

Note

Homoanalogues des aldofuranosyles nucléosides

VI. 1,4-Anhydro-6-désoxy-6-(pyrimidin-1-yl)-D-glucitols*†‡

LUCIANO NOBILE, GIUSEPPE GIOVANNINETTI, THEODORO POZZO BALBI, MICHELE AMOROSA
Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, Università di Bologna, Bologna (Italie)

ET JACQUES DEFAYE

Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, Centre National de la Recherche Scientifique, Domaine Universitaire, B P 53, 38041-Grenoble (France)

(Reçu le 1 février 1972, accepté le 16 mars 1972)

L'intérêt biochimique et thérapeutique potentiel des homoanalogues non glycosidiques des nucléosides a été rappelé dans une série de travaux récents^{1,2}. Des bis-homoanalogues pyrimidiques des α -D-érythrofuranosyl-nucléosides ont par ailleurs été décrits³. Le présent travail a pour objet la préparation d'isomères de configuration, bis-homoanalogues des β -L-thréofuranosyl-nucléosides.

La voie précédemment mise au point pour la synthèse des homo-analogues *erythro* a été suivie, partant indifféremment du 1,4-anhydro-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-6-*O*-*p*-tolylsulfonyl-D-glucitol⁴ (**1**) ou du dérivé iodé en C-6 correspondant **2**. Ainsi, l'action du dérivé iodé **2** sur l'uracile dans le diméthyl sulfoxyde en présence de carbonate de potassium et d'iodure de sodium a conduit avec un rendement de 72 % au dérivé protégé N-1 substitué de l'uracile **3** attendu, obtenu sous forme cristalline après purification chromatographique. De même, le 1,4-anhydro-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-6-désoxy-6-(thymine-1-yl)-D-glucitol (**4**) aussi bien que le dérivé correspondant de la *N*-acétylcytosine **5** ont été obtenus, bien qu'en moindre rendement, en utilisant le *p*-toluènesulfonate **1** en présence de carbonate de potassium, et dans le même solvant. Ces dérivés nucléosidiques ont également été isolés sous forme cristalline après purification chromatographique. Leur structure a été confirmée par spectrométrie de r m n (Tableau I) qui, indépendamment des signaux des protons H-6 et H-5 des bases visibles à bas champs, permet pour l'essentiel une interprétation du premier ordre des protons de la copule glucidique. En particulier, les protons du groupe méthylène en C-6 donnent lieu à un système AMX à champs moyens (δ 3,91 $\rightarrow$ 5,67 p p m) qui exclut une éventuelle migration du substituant pyrimidique par participation des groupements esters vicinaux. Les protons en C-2, C-3 et C-5 de la partie

*Dédié au Professeur Jean-Émile Courtois à l'occasion de son 65ème anniversaire.

†Ce travail a bénéficié d'un contrat de recherche sur programme de la Ligue Nationale Française contre le Cancer et d'une subvention du Conseil National de la Recherche (Italie).

‡Pour la cinquième partie, voir Réf. 1.

TABLEAU I

DONNÉES DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLÉAIRE POUR LES COMPOSÉS 3, 4, 5^a

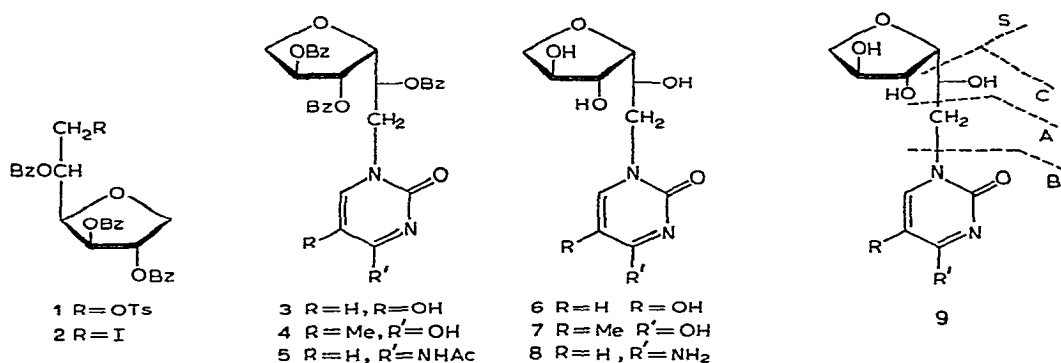
Composé	H-1a ^b	H-1b ^b	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6a ^b	H-6b ^b
3	4,09 q $J_{1a,2}$ 2 $J_{1b,2}$ 5	4,53 q $J_{a,b}$ 10,5	5,52 m $J_{2,3}$ 1	5,85 q $J_{3,4}$ 3,5	4,55	5,72 m $J_{5,6b}$ 3,5	3,91 q $J_{5,6a}$ 7	4,65 q $J_{a,b}$ 14
4	4,17 q $J_{1a,2}$ 2 $J_{1b,2}$ 5	4,63 q $J_{a,b}$ 10,5	5,55 m $J_{2,3}$ 1	5,87 q $J_{3,4}$ 3,5	4,60	5,72 m $J_{5,6b}$ 3,5	3,96 q $J_{5,6a}$ 7	4,62 q $J_{a,b}$ 10,5
5	4,62 q $J_{1a,2}$ 2 $J_{1b,2}$ 5	5,18 q $J_{a,b}$ 10,5	6,17 m $J_{2,3}$ 1	6,52 q $J_{3,4}$ 3,5	5,55 dd $J_{4,5}$ 10	6,33 m $J_{5,6b}$ 2,5	5,42 q $J_{5,6a}$ 3,5	5,67 q $J_{a,b}$ 14,5

^aLes spectres sont établis à 100 MHz avec le tétraméthylsilane comme référence interne, en solution dans le diméthylsulfoxyde. ^bDonnées du premier ordre: s, singulet, d, doublet, dd, doublet de doublets, q, quadruplet, H-1a et H-6a, les autres H-1b et H-6b

glucidique, substitués par les radicaux benzoyles, sont, comme attendu, rencontrés à bas champs ($\sim \delta$ 5,52–6,52 p p m)

La saponification des substituants benzoyles par action du méthylate de sodium conduit aux analogues nucléosidiques libres 6, 7 et 8, obtenus sous forme cristalline en rendement quantitatif. La substitution en N-1 des bases a été confirmée dans les trois cas par l'absence de déplacement bathochrome des maximums d'absorption en lumière ultra-violette dans l'hydroxyde de potassium 0,1M. La spectrométrie de masse qui, indépendamment de l'ion moléculaire, montre dans les trois cas les fragmentations correspondantes aux ions A, B+2H, B+H, C et S (9) déjà rencontrées pour ce type de dérivé pyrimidique³, confirme les structures attendues.

Les tests d'activité cytostatique et de toxicité ont été réalisés sur des cultures de cellules KB⁵ provenant de carcinome buccal humain, à des doses de 10 à 100 μ g par ml avec des durées d'observation d'au moins six jours. Les tests d'activité antivirale ont été réalisés, à la même concentration, sur des cultures de virus d'herpès simplex et de vaccine. Les analogues pyrimidiques 6, 7, 8 ne montrent aucune cytotoxicité ni effet antiviral ou antitumoral aux doses utilisées.



Autres protons

7,82 m 9 protons (protons *m* et *p* des esters benzoïques), 7,40 m 6 protons (protons *o* des esters benzoïques), 7,20 d J 8 (H-6 uracile), ~5,56 d (H-5 uracile)

7,94 m 9 protons (protons *m* et *p* des esters benzoïques), 7,44 m 6 protons (protons *o* des esters benzoïques), 7,0 d J 0,1 (H-6 thymine), 1,71 J 0,1 (Me thymine)

7,94 m 10 protons (protons *m* et *p* des esters benzoïques et H-6 cytosine), 7,36 m 7 protons (protons *o* des esters benzoïques et H-5 cytosine), 2,1 s 3 protons (NHAc)

chloroforme-*d*, les déplacements chimiques sont indiqués en δ et les couplages sont donnés en Hz entre m, multiplet ^aLes protons en C-1 et C-6 de la couple glucidique resonnant a plus haut champ sont nommés

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Méthodes générales — Les solutions ont été concentrées sous pression réduite à des températures ne dépassant pas 50°. La pureté de tous les composés a été vérifiée par chromatographie sur couche mince de gel de silice HF-254 (Merck) avec le système de solvants cyclohexane-acétate d'éthyle, 1 4, v/v (solvant 1), benzène-acétone, 7 3, v/v (solvant 2), 2,2,4-triméthylpentane-acétate d'éthyle-éthanol-eau, 3 10 6 6, v/v, phase supérieure (solvant 3), les plaques de cellulose F 254 (Merck) ont été également utilisées pour les dérivés pyrimidiques non substitués. Le cours des réactions a été suivi sur ces mêmes plaques. Les points de fusion ont été mesurés sous microscope sur platine de Leitz et sont corrigés. Les microanalyses élémentaires ont été réalisées par le Laboratoire de Microanalyse de l'École Polytechnique Fédérale (Zürich) ou par le Service Central de Microanalyse du C N R S (Thiais). Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés à l'aide du Quick Polarimètre de Roussel et Jouan ou sur Polarimètre Polartronic Schmidt et Haensch. Les spectres de r m n ont été établis en solution dans le chloroforme-*d* pour les dérivés pyrimidiques substitués, ou dans l'oxyde de deutérium pour les analogues pyrimidiques libres, à la fréquence de 60 MHz par Monsieur Nardin ou à la fréquence de 100 MHz par Monsieur Guéraud (appareils Varian A-60 et HA-100) au Centre d'Études Nucléaires de Grenoble, service de Chimie Organique Physique. Les déplacements chimiques sont mesurés en δ par rapport à la raie du tétraméthylsilane prise comme zéro de référence. Certaines assignations ont été vérifiées par découplage de spin. Les spectres de masse ont été réalisés en introduction directe au Centre d'Études Nucléaires de Grenoble (service de Spectrométrie de Masse) par Monsieur Bouhet sous la direction de Monsieur Ulrich, sur un appareil MS-9 (AEI), les interprétations des fragmentations se réfèrent à la formule 9, la tension d'ionisation était de 70 eV.

1,4-Anhydro-2,3,5-tri-O-benzoyl-6-désoxy-6-(uracil-1-yl)-D-glucitol (3) — Le

1,4-anhydro-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-6-désoxy-6-iodo-D-glucitol⁴ (**2**, 2 g, 3,41 mmoles), dissous dans le diméthyl sulfoxyde sec (20 ml), est additionné d'uracile (1,14 g, 10,2 mmoles), de carbonate de potassium anhydre (1,4 g, 10,2 mmoles) et d'iodure de potassium sec (0,52 g). La suspension est agitée à 90° et la réaction suivie par chromatographie sur couche mince de gel de silice (cyclohexane-acétate d'éthyle, 1/1, v/v, détection en lumière u v). La réaction est arrêtée au bout de 21 h, lorsque l'halogénure de départ paraît avoir disparu du milieu réactionnel. Le mélange refroidi est alors versé dans 30 ml d'eau et le pH amené à 6 par addition d'acide chlorhydrique 2M. Après extraction par le chloroforme (5 × 50 ml), les extraits réunis, séchés sur sulfate de sodium, sont concentrés sous pression réduite et le diméthyl sulfoxyde résiduel éliminé sous vide poussé. La chromatographie sur plaque de cellulose F-254 (éthanol-eau, 9/1, v/v) du résidu sirupeux obtenu montre essentiellement un seul composant (R_F 0,74) à côté de traces d'uracile. Le sirop précédent, dissous dans l'éthanol, est versé dans l'eau et le précipité semi-solide ainsi obtenu est séparé par filtration et recristallisé dans un mélange acétone-éther (1,40 g, 72%). Le composé analytique est obtenu après purification par chromatographie préparative sur plaque de gel de silice PF-254 (chloroforme-acétone, 17/3, v/v) et recristallisation dans le mélange acétone-éther précédemment cité, p f 107–110°, $[\alpha]_D^{22} + 116^\circ$ (c 0,93, chloroforme).

Anal Calc pour $C_{31}H_{26}N_2O_9$. C, 65,25, H, 4,59, N, 4,90. Trouvé C, 65,40, H, 4,68, N, 4,57.

1,4-Anhydro-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-6-désoxy-6-(thymine-1-yl)-D-glucitol (**4**) — Le 1,4-anhydro-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-6-*O*-*p*-tolylsulfonyl-D-glucitol⁴ (**1**, 5 g, 7,9 mmoles), dissous dans le diméthyl sulfoxyde sec (50 ml), est additionné de thymine (2,91 g, 23,7 mmoles) et de carbonate de potassium anhydre (3,21 g, 23,7 mmoles). La suspension est agitée à 90°, et la réaction suivie comme précédemment sur couche mince de gel de silice (solvant I, détection en lumière u v). La réaction est arrêtée au bout de 24 h, lorsque la tache correspondant au sulfonate de départ a disparu. Le mélange refroidi est alors versé dans l'eau (55 ml) et le pH de la solution amené à 6 par addition d'acide chlorhydrique 2M. Après extraction par le chloroforme (150 ml), les extraits, séchés sur sulfate de sodium, sont alors concentrés sous pression réduite et le diméthyl sulfoxyde résiduel est éliminé sous vide poussé. Le résidu semi-solide ainsi obtenu contient encore des traces de thymine qui est éliminée comme précédemment par lavage à l'eau. Une chromatographie sur couche mince de gel de silice HF-254 (solvant 2, détection en lumière u v) indique la présence de deux composants de R_F 0,23 et 0,40. Une cristallisation dans un mélange acétone-éther permet de recueillir l'essentiel du composant de R_F 0,23 (0,48 g). Les eaux mères (3,2 g) sont alors soumises à la chromatographie sur 5 plaques préparatives de gel de silice (benzène-acétone, 17/3, v/v, détection en lumière u v). Le composant de R_F 0,40 est ainsi élué (0,99 g, 22%) et obtenu sous forme d'un solide cristallin qui est recristallisé dans un mélange benzène-éther de pétrole, aiguilles, p f 108–109°, $[\alpha]_D^{24} + 105,8^\circ$ (c 1,06, méthanol).

Anal Calc pour $C_{32}H_{28}N_2O_9$. C_6H_6 . C, 68,88, H, 5,13, N, 4,22. Trouvé C, 69,28, H, 5,43, N, 3,96.

1,4-Anhydro-2,3,5-tri-O-benzoyl-6-désoxy-6-(N-acétylcytosin-1-yl)-D-glucitol (5) — Le 1,4-anhydro-2,3,5-tri-*O*-benzoyl-6-*O*-*p*-tolylsulfonyl-D-glucitol⁴ (1, 4,70 g, 7,45 mmoles), dissous dans le diméthyl sulfoxyde anhydre (80 ml), est additionné de *N*-acétylcytosine (3,14 g, 22,3 mmoles) et de carbonate de potassium anhydre (3,07 g, 22,3 mmoles). La suspension est agitée à 90° pendant 24 h; une chromatographie sur plaque de gel de silice HF-254 (solvant 1, détection en lumière u v) indique en effet l'absence, au bout de ce temps, du sulfonate de départ. L'extraction du milieu réactionnel, réalisée comme dans les exemples précédents, conduit à une huile qui est purifiée par chromatographie préparative sur plaques de gel de silice (benzène-acétone, 17/3, v/v). La bande essentielle (R_F 0,55), éluee par le solvant 1, est obtenue sous forme d'une huile incolore (0,945 g, 20,7%) qui cristallise dans un mélange benzène-éther de pétrole, p_f 98–100°, $[\alpha]_D^{26} + 47,6^\circ$ (c 1,06, chloroforme), spectre de masse m/e 611 (2%, M^+), 506 (8%, $M^+ - C_6H_5CO$), 490 (5%), 489 (6%, $M^+ - C_6H_5CO_2H$), 459 (5%), 434 (3%), 384 (2%), 369 (25%), 368 (100%), 367 (12%, $M^+ - 2 C_6H_5CO_2H$), 336 (25%), 311 (18%, S), 300 (10%, C), 259 (20%), 258 (100%), 246 (52%), 215 (30%), 208 (7%), 204 (12%), 177 (35%), 166 (5%, A), 154 (75%, B+2H), 153 (2%, B+H).

Anal Calc pour $C_{33}H_{29}N_3O_9$ C, 64,80, H, 4,78, N, 6,87. Trouvé C, 64,89, H, 4,89, N, 6,72.

1,4-Anhydro-6-désoxy-6-(uracil-1-yl)-D-glucitol (6) — Le dérivé tri-*O*-benzoylé 3 (1,70 g) est dissous dans le méthanol absolu (170 ml) et additionne d'une solution (5 ml) de méthylate de sodium dans le méthanol M. Après une agitation magnétique de 2 h à température ambiante, la solution est agitée avec une résine échangeuse d'ions (Dowex-50W, H^+ , 12 g), puis filtrée. L'évaporation de la solution méthanolique conduit à un résidu solide (550 mg), chromatographiquement pur sur couche mince de gel de silice (solvant 3, détection en lumière u v), p_f 119–121°, $[\alpha]_D^{29} + 51,3^\circ$ (c 1, eau); spectre u v λ_{max}^{eau} 208 nm (ϵ 13 800) et 266 nm (ϵ 11 300), spectre de masse m/e 258 (6%, M^+), 240 (4%, $M^+ - H_2O$), 222 (40%, $M^+ - 2 H_2O$), 215 (17%, $C_8H_{11}N_2O_5$, $M^+ - 43$), 197 (22%, $C_8H_9N_2O_4$, $M^+ - 43 - H_2O$), 172 (60%), 127 (12%, A+2H), 126 (90%, A+H), 113 (90%, B+2H), 112 (45%, B+H), 103 (35%, S), spectre de r m n (oxyde de deutérium) δ 7,65 et 5,83 (2 d de 1 proton chacun, J 8 Hz, H-6 et H-5 uracile), 4,68 (s, DHO), 4,43 à 3,48 (massif de multiplets non interprétables).

Anal Calc pour $C_{10}H_{14}N_2O_6 \cdot 0,5 H_2O$ C, 44,94, H, 5,61; N, 10,48. Trouvé C, 44,90; H, 5,54, N, 10,48.

1,4-Anhydro-6-désoxy-6-(thymine-1-yl)-D-glucitol (7) — Le dérivé tri-*O*-benzoylé correspondant 4 (400 mg) est dissous dans le méthanol absolu (40 ml) et additionné d'une solution de méthylate de sodium dans le méthanol (0,5 ml, M). Après une agitation magnétique de 2 h à température ambiante, la solution est neutralisée par agitation avec une résine échangeuse d'ions (Dowex-50W, H^+ , 2 g). Le filtrat et la solution méthanolique de lavage, évaporés sous pression réduite, conduisent à un résidu solide qui est dissous dans l'eau (40 ml) et extrait par l'éther (3 $\times$ 40 ml). La solution aqueuse, évaporée sous pression réduite, conduit à un solide (0,145 g) qui

est séché par coévaporation avec de l'éthanol anhydre. La cristallisation dans l'éthanol anhydre conduit à des cristaux incolores, $p f$ 231–232°, $[\alpha]_D^{24} + 37,2^\circ$ (c 0,686, eau), spectre u v . $\lambda_{\max}^{\text{eau}}$ 206 nm (ϵ 14 000), 269 nm (ϵ 14 300), spectre de masse . m/e 272 (6 %, M^+), 254 (2 %, $M^+ - H_2O$), 236 (25 %, $M^+ - 2 H_2O$), 229 (5 %, $C_9H_{13}N_2O_5$, $M^+ - 43$), 219 (10 %, $C_{11}H_{11}N_2O_3$, $M^+ - 2 H_2O - OH$), 211 (12 %, $C_9H_{11}N_2O_4$, $M^+ - 43 - H_2O$), 170 (12 %, ion C + H), 169 (100 %, ion C), 168 (9 %), 141 (8 %, ion A + 2H), 140 (85 %, ion A + H), 139 (25 %, ion A), 129 (45 %), 127 (55 %, ion B + 2H), 126 (40 %, ion B + H), 103 (7 %, ion S), spectre de r m n (oxyde de deutérium) . δ 7,43 (d, J 0,1 Hz, H-6 thymine), 4,61 (s DHO), 4,40 à 3,58 (massif de multiplets mal différenciés, protons de l'hétérocycle oxygéné), 1,88 (d, 3 protons, J 0,1 Hz, Me thymine)

Anal Calc pour $C_{11}H_{16}N_2O_6 \cdot C$, 48,52, H, 5,92, N, 10,29 Trouvé . C, 48,60, H, 6,00, N, 10,27

1,4-Anhydro-6-désoxy-6-(cytosin-1-yl)-D-glucitol (8) — Le dérivé tri-*O*-benzoylé correspondant **5** (0,611 g), dissous dans le méthanol (60 ml), est additionné d'une solution de méthylate de sodium dans le méthanol (1,5 ml, M). Après 5 h, la chromatographie sur couche mince de gel de silice (solvant 1) indique la disparition du produit de départ. La solution est alors déminéralisée par addition d'une résine échangeuse d'ions (Merck type IV). Après élimination de la résine par filtration, la solution, évaporée sous pression réduite, conduit à un résidu solide qui est repris par l'eau (56 ml) et extrait par l'éther (3×56 ml). L'évaporation de la solution aqueuse conduit à un résidu semi-solide (0,175 g) qui est séché par codistillation avec de l'éthanol anhydre et recristallisé dans le méthanol, $p f$ 249–250°, $[\alpha]_D^{23} + 70,6^\circ$ (c 0,982, eau); spectre u v . $\lambda_{\max}^{\text{eau}}$ 273 nm (ϵ 9 423); spectre de masse . m/e 257 (5 %, M^+), 239 (12 %, $M^+ - H_2O$), 221 (15 %, $M^+ - 2 H_2O$), 214 (16 %), 204 (5 %), 198 (16 %), 196 (15 %), 184 (30 %), 166 (11 %), 154 (100 %, ion C), 125 (92 %, ion A + H), 124 (67 %, ion A), 112 (98 %, ion B + 2H), 111 (33 %, ion B + H), 103 (7 %, ion S), spectre de r m n (oxyde de deutérium) . δ 7,46 (d, J 7 Hz, H-6 cytosine), 5,88 (d, J 7 Hz, H-5 cytosine), 4,61 (s, DHO), 4,40 à 3,30 (massif de multiplets mal différenciés)

Anal Calc pour $C_{10}H_{15}N_3O_5$ C, 46,69, H, 5,88, N, 16,34 Trouvé C, 46,57, H, 5,99, N, 16,27

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement le Professeur M. La Placa, Directeur de l'Institut de Microbiologie de l'Université de Bologne, qui a bien voulu faire exécuter les tests biologiques.

RÉFÉRENCES

- 1 J. DEFAYE ET Z. MACHON, *Carbohydr Res*, 24 (1972) 235
- 2 J. DEFAYE ET M. NAUMBERG, *XXIst IUPAC Symp Chem Nucleic Acid Components*, Prague 1967, Abstr. N-32, J. DEFAYE ET T. REYNERS, *Bull Soc. Chim Biol*, 50 (1968) 1625, M. BOBEK ET *Carbohydr Res*, 24 (1972) 489–495

- J. FARKAŠ, *Coll. Czech Chem Commun*, 34 (1969) 1684, R VINCE ET J. DONOVAN, *J Med Chem*, 12 (1969) 175, J DEFAYE, M. NAUMBERG ET T REYNERS, *J Heterocycl Chem*, 6 (1969) 229; J A MONTGOMERY ET K HEWSON, *J Heterocycl Chem*, 7 (1970) 443, J FARKAŠ, *Coll Czech Chem Commun*, 36 (1971) 3043.
- 3 G. GIOVANNINETTI, L. NOBILE, M AMOROSA ET J DEFAYE, *Carbohydr Res*, 21 (1972) 320.
- 4 A L RAYMOND ET E F SCHROEDER, *J Amer Chem Soc*, 70 (1948) 2785
- 5 D SHUGAR ET J J FOX, *Biochim Biophys Acta*, 9 (1952) 199.
- 6 H EAGLE, *Proc Soc Exp Biol Med*, 89 (1965) 362