrie de masse.

- RMN ^{31}P : $\delta = 12.1$ ppm ($CHCl_3$) (s), $\delta = 15$ ppm (H_2O), $J_{P-H} = 12$ Hz (H_2O).
- RMN 1H ($CDCl_3$): $\delta = 1.2$ ppm (t), $J_{H-H} = 7.2$ Hz, CH_3 ; $\delta = 3.65$ – 3.82 ppm (m), $P-N(\underline{H})-P-NH-CH_2-$; $\delta = 4.11$ ppm (q), $J_{H-H} = 7.2$ Hz, CH_2-O ; $\delta = 4.6$ ppm (signal large), $P-NH-CH_2$. Dans D_2O on note la disparition du signal à $\delta = 4.6$ ppm et la transformation du multiplet ($\delta = 3.65$ – 3.82 ppm) en un doublet à $\delta = 3.8$ ppm ($J = 13$ Hz).
- RMN ^{13}C ($CHCl_3$): $\delta = 14.5$ ppm (s), CH_3 ; $\delta = 43.3$ ppm (s), $P-NH-CH_2$; $\delta = 61.7$ ppm (s), $O-CH_2-$; $\delta = 173.1$ ppm (d), $^3J_{PNCC} = 6$ Hz, $-C(O)O-$.
- RMN ^{15}N ($CDCl_3-CHCl_3$): $\delta = -303.6$ ppm (t), $^1J_{N-P} = 18.4$ Hz, $P-N-P$; $\delta = -336.8$ ppm (d), $^1J_{N-P} = 33$ Hz, $P-NH-C$.
- IR: 3300 – 3385 cm^{-1} ($\nu_{as(N-H)}$), 2928 – 2980 cm^{-1} ($\nu_{(C-H)}$), 1745 cm^{-1} ($\nu_{(C-O)}$), 1370 cm^{-1} ($\delta_{(C-H)}$), 1203 cm^{-1} (large) ($\nu_{(P=O)}$ et $\nu_{(C-O)}$ dans $-C-C(O)-O-$), 1145 cm^{-1} ($\nu_{(C-N)}$), 954 cm^{-1} ($\nu_{as(P-N-P)}$) et 857 cm^{-1} ($\nu_{(P-N)}$).
- Spectrométrie de masse: Ion moléculaire $(M + 1)^+$ à $m/e = 518$ ($C_{16}H_{33}N_5P_2O_{10}$).

Préparation des Composés (12, 13)

A un mélange **1** (44%), **2** (56%) obtenu par réaction de la bCEA (19.31 g, 136 mmol) avec **1** (8.53 g, 34 mmol) dans le benzène à la

température ambiante pendant 24 h, on ajoute goutte à goutte une solution benzénique de glycinate d'éthyle (35.02 g, 340 mmol). Après 2 jours sous agitation à la température ambiante, le mélange est filtré et le solvant évaporé sous pression réduite. Après traitement de l'huile par l'éther de pétrole, on récupère un solide (mélange de **12** et **13**, **13** étant légèrement majoritaire).

REFERENCES

- [1] I. Irvine and R. Keat, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 17 (1972).
- [2] G. Haegele, R. K. Harris, M. I. M. Wazer, and R. Keat, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 1985 (1974).
- [3] L. Riesel and R. Somieski, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **412**, 246 (1975).
- [4] J. J. Delpuech, G. Fasan, L. Rodehüser, P. Rubini, and C. Selve, *Phosphorus and Sulfur*, **35**, 281 (1988).
- [5] A. Kilic, Z. Kilic, and R. A. Shaw, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, **56**, 157 (1991).
- [6] J. Heubel, Y. Hammoutou, and R. De Jaeger, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon*, **63**, 19 (1991).
- [7] A. Ouassini, R. De Jaeger, S. Hilali, C. Fournier, and B. Hecquet, *Eur. J. Med. Chem.*, **23**, 347 (1988).
- [8] A. Manenc, Thèse de Lille (Octobre 1991).
- [9] A. Ouassini, Thèse d'état Lille (Octobre 1986).
- [10] G. Zon, S. M. Ludeman, and W. Egan, *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 5785 (1977).
- [11] C. Francart-Delprato, Thèse Lille (Octobre 1992).
- [12] A. Ouassini, R. De Jaeger, and J. Heubel, *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **531**, 188 (1985).
- [13] T. W. Engle, G. Zon, and W. Egan, *J. Med. Chem.*, **25**, 1347 (1982).
- [14] S. Bauermeister, A. M. Modro, T. A. Modro, and A. Zwierzak, *Can. J. Chem.*, **69**, 811 (1991).
- [15] A. Goldin, J. M. Venditti, and S. K. Carter, Screening at the National Cancer Institut in N.C.I. Monograph-45, USA. *Methods of Development of New Anticancer Drugs*, 37 (1977).
- [16] B. A. Chabner and J. M. Collins, *Cancer Chemotherapy Principles and Practices* (Lippincott Company, Philadelphia, 1990), Chap. 11, p. 276.
- [17] K. M. M. Taqui and R. E. Rama, *Polyhedron*, **6**, 1727 (1987).
- [18] H. R. Allcock, T. J. Fuller, D. P. Mack, K. Matsumura, and K. M. Smeltz, *Macromolecules*, **10**, 824 (1977).