

Note

3,6-Anhydro-1-désoxy-1-(pyrimidine-1-yl)-D-mannitols, homoanalogues des α -D-érythrofuranosyl-nucléosides*

G. GIOVANNINETTI, L. NOBILE, M. AMOROSA

Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, Università di Bologna (Italie)

ET J. DEFAYE

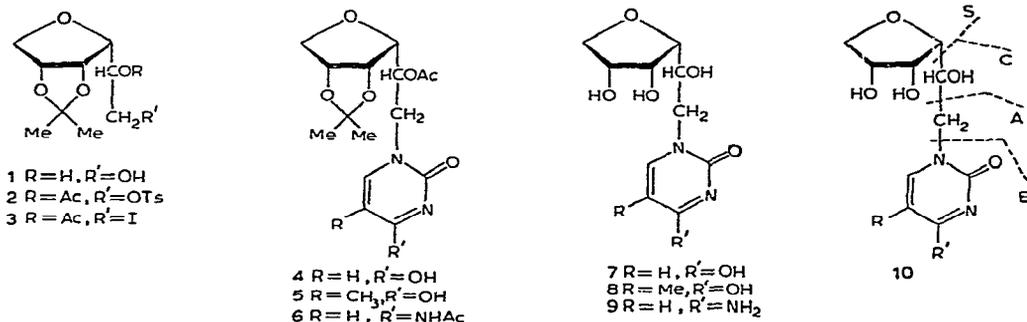
Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales, Centre National de la Recherche Scientifique, Domaine Universitaire, Cedex 53-Gare, 38-Grenoble (France)

(Reçu le 26 juillet 1971; accepté le 17 août 1971)

Les raisons qui ont motivé l'intérêt porté récemment aux homoanalogues non glycosidiques des nucléosides ont été largement développées^{1,2} depuis la première communication sur ce sujet en 1967³. Indépendamment de l'intérêt éventuel de tels composés comme inhibiteurs des phosphoribosyltransférases ou des polynucléotides phosphorylases, on peut également, en cas d'incorporation, attendre de l'allongement de la distance entre la base et l'hétérocycle oxygéné une possibilité d'action sur la structure secondaire des polynucléotides. Le présent travail a pour objet la préparation d'homoanalogues des nucléosides possédant deux liaisons carbonées entre la base et l'hétérocycle oxygéné. Une voie évidente d'accès à ce type de composé consiste en l'alkylation de bases par un dérivé à fonction électrophile en C-1 d'un 3,6-anhydro-polyol. Dans un premier temps, c'est un dérivé protégé du 3,6-anhydro-1-désoxy-1-iodo-D-mannitol (**3**) qui a été choisi comme agent alkylant, la méthode d'alkylation utilisée étant celle précédemment adaptée¹ à la synthèse des 1-(2-méthylène-tétrahydrofuryl)pyrimidines : le dérivé N-1 alkylé de l'uracile **4** a ainsi été obtenu avec un bon rendement. Des travaux plus récents⁴ indiquent que l'utilisation dans les mêmes conditions de sulfonates primaires α d'un hétérocycle oxolanne conduit également, et avec des rendements comparables, à des dérivés pyrimidiques mono-alkylés en N-1. Cette possibilité a été vérifiée dans le cas présent et a permis d'obtenir les dérivés substitués en N-1 de la thymine **5** et de la N-acétylcytosine **6** en partant du sulfonate **2**⁵. L'hydrolyse acide des radicaux protecteurs a conduit aux composés recherchés **7**, **8** et **9** caractérisés notamment par leurs spectres ultra-violet et par spectrométrie de masse, qui montre en particulier des fragmentations correspondant aux ions B+H et B+2H. Travaillant sur des N-alkyluraciles comportant des chaînes linéaires de 1 à 4 carbones, Falch⁶ avait récemment proposé une méthode de différenciation entre N-1 et N-3 alkyluraciles basée sur la présence des ions B+H ou +2H. De même

*Cette étude a bénéficié de subventions de la Ligue Nationale Française contre le Cancer et du Conseil National de la Recherche (Italie). Quatrième partie dans la série « Analogues non glycosidiques des nucléosides ». Pour la troisième partie, voir réf. 1.

que dans le cas des 1-(2-méthylène tétrahydrofuryl)pyrimidines¹, les ions B+H et B+2H ont été trouvés dans tous les cas avec des abondances relatives peu spécifiques qui ne doivent pas permettre la différenciation proposée. On remarque par ailleurs des fragmentations correspondant aux ions A+H et A+2H, C+H et S (10).



Les tests d'activité cytostatique et de toxicité ont été réalisés respectivement sur des cultures de cellules KB⁷ provenant de carcinome buccal humain, et sur des cellules de rein de singe CV-1⁸. Les tests d'activité antivirale ont été obtenus avec des virus de la vaccine et de l'herpès cultivés en présence de DNA. Le dérivé 7 de l'uracile a été également testé sur cellules virales de parainfluenza HA-1 en présence de RNA. Les trois analogues ne montrent aucune cytotoxicité ni effet antitumoral ou antiviral à des doses de 10 à 100 μg par ml.

PARTIE EXPERIMENTALE*

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 (avec des solvants variables indiqués dans le cours du texte), ou par chromatographie sur plaque de cellulose Merck F-254 avec le solvant éthanol-eau 1:1 (analogues pyrimidiques). Les points de fusion ont été mesurés sous microscope, sur platine chauffante, et ne sont pas corrigés. Les microanalyses élémentaires ont été réalisées par le Laboratoire Central de Microanalyse du CNRS ou par le Laboratoire de Microanalyse de l'École Polytechnique Fédérale (Zürich). 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 de façon usuelle, sur un spectromètre Varian A-60, par Monsieur Bouhet ou Mademoiselle Franconie. Les spectres à 100 MHz ont été réalisés au Centre d'Études Nucléaires de Grenoble (service de Chimie Organique Physique) par Monsieur Nardin sur un appareil

*Effectuée avec la collaboration technique de Silvia Burnelli.

Varian HA-100; les assignations ont été confirmées sur les spectres à 100 MHz par découplage de spin; dans tous les cas, la raie du tétraméthylsilane a été prise comme zéro de référence. 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 **10**; la tension d'ionisation est de 70 eV. Les calculs de masses de certaines fragmentations ont été obtenus en haute résolution.

3,6-Anhydro-4,5-O-isopropylidène-D-mannitol (1). — La méthode générale décrite par Foster et Overend⁹ a été suivie en partant du mannitol. De façon à rendre techniquement plus aisé l'accès aux composés terminaux, les dérivés intermédiaires n'ont le plus souvent pas été purifiés. Ainsi, le 3,6-anhydro-D-mannitol contenait encore, après une cristallisation dans l'éthanol, du mannitol de départ (plaque de gel de silice, 2-butanone-acide acétique-méthanol, 3:1:1, v/v). De même, le dérivé 1,2:4,5-di-*O*-isopropylidène correspondant, qui contenait également des impuretés non identifiées (plaque de gel de silice, hexane-acétate d'éthyle, 3:1, v/v), a été hydrolysé directement en le 3,6-anhydro-4,5-*O*-isopropylidène-D-mannitol (**1**) attendu. La purification de ce composé a été réalisée sur colonne de gel de silice avec le solvant acétone-hexane (1:1, v/v). Le composé attendu (rendement moyen global 6%) est obtenu sous forme d'une huile qui cristallise spontanément et est recristallisée dans un mélange acétate d'éthyle-éther de pétrole. Les constantes physiques sont identiques à celles rapportées⁹.

2-O-Acétyl-3,6-anhydro-1-désoxy-1-iodo-4,5-O-isopropylidène-D-mannitol (3). — Le 2-*O*-acétyl-3,6-anhydro-1-désoxy-4,5-*O*-isopropylidène-1-*O-p*-tolylsulfonyl-D-mannitol⁵ (**2**, 5 g, 12,5 mmoles), préparé en partant du composé précédent, est dissous dans l'acétone (60 ml) et additionné d'iodure de sodium sec (7,5 g, 50 mmoles). Après 8 h de chauffage à 100° en tube scellé, la solution refroidie est débarrassée des sels minéraux par filtration. La concentration du filtrat sous pression réduite conduit à un résidu qui est repris par le dichlorométhane. La solution est lavée par une solution aqueuse diluée de thiosulfate de sodium, puis par l'eau. Après séchage sur sulfate de sodium de la solution chlorométhylénique, une huile (3,615 g) homogène par chromatographie sur couche mince est obtenue. L'échantillon analytique est obtenu par distillation en tube à boules avec chauffage par bain d'air, p.éb._{0,04} 100–110°, n_D^{23} 1,4972, $[\alpha]_D^{22}$ –69,4° (*c* 2,06, chloroforme).

Anal. Calc. pour C₁₁H₁₇O₅I : C, 37,07; H, 4,77; I, 35,67. Trouvé : C, 37,35; H, 4,87; I, 35,27.

2-O-Acétyl-3,6-anhydro-1-désoxy-4,5-O-isopropylidène-1-(uracile-1-yl)-D-mannitol (4). — Le dérivé halogéné **3** (4 g, 11 mmoles), dissous dans le diméthyl sulfoxyde sec (33 ml), est additionné d'uracile (3,6 g, 32 mmoles), de carbonate de potassium anhydre (4,55 g, 32 mmoles) et d'iodure de sodium (1,65 g). La suspension est agitée à 90° et la réaction suivie par chromatographie sur couche mince de gel de silice (benzène-acétone, 7:3, v/v). La réaction est arrêtée au bout de 30 h lorsque la tache correspondant à l'halogénure de départ a disparu. Après refroidissement, le milieu

réactionnel est versé dans l'eau (150 ml) et la solution, amenée à pH 6 par addition d'acide chlorhydrique dilué, est extraite à plusieurs reprises par le chloroforme (300 ml). Les extraits réunis, séchés sur sulfate de sodium, sont concentrés sous pression réduite; le diméthyl sulfoxyde résiduel est éliminé sous vide poussé. Le liquide sirupeux, faiblement coloré, ainsi obtenu (3,5 g) montre par chromatographie sur couche mince de gel de silice (benzène-acétone, 7:3, v/v), à côté de traces d'impuretés, deux taches principales (R_F 0,17 et 0,36) dont l'une majeure (R_F 0,17). Ce mélange est séparé par passage sur colonne de gel de silice avec le solvant benzène-acétone (7:3, v/v). L'élution par 1350 ml de solvant conduit à un sirop homogène par chromatographie sur couche mince (0,580 g) mais qui n'a pu être recristallisé et n'a pas été caractérisé. Ensuite, 2600 ml d'éluant conduisent à un composé (2,314 g, 61%) qui se prend en masse par refroidissement et qui est recristallisé dans un mélange acétone-éther de pétrole, p.f. 171–172°; $[\alpha]_D^{22} -13,3^\circ$ (c 1,05, chloroforme); $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ 265 nm (ϵ 10.700) pas d'effet bathochrome dans l'éthanolate de potassium 0,1M; r.m.n. (chloroforme- d , 100 MHz): δ 7,27 (d, H-6 uracile, $J_{6,5}$ 8 Hz), 5,68 (d, H-5 uracile, $J_{5,6}$ 8 Hz), 5,37 (oct, H-2, $J_{2,1a}$ 6 Hz, $J_{2,1b}$ 3 Hz, $J_{2,3}$ 7 Hz), 4,75 et 4,67 (2 protons, AB de ABX, H-4 et H-5, J_{AB} 6 Hz, $J_{AX} = J_{BX}$ 3,2 Hz), 4,51 (d de d, H-1a, $J_{1a,1b}$ 15 Hz, $J_{1,2}$ 3 Hz), 4,03 (d, H-6a, $J_{6a,6b}$ 10,5 Hz), 3,73 (d de d, H-1b, $J_{1a,1b}$ 15 Hz, $J_{1a,2}$ 6 Hz), 3,49 (d de d, H-3, $J_{3,4}$ 3,2 Hz, $J_{2,3}$ 7 Hz), 3,45 (d de d, H-6b, $J_{6a,6b}$ 10,5 Hz, $J_{5,6a}$ 3,2 Hz, $J_{5,6b}$ 0), 2,33 (s, 3 protons, OAc), 1,48 et 1,31 (2 s, 6 protons, Me₂-C); spectre de masse: m/e 325 ($M^+ - 15$), 297 ($M^+ - \text{CH}_3\text{CO}^+$), 280 ($M^+ - \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$), 222 [$M^+ - (\text{Me}_2\text{CO} + \text{CH}_3\text{CO}_2\text{H})$], 205, 155, 153 et 138, 126, 112 et 113 (B+H et B+2H), 111 (B).

Anal. Calc. pour C₁₅H₂₀N₂O₇: C, 52,93; H, 5,92; N, 8,23. Trouvé: C, 52,99; H, 5,99; N, 8,10.

2-O-Acétyle-3,6-anhydro-1-désoxy-4,5-O-isopropylidène-1-(thymine-1-yl)-D-mannitol (5). — Le 2-O-acétyle-3,6-anhydro-4,5-O-isopropylidène-1-O-*p*-tolylsulfonyl-D-mannitol⁵ (2, 1,995 g, 5 mmoles), dissous dans le diméthyl sulfoxyde anhydre, est additionné de carbonate de potassium sec (2,073 g, 15 mmoles) et de thymine (1,89 g, 15 mmoles). La suspension est agitée à 90° jusqu'à disparition du sulfonate de départ (environ 20 à 24 h). Après refroidissement, le mélange réactionnel est versé dans l'eau (200 ml) et la solution, amenée à pH 6 par addition d'acide chlorhydrique dilué (2M), est extraite par le chloroforme. Les extraits réunis, séchés sur sulfate de sodium, sont concentrés sous pression réduite, et le diméthyl sulfoxyde résiduel éliminé sous vide poussé. Une huile est ainsi obtenue qui montre par chromatographie sur couche mince deux taches principales (R_F 0,29 et 0,40). La chromatographie sur colonne de gel de silice avec le système de solvants benzène-acétone (7:3, v/v) conduit, après passage de 270 ml, à un sirop jaune épais (0,7 g) qui n'a pas été caractérisé. Après passage de 440 ml d'éluant, un composé cristallin (0,7 g, 40%), qui est recristallisé dans un mélange chloroforme-éther de pétrole, est éluré, p.f. 143–145°; $[\alpha]_D^{17} -19,5^\circ$ (c 1, chloroforme); $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ 210 nm (ϵ 8.400), 268 nm (ϵ 10.630); pas de déplacement bathochrome dans l'éthanolate de potassium 0,1M; r.m.n. (chloroforme- d , 100 MHz, seuls les déplacements chimiques sont mentionnés pour les protons de l'hétérocycle

glucidique, les valeurs des couplages étant identiques à celles obtenues pour le dérivé de l'uracile précédent) : δ 7,1 (q, H-6 thymine, $J_{Me5,6}$ 0,1 Hz), 5,26 (oct, H-2), 4,70 et 4,62 (2 protons, AB de ABX, H-4 et H-5), 4,39 (d de d, H-1a), 4,02 (d, H-6a), 3,73 (d de d, H-1b), 3,50 (d de d, H-3), 3,42 (d de d, H-6b), 2,01 (3 protons, OAc), 1,90 (d, 3 protons, Me thymine, $J_{Me5,6}$ 0,1 Hz), 1,48 et 1,31 (2 s, 6 protons, Me_2-C); spectre de masse : m/e 354 (M^+), 339 ($M^+ - 15$), 294 ($M^+ - CH_3CO_2H$), 236 [$M^+ - (Me_2CO + CH_3CO_2H)$], 219, 169, 153, 152, 140, 139, 127 (B+2H), 126 (B+1H).

Anal. Calc. pour $C_{16}H_{22}N_2O_7$: C, 54,23; H, 6,26; N, 7,91. Trouvé : C, 54,13; H, 6,24; N, 7,85.

2-O-Acétyl-1-(N-acétylcytosine-1-yl)-3,6-anhydro-1-désoxy-4,5-O-isopropylidène-D-mannitol (6). — Ce composé a été préparé en partant du sulfonate **2** et de la *N*-acétylcytosine par la technique d'alkylation précédente et en utilisant des proportions moléculaires identiques des réactants : *N*-acétylcytosine (2,116 g), sulfonate **2** (2,011 g) et carbonate de potassium (2,073 g). La durée et les conditions de la réaction sont identiques. Après extraction de la manière habituelle, la concentration des extraits chloroformiques conduit à une huile qui se prend en masse (1,6 g, 84%) et qui est recristallisée dans un mélange chloroforme-éther de pétrole, p.f. 204–205°; $[\alpha]_D^{20} - 21,8^\circ$ (c 0,49, chloroforme); λ_{max}^{EtOH} 215 nm (ϵ 18.080), 247 nm (ϵ 14.740); r.m.n. (chloroforme-*d*, 60 MHz) : δ 7,66 et 7,36 (2 d, J 7 Hz, H-6 et H-5 cytosine), 5,61 (oct, H-2), 4,70 et 4,65 (2 protons, AB de ABX, H-4 et H-5), 3,3 et 4,5 (autres protons de l'hétérocycle glucidique; voir dérivés de la thymine et de la cytosine pour les déplacements chimiques et les couplages), 2,30 (s, 3 protons, NHAc), 2,02 (s, 3 protons, OAc), 1,47 et 1,37 (2 s, 6 protons, Me_2-C); spectre de masse : m/e 381 (M^+), 366 ($M^+ - 15$), 322 ($M^+ - 59$), 263 [$M^+ - (Me_2CO + CH_3CO_2H)$], 246 et 169, 154 (B+2H), 153 (B+H).

Anal. Calc. pour $C_{17}H_{23}N_3O_7$: C, 53,53; H, 6,08; N, 11,02. Trouvé : C, 53,22; H, 6,04; N, 11,04.

Hydrolyse acide des radicaux protecteurs sur les dérivés pyrimidiques 4–6. — Une suspension de l'un des dérivés protégés précédents **4**, **5** et **6** (300 mg) dans l'éthanol est additionnée d'acide chlorhydrique dilué (2M, 10 ml) et portée à reflux pendant 1 h 40 min. La solution refroidie est additionnée d'eau (30 ml) et l'acide est neutralisé par le carbonate d'argent. Après élimination des sels d'argent par filtration puis action du sulfure d'hydrogène dans la solution, le filtrat est concentré et l'eau résiduelle éliminée par entraînement par l'éthanol. Les trois dérivés pyrimidiques sont recristallisés dans l'éthanol et obtenus avec des rendements de l'ordre de 85–90%. Ces composés sont tous homogènes par chromatographie sur couche mince de cellulose.

3,6-Anhydro-1-désoxy-1-(uracile-1-yl)-D-mannitol 7. — P.f. 164–166°; $[\alpha]_D^{24} + 47,3^\circ$ (c 0,66, eau); λ_{max}^{EtOH} 208 nm (ϵ 8.400), 267 nm (ϵ 11.600), pas de déplacement bathochrome dans l'éthanolate de potassium 0,01M; 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), 4,66 (s, DHO), 4,6 à 3,45 (massif de multiplets non interprétables); spectre de masse : m/e 258 (0,9%, M^+), 240 (1,8%, $M^+ - H_2O$), 222 (14,8%, $M^+ - 2 H_2O$), 215 (7,4%, $C_8H_{11}N_2O_5$, $M^+ - 43$), 205 (7,4%, $C_{10}H_9N_2O_3$, $M^+ - 2 H_2O - OH$), 197 (22,8%,

$C_8H_9N_2O_4$, $M^+ - 43 - H_2O$), 155 (100%, ion C), 127 (5,4%, ion A+2H), 126 (74%, ion A+B), 113 (63%, ion B+2H), 112 (13%, ion B+H), 103 (5,5% ion S).

Anal. Calc. pour $C_{10}H_{14}N_2O_6$: C, 46,51; H, 5,47; N, 10,87. Trouvé : C, 46,42; H, 5,60; N, 10,87.

3,6-Anhydro-1-désoxy-1-(thymine-1-yl)-D-mannitol 8. — P.f. 169–170°; $[\alpha]_D^{15} + 35,90^\circ$ (c 0,49, eau); λ_{max}^{eau} 270 nm (ϵ 9.727), pas de déplacement bathochrome dans l'hydroxyde de sodium 0,1M; r.m.n. (oxyde de deutérium) : δ 7,54 (d, J 0,1 Hz, H-6 thymine), 4,71 s (DHO), 4,59 à 3,50 (massif de multiplets mal différenciés, protons de l'hétérocycle oxygéné), 1,92 (d, 3 protons, J 0,1 Hz, Me thymine); spectre de masse : *m/e* 272 (3,6%, M^+), 236 (27%, $M^+ - 2 H_2O$), 229 (10,9%, $C_9H_{13}N_2O_5$, $M^+ - 43$), 219 (9,1%, $C_{11}H_{11}N_2O_3$, $M^+ - 2 H_2O - OH$), 211 (23,6%, $C_9H_{11}N_2O_4$, $M^+ - 43 - H_2O$), 170 (27,2%, ion C+H), 169 (100%, ion C), 168 (14,5%), 141 (10,9%, ion A+2H), 140 (98,1%, ion A+H), 139 (30,9%, ion A), 129 (34,5%), 127 (70,9%, ion B+2H), 126 (32,7%, ion B+H), 103 (7,2%, ion S).

Anal. Calc. pour $C_{11}H_{16}N_2O_6$: C, 48,59; H, 5,92; N, 10,29. Trouvé : C, 48,75; H, 5,87; N, 10,20.

3,6-Anhydro-1-désoxy-1-(cytosine-1-yl)-D-mannitol 9. — P.f. 188–189°; $[\alpha]_D^{18} + 65,67^\circ$ (c 0,48, eau); λ_{max}^{eau} 273 nm (ϵ 7.736), pas de déplacement bathochrome dans l'hydroxyde de sodium 0,1M; r.m.n. (oxyde de deutérium) : δ 7,58 (d, J 8 Hz, H-6 cytosine), 5,96 (d, J 8 Hz, H-5 cytosine), 4,63 (s, HDO), 4,5 à 3,5 (massifs de multiplets non différenciés); spectre de masse : *m/e* 241 (5,66%, $M^+ - NH_2$), 222 (15%), 215 (11,3%), 205 (5,66%), 199 (9,43%), 197 (15,1%), 185 (30,1%), 167 (11,3%), 156 (13,2%), 155 (100%, ion C+H), 150 (9,4%), 136 (92,4%, ion A+2H), 125 (67,2%, ion A+H), 112 (99,9%, ion B+2H), 111 (20,7%, ion B+H).

Anal. Calc. pour $C_{10}H_{15}N_3O_5$: C, 46,69; H, 5,58; N, 16,31. Trouvé : C, 46,48; H, 6,14; N, 15,95.

REMERCIEMENT

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 essais biologiques.

RÉFÉRENCES

- 1 J. DEFAYE, M. NAUMBERG ET T. REYNERS, *J. Heterocycl. Chem.*, 6 (1969) 229.
- 2 J. DEFAYE ET T. REYNERS, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 50 (1968) 1625; M. BOBEK ET J. FARKAŠ, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 34 (1969), 1684; R. VINCE ET J. DONOVAN, *J. Med. Chem.*, 12 (1969) 175; J. A. MONTGOMERY ET K. HEWSON, *J. Heterocycl. Chem.*, 7 (1970) 443.
- 3 J. DEFAYE ET M. NAUMBERG, *XXIst I.U.P.A.C. Symp. Chem. Nucleic Acid Components*, Prague, 1967, abstr. N-32.
- 4 J. DEFAYE ET J. P. GAPAIS, résultats non publiés.
- 5 A. B. FOSTER ET W. G. OVEREND, *J. Chem. Soc.*, (1951) 1132.
- 6 E. FALCH, *Acta Chem. Scand.*, 24 (1970) 137.
- 7 H. EAGLE, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 89 (1955) 362.
- 8 F. C. JENSEN, A. J. GIRARDI, R. V. GILDEN ET H. KOPROWSKI, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 52 (1964) 53.
- 9 A. B. FOSTER ET W. G. OVEREND, *J. Chem. Soc.*, (1951) 680.