

'ACTIVITÉ CYTOKININE' DE QUELQUES DÉRIVÉS ANALOGUES: ISOSTÈRES AZOTES ET ISOMERES DE LA TRIACANTHINE

J. ROUSSAUX

Laboratoire de Biologie Végétale IV, 12 Rue Cuvier (75), PARIS Ve., France

J. C. GANDAR*

Laboratoire de Physiologie Pluricellulaire du C.N.R.S., (91), Gif s/Yvette, France

et

N. DAT-XUONG

Institut de Chimie des Substances Naturelles du C.N.R.S. (91), Gif s/Yvette, France

(Received 30 April 1970)

Résumé—Dix-huit dérivés de l'adénine ont été synthétisés et leur 'activité cytokinique' a été déterminée à l'aide des essais biologiques: moelle de tabac, bourgeon de pois et *Amaranthus*. Les composés actifs, au nombre de trois, sont tous des dérivés présentant un substituant sur la fonction aminée, en position 6 du noyau purine. Leur activité est inférieure à celle de la kinétine, de la *N*-benzyladénine et de la *N*-(γ , γ -diméthyl-allyl)adénine. Pour la première fois, l'activité phytohormonale d'isostères azotés de la *N*-(γ , γ -diméthyl-allyl)adénine est mise en évidence.

Abstract—Eighteen amino purines have been synthesized and their phytohormonal properties have been studied by means of the tobacco-pith, pea-bud and *Amaranthus* tests. Only three compounds have been found active, all of them having their purine nucleus substituted at the 6-position. Activity has been observed, for the first time, in nitrogen-isosteric derivatives of *N*-(γ , γ -dimethyl-allyl)adenine. However, the cytokinin activities of the 3 derivatives are found to be lower than those of kinetin, *N*-benzyladenine and *N*-(γ , γ -dimethyl-allyl)adenine.

INTRODUCTION

DEPUIS la découverte de la kinétine(I) ou *N*- α -furfurylamino-6 purine et la détermination de sa constitution en 1956,¹⁻³ de nombreux travaux ont été consacrés, pendant plus d'une décennie, à élucider les relations entre la constitution chimique des dérivés de l'adénine et leur 'activité cytokinique'. Diverses mises au point sur ce sujet ont été faites par Miller,⁴ Skoog et Leonard,⁵ Xhaufflaire et Gaspar.⁶

* Adresse actuelle: Laboratoire de Recherches de Physiologie Végétale (49) Angers Belle-Beille, France.

¹ C. O. MILLER, F. SKOOG, M. H. VON SALTZA et F. M. STRONG, *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 1392 (1955).

² C. O. MILLER, F. SKOOG, F. S. OKUMURA, M. H. VON SALTZA et F. M. STRONG, *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 2662 (1955).

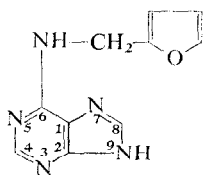
³ C. O. MILLER, F. SKOOG, F. S. OKUMURA, M. H. VON SALTZA et F. M. STRONG, *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 1375 (1956).

⁴ C. O. MILLER, *Ann. Rev. Plant Physiol.* **12**, 395 (1961).

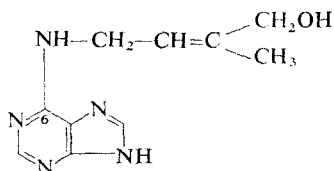
⁵ F. SKOOG et N. J. LEONARD dans *Biochem. and Physiol. of Plant Growth Subst. Proc. 6th Intern. Conf. Plant Growth Subst.* (edited by S. WIGHTMAN et G. SETTERFIELD), p. 1-18, The Runge Press, Ottawa (1968).

⁶ A. XHAUFFLAIRE et T. GASPAR, *Ann. Biol.* **7**, 39 (1968).

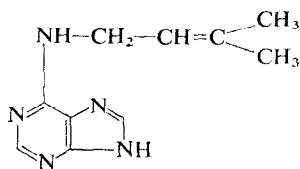
L'activité biologique paraît spécifiquement liée à une substitution adéquate en position 6 de la purine, comme l'a d'abord montré Strong.⁷ Ce résultat a été confirmé par Okumura *et al.*,⁸ et par Kuraishi⁹ qui a introduit les notions d'hydrophilie induite par le noyau purique et de lipophilie inhérente à la chaîne latérale hydrocarbonée.



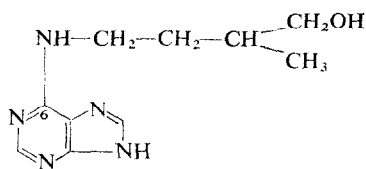
(I)



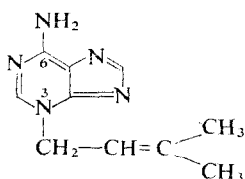
(II)



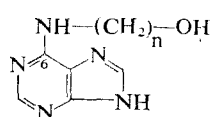
(III)



(IV)



(V)



(VI)

Certains dérivés de l'adénine présentant des propriétés phytohormonales sont des substances naturelles obtenues par extraction. Citons le cas de la zéatine(II) ou *N*-(hydroxyméthyl-3' butényl-2') amino-6 purine, isolée par Letham et coll.¹⁰⁻¹² des caryopses de maïs immatures et celui de la *N*-(méthyl-3' butényl-2') amino-6 purine ou γ,γ -diméthyl-allyl-adénine (DMAA)(III) dont le caractère de cytokinine naturelle a été pressenti dès 1963 par Beauchesne et Goutarel;¹³ cette dernière a été récemment caractérisée dans les suspensions

⁷ F. M. STRONG, dans *Topics in Microbial Chemistry*, pp. 98-157, Wiley, New York (1958).

⁸ F. S. OKUMURA, N. ENISHI, H. ITOH, M. MASUMURA et S. KURAISHI, *Bull. Chem. Soc. Japan* **32**, 886 (1959).

⁹ S. KURAISHI, *Sci. Paper Coll. Gen. Educ. Univ. Tokyo* **9**, 67 (1959).

¹⁰ D. S. LETHAM, *Life Sci.* **2**, 569 (1963).

¹¹ D. S. LETHAM, J. S. SHANNON et I. R. McDONALD, *Proc. Chem. Soc.* **230** (1964).

¹² D. S. LETHAM, J. S. SHANNON et I. R. McDONALD, *Tetrahedron* **23**, 479 (1967).

¹³ G. BEAUCHESNE et R. GOUTAREL, *Physiol. Plantarum* **16**, 630 (1963).

d'une bactérie phytopathogène, le *Corynebacterium fascians*¹⁴ et dans le s-ARN de divers organismes.¹⁵⁻¹⁸

Il en est de même de la dihydro-zéatine(IV) ou *N*-(hydroxy-méthyl-3' *n*-butyl) amino-6 purine isolée par Koshimizu et coll.^{19,20}

Par contre, la triacanthine(V) ou *N*-(méthyl-3' butényl-2')-3 amino-6 purine, extraite des feuilles d'*Holarrhena floribunda*²¹ et de *Gleditsia triacanthos* est dépourvue d'activité.²²

Parallèlement à ces travaux, plusieurs chercheurs²³⁻²⁷ se sont ingéniés à synthétiser de nouveaux dérivés puriniques pour leur éventuelle 'activité cytokinique'. Ainsi, Rothwell et al.,²⁵ ont étudié une série d'adénines *N*-acylées ainsi que les adénines *N*-alkylées correspondantes. Fawcett et Wright²³ ont préparé 5 dérivés de *N*-(ω -hydroxy-polyméthylène) amino-6 purine(VI), homologues de la dihydro-zéatine alors que Skoog et al.,²⁶ Leonard et al.,²⁴ ont synthétisé de nombreux dérivés d'amino-purine.

Dans le présent travail, nous nous sommes proposés de déterminer 'l'activité cytokinique' d'une vingtaine de nouveaux dérivés de l'adénine dont les structures chimiques ont été élaborées suivant plusieurs motivations. Nous avons envisagé soit des précurseurs potentiels de (III) soit des analogues structuraux de (III) avec isomérisation de position, soit des isostères azotés.

Nous avons également greffé sur le squelette purique des groupements fonctionnels, biologiquement actifs comme l'amino-2 fluorène (hépatocarcinogène), l'uréthane (antimitotique), l'acide phényl-acétique (faiblement auxinique).

Nomenclature des Dérivés Étudiés

Les produits étudiés sont récapitulés dans le Tableau 1. La synthèse chimique des dérivés, immatriculés A-, a été décrite par Cavé²⁸ alors que celle des produits dénommés GDR- est résumée dans la partie expérimentale avec leurs caractéristiques analytiques; leurs formules développées sont reproduites dans le Tableau 2.

Activité Phytohormonale des Dérivés

Nous avons recherché d'abord si les nouvelles substances synthétisées présentaient certaines des propriétés caractéristiques des cytokinines: d'une part, une action stimulante sur la croissance de la moëlle de tabac, essai classique décrit par Jablonsky et Skoog²⁹ et d'autre part, le pouvoir de lever l'inhibition affectant des bourgeons axillaires soumis à la

¹⁴ D. KLÄMBT, G. THIES et F. SKOOG, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* **56**, 52 (1966).

¹⁵ K. BIEMANN, S. TSUNAKAWA, J. SONNENBICHLER, H. FELDMANN, D. DÜTTING et H. G. ZACHAU, *Angew. Chem.* **78**, 600 (1966).

¹⁶ W. J. BURROWS, D. J. ARMSTRONG, F. SKOOG, S. M. HECHT, J. T. A. BOYLE, N. J. LEONARD et J. OCCOLO-WITZ, *Biochem. U.S.A.* **8**, 3071 (1969).

¹⁷ R. H. HALL, M. J. ROBINS, L. STASIUK et R. THEDFORD, *J. Am. Chem. Soc.* **88**, 2614 (1966).

¹⁸ R. H. HALL, L. CSONKA, H. DAVID et B. MCLENNAN, *Science* **156**, 69 (1967).

¹⁹ K. KOSHIMIZU, T. KUSAKI, T. MITSUI et S. MATSUBARA, *Tetrahedron Letters* 1317 (1967).

²⁰ K. KOSHIMIZU, S. MATSUBARA, T. KUSAKI et T. MITSUI, *Agri. Biol. Chem.* **31**, 795 (1967).

²¹ M.-M. JANOT, A. CAVE et R. GOUTAREL, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 896 (1959).

²² J. H. ROGOZINSKA, J. HELGESON et F. SKOOG, *Physiol. Plantarum* **17**, 165 (1964).

²³ C. H. FAWCETT et S. T. C. WRIGHT, *Phytochem.* **7**, 1719 (1968).

²⁴ N. J. LEONARD, S. M. HECHT, F. SKOOG et R. Y. SCHMITZ, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* **63**, 175 (1969).

²⁵ K. ROTHWELL et S. T. C. WRIGHT, *Proc. Roy. Soc. B.* **167**, 202 (1967).

²⁶ F. SKOOG, H. Q. HAMZI et A. M. SZWEYKOWSKA, N. J. LEONARD, K. L. CARRAWAY, T. FUJII, J. P. HELGESON et R. N. LOEPPKY, *Phytochem.* **6**, 1169 (1967).

²⁷ H. YOUNG et D. S. LETHAM, *Phytochem.* **8**, 1199 (1969).

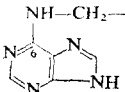
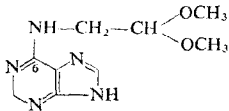
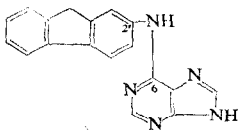
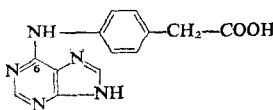
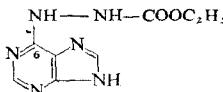
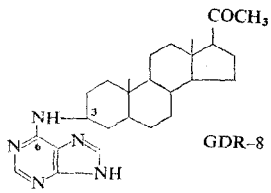
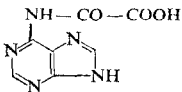
²⁸ A. CAVE, Thèse de Doctorat ès-Sciences Naturelles, Univ. Paris (1962).

²⁹ J. R. JABLONSKY et F. SKOOG, *Physiol. Plantarum* **7**, 16 (1954).

TABLEAU 1. LISTE DES PRODUITS ÉTUDIÉS

	Formule brute	Poids moléculaire	Nomenclature
A-10	$C_{10}H_9N_5O$	215,22	α -Furfuryl-3 amino-6 purine
A-25	$C_8H_{11}N_5O_2$	209,21	(β,γ -Dihydroxy-propyl)-3 amino-6 purine
A-26	$C_{11}H_{18}N_6$	234,31	β -(Diéthyl-amino)éthyl-9 amino-6 purine
A-28	$C_8H_7N_5$	173,18	Propargyl-3 amino-6 purine
A-29	$C_9H_{14}N_6$	206,25	β -(Diméthyl-amino)éthyl-3 amino-6 purine
A-30	$C_{11}H_{18}N_6$	234,31	β -(Diéthyl-amino)éthyl-3 amino-6 purine
A-35	$C_8H_7N_5$	173,18	Allyl-3 amino-6 purine
A-36	$C_9H_{11}N_5$	189,22	β -Méthyl-allyl-3 amino-6 purine
A-37	$C_9H_{11}N_5$	189,22	γ -Méthyl-allyl-3 amino-6 purine
A-38	$C_8H_{11}N_5$	177,21	Isopropyl-3 amino-6 purine
A-322	$C_9H_{14}N_6$	206,25	β -(Diméthyl-amino)éthyl-amino-6 purine
A-326	$C_{11}H_{18}N_6$	234,31	β -(Diéthyl-amino)éthyl-amino-6 purine
GDR. 2	$C_8H_{11}N_5O_2$	209,20	<i>N</i> -(β,γ -Dihydroxy-propyl)amino-6 purine
GDR. 3	$C_9H_{13}N_5O_2$	223,23	<i>N</i> -(β,β -Diméthoxy-éthyl)amino-6 purine
GDR. 5	$C_{18}H_{14}ClN_5$	335,79	<i>N</i> -(Fluorényl-2')amino-6 purine (chlorhydrate)
GDR. 6	$C_{13}H_{12}ClN_5O_2$	305,72	Acide para(purinyl-6 amino)phényl-acétique
GDR. 7	$C_8H_{11}ClN_5O_2$	258,56	<i>N</i> -Purinyl-6 <i>N'</i> -carbéthoxy hydrazine (chlorhydrate)
GDR. 8	$C_{26}H_{38}ClN_5O_3$	472,07	<i>N</i> -(Purinyl-6) funtumine (chlorhydrate)
GDR. 9	$C_7H_6ClN_5O_3$	243,60	<i>N</i> -(Carboxy-formyl)amino-6 purine (chlorhydrate).

TABLEAU 2. FORMULE DÉVELOPPÉE DES DÉRIVÉS DE LA SÉRIE GDR

 <p>GDR-2</p>	 <p>GDR-3</p>	 <p>GDR-5</p>
 <p>GDR-6</p>	 <p>GDR 7</p>	 <p>GDR-8</p>
 <p>GDR-9</p>		

dominance apicale, propriété mise en évidence sur le Pois et sur divers autres végétaux par Sachs et Thimann.³⁰ Nous avons étudié ensuite l'influence des composés de la série A- sur le développement de plantules de pois cultivées *in vitro*, en particulier sur la rhizogenèse secondaire, selon une technique antérieurement décrite.³¹ Enfin, nous avons vérifié si les produits présentant une activité biologique au cours des essais précédents induisaient la formation de bêtacyanines, à l'obscurité, chez les plantules d'*Amaranthus*, autre propriété des cytokinines, comme l'a montré Bigot.³²

Les divers résultats obtenus au cours de cette expérimentation sont consignés dans les Tableaux 3-6.

Croissance des Explantats de Moelle de Tabac

Le Tableau 3 indique les résultats obtenus en ce qui concerne la croissance des explantats de moëlle de tabac cultivés sur des milieux contenant les substances étudiées. Seuls, les composés GDR-3, A-322 et A-326 sont nettement actifs. A la plus forte concentration utilisée, le dérivé GDR-7 manifeste une légère activité, à la limite de la signification statistique. Il en est de même de GDR-9 à la concentration de 10^{-5} M.

Les effets observés avec les autres substances peuvent être considérés comme dépourvus de signification, compte tenu des fluctuations habituellement enregistrées avec ce test.

TABLEAU 3. ACCROISSEMENT MOYEN RELATIF DU POIDS DES EXPLANTATS DE MOËLLE DE TABAC CULTIVÉS SUR LES MILIEUX CONTENANT LES SUBSTANCES ÉTUDIÉES

Substances étudiées	M											
	10 ⁻⁷		10 ⁻⁶		3 × 10 ⁻⁶		10 ⁻⁵		3 × 10 ⁻⁵		10 ⁻⁴	
	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF	MS	MF	MS
GDR-2					48	27	29	37	21	15		
GDR-3					140	118	589	490	426	364		
GDR-5	11	13	28	20			12	11			-58	-46
GDR-6	-3	6	40	19			5	10			-66	-70
GDR-7	16	2	6	9			28	30			96	87
GDR-8	-10	1	-3	-3			-37	-27			-64	-64
GDR-9	-13	1	-13	6			56	96			-43	-43
A-10	-23	-37	-25	-37			-1	-12				
A-26	-27	-14	11	-34			-1	-17				
A-28	-17	-6	-15	-17			-4	-20				
A-29	12	-6	-7	-23			-10	-18				
A-30	5	-27	-3	-9			23	0				
A-35	18	23	-20	-20			-21	-23				
A-36	-20	-23	-17	-24			9	-5				
A-37	4	-10	43	10			-5	-13				
A-38	-15	-25	-14	-25			12	-5				
A-322	12	10	12	14			69	77			115	113
A-326	21	-10	-14	9			17	14			107	135
Kinétine	72	69	218	219	395	348	139	150	85	174	4	29

Après 3 semaines de culture, les résultats obtenus sont exprimés en pour cent du poids moyen de matière fraîche (colonne MF) ou de matière sèche (colonne MS) des explantats témoins (moyennes de 3 expériences successives).

³⁰ T. SACHS et K. V. THIMANN, *Nature* **201**, 939 (1964).

³¹ J. ROUSSAUX, *C.R. Acad. Sci. Paris* **263**, série D, 1077 (1966).

³² C. BIGOT, *C.R. Acad. Sci. Paris* **266**, série D, 349 (1968).

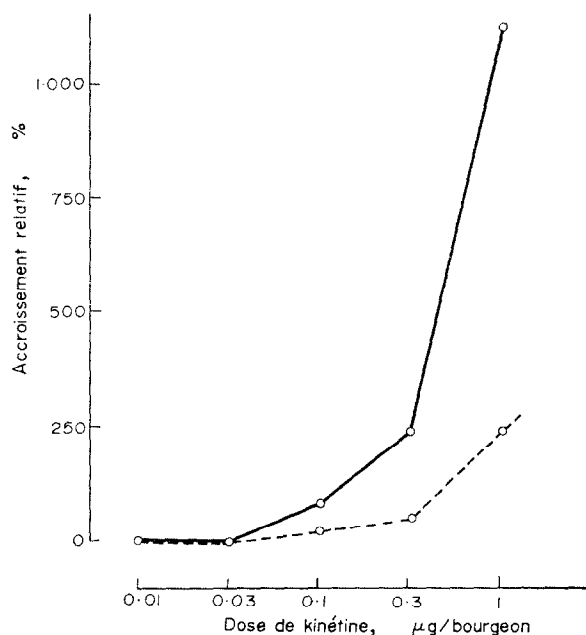


FIG. 1. ACCROISSEMENT MOYEN RELATIF DU POIDS DES BOURGEONS AXILLAIRES DU NOEUD No. 2 DE LA TIGE DE POIS (CULTIVAR ANNONAY) EN FONCTION DE LA DOSE DE KINÉTINE APPLIQUÉE.
 Courbe 1 (—): bourgeon axillaire d'ordre 1, morphologiquement le plus développé.
 Courbe 2 (-----): bourgeon d'ordre 2.

TABLEAU 4. ACCROISSEMENT MOYEN RELATIF DU POIDS DE MATIÈRE FRAÎCHE DU BOURGEON LE PLUS DÉVELOPPÉ À L'AISSELLE DU NOEUD No. 2 DE PLANTULES DE POIS ANNONAY

Substances étudiées	Dose utilisée: μ mole/bourgeon		
	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}
GDR-3	27	2314	1456
GDR-5	—23	90	—
GDR-6	76	127	38
GDR-7	7	85	177
GDR-8	40	25	45
GDR-9	45	152	369
A-10	—	—43	—54
A-25	—	—22	—18
A-26	—	17	9
A-28	45	56	58
A-29	—	127	—19
A-30	—	51	59
A-35	—	—36	—42
A-36	0	10	34
A-37	78	62	60
A-38	7	—26	10
A-322	64	454	2889
A-326	53	153	1477
Kinétine	195	1369	—
N-benzyl-adénine	4504	5142	—

Résultats exprimés en pour cent du poids moyen de matière fraîche du témoin.

TABLEAU 5. INHIBITION DE LA RHIZOGENÈSE SECONDAIRE CHEZ LE POIS ANNONAY SOUS L'INFLUENCE DE LA KINÉTINE, DE DMAA, DE A-322 ET DE A-326

Substances étudiées	Dose de régulateur: μ mole/plante			
	0,1	1	3	30
A-322	6	3	19	45
A-326	5	2	3	10
Kinétine	9	—	70	—
DMAA	27	—	96	—

Les résultats sont exprimés en pour cent du nombre des racines secondaires portées par la racine des plantes traitées par de l'eau stérile. Des variations inférieures à 10 % sont dépourvues de signification.

Essai 'Bourgeon de Pois'

Cet essai porte sur la mesure de l'allongement ou de l'accroissement de poids éventuels du bourgeon le plus développé à l'aisselle des stipules du noeud No. 2 de la tige de pois, après application du produit étudié. La réponse est fonction de la dose appliquée, comme l'indique la Fig. 1 dans le cas de la kinétine.

Ce test ne nécessite que de petites quantités de substance, contrairement au test "moëlle de tabac". En outre, comme le noeud No. 2 du pois porte à son aisselle trois bourgeons axillaires sériaux, inégalement développés, si l'on traite le plus grand d'entre eux par une solution de cytokininé, il est possible de déceler une réponse positive des autres bourgeons. (par exemple, du bourgeon d'ordre 2; Fig. 1).

Bien que la variabilité observée au cours d'une même série expérimentale ne soit pas très grande, la reproductibilité d'un effet donné (croissance mesurée, pour une même dose

TABLEAU 6. VALEUR DE LA DIFFÉRENCE ENTRE LES ABSORBANCES MESURÉES À 542 nm ET À 620 nm ET DÉTERMINÉES SUR DES ÉCHANTILLONS PROVENANT DE LOTS DE PLANTULES D'AMARANTHUS TRAITÉES PAR LES PRODUITS ACTIFS SUR LES ESSAIS BIOLOGIQUES PRÉCÉDENTS

Substances étudiées	M				
	3×10^{-7}	10^{-6}	3×10^{-6}	10^{-5}	3×10^{-5}
GDR-3	0,16	0,21	0,30	—	—
A-322	0,14	0,14	0,12	0,14	0,16
A-326	0,14	0,13	0,14	0,13	0,13
GDR-7	0,09	0,11	0,10	—	—
GDR-9	0,10	0,11	0,11	—	—
Kinétine	0,16	0,26	0,34	0,40	—
Plantules non traitées: 0,09					

Moyennes de 4 essais successifs.

de régulateur, au cours de plusieurs essais successifs) reste médiocre. Aussi est-il systématiquement nécessaire de rapporter les accroissements observés à la suite d'un traitement à ceux des bourgeons non traités; la comparaison des activités biologiques de diverses substances n'en reste pas moins délicate.

Les résultats obtenus au cours de ces investigations sont consignés dans le Tableau 4 dont l'examen confirme une nette 'activité cytokinine' des dérivés GDR-3, A-322 et A-326. A la plus forte dose utilisée, le composé GDR-9 présente également une activité biologique sur ce test.

Influence sur le Développement de Plantules de Pois Cultivées in vitro

Aux doses utilisées de 0,1; 1; 3 et 30 μ moles par plante, les substances de la série A n'accusent aucun effet décelable sur l'allongement de la tige de pois Annonay cultivés *in vitro*. Par contre, A-322 et A-326 provoquent un gonflement des bourgeons axillaires cotylédonaire et une réduction significative du nombre de racines secondaires par rapport aux plantes non traitées (Tableau 5).

Essai "Amaranthus"

Les précédents essais ont permis de sélectionner des substances actives qui ont été ensuite étudiées avec le test "Amaranthus".

Seul, le composé GDR-3 donne une réponse analogue à celle que provoque la kinétine; tous les autres dérivés se révèlent pratiquement inactifs (Tableau 6).

Conclusion

Parmi les nouveaux composés synthétisés, seuls les dérivés GDR-3, A-322 et A-326 présentent une nette 'activité cytokinine', décelée à la fois par la croissance des explantats de moëlle de tabac et par la levée de l'inhibition d'origine apicale affectant les bourgeons axillaires dans la plante entière. L'un d'eux, GDR-3 provoque la formation de β -cyanines dans les plantules d'*Amaranthus*, tandis que A-322 et A-326 inhibent la rhizogenèse secondaire chez le Pois.

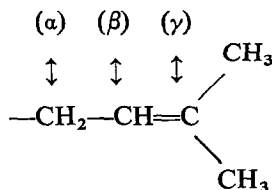
Quoiqu'il en soit, GDR-3, A-322 et A-326 sont des cytokinines moins actives que la kinétine, la benzyl-adénine ou la DMAA, comme le montre l'examen des tableaux précédents qui permettent de comparer leur efficacité à celle des produits de référence. En outre, deux composés GDR-7 et GDR-9 présentent une activité phytohormonale à la limite de la signification.

Bien que cette étude ne porte pas sur des séries chimiques homogènes, il est possible, néanmoins, de formuler quelques remarques sur les relations existant entre structure chimique et 'activité cytokinine'.

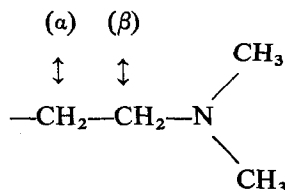
On peut indiquer d'abord que les 3 produits les plus actifs décrits dans ce travail sont tous des amino-purines substituées en position 6, à l'encontre des autres dérivés, substitués en 3 ou en 9, tous inactifs. Cette observation est en parfait accord avec les conclusions des travaux antérieurs devenues classiques actuellement.

On peut remarquer ensuite, en ce qui concerne la chaîne hydrocarbonée du substituant en position 6 du noyau purique, que la notion d'isostère azoté actif n'a jamais, à notre connaissance, été antérieurement signalée. Le remplacement du groupement γ,γ -diméthylallyle (VII) par les groupements β -diméthylaminoéthyle (A-322) (VIII) ou β -diméthylaminoéthyle (A-326) (IX) provoque toutefois une diminution de l'activité phytohormonale qui

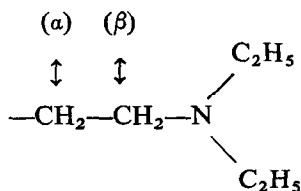
décroît dans l'ordre: DMAA > A-322 > A-326; ce qui laisse supposer que l'allongement de la chaîne carbonée produirait une réduction de 'l'activité cytokinique'.



(VII)



(VIII)



(IX)

Indiquons enfin que le composé GDR-3 dont la structure chimique peut être rapprochée de celle des dérivés alkoxy-acylés de Rothwell *et al.*²⁵ [par exemple: la N-(éthoxy-acétyl) adénine ou la N-(propoxy-acétyl) adénine] présente, comme ces derniers, une activité inférieure à celle de la kinétine.

Ces quelques remarques s'accordent bien avec l'hypothèse souvent proposée (Kuraishi,⁹ Leonard *et al.*)²⁴ que la chaîne latérale des cytokinines interviendrait plus par ses propriétés physico-chimiques que par la présence de groupements fonctionnels spécifiques.

PARTIE EXPERIMENTALE

Synthèses Chimiques

Elles se divisent en 2 parties:

(a) Les produits, immatriculés "A . . .", ont été décrits par A. Cavé.²⁸

(b) Les dérivés de la série GDR sont préparés selon la technique suivante: on chauffe au doux reflux, pendant 30 à 90 min., en milieu propanolique ou butanolique, un mélange équimoléculaire de chloro-6 purine et d'amine substituée (environ 1/100 de mole). On chasse l'excès d'alcool et on recristallise les condensats ou les chlorhydrates correspondants dans un solvant approprié.

GDR-2 ou N-(β,γ -Dihydroxy-propyl)amino-6 purine. Fins cristaux incolores; F = 270° (solvant de cristallisation: eau). Analyse: $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_5\text{O}_2$ (Pm = 209,20) Calc. % C, 45,97; H, 5,31; N, 33,51; Tr. % C, 45,78; H, 5,33; N, 33,25.

GDR-3 ou N-(β,β -Diméthoxy-éthyl)amino-6 purine. Fins cristaux brillants et incolores; F = 221–222° (solvant de cristallisation: méthanol). Analyse: $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2$ (Pm = 223,23) Calc. % C, 48,47; H, 5,88; N, 31,4; Tr. % C48,26 H, 5,85; N, 31,31.

GDR-5 ou N-(Fluorényl-2') amino-6 purine (chlorhydrate). Fins cristaux jaunes; F = 320° insolubles dans la plupart des solvants organiques, solubles dans D.M.S.O. Analyse: $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{ClN}_5$ (Pm = 335,79) Calc. % C, 64,43; H, 4,20; N, 20,88; Tr. % C, 64,50; H 4,39; N, 20,37.

GDR-6 ou Acide para-(purinyl-6 amino) phényl-acétique. Poudre micro-cristalline jaune; F = 340–342° soluble dans D.M.F. Analyse: $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ClN}_5\text{O}_2$ (Pm = 305,72) Calc. % C, 51,11; H, 3,96; N, 22,92; Tr. % C, 51,60; H, 4,20; N, 22,21.

GDR-7 ou N-Purinyl-6 N'-carbéthoxy hydrazine (chlorhydrate). Fins cristaux incolores; F = 211°–212° (solvant de cristallisation: méthanol). Analyse: $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{ClN}_6\text{O}_2$ (Pm = 258,56) Calc. % C, 37,17; H, 4,29; N, 32,51; Tr. % C, 36,94; H, 4,53; N, 32,21.

GDR-8 ou N-(Puriny-6) fuintumine (chlorhydrate). Fines aiguilles jaunes; $F = 164^{\circ}\text{C}$ solubles dans l'acétate d'éthyle. Analyse: $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{ClN}_5\text{O}$ ($P_m = 472,07$) Calc. %: C, 66,16; H, 8,12; N, 14,84; Tr. % C, 65,84; H, 8,36; N, 14,27.

GDR-9 ou N-(Carboxy-formyl)amino-6 purine (chlorhydrate). Fins cristaux jaunes; $F = 213-214^{\circ}$ solubles dans le méthanol aqueux. Analyse: $\text{C}_7\text{H}_6\text{ClN}_5\text{O}_3$ ($P_m = 243,60$) Calc. % C, 34,52; H, 2,49; N, 28,76; Tr. % C, 34,30; H, 2,16; N, 28,34.

Essais Biologiques

Croissance des explantats de moëlle de tabac. Le test est effectué à partir d'explantats de moëlle de tabac (Wisconsin 38) maintenus sur le milieu de Murashige et Skoog³³ modifié par Nitsch et Bui Dang Ha.³⁴ A ce milieu préalablement autoclavé 20mn à 120° , on ajoute l'auxine (AIA: 10^{-6}) et la substance étudiée en solution aqueuse stérilisée par filtration.

Trois semaines après la mise en culture, les explantats sont récoltés et pesés, puis desséchés à l'étuve, à 110° pour la détermination du poids de matière sèche.

Chaque essai comporte 12 explantats et un même essai est systématiquement répété 3 fois.

Essai "Bourgeon de pois". Des plantules de pois (cultivar Annonay hâtif) âgées de 8 jours, cultivées sur vermiculite en présence de solution de KNOP diluée de moitié, sont traitées, au niveau des bourgeons axillaires du noeud No. 2, par un petit volume (de 1 à $10\ \mu\text{l}$) d'une solution de la substance étudiée dans l'éthanol à 50% additionné de 1% de carbowax 1500; ce mélange est déposé dans la coupelle formée par les stipules et la tige.

Trois jours plus tard, les bourgeons traités sont prélevés, puis pesés sur une balance de précision ou mesurés à l'aide d'un micromètre, sous une loupe binoculaire.

Au cours des essais successifs, une étude de la variabilité des réponses a montré que des différences entre les poids moyens des bourgeons traités (m_1) et ceux des bourgeons témoins (m_0) inférieures au poids moyen-témoin ($m_1 - m_0 < m_0$) (soit un accroissement relatif $(m_1 - m_0)/m_0 \times 100$ inférieur à 100%) étaient généralement dépourvues de signification.

Traitement de plantes entières. Cultivées stérilement en tube, sur un milieu gélosé additionné de solution de KNOP diluée de moitié, les plantules de pois Annonay sont traitées, à diverses reprises pendant les 6 premiers jours succédant à la mise en culture, par une solution aqueuse du produit étudié, de manière que les plantes baignent en permanence dans le liquide.

On mesure ultérieurement l'allongement des tiges et l'on dénombre les racines secondaires sur les plantes, ces deux processus étant normalement inhibés par les fortes doses de cytokinines.

Essai "Amaranthus". Les graines d'*Amaranthus caudatus* L., préalablement désinfectées par une solution d'hypochlorite de calcium à 7% pendant 5mn, sont mises à germer en milieu stérile, à l'obscurité. 48hr plus tard, les jeunes plantes sont repiquées sur un milieu gélosé, tamponné à pH 6,3, additionné de tyrosine (10^{-3}) et de la substance à étudier.

Après un séjour de 72 hr, à l'obscurité et à 22° , les plantes sont congelées pendant 24 hr dans 4ml d'eau distillée puis décongelées pendant 2 hr. Renouvelé 2 fois, ce traitement provoque la diffusion des bêtacyanines éventuellement formées. Les plantes sont ensuite rincées à l'eau distillée.

Il reste à mesurer l'absorbance de la solution de pigments ainsi obtenue à 542nm (maximum d'absorbance des β -cyanines). Comme une diffusion parasite provoque souvent un léger trouble de la solution, il est opportun de mesurer également l'absorbance à 620nm (minimum d'absorbance des β -cyanines) et de retrancher cette valeur de celle mesurée à 542nm.

Remerciements—Nous remercions vivement MM. G. Beauchesne, R. Goutarel, J. P. Nitsch et J. Renard pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail. L'équipe de l'un de nous (D.X.) avec M. N. V. Bac vient de terminer la synthèse de la N-[méthyl-3' butényl-2' (^{14}C -1')] amino-6 purine, avec une activité spécifique de 38 mc/mmole.

³³ T. MURASHIGE et F. SKOOG, *Physiol. Plantarum* **15**, 473 (1962).

³⁴ J. P. NITSCH et D. BUI DANG HA, C.R. Acad. Sc., Paris, **264**, série D, 288 (1967).