

**Note**

**Homoanalogues des aldonanosyl-nucléosides. VII\*. 1-(6-Aminopurin-9-yl)-3,6-anhydro-1-désoxy-D-mannitol et 6-(6-aminopurin-9-yl)-1,4-anhydro-6-désoxy-D-glucitol†**

GIUSEPPE GIOVANNINETTI, LUCIANO NOBILE, ALDO ANDREANI, ANNA FERRANTI, MICHELE AMOROSA  
*Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, Università di 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 31 juillet 1972; accepté le 27 octobre 1972)

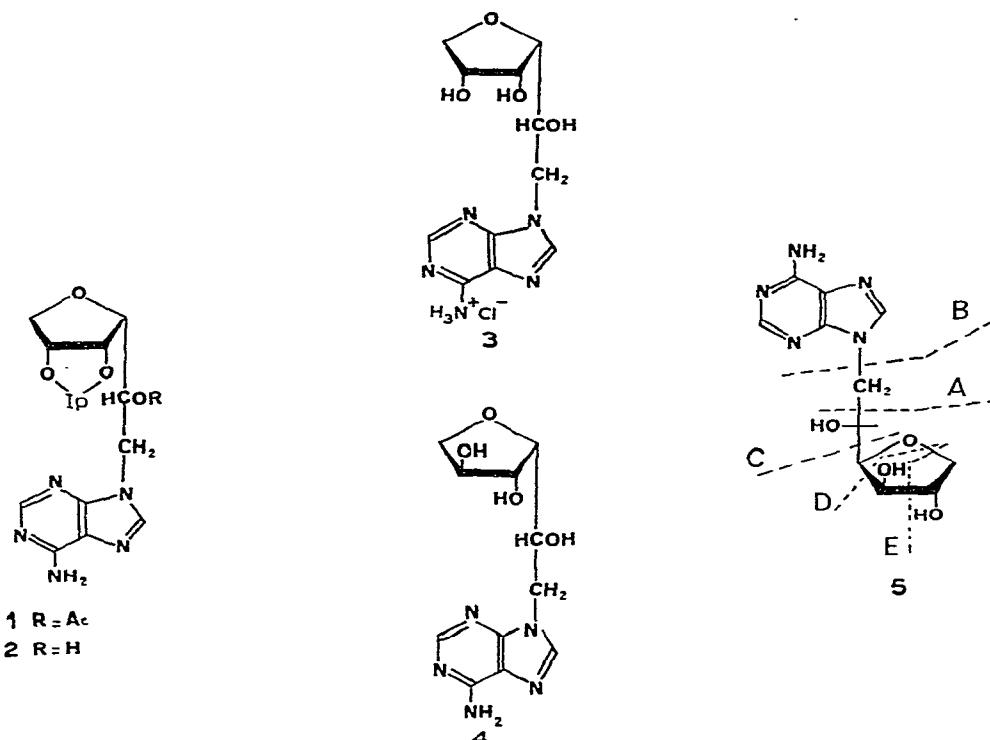
Des travaux récents<sup>1,2</sup> ont rapporté la préparation de bis-homoanalogues pyrimidiques des  $\beta$ -L-thréofuranosyl- et  $\alpha$ -D-érythrofuranosyl-nucléosides. Le présent rapport, qui se situe dans le même cadre de recherche, a pour objet l'accès aux analogues puriques correspondants.

On sait que, indépendamment des méthodes classiques de synthèse des nucléosides puriques<sup>3</sup>, qui supposent un substrat électrophile particulièrement réactif — cas des halogénures de glycoside — l'accès aux dérivés N-9 substitués de l'adénine peut être réalisé, soit par formation du système hétérocyclique azoté en partant d'un précurseur alkyl-amine primaire<sup>4</sup>, soit par alkylation directe de la base nucléique préformée<sup>5</sup>. Cette dernière méthode, qui utilise le sel de sodium de l'adénine, conduit parfois<sup>6</sup> à des mélanges de dérivés N-3 et N-9 substitués où prédomine généralement ce dernier composé. Malgré ce risque c'est cette méthode qui a été utilisée dans le présent travail.

Le substrat électrophile était dans les deux cas le sulfonate primaire dérivé respectivement des 3,6-anhydro-D-mannitol et 1,4-anhydro-D-glucitol. Dans le premier cas, c'est un dérivé entièrement substitué qui a été utilisé, le 2-O-acétyl-3,6-anhydro-4,5-O-isopropylidène-1-O-p-tolylsulfonyl-D-mannitol<sup>2,7</sup>. L'action de ce composé sur un léger excès du sel de sodium de l'adénine<sup>5</sup> dans la *N,N*-diméthyl-formamide, à 60° pendant 22 h, conduit à la disparition complète du sulfonate de départ. La séparation chromatographique du mélange obtenu permet d'isoler, avec un rendement de 24%, le dérivé purique attendu 1 à côté du dérivé dé-O-acétylé correspondant 2 (22%) et d'un troisième composé qui n'a pas été identifié. La con-

\*Pour la sixième partie, voir la Réf. 1.

†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).



firmation de structure des dérivés puriques **1** et **2** résulte notamment des mesures en spectrométrie de masse qui, outre les ions moléculaires toujours présents, montre les fragmentations séquentielles usuelles<sup>1,2,8</sup> pour ce type de dérivés, et notamment A,A + H, C et B + H (**5**). De même, les spectres de r.m.n. de ces deux dérivés sont en accord avec la structure attendue. L'hydrolyse acide des radicaux protecteurs sur le dérivé protégé **1** a conduit au bis-homoanalogue **3** isolé sous la forme de son chlorhydrate.

La préparation du dérivé purique isomère **4**, dérivé du 1,4-anhydro-D-glucitol, a été réalisée en partant d'un dérivé non protégé, le 1,4-anhydro-6-*O*-*p*-tolylsulfonyl-D-glucitol<sup>9</sup>. L'utilisation de la méthode précédente d'alkylation directe<sup>5</sup> a conduit avec un rendement de 40% à l'analogue purique attendu **4**, isolé après purification sur colonne de cellulose et qui, par addition d'acide chlorhydrique dans l'éthanol, fournit le chlorhydrate correspondant.

Le spectre de masse des analogues nucléosidiques **3** et **4** confirme bien, grâce à la fragmentation séquentielle précédemment mentionnée (**5**), les structures globales postulées. On remarque que, de façon générale, toute la fragmentation observée concerne le résidu tétrahydrofurannique et que celle-ci est gouvernée par le réarrangement préalable sur la base d'hydrogènes mobiles provenant du résidu anhydropolyol. L'alkylation en N-9 de la purine est confirmée en r.m.n. par la différence de déplacement chimique entre les protons en C-2 et C-8 de la base<sup>10</sup> qui, dans l'oxyde de deutérium, est respectivement de 5 et 6 Hz pour les composés **3** et **4**. Ce point a par ailleurs

pu être confirmé par l'insensibilité relative du spectre ultra-violet de ces analogues aux variations de pH<sup>10</sup>.

L'activité antivirale\* a été mesurée sur des cellules de carcinome humain de type KB, infectés par environ 100 DL<sub>50</sub> respectivement de virus à RNA (*parainfluenza* type 3), et de virus à DNA (virus de la vaccine, souche IHD). Les composés 3 et 4 n'ont montré aucune activité cytotoxique ni antivirale à la dose de 100 µg par ml de culture. De même, le développement des cellules tumorales n'a pas été inhibé.

#### PARTIE EXPÉRIMENTALE

*Méthodes générales.* — Les solutions ont été concentrées sous pression réduite à des températures ne dépassant pas 50°. La pureté de tous les dérivés substitués a été vérifiée par chromatographie sur couche mince (c.c.m.) de gel de silice Merck, variété G ou HF 254 avec les systèmes de solvants benzène-acétone, 7:3, v/v (Solvant 1), chloroforme-méthanol, 9:1, v/v (Solvant 2), acétone-acétate d'éthyle, 1:1, v/v (Solvant 3). La chromatographie sur couche mince des analogues libres a été réalisée sur plaques de cellulose Merck F 254 avec les systèmes de solvants éthanol-eau, 1:1, v/v (Solvant 4), 1-butanol saturé d'eau (Solvant 5). La chromatographie sur papier (Whatman n° 1) a été utilisée dans le cas des analogues libres (Solvant 1-butanol-acide acétique-eau, 4:1:5, v/v, phase organique). Dans tous les cas, et sauf indication contraire, les systèmes de détection étaient l'acide sulfurique dilué (gel de silice G) ou l'examen en lumière u.v. (λ 254 nm). Le cours des réactions a été suivi par c.c.m. 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 (Zurich) ou par le Service Central de Microanalyse du C.N.R.S. (Thiais). Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés sur polarimètre Polar-tronic Schmidt et Haensch. Les spectres de r.m.n. ont été établis en solution dans le diméthyl sulfoxyde-*d*<sub>6</sub> pour les dérivés substitués, ou dans l'oxyde de deutérium pour les analogues libres, à 60 MHz par Madame Marais ou à 100 MHz par Monsieur Nardin; les déplacements chimiques dans le diméthyl sulfoxyde ont été mesurés en δ par rapport au signal du benzène (δ 7,37) ou par rapport au signal du sel de sodium de l'acide 3-triméthylsilylpropionique-2,2,3,3-*d*<sub>4</sub> (δ 0) dans l'oxyde de deutérium. Les s.m. 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 5; la tension d'ionisation est de 70 eV. Les spectres d'absorption u.v. ont été mesurés par Madame Bouhet sur un appareil Beckman DK 2A.

*2-O-Acetyl-1-(6-aminopurin-9-yl)-3,6-anhydro-1-désoxy-4,5-O-isopropylidène-D-mannitol (1) et 1-(6-aminopurin-9-yl)-3,6-anhydro-1-désoxy-4,5-O-isopropylidène-D-mannitol (2).* — Une suspension d'adénine (3,11 g, 23 mmoles) dans la *N,N*-diméthyl-

\*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.

formamide anhydre (80 ml) est additionnée d'hydrure de sodium (en dispersion à 50 % dans l'huile, 1,58 g, 33 mmoles) et le mélange est agité à température ambiante et sous atmosphère d'azote pendant 1 h. Le 2-*O*-acétyl-3,6-anhydro-4,5-*O*-isopropylidène-1-*O*-*p*-tolysulfonyl-D-mannitol<sup>1</sup> (8,01 g, 20 mmoles) est alors ajouté par petites portions et le mélange réactionnel porté à 60° pendant 22 h, jusqu'à disparition (c.c.m., Solvant 1) du sulfonate. Après refroidissement, la solution est filtrée et la partie insoluble lavée par la *N,N*-diméthylformamide. Le filtrat et les eaux de lavage, concentrés sous pression réduite, fournissent un résidu semi-solide qui est dissous dans le méthanol aqueux (1:1) et débarrassé des cations par passage sur une colonne de résine échangeuse Merck type IV. La concentration de la solution conduit à un résidu semi-solide (~8 g) qui contient de l'adénine et deux autres composants (c.c.m., Solvant 2). Ce mélange est séparé sur une colonne de gel de silice (Solvant 2); 420 ml d'éluant permettent d'éliminer les impuretés colorées; le passage supplémentaire de 500 ml de solvant élue un composé incolore (1,7 g, 24 %), qui cristallise dans le méthanol sous forme de lamelles et qui a été identifié au dérivé purique attendu 1, p.f. 224–225°,  $[\alpha]_D^{28} -43,3^\circ$  (*c* 0,50, diméthyl sulfoxyde); spectre u.v. :  $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$  260 nm ( $\epsilon$  17 400); s.m. : *m/e* 363 (5) M<sup>+</sup>, 348 (4) M<sup>+</sup> – 15, 320 (2), 319 (3), 305 (2) M<sup>+</sup> – (Me)<sub>2</sub>CO, 304 (6), 303 (7) M<sup>+</sup> – MeCO<sub>2</sub>H, 246 (5), 245 (10), 228 (15), 188 (12), 178 (25) fragment C, 169 (42), 149 (18) ion A + H, 148 (22) ion A, 136 (25) ion B + H, 78 (32), 43 (100); r.m.n. (100 MHz, diméthyl sulfoxyde-*d*<sub>6</sub>) :  $\delta$  8,22 et 8,02 (2 s, 2 protons, H-2 et H-8 purine), 5,34 (m, H-2'), 4,80 et 4,65 (2 protons AB de ABX H-4' et H-5',  $J_{AB}$  6 Hz,  $J_{AX} = J_{BX}$  3,3 Hz), 4,37 (d de d, H-1'a,  $J_{1'a,1'b}$  15 Hz,  $J_{1',2'}$  6 Hz), 4,01 (d, H-6'a,  $J_{ab}$  10,5 Hz), 3,49 (m, partiellement masqué par le pic dû à DHO à 3,46 p.p.m., 1,88 (s, 3 protons, OAc), 1,40 et 1,24 (2 s, 6 protons Me<sub>2</sub>-C).

*Anal.* Calc. pour C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub> : C, 52,88; H, 5,83; N, 19,28. Trouvé : C, 52,82; H, 5,82; N, 19,30.

La poursuite de la chromatographie précédente permet d'éluer (1650 ml de solvant) un solide incolore (1,4 g, 22 %) qui cristallise dans le méthanol sous la forme de cristaux prismatiques et qui a été identifié au dérivé purique 2, p.f. 194–196°,  $[\alpha]_D^{28} -21^\circ$  (*c* 0,428, diméthyl sulfoxyde), spectre u.v. :  $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH-eau } 9:1}$  260 nm ( $\epsilon$  16 700); s.m. : *m/e* 321 (5) M<sup>+</sup>, 306 (24) M<sup>+</sup> – 15, 245 (35), 228 (50), 188 (31), 178 (100) ion C, 169 (74), 149 (35) ion A + H, 148 (56) ion A, 136 (60) ion B + 2 H, 135 (52) ion B + H, 43 (40); r.m.n. (100 MHz, diméthylsulfoxyde-*d*<sub>6</sub>) :  $\delta$  8,24 et 8,10 (2 s, 2 protons, H-2 et H-8 purine), 5,62 (d, OH,  $J$  5 Hz), 4,78–4,65–4,54 et 4,20 (série de multiplets mal différenciés), 3,97 (d, H-6'a,  $J_{ab}$  10,5 Hz), 3,45 (m masqué par le signal de DHO à 3,57 p.p.m.), 1,43 et 1,30 (2 s, 6 protons, Me<sub>2</sub>-C).

*Anal.* Calc. pour C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> : C, 52,53; H, 5,96; N, 21,79. Trouvé : C, 52,20; H, 5,95; N, 21,61.

Un dernier composé (2,6 g) est élut par le méthanol (150 ml). Il cristallise dans le méthanol, est infusible jusqu'à 310°, et n'a pas été identifié.

*Chlorhydrate de 1-(6-aminopurin-9-yl)-3,6-anhydro-1-désoxy-D-mannitol (3).* — Une suspension du dérivé protégé 1 (350 mg) dans l'éthanol (20 ml) est additionnée d'acide chlorhydrique dans l'éthanol (2M, 20 ml) et portée à reflux pendant 1 h. Après

refroidissement, la concentration de la solution sous pression réduite conduit à un résidu solide (0,263 g, 86 %) qui cristallise dans un mélange éthanol-acétate d'éthyle sous forme d'aiguilles incolores, p.f. 138–140°,  $[\alpha]_D^{18} +6,9^\circ$  (*c* 0,37, eau), spectre u.v. :  $\lambda_{\text{max}}^{\text{eau}}$  260 nm (*ε* 17 300),  $\lambda_{\text{min}}^{\text{eau}}$  228 nm (*ε* 2 360),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{HCl 0,1M}}$  258 nm (*ε* 15 000),  $\lambda_{\text{min}}^{\text{HCl 0,1M}}$  231 nm (*ε* 4 900),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOH 0,1M}}$  260 nm (*ε* 18 200),  $\lambda_{\text{min}}^{\text{NaOH 0,1M}}$  228 nm (*ε* 1 900); s.m. : *m/e* 281 (3) M<sup>+</sup>, 263 (5) M<sup>+</sup> – H<sub>2</sub>O, 237 (8) M<sup>+</sup> – 44, 220 (11), 219 (18) M<sup>+</sup> – 62 (fragmentation E), 208 (18) ion D, 190 (15), 178 (100) ion C, 149 (30) ion A + H, 148 (52) ion A, 136 (48) ion B + 2 H, 135 (32) ion B + H, 36–37–38 (HCl); r.m.n. (60 MHz, oxyde de deutérium) : δ 8,46 et 8,40 (2 s, 2 protons, H-2 et H-8 purine), 4,66 (s, DHO), 4,66–3,65 (série de multiplets mal différenciés).

*Anal.* Calc. pour C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>4</sub> : C, 41,57; H, 5,09; Cl, 11,16; N, 22,04. Trouvé : C, 41,41; H, 5,10; Cl, 11,11; N, 21,99.

**6-(6-Aminopurin-9-yl)-1,4-anhydro-6-désoxy-D-glucitol (4).** — Une suspension d'adénine (0,848 g, 6,28 mmoles) dans la *N,N*-diméthylformamide (21 ml) est additionnée d'hydrure de sodium (en dispersion à 50 % dans l'huile, 0,425 g, 9 mmoles), et le mélange est agité à la température ambiante et sous atmosphère d'azote pendant 1 h. Le 1,4-anhydro-6-*O*-*p*-tolylsulfonyl-D-glucitol<sup>9</sup> (1,992 g, 6,28 mmoles) est alors ajouté par petites portions et le mélange réactionnel porté à 85° jusqu'à disparition du sulfonate de départ (1,5 h, c.c.m. gel de silice G, Solvant 3, détection diphenylamine et u.v. à 360 nm). Après refroidissement, la solution, concentrée sous pression réduite, laisse apparaître un résidu semi-solide pour lequel la c.c.m. (cellulose, Solvant 5) indique la présence, à côté d'adénine et d'autres impuretés mineures, d'une tache principale (*R<sub>F</sub>* 0,14). Ce mélange, dissous dans le 1-butanol saturé d'eau (100 ml), est séparé sur une colonne de poudre de cellulose (Schleicher et Schull 123). L'élution par le même solvant (1550 ml) permet d'éliminer l'adénine et d'autres impuretés non identifiées. Une élution ultérieure (1450 ml) permet d'obtenir le composé attendu 4 (700 mg, 39,5 %) sous forme d'un solide homogène en c.c.m. et qui est recristallisé dans le méthanol anhydre, p.f. 243–245°,  $[\alpha]_D^{17} +11^\circ$  (*c* 1,047, diméthyl sulfoxyde); spectre u.v. :  $\lambda_{\text{max}}^{\text{eau}}$  260 nm (*ε* 17 000); s.m. : *m/e* 281 (2) M<sup>+</sup>, 264 (4), 263 (7) M<sup>+</sup> – H<sub>2</sub>O, 246 (3), 237 (10) M<sup>+</sup> – 44, 228 (5), 220 (12), 219 (30) M<sup>+</sup> – 62 (fragmentation E), 208 (19) ion D, 190 (35), 178 (100) ion C, 149 (43) ion A + H, 148 (70) ion A, 136 (57) ion B + 2 H, 135 (43) ion B + H.

*Anal.* Calc. pour C<sub>11</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub> : C, 46,97; H, 5,38; N, 24,90. Trouvé : C, 46,72; H, 5,66; N, 24,49.

L'addition d'acide chlorhydrique 2M dans l'éthanol à une solution éthanolique du dérivé purique précédent 4 conduit au chlorhydrate correspondant qui précipite par addition d'éther et est recristallisé dans un mélange éthanol-acétate d'éthyle, p.f. 261°;  $[\alpha]_D^{17} +2,8^\circ$  (*c* 0,9 eau); spectre u.v. :  $\lambda_{\text{max}}^{\text{eau}}$  260 nm (*ε* 17 600),  $\lambda_{\text{min}}^{\text{eau}}$  231 nm (*ε* 3 527),  $\lambda_{\text{max}}^{\text{HCl 0,1M}}$  258 nm (*ε* 14 000),  $\lambda_{\text{min}}^{\text{HCl 0,1M}}$  232 nm (*ε* 3 691)  $\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOH 0,1M}}$  260 nm (*ε* 11 527),  $\lambda_{\text{min}}^{\text{NaOH 0,1M}}$  231 nm (*ε* 1 511); r.m.n. (60 MHz, oxyde de deutérium) : δ 8,45 et 8,40 (2 s, 2 protons, H-2 et H-8 purine), 4,66 (s, DHO), 4,66–3,60 (multiplets mal différenciés).

*Anal.* Calc. pour C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O : C, 39,34; H, 5,40; Cl, 10,55; N, 20,89. Trouvé : C, 39,35; H, 5,28; Cl, 10,86; N, 20,41.

Ce composé est homogène par chromatographie sur papier (détection u.v. à 254 nm,  $R_F$  0,23).

#### RÉFÉRENCES

- 1 L. NOBILE, G. GIOVANNINETTI, T. POZZO BALBI, M. AMOROSA ET J. DEFAYE, *Carbohyd. Res.*, 24 (1972) 489.
- 2 G. GIOVANNINETTI, L. NOBILE, M. AMOROSA ET J. DEFAYE, *Carbohyd. Res.*, 21 (1972) 320.
- 3 C. A. DEKKER ET L. GOODMAN, dans W. PIGMAN ET D. HORTON (Eds.) Vol. 2a, *The Carbohydrates*, Academic Press, New York, 1970, p. 1.
- 4 J. A. MONTGOMERY ET C. TEMPLE, *J. Amer. Chem. Soc.*, 79 (1957) 5238.
- 5 K. L. CARRAWAY, P. C. HUANG ET T. G. SCOTT, dans W. W. ZORBACH ET R. S. TIPSON (Eds.), *Syn. Procedures Nucl. Acid Chem.*, Interscience, Vol. 1, 1968, p. 3.
- 6 D. T. BROWNE, J. EISINGER ET N. J. LEONARD, *J. Amer. Chem. Soc.*, 90 (1968) 7302.
- 7 A. B. FOSTER ET W. G. OVEREND, *J. Chem. Soc.*, (1951) 1132.
- 8 J. DEFAYE ET T. REYNERS, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 50 (1968) 1625; J. DEFAYE, M. NAUMBERG ET T. REYNERS, *J. Heterocycl. Chem.*, 6 (1969) 229; J. DEFAYE ET Z. MACHON, *Carbohyd. Res.*, 24 (1972) 235.
- 9 A. L. REYMOND ET E. F. SCHROEDER, *J. Amer. Chem. Soc.*, 70 (1948) 2785.
- 10 L. B. TOWNSEND, R. K. ROBINS, R. N. LOEPPKY ET N. J. LEONARD, *J. Amer. Chem. Soc.*, 86 (1964) 5320.