

ÉTUDE DE L'EFFET DE SOLVANT EN RÉSONANCE MAGNÉTIQUE NUCLÉAIRE—I

CAFÉINE ET DÉRIVÉS

R. OTTINGER, G. BOULVIN, J. REISSE et G. CHIURDOGLU

Université Libre de Bruxelles Service de Chimie Organique (Fac. Sc. Appl.)

et Laboratoire de Chimie Alicyclique (Fac. Sc.). I.I.F.-I.M.C. Céria.

Laboratoire de Chimie Organique Approfondie.

(Received 24 May 1965)

Abstract—The NMR spectrum of caffeine shows three N—CH₃ peaks. By study of solvent effect and pH effect on this spectrum, it was possible to make a correct attribution of the absorption peaks. A proof of this attribution was searched in the examination of NMR spectra of theophylline and theobromine. Two new chlorocaffeins were prepared during this work.

Résumé—L'attribution des signaux N—CH₃ de la caféine en spectroscopie de résonance magnétique nucléaire a été effectuée sur la base de l'effet de pH et de solvant sur la position de ces différents signaux. Une confirmation de cette attribution a été obtenue par étude des spectres de résonance magnétique nucléaire des théophylline, théobromine et 8-chloro-3,7-dichlorométhylène-1-méthylxanthine.

I. PARTIE EXPÉRIMENTALE

I.1. *Caféine* (I). La caféine (1,3,7-triméthylxanthine) a été isolée de l'extrait alcoolique du Guarana (Paulina Cupana). F 233°–234° (tube scellé), (litt. 235°).

I.2. *Théophylline* (II).* (1,3-diméthylxanthine). F 268–273° (litt. 269–272°).

I.3. *Théobromine* (III). La théobromine (3,7-diméthylxanthine) a été extraite des fèves de cacao. F 330° (tube scellé), (litt. 337°). (Trouvé: C, 46.74; H, 4.52; N, 31.69. Calculé: C, 46.66; H, 4.47; N, 31.09%.)

I.4. *8-Chloro-3,7-dichlorométhylène-1-méthylxanthine* (IV) et *8-chloro-1,3,7-trichlorométhylène-xanthine* (V). La chloration de la caféine a été effectuée par le chlore dans un mélange de tétrachlorure de carbone-nitrobenzène 1 : 1 porté à reflux, en suivant le procédé utilisé par Fischer¹ et Yoshihomi² pour la préparation de la 8-chloro-7-chlorométhylène-1,3-diméthylxanthine. Contrairement à ces auteurs, nous avons, pour notre part, isolé deux produits correspondant respectivement à une tri- et une tétrachlorocaféine: C₇H₅N₄O₂Cl₃, F 142–143° (Trouvé: C, 32.17; H, 2.25; N, 18.87. Calculé pour C₇H₅N₄O₂Cl₃: C, 32.29; H, 2.37; N, 18.83%) et C₇H₄N₄O₂Cl₄, F 123–124° (Trouvé: C, 28.89; H, 1.88; N, 17.11. Calculé pour C₇H₄N₄O₂Cl₄: C, 28.94; H, 1.82; N, 16.87%.)

Le spectre RMN (Tableau III) de la trichlorocaféine présente trois pics, dont les intensités sont dans le rapport 3/2/2. Le pic correspondant à l'hydrogène en C(8) de la caféine est absent. Les atomes d'hydrogène substitués par un atome de chlore sont, d'une part, l'hydrogène fixé sur le C(8) et, d'autre part, un hydrogène de chacun des groupes méthyles fixés en position 3 et 7. Toute ambiguïté est levée en ce qui concerne la position du groupe méthyle restant, puisque la trichlorocaféine, après hydrolyse et réduction, donne la 1-méthylxanthine (cf. I.5.).

Le spectre RMN de la tétrachlorocaféine (Tableau III) montre trois pics d'égale intensité, témoignant du remplacement par des atomes de chlore de l'hydrogène en C(8) et d'un hydrogène de chaque groupement méthyle.

* Un échantillon de théophylline nous a été aimablement donné par M. J. Pecher, Chargé de cours Associé à l'U.L.B. Nous l'en remercions.

¹ E. Fisher, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **30**, 2226 (1897).

² Y. Yoshihomi, *J. Pharm. Soc. Japan* **508**, 460 (1924).

I.5. 8-Chloro-1-méthylxanthine (VI) et 1-méthylxanthine (VII). L'hydrolyse de la trichlorocaféine fournit la 8-chloro-1-méthylxanthine F 230° (Trouvé: C, 35.92; H, 2.63; N, 27.71. Calculé pour $C_8H_8N_4O_2Cl$: C, 35.92; H, 2.51; N, 27.93%). Ce dérivé, traité par l'acide iodhydrique bouillant, donne la 1-méthylxanthine. Celle-ci a été identifiée au moyen de son spectre UV, relevé en milieu acide et basique (Tableau IV). La spectroscopie UV permet, en effet, l'identification non ambiguë de la 1-méthylxanthine et sa différenciation des 3- et 7-méthylxanthine.*

I.6. Spectres de résonance magnétique nucléaire. Les spectres ont été relevés sur un appareil Varian A 60. Les déplacements chimiques sont exprimés en cps par rapport au tétraméthylsilane utilisé comme référence interne.

I.7. Spectres ultraviolets. Les spectres UV ont été relevés sur un spectromètre Perkin Elmer 137 UV.



FIG. 1

Caféine (I): $R_1 = R_2 = R_3 = CH_3, R_4 = H$.

Théophylline (II): $R_1 = R_3 = CH_3, R_2 = R_4 = H$.

Théobromine (III): $R_1 = R_4 = H, R_2 = R_3 = CH_3$.

Trichlorocaféine (IV): $R_1 = CH_3, R_2 = R_3 = CH_2Cl, R_4 = Cl$.

Tétrachlorocaféine (V): $R_1 = R_2 = R_3 = CH_2Cl, R_4 = Cl$.

8-chloro-1-méthylxanthine (VI): $R_1 = CH_3, R_2 = R_3 = H, R_4 = Cl$.

1-méthylxanthine (VII): $R_1 = CH_3, R_2 = R_3 = R_4 = H$.

TABLEAU I. EFFET DE SOLVANT SUR LE SPECTRE RMN DE LA CAFÉINE

SOLVANT	δ en c/s			$\delta_{CDCl_3} - \delta_B$			ΔAB	ΔAC
	A	B	C	A	B	C		
$CDCl_3$	205	215	240	0	0	0	10	35
pyridine	205.5	212	230	-0.5	+3	+10	6.5	24.5
ac. acétique	203	213	240.5	+2	+2	-0.5	10	37.5
ac. trifluoroacétique	215.5	228	260	-10.5	-12.5	-20	12.5	44.5
benzène	201	203	188.5*	+4	+12	+51.5	2	12.5
acétonitrile	195.5	207	233	+9.5	+8	+7	12.5	37.5
cyclohexylamine	197.5	208.5	237.5	+7.5	+6.5	+2.5	11	40
acétone	196	207.5	232	+9	+7.5	+8	11.5	36
nitrobenzène	202	210	238	-3	-5	-2	28	36

* En opposition à ce que l'on observe dans d'autres solvants, le pic C apparaît en solution benzénique, à fréquence plus élevée que les absorptions A et B. Ce fait a été prouvé par examen du spectre de la caféine dissoute dans des solvants mixtes (benzène:deutérochloroforme) de titre variable. L'attribution du pic C est, de plus, facilitée par la forme particulière de cette absorption; celle-ci présente, dans tous les solvants utilisés, une demi-largeur plus grande et une intensité maximum moindre que les absorptions A et B.

* J. M. Culland, E. R. Haliday, T. F. McRae, *J. Chem. Soc.* 1634 (1934).

TABLEAU II. SPECTRE RMN DE LA CAFÉINE, THÉOPHYLLINE ET THÉOBROMINE

	Solvant: acide trifluoroacétique (TFA)			Solvant: nitrobenzène (PhNO ₂) ^a		
	A	B	C	A	B	C
Caféine	215.5	228.0	259.5	194.0	202.5	229.0
Théophylline	218.5	231.5	—	196.5	206.5	—
Théobromine	—	225.0	256.5	—	200.5	228.0

^a Mesure effectuée à 160°, vu la faible solubilité de la théobromine dans les solvants usuels, à température ordinaire. (référence interne: hexaméthylidisiloxane).

TABLEAU III. SPECTRE RMN DE LA CAFÉINE ET DÉRIVÉS CHLORÉS

	A	A''	B	B'	C	C'
Caféine	205.0	—	215.0	—	240.0	—
Trichloro- caféine	204.0	—	—	352.0	—	364.5
Tétrachloro- caféine	—	347.0	—	351.5	—	363.5

^a A': pic chlorométhylène correspondant au pic méthyle A; idem pour B et B', C et C'.

TABLEAU IV. SPECTRE ULTRAVIOLET DE LA 1-MÉTHYLNANTHINE

pH	Bande A	Ce travail		Bande C	Bande A	Littérature ^a	
		Bande B	Bande C			Bande B	Bande C
5	199 mμ (1.7 · 10 ⁴)	268 mμ (0.68 · 10 ⁴)	—	—	Valeur non indiquée	269 mμ (0.96 · 10 ⁴)	—
10	207 mμ (1.39 · 10 ⁴)	277 mμ (0.7 · 10 ⁴)	240.5 mμ (0.6 · 10 ⁴)	—	Valeur non indiquée	276 mμ (0.85 · 10 ⁴)	241 mμ (0.85 · 10 ⁴)

TABLEAU V. EFFET DE pH SUR LE SPECTRE RMN DE LA THÉOPHYLLINE (SOLUTION H₂SO₄-D₂O)

Titre en H ₂ SO ₄	ΔAB (c/s)
10 ⁻⁴ N	11
10 ⁻³ N	11.6
10 ⁻¹ N	12.5
N	14.6
2 N	14.7

II. INTRODUCTION

La dépendance des spectres ultraviolets des méthylxanthines vis-à-vis du pH a été décrite. Dans le cas particulier de la caféine, Bergmann et Dickstein⁴ justifient les

⁴ F. Bergmann, S. Dickstein, *J. Amer. Chem. Soc.* 77, 691 (1955).

glissements de fréquence observés en milieu de pH variable et décrivent le cation formé dans la zone de pH allant de 0 à 2, par ses deux formes de résonance extrêmes (Fig. 1b). Dans le cadre plus général de l'étude de l'influence du solvant sur les spectres RMN, nous avons tenté une attribution des signaux de résonance des groupes méthyles de la caféine (I), en nous basant, notamment, sur les résultats fournis par la spectroscopie ultraviolette.

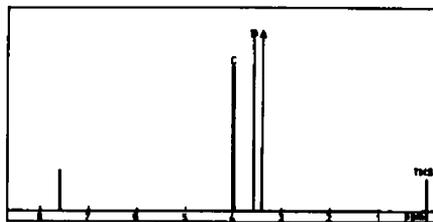


FIG. 2. Spectre RMN de la caféine (solvant: CDCl_3)

Il paraissait prévisible que les signaux les plus affectés par la protonation du cycle imidazole soient à la fois le signal correspondant au proton fixé en position 8 et celui caractéristique des protons du méthyle fixé sur l'atome d'azote 7.^{5,6}

En fait, l'attribution du signal protonique correspondant à l'atome d'hydrogène fixé sur l'atome de carbone 8 est immédiate, lors de l'examen du spectre RMN de la caféine. En revanche, l'attribution de l'absorption caractéristique du groupe méthyle fixé sur l'atome d'azote 7 était inconnue au moment où fut commencé ce travail; il en était de même en ce qui concerne les attributions des pics correspondant aux hydrogènes des groupes méthyles portés par les atomes d'azote 1 et 3.

Dès lors, l'attribution des absorptions N-CH_3 sur la base d'une étude d'effet de solvant méritait d'être entreprise. Parallèlement à cette étude de l'effet de solvant sur le spectre RMN de la caféine, il semblait intéressant d'effectuer une étude semblable sur la théophylline et la théobromine, ainsi que sur certains dérivés chlorés de la caféine. Alors que l'attribution* des signaux méthyles de la caféine par effet de solvant était effectuée, parut l'article de Alexander et Maienthal⁷ consacré à ce problème. Ce dernier travail ne fait pas appel à l'effet de solvant, mais consiste en la comparaison des spectres de la caféine et de ses homologues éthylés.

III. DISCUSSION DES RÉSULTATS

Le spectre RMN de la caféine présente, en solution dans le CDCl_3 , trois pics d'absorption N-CH_3 , notés A, B et C (Fig. 2).

Dans le Tableau I, la position des pics de résonance est exprimée en c/s, par rapport au signal du tétraméthylsilane choisi comme référence interne. Les différences ΔAB et ΔAC sont également exprimées en c/s, ainsi que les différences $\delta\text{CDCl}_3 - \delta\text{solvant}$. Si l'on compare les spectres relevés en solution dans l'acide trifluoroacétique (TFA) et dans le CDCl_3 , on constate un glissement "champ bas" pour les trois signaux méthyles.

* Cette attribution a fait l'objet d'une communication le 20 mai 1964, à l'Université Libre de Bruxelles.

⁵ C. D. Jardetzky et O. Jardetzky, *J. Amer. Chem. Soc.* **82**, 222 (1960).

⁶ O. Jardetzky, P. Pappas et N. G. Wade, *J. Amer. Chem. Soc.* **85**, 1657 (1963).

⁷ T. G. Alexander, M. Maienthal, *J. Pharm. Sci.* **53**, 962 (1964).

L'impossibilité d'utiliser le TMS comme référence interne dans les mélanges D_2O/H_2SO_4 , nous a conduits à utiliser le pic A de la caféine comme signal de référence, lors de l'établissement des graphiques B et C (Fig. 3). Ce choix nous semble justifié, puisque le signal A est le moins affecté par le passage du solvant $CDCl_3$ au solvant TFA (cf. Tableau I). L'examen de la Fig. 3 laisse apparaître l'étroite relation qui existe entre la variation des spectres ultraviolets et RMN en fonction du pH. Ce fait confirme l'interprétation selon laquelle les glissements de fréquence observés au niveau des spectres RMN, lors de la variation du pH du milieu, sont effectivement liés à la protonation du noyau imidazole de la caféine.

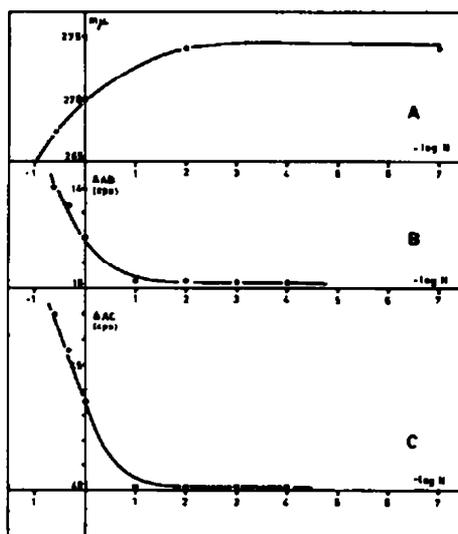


FIG. 3.

- A. Influence du pH sur le spectre ultraviolet de la caféine.
 B. Influence du pH sur la séparation des pics A et B dans le spectre RMN de la caféine.
 C. Influence du pH sur la séparation des pics A et C dans le spectre RMN de la caféine.

La position du pic C étant la plus affectée par les variations de pH, il paraît logique d'attribuer le pic C aux atomes d'hydrogène du groupe méthyle fixé sur l'azote 7. L'attribution des signaux A et B repose, à la fois, sur l'examen de l'effet de pH et sur l'examen de l'effet de solvant aromatique sur les absorptions de la caféine. En solution dans le benzène, les trois signaux de la caféine subissent un glissement "champ haut". Cet effet est le plus accusé pour le pic C, la séquence des $\Delta\delta$ étant, comme dans le cas de l'effet de pH: $\Delta\delta_A < \Delta\delta_B < \Delta\delta_C$.

Le remarquable effet "champ haut" observé au niveau du pic C de la caféine doit s'interpréter par la formation d'un complexe solvant-soluté, au sein duquel le groupe $(CH_3)-N(7)$ se trouve placé en dessous du plan de la molécule aromatique.⁸

Il paraît possible de concevoir un complexe solvant-soluté dans lequel le cycle imidazole de la caféine ou un atome d'azote de ce cycle agirait comme partenaire accepteur d'électrons.

⁸ J. V. Hatton, R. E. Richards, *Mol. Phys.* **5**, 153 (1962).

Si, d'autre part, l'on se rappelle que le signal B est plus affecté que le signal A par la protonation du cycle imidazole, il paraît plausible d'attribuer le signal B au $\text{CH}_3\text{-N}(3)$ et le signal A au $\text{CH}_3\text{-N}(1)$.

La "distance" groupe N-CH_3 -noyau imidazole est dans le cadre de cette interprétation, le facteur déterminant. Il est évident que le terme de "distance" correspond à deux notions différentes selon qu'il s'agit de l'effet aromatique ou de l'effet lié à la protonation. Dans le premier cas, il s'agit, en première approximation, d'un terme r , tel qu'il apparaît dans une relation du type McConnell; dans le second cas, il s'agit plutôt du nombre et de la nature des liaisons séparant le site cationique du méthyle considéré. L'influence des autres solvants, utilisés au cours de ce travail, est plus malaisée à interpréter. Les solvants polaires provoquent un glissement "champ haut", semblable pour les trois signaux. L'application des résultats théoriques basée sur la notion de champ de réaction est très délicate au niveau de la molécule de caféine. En particulier, la détermination de l'orientation du dipole électrique est extrêmement difficile.^{9,10}

L'acide acétique présente un comportement qui paraît interprétable par des propriétés liées à sa polarité et son acidité. Le nitrobenzène et, dans une moindre mesure, la pyridine, s'incluent difficilement dans l'une ou l'autre classe de solvant. Nous avons cherché à confirmer cette attribution, de manière non ambiguë. Pour ce faire, nous avons relevé, d'une part, le spectre de la théophylline (II) et de la théobromine (III) (Tableau II) et, d'autre part, le spectre de la 8-chloro-3,7-dichlorométhylène-1-méthylxantine (IV) (Tableau III). (La structure de ce dérivé est prouvée de manière certaine dans la partie expérimentale.) Il n'existe pas un parallélisme rigoureux entre les positions des pics homologues de caféine, théophylline et théobromine. Ce fait trouve certainement sa justification dans les différences d'effets inductifs entre un atome d'hydrogène et un groupement méthyle. Toutefois, le parallélisme est suffisant pour confirmer l'attribution effectuée par effet de solvant.

Le signal du méthyle fixé sur l'azote I de la trichlorocaféine se retrouve, par contre, à fréquence quasi-identique à celle du signal attribué au groupe homologue de la caféine. L'effet de pH a été déterminé au niveau des pics $\text{CH}_3\text{-N}$ de la théophylline (II) (Tableau V). La séparation ΔAB est sensible à l'acidité du milieu et le comportement observé est très semblable à celui rencontré dans le cas de la caféine. Une corrélation de ce type n'a pu être établie en ce qui concerne la théobromine, en raison de la très faible solubilité de ce composé.

Enfin, il est à noter que les attributions faites au cours de ce travail sont identiques à celles effectuées par Alexander et Maienthal⁷ et dont il a été fait mention plus haut.

CONCLUSION

Nous voyons dans ce travail une preuve de l'utilité d'un examen de l'influence du milieu sur l'allure du spectre RMN. La littérature fournit un nombre suffisant de données théoriques ou expérimentales pour qu'il soit possible d'aborder un tel examen sur des molécules relativement complexes. L'effet de solvant (ou de pH) apparaît comme un critère d'attribution très valable, davantage peut-être en résonance magnétique nucléaire que dans d'autres spectroscopies d'absorption.

Nous remercions la Direction Scientifique de la Division Pharmaceutique de l'Union Chimique Belge pour l'aide financière et morale apportée.

⁹ A. D. Buckingham, *Canad. J. Chem.* **38**, 300 (1960).

¹⁰ P. Diehl et R. Freeman, *Mol. Phys.* **4**, 39 (1961).