

Synthèse de 2'-Désoxynucléosides Substitués en C-5'

Kassoum Nacro, Jean-Marc Escudier*, Michel Baltas et Liliane Gorrichon

Laboratoire de synthèse et physicochimie organique associé au C. N. R. S., Université Paul Sabatier,
 118 route de Narbonne, 31062 Toulouse (France)

Key-words: Lactonisation, 2'-deoxynucleosides

Abstract: Stereocontrolled lactonisation of γ,δ -epoxy β -hydroxyesters provides, after reduction, 2-deoxysugars in pyrano or furano form. After appropriate protections of the hydroxyl functions, these sugars can be converted to various 2'-deoxynucleosides with different configuration of the sugar moiety and an extra functionalisation at C-5.

L'inhibition sélective de l'expression du gène par l'approche antisens^{1a} a conduit au développement de nombreux oligonucléotides modifiés qui doivent répondre à trois caractéristiques majeures^{1b} : une bonne hybridation avec les ARNs cibles, une stabilité correcte vis-à-vis des nucléases et une pénétration cellulaire suffisante.

Ces critères impliquent la préparation d'oligonucléotides modifiés sur la base nucléique, le sucre ou le pont phosphodiester². Notre attention s'est portée sur la préparation de 2'-désoxynucléosides dont la partie sucre à 5 ou 6 chaînons possède une fonctionnalisation supplémentaire sur le carbone 5'. Nous souhaitons ainsi pouvoir joindre des groupements favorisant le passage des barrières cellulaires et/ou un suivi de l'oligonucléotide dans la cellule si la molécule gréffée est fluorescente par exemple. Une substitution sur cette position est susceptible d'accroître la résistance par rapport aux nucléases sans altérer l'hybridation³ et permet d'éviter les problèmes de chiralité rencontrés dans le cas de nucléosides modifiés sur le phosphore².

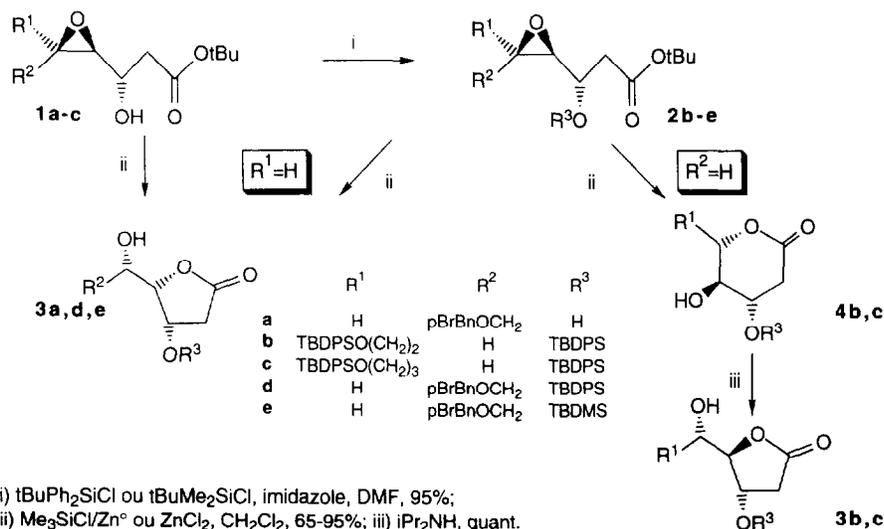


Schéma 1

Nous avons mis au point la préparation de δ,γ -époxy β -hydroxyesters **1a-c** avec une bonne diastéréosélectivité⁴ par condensation de l'énolate lithié de l'acétate de tertio-butyle sur des α,β -époxyaldéhydes optiquement actifs issus de l'oxydation d'époxyalcools obtenus par époxydation énantiosélective de Sharpless⁵.

Les δ,γ -époxy β -hydroxyesters **2b-e**, dont la fonction hydroxyle secondaire a été protégée, sont lactonisés⁶ par action soit de Zn^0/Me_3SiCl ou de $ZnCl_2$ (schéma 1). Les composés *cis* **1a**, **2d**, **2e** conduisent à la formation de lactones **3a,d,e** à cinq chaînons suivant les règles de Baldwin⁷ (les lactones **3d,e** traitées par le fluorure de tetrabutyl ammonium donnent la lactone **3a** dont la structure a été déterminée par diffraction aux rayons X). En revanche les composés *trans* **2d,c** en accord avec les lois de cyclofonctionnalisation⁸, donnent dans un premier temps des lactones à six chaînons **4b,c** qui seront isomérisées par la diisopropylamine en butyrolactones **3b,c** thermodynamiquement favorisées⁹.

La réduction ménagée par le DIBAH à basse température¹⁰ des lactones **3b,d** dont la fonction hydroxyle en 5 est libre permet d'obtenir les 2-désoxysucres **5a,b** (mélange d'anomères) sous forme pyranose¹¹ qui seront acétylés en position 3 et sur la fonction anomérique pour fournir **6a,b** (schéma 2).

Afin de préparer des furano 2-désoxysucres nous avons protégé la fonction hydroxyle en 5 des lactones **3c,d,e**, par un groupement benzoyle **3'c,d,e** et pour la lactone **3e** par un méthoxyéthoxyéther, **3'f**. L'hydruide de tertbutoxylithiumaluminium a fourni les meilleurs résultats¹² pour réduire la fonction carbonyle du cycle des composés **3'c,d,e** (**3'f** peut être convenablement réduit par le DIBAH). Les 2-désoxysucres correspondants **5c-f** sont obtenus sous forme de mélange d'anomères et sont acétylés sur la position anomérique par traitement avec l'anhydride acétique/pyridine en **6c-f**.

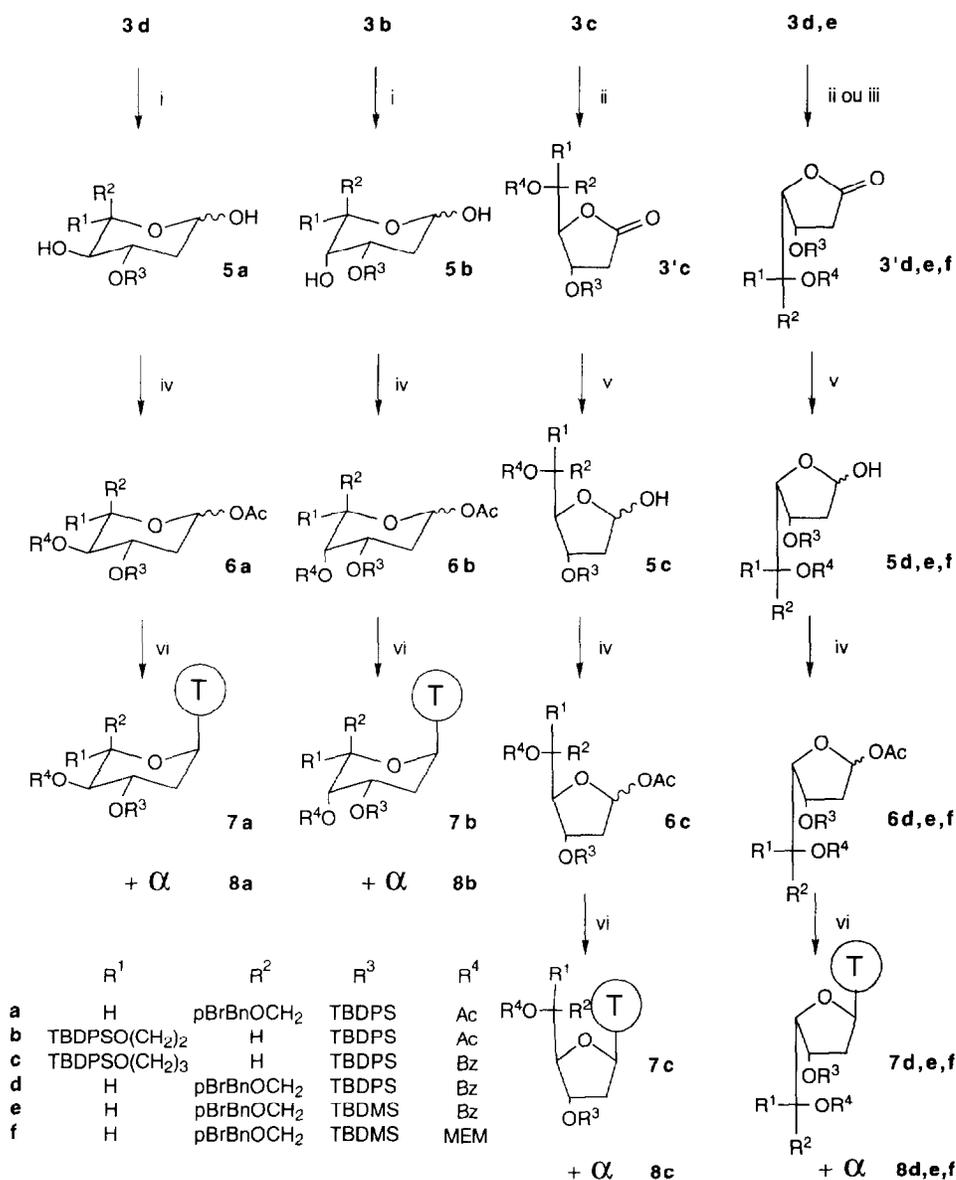
Nous disposons ainsi, en fonction du schéma réactionnel suivi, de 2-désoxysucres sous forme pyranose ou furanose dont toutes les fonctions hydroxyle, convenablement protégées, sont différenciées.

L'introduction de la thymine pour obtenir les nucléosides est effectuée selon la méthode de Vörrbruggen¹³. Les résultats concernant le rapport des anomères obtenus sont consignés dans le tableau.

Tableau : Rapport des anomères α et β des nucléosides formés en fonction de la configuration du sucre

Entrée	Sucre	Configuration du cycle	Nucléosides	α / β (RMN 1H)
1	6a	2-désoxy-D-gulose	7a / 8a	1 / 4
2	6b	2-désoxy-L-galactose	7b / 8b	1 / 1,2
3	6c	2-désoxy-D-ribose	7c / 8c	1 / 2,5
4	6d	2-désoxy-L-xylose	7d / 8d	1,7 / 1
5	6e	2-désoxy-L-xylose	7e / 8e	1 / 1
6	6f	2-désoxy-L-xylose	7f / 8f	1 / 1,5

Dans le cas des pyranoses¹⁴ nous observons une meilleure sélectivité de formation de l'anomère β pour une configuration du cycle de type D-gulose (entrée 1 vs 2), les nucléosides **7b** et **8b** n'ont pu être séparés.



i) DIBAL, toI, -78° C, 60-90%; ii) BzCl, Pyr, 90%; iii) MEMCl, DIPEA, CH₂Cl₂, 70%; iv) Ac₂O, Pyr, CH₂Cl₂, 90%; v) LiAl(OtBu)₃H, Et₂O, 60%; vi) Thymine silylée, TMSOSO₂CF₃, (CH₂)₂Cl₂/CH₃CN, 60-80%

Schéma 2

Lorsque les sucres initiaux sont sous forme furanose¹⁵, l'anomère naturel β est formé majoritairement pour une configuration de cycle 2-désoxy-D-ribo (entrée 3), **7c** (non séparé de **8c**) est une thymidine substituée en C-5' (RO(CH₂)₃). Il est intéressant de noter l'influence des groupements protecteurs des fonctions hydroxyles lors du greffage de la base silylée sur le 2-désoxysucre de configuration L-xylo (entrées 4,5,6). En effet on note une inversion du rapport α/β (entrée 4 vs 6) quand la protection en 3' passe de TBDPS

à TBDMS et celle en 5' de Benzoyle à MEM. Dans cette configuration du sucre, les anomères α (**8d,e,f**) sont équivalents à un épimère en 3' de la L-thymidine¹⁶.

La voie de synthèse que nous avons développée permet donc d'aboutir à une série d'analogues de la thymidine qui varient par la configuration du sucre dont toutes les fonctions hydroxyles sont différenciées et qui possèdent une fonction susceptible d'être modifiée en C-5'. Après déprotection sélective de la fonction hydroxyle en 5' et couplage de ces composés avec un nucléoside 3' phosphoramidate, ces dinucléotides modifiés pourront être incorporés dans une séquence spécifique d'oligonucléotide et leurs propriétés seront examinées.

Références :

1. a: Hélène C., Toulmé J.-J. *Biochim. Biophys. Acta.* **1990**, *1049*, 99-125. Uhlmann E., Peyman A. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 543-584.
b: Englisch U., Gauss D. H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 613-722.
2. Beaucage S. L., Iyer R. D. *Tetrahedron.* **1993**, *49*, 6123-6194.
3. Saha A. K., Caulfield T. J., Hobbs C., Upson D. A., Waychunas C., Yawman A. M. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 788-789.
4. Escudier J.-M., Baltas M., Gorrichon L. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 5253-5266.
5. Gao Y., Hanson R. M., Klunder J. M., Ko S. Y., Masamune S., Sharpless K. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5765-5780.
6. Escudier J.-M., Baltas M., Gorrichon L. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 1439-1442.
7. Baldwin J. E., *J. Chem. Commun.* **1976**, 734-736. Baldwin J. E., Thomas R. C., Kruse L. I., Sikberman L. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 3846-3852.
8. Harmange J. C., Figadère B., *Tetrahedron Asymmetry.* **1993**, *4*, 1711-1754. Chamberlain A. R., Dezube M., Reich S. H., Sall D.; *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6247-6256. Chamberlain A. R., Dezube M., Dussault P., McMills M. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5819-5825.
9. Brown J. M., Conn A. D., Pilcher G., Leitao M. L. P., Meng-Yang Y., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1989**, 1817.
10. Winterfeldt E. *Synthesis.* **1975**, 617-630.
11. Kobayashi S., Onozawa S.-Y., Mukaiyama T. *Chem. Lett.* **1992**, 2419-2422.
12. Chou T. S., Heath P. C., Patterson L. E., Poteet L. M., Lakin R. E., Hunt A. H. *Synthesis.* **1992**, 565-570.
13. Vorbrüggen H., Krolkiewicz K., Benna B. *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1234-1255.
14. Augustyns K., Rosenski J., Van Aershot A., Janssen G., Herdewijn P., *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2977-2982.
15. Dueholm K. L., Pedersen E. B. *Synthesis*, **1992**, 1-22.
16. Czernecki S., Le Diguarher T. *Synthesis.* **1991**, 683

Erratum :

La projection de Fischer donnée pour les lactones décrites dans la référence 6 (*Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 1439-1442) est erronée, nous apportons ici la correction (cf. schéma 2).