

CÉTODÉSOXYHEXOSYLPURINES SYNTHÈSE ET PROPRIÉTÉS DE DERIVÉS CÉTONIQUES DE LA 7-(β -L-FUCOPYRANOSYL)THÉOPHYLLINE*

K. ANTONAKIS

Institut de Recherches Scientifiques sur le Cancer du C.N.R.S., 94-Villejuif (France)

(Reçu le 1 novembre 1971, accepté après modification le 10 décembre 1971)

ABSTRACT

Catalytic fusion of 1,2,3,4-tetra-*O*-acetyl-L-fucose with theophylline gave 7-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-deoxy- β -L-galactopyranosyl)theophylline (**1**) which was deacetylated with sodium methoxide to give 7-(6-deoxy- β -L-galactopyranosyl)theophylline (**2**), further transformed by selective condensation with acetone into 7-(6-deoxy-3,4-*O*-isopropylidene- β -L-galactopyranosyl)theophylline (**3**). Oxidation of **3** employing a modified Pfitzner-Moffatt procedure led to 7-(6-deoxy-3,4-*O*-isopropylidene- β -L-*lyxo*-hexopyranosulosyl)theophylline (**5**). However, treatment of **3** with dimethyl sulfoxide-acetic anhydride according to the procedure used for deoxy hexoses gave only the 2'-*O*-acetyl analog **4**. Treatment of **5** with alkali showed it to be more stable than 2'-ketouridine or 2'-ketocytidine. Finally, *in vivo* biological assays showed that 7-(6-deoxy- β -L-*lyxo*-hexopyranosulosyl)theophylline (**7**) inhibits cellular growth, whereas the nucleoside **2** is inactive before oxidation.

SOMMAIRE

La 7-(2,3,4-tri-*O*-acétyl-6-déoxy- β -L-galactopyranosyl)théophylline (**1**) a été obtenue par fusion catalytique du 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl-L-fucose avec la théophylline. La désacétylation de **1** par le méthoxyde de sodium a conduit à la 7-(6-désoxy- β -L-galactopyranosyl)théophylline (**2**), sur laquelle on a fixé sélectivement un groupe isopropylidène pour arriver à la 7-(6-désoxy-3,4-*O*-isopropylidène- β -L-galactopyranosyl)théophylline (**3**). L'oxydation du désoxy nucléoside protégé **3** par le réactif de Pfitzner-Moffatt a permis d'obtenir la 7-(6-désoxy-3,4-*O*-isopropylidène- β -L-*lyxo*-hexopyranosulosyl)théophylline (**5**) après modification de la méthode, mais le traitement de ce même nucléoside **3** avec le mélange diméthyl sulfoxyde-anhydride acétique, suivant les conditions établies pour les désoxyhexoses, a conduit uniquement au 2'-*O*-acétylnucléoside correspondant **4**. L'étude de l'action des alcalis sur le composé **5** a montré que ce 2'-cétonucléoside est nettement plus stable que les dérivés de la céto-uridine et de la céto-cytidine. Enfin, des essais *in vitro* ont montré que cette 7-(6-désoxy- β -L-*lyxo*-hexopyranosulosyl)théophylline (**7**) inhibe la croissance cellulaire tandis qu'aucune activité n'a été décelée pour le nucléoside **2** avant l'oxydation.

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

INTRODUCTION

Des 2'- et 3'-cétonucléosides ont été obtenus par oxydation de pentosyl-pyrimidines et -purines protégées, avec différents systèmes oxydants³⁻⁵. Le diméthyl sulfoxyde activé par le *N,N*-dicyclohexylcarbodiimide et en présence de trifluoracetate de pyridinium⁷ a permis récemment à notre laboratoire⁸ d'effectuer la première synthèse d'une 2'-cetoxyhexosylpurine. Jusqu'à présent les tentatives d'oxydation de désoxynucléosides protégés ont échoué en raison d'un rapide clivage de la liaison glycosidique sans que l'on réussisse à détecter les cétones intermédiaires^{3,4,6}. Par contre l'étude de l'oxydation des groupes hydroxyles secondaires de désoxyhexosylpurines n'avait pas été rapportée.

Le présent travail décrit la première synthèse et les propriétés d'une désoxyhexosulosylpurine obtenue par oxydation d'une 6'-désoxyhexosylpurine¹. Il s'inscrit en outre dans le cadre d'une étude sur les nucléosides « modifiés » dérivant des 6-désoxyhexoses et constitue une extension de nos travaux sur l'oxydation de désoxyhexoses² et de nucléosides d'hexoses⁸. Le réactif de Pfitzner-Moffatt a été utilisé pour cette oxydation mais l'isolement du cétodesoxynucléoside a été réalisé par distillation sous vide puisse du mélange réactionnel et recristallisation. Ainsi l'utilisation de l'acide oxalique pour la destruction de la *N,N*'-dicyclohexylcarbodiimide et les lavages avec des solutions d'hydrogénocarbonate de sodium ont été évités.

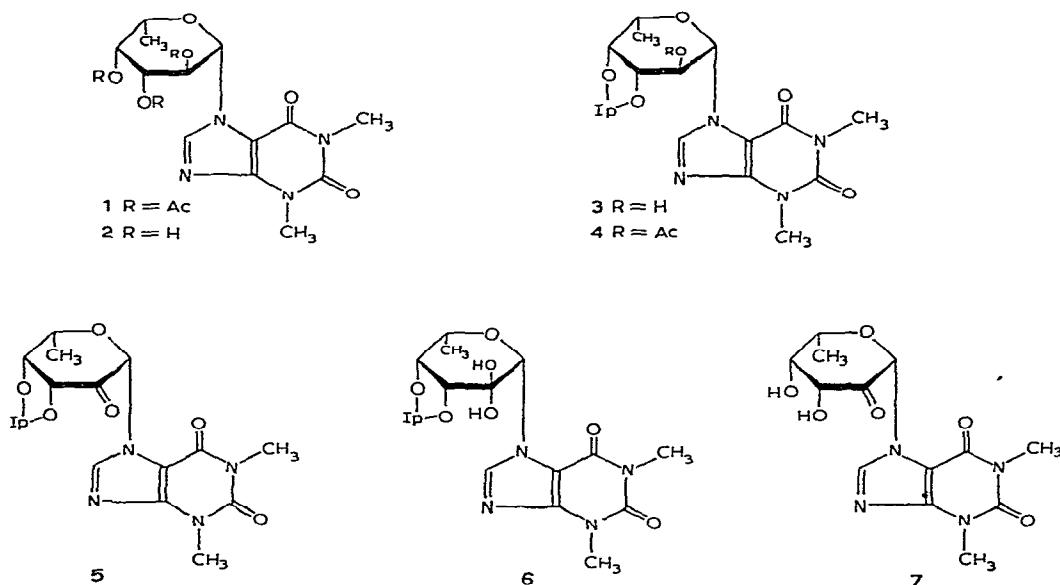
Les propriétés de ce cétodesoxynucléoside ont été étudiées, spécialement la formation d'hydrate et l'hydrolyse alcaline et acide. Le nouveau cétonucléoside s'est révélé nettement plus stable que les 2'- et 3'-cétonucléosides^{3,4} en milieu alcalin, et suffisamment stable en milieu acide pour permettre l'élimination complète du groupe isopropylidène sans clivage glycosidique. Enfin, les résultats des essais biologiques ont montré que cette désoxyhexosulosylpurine inhibe la croissance de certaines cellules à la dose de 0,7 mg/ml (cancéreuses KB et normales M 1368), tandis qu'aucune inhibition n'est observée avec la désoxyhexosylpurine^{1,5}.

RÉSULTATS

La 7-(2,3,4-tri-*O*-acetyl-6-désoxy- β -L-galactopyranosyl)théophylline (**1**) a été obtenue par fusion catalytique du 1,2,3,4-tétra-*O*-acetyl-L-fucopyranose avec la théophylline et en présence du complexe étherique du trifluorure de bore comme catalyseur. Ce catalyseur a donné de bien meilleurs rendements que l'iode tandis que l'acide *p*-toluenesulfonique a conduit à un mélange d'isomères difficilement séparables par chromatographie.

La configuration anomérique de **1** a été établie d'après le spectre ^1H mesuré dans du chloroforme-*d*. La forte constante de couplage pour les protons H-1, et H-2, $J_{1,2} = 9$ Hz, indique¹⁰ que ces protons occupent une position *trans*-diaxiale. Dans le cas du L-fucose ceci est possible seulement pour l'anomère β dans la conformation **IC**¹¹. Par ailleurs le spectre ^1H présente une absorption maximum à 275 nm, qui est identique à celle des 7-(L-rhamnopyranosyl)théophyllines^{1,3} et qui indique que la

substitution se fait en C-7, comme il a toujours été constaté dans le cas des nucléosides de la théophylline^{13 14}



La désacétylation de **1** avec du méthoxyde de sodium dans le méthanol anhydre a conduit à la L-fucosylthéophylline (**2**) sans que le reste de la molécule soit affecté, ce qui permet l'isolement de **2** avec des rendements presque quantitatifs. Le traitement de **2** avec de l'acétone contenant 1% (v/v) d'acide sulfurique concentré dans les conditions qui ont été décrites pour le méthyl 3,4-O-isopropylidène-β-L-fucopyranoside¹² a donné la 7-(6-desoxy-3,4-O-isopropylidène-β-L-galactopyranosyl)théophylline (**3**) avec des rendements satisfaisants. Dans le spectre *rmn* le proton H-1 apparaît comme un doublet avec une constante $J_{1,2}$, 6,5 Hz.

L'oxydation de ce composé **3** avec le système diméthyl sulfoxide-*N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide-pyridine-acide trifluoracétique⁷ à la température ordinaire nous a permis d'arriver au cétonucleoside **5** voulu, que nous avons isolé à l'état cristallin après distillation du mélange réactionnel. L'analyse élémentaire et le spectre *rmn* ont montré qu'il s'agissait de la pure forme cétonique et non du *gem*-diol. Aussi il n'y a pas dans le spectre *1r* de bande d'absorption caractéristique du groupe hydroxyle, mais un pic important à 1745 cm⁻¹ dû au groupe cétonique. Le spectre *rmn* indique clairement l'absence du proton H-2'. Tandis que pour l'alcool **3** le proton H-1 apparaît comme un doublet à 5,87 p.p.m. avec $J_{1,2}$, 6,5 Hz, dans le cas du cétonucleoside **5** le signal du proton anomérique est un singulet à 6,70 p.p.m. L'étude de l'hydratation de ce nucléoside cétonique **5** a pu être effectuée dans un mélange acétone-eau par des mesures polarimétriques, comme avec les dérivés de la 7-(3-O-méthyl-β-D-arabino-hexopyranosyl)théophylline⁸. L'hydrate **6** a été isolé après

évaporation des solvants et recristallisation dans l'éthanol. Par chauffage sous vide et à 105° on a pu réobtenir le dérivé cétonique 5 à l'état pur

Des essais entrepris pour oxyder ce nucléoside 3 avec le mélange diméthyl sulfoxyde-anhydride acétique ont abouti au dérivé 2'-acétyl 4 et aucune trace de dérivés cétoniques n'a pu être détectée par chromatographie

Le traitement de 5 avec une solution méthanolique d'hydroxyde de sodium 10mm provoque une très lente décomposition du cétonucléoside. Nous avons pu montrer par des études chromatographiques (couches minces) que ce composé était nettement plus stable que les céto-uridine³ et -cytidine⁴ dans les mêmes conditions. Ces dernières se décomposent rapidement dans la solution méthanolique d'hydroxyde de sodium 10mm tandis que la fucosulosylthéophylline 5 commence à se décomposer après 5 min de réaction (déttection de la théophylline libre), le temps de demi-réaction étant d'une heure.

L'hydrolyse acide a également été étudiée chromatographiquement en vue de déterminer les conditions de l'hydrolyse sélective du groupe isopropylidène. On a trouvé que l'acide chlorhydrique 0,1M à la température ordinaire provoque l'élimination du groupe isopropylidène au bout de 5 h, sans clivage glycosidique, même après 20 h de réaction. Nous n'avons pas constaté de libération de base. Ainsi, le céto-désoxynucléoside 7 a pu être obtenu à l'état cristallin avec un rendement de 80% à partir de 5.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Méthodes générales — Les solutions ont été évaporées sous vide à une température inférieure à 50°. Les points de fusion ont été mesurés au microscope sur platine de Leitz et ne sont pas corrigés. La chromatographie sur couche mince (c c m) de gel de silice a été effectuée dans le système (A) acétate d'éthyle-pentane 3 1 (v/v), les produits ont été détectés par leur absorption dans l'u v ou par pulvérisation avec une solution d'acide sulfurique (30%) suivie d'un chauffage à 120°. La chromatographie sur papier (c p) Whatman N° 1 a été effectuée suivant la technique ascendante dans le système (B) (alcool butylique-eau, satur), les chromatogrammes étant révélés sous lumière u v ou par des vapeurs d'iode. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés avec un polarimètre « Quick » de Roussel et Jouan. Les spectres i r ont été mesurés avec un spectrophotomètre Perkin-Elmer Modèle 137. Les spectres r m n ont été établis en solution dans le chloroforme-*d* à la fréquence de 60 MHz sur un appareil Varian. Seules les caractéristiques spectrales significatives pour la détermination de la structure sont citées; le reste est toujours compatible. Les microanalyses élémentaires ont été réalisées par le Laboratoire Central de Microanalyse du C N R S.

7-(2,3,4-Tri-O-acétyl-6-désoxy-β-L-galactopyranosyl)théophylline (1) — Le 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl-L-fucose⁹ (1,60 g, 48 mmoles) et la théophylline (800 mg, 44,5 mmoles) ont été fondus ensemble à une température de 165° (bain d'huile). Au mélange on a ajouté 2 ou 3 gouttes du complexe éthéré de trifluorure de bore et la fusion a été continuée pendant 10 min, à la température de 165-170°, sous pression.

réduite Le mélange réactionnel a été extrait à l'aide de chloroforme et la solution chloroformique évaporée Le produit brut a été dissous dans l'acétate d'éthyle et la solution placée au sommet d'une colonne ($2,5 \times 50$ cm) de gel de silice (Merck, 70-325 mesh) L'élution a été effectuée avec de l'acétate d'éthyle par fractions de 3 ml Les mesures ont été effectuées à l'aide du polarimètre et des fractions 45 à 80, correspondant au 2^e pic, nous avons obtenu une huile, après évaporation des solvants La cristallisation a été effectuée dans une faible quantité d'acétate d'éthyle (2,2 g, 49%), p_f 238-239°; $[\alpha]_D^{20} -20^\circ$ (*c* 0,1, méthanol, spectre u_v : $\lambda_{max}^{H_2O}$ 275 nm (*ε* 9 700); $c c m$: R_F 0,5; $c p$: R_F 0,85; $r_m n \cdot \delta$ 5,69 (H-1, doublet, $J_{1',2}$ 9,0 Hz)

Anal. Calc pour $C_{19}H_{23}N_4O_9 \cdot C$, 50,43; H, 5,54, N, 12,41 Trouvé : C, 50,63, H, 5,39, N, 12,55

7-(6-Désoxy- β -L-galactopyranosyl)théophylline (2) — Une solution de triacétate **1** (2 g, 44 mmoles) et de méthoxyde de sodium (54 mg, 1 mmole) dans du méthanol anhydre (100 ml) a été agitée pendant 2 h à la température ambiante Après neutralisation à l'aide de résine Amberlite IR 120 (H^+), filtration et évaporation des solvants, le sirop obtenu a été cristallisé dans du méthanol contenant 10% d'eau (1,40 g, 43 mmoles), p_f 272-273°, $[\alpha]_D^{20} -1^\circ$ (*c* 0,1, eau), $c c m$: R_F 0,1, $c p$: R_F 0,46.

Anal. Calc pour $C_{13}H_{18}N_4O_6$: C, 47,95, H, 5,52, N, 17,18 Trouvé C, 47,93; H, 5,49; N, 17,31.

7-(6'-Désoxy-3,4-O-isopropylidène- β -L-galactopyranosyl)théophylline (3) — Une solution de **2** (3,2 g, 10 mmoles) dans 320 ml d'acétone anhydre contenant 3 ml d'acide sulfurique conc est agitée pendant 6 h La solution jaune est neutralisée avec de l'hydroxyde de sodium *M* et filtrée. Après évaporation du filtrat on ajoute de l'éthanol et la solution est filtrée à nouveau Une deuxième évaporation conduit à une huile qui cristallise dans l'éthanol (2,20 g, 6 mmoles), p_f 186-187°, $[\alpha]_D^{20} -30^\circ$ (*c* 0,1 méthanol); $c c m$: R_F 0,26, $c p$: R_F 0,8; spectre $r_m n \cdot \delta$ 5,87 (H-1, doublet, $J_{1',2}$ 6,5 Hz)

Anal. Calc pour $C_{16}H_{22}N_4O_6$ C, 52,48, H, 6,02; N, 15,32 Trouvé C, 52,75; H, 6,10, N, 15,85

7-(2-O-Acétyl-6-désoxy-3,4-O-isopropylidène- β -L-galactopyranosyl)théophylline (4) — Le dérivé isopropylidène **3** (0,4 g, 1,1 mmoles) a été dissous dans du diméthyl sulfoxyde (6 ml) et de l'anhydride acétique (4 ml) et maintenu pendant 20 h à la température ambiante Les cristaux qui ont apparu pendant cette réaction ont été filtrés Le filtrat a été évaporé sous vide (5×10^{-2} mm/Hg) à 80° et l'huile obtenue a facilement cristallisé dans l'éthanol (330 mg, 83%) Les cristaux ainsi obtenus étaient identiques à ceux qui se sont formés spontanément dans le milieu réactionnel (mêmes constantes et mêmes spectres, point de fusion de mélange inchangé), p_f 238° (subl 230°); $[\alpha]_D^{20} -65^\circ$ (*c* 0,1, chloroforme), $c c m$: R_F 0,48; $c p$: R_F 0,87.

Anal. Calc pour $C_{18}H_{24}N_4O_7$ C, 52,95, H, 5,89, N, 13,75 Trouvé C, 52,97; H, 5,84; N, 14,07

7-(6-Désoxy-3,4-O-isopropylidène- β -L-lyxo-hexopyranosulosyl)théophylline (5) — Le dérivé isopropylidène **3** (0,4 g, 1,1 mmoles) a été dissous dans du diméthyl sulfoxyde anhydre (8 ml) contenant de la *N,N*-dicyclohexylcarbodimide (700 mg,

3,4 mmoles) et de la pyridine (80 mg, 1 mmole). On a ajouté de l'acide trifluoracétique (58 mg, 0,5 mmole) et le mélange a été maintenu pendant 22 h à la température ordinaire. Le précipité formé a été alors filtré, lavé avec un peu de diméthyl sulfoxyde et le filtrat distillé sous un vide poussé de 2×10^{-2} mm/Hg, la température du bain étant de 80°. L'huile résiduelle a été dissoute dans l'acétate d'éthyle, filtrée et le solvant évaporé. Le sirop ainsi obtenu a cristallisé dans l'éthanol (200 mg, 50%), p.f. 198–200° (subl. 193°), $[\alpha]_D^{20} +40^\circ$ (c 0,1, acétone), c.c.m. R_F 0,39, c.p. R_F 0,88; spectre r.m.n. δ 6,70 (H-1 singulet).

Anal. Calc pour $C_{16}H_{20}N_4O_6$ C, 52,75, H, 5,48, N, 15,38 Trouvé C, 52,72, H, 5,73; N, 15,35

Les cristaux ainsi obtenus ont été dissous dans l'acétone contenant 10% d'eau. Après 10 h à la température ambiante, on a évaporé les solvants sous vide et l'huile a été reprise dans de l'éthanol, on a ainsi isolé l'hydrate 6, p.f. 201–205°, $[\alpha]_D^{20} -20^\circ$ (c 0,1, acétone).

Anal. Calc pour $C_{16}H_{22}N_4O_7$ C, 50,23, H, 5,78, N, 14,70 Trouvé C, 50,95; H, 5,70, N, 15,00

7-(6-Désoxy- β -L-lyxo-hexopyranosulosyl)théophylline (7) — Dans une solution de cétonucleoside 5 (0,3 g, 0,79 mmoles) dans du méthanol (10 ml) on ajoute 10 ml d'acide chlorhydrique 0,1M. On laisse à la température ambiante pendant 4,5 h, neutralise avec de la résine Amberlite IR 45 (OH^-), filtre et concentre. L'huile résiduelle donne dans du méthanol un produit semi-cristallin pur, (0,20 g, 75%), p.f. 262–270°, $[\alpha]_D^{20} -30^\circ$ (c 0,1, acétone), c.c.m. R_F 0,096, c.p. R_F 0,56

Anal. Calc pour $C_{13}H_{16}N_4O_6$ C, 48,15, H, 4,94, N, 17,29 Trouvé C, 48,15, H, 4,95, N, 17,17

RÉFÉRENCES

- 1 K. ANTONAKIS ET M. J. ARVOR, *Compt. Rend., Ser. C*, 272 (1971) 1982
- 2 K. ANTONAKIS, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, (1968) 2972, (1969) 122
- 3 A. F. COOK ET J. G. MOFFATT, *J. Amer. Chem. Soc.*, 89 (1967) 2697
- 4 U. BRODBECK ET J. G. MOFFATT, *J. Org. Chem.*, 35 (1970) 3552
- 5 A. ROSENTHAL, M. SPRINZL ET D. A. BAKER, *Tetrahedron Lett.*, (1970) 4233
- 6 R. F. BUTTERWORTH ET S. HANESSIAN, *Synthesis*, (1971) 70 et réf. citées
- 7 K. E. PFTZNER ET J. G. MOFFATT, *J. Amer. Chem. Soc.*, 85 (1963) 3027, 85 (1965) 5661, 87 (1965) 5670
- 8 K. ANTONAKIS ET F. LECLERCQ, *Compt. Rend., Ser. C*, 271 (1970) 1197, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, (1971) 2142
- 9 B. ISELIN ET T. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 27 (1944) 1200
- 10 L. D. HALL, *Advan. Carbohydr. Chem.*, 19 (1965) 51
- 11 L. V. FISCHER, W. W. LEE ET L. GOODMAN, *J. Heretocycl. Chem.*, 6 (1969) 949
- 12 O. T. SCHMIDT, W. MAYER ET A. DISTELMAIER, *Ann.*, 555 (1934) 26
- 13 K. ONODERA, S. HIRANO ET F. MASUDA, *Carbohydr. Res.*, 7 (1968) 27
- 14 J. A. MONTGOMERY ET H. J. THOMAS, *Advan. Carbohydr. Chem.*, 17 (1962) 301, F. W. LICHTENTHALER ET T. NAKAGAWA, *Chem. Ber.*, 100 (1967) 1833 et réf. citées
- 15 K. ANTONAKIS ET I. CHOUROULIKOV, *Compt. Rend., Ser. D*, 273 (1971) 2661