

Note

Synthèse de dérivés de pentos-3-uloses branchés sur le carbone 2. Epoxydation chimique et enzymatique de l'acétal diéthylique du 2-désoxy-4,5-O-isopropylidène-2-C-méthylène-D-glycéro-pentos-3-ulose

JEAN-CLAUDE DEPEZAY, MICHÈLE SANIÈRE ET DANIEL MANSUY

Laboratoire de Chimie de l'École Normale Supérieure, associé au C.N.R.S. et Université René Descartes (Paris V), 24, rue Lhomond, F-75005 Paris (France)

(Reçu le 9 juillet 1982; accepté sous forme modifiée le 1er décembre 1982)

Dans le cadre de l'étude de sucres branchés, nous nous sommes intéressés aux pentos-3-uloses portant un groupement méthylène en C-2. La partie cétone insaturée de ces composés est à l'origine de branchements variés; les époxydations chimique et enzymatique sont le premier type de transformation que nous avons étudié. Les uloses et les époxydes obtenus sont des électrophiles présentant les caractéristiques structurales d'antitumoraux qui réagissent par attaque nucléophile de fonction thiol d'enzyme ou de coenzyme^{1,2}.

Les sucres branchés portant un groupe méthylène en C-2 sont synthétisés par condensation du 1,1-diéthoxy-2-lithio-2-propène avec un aldose dont les fonctions alcools sont protégées. La condensation sur le 2,3-O-isopropylidène-D-glycéraldéhyde conduit aux deux pentoses diastéréoisomères **1** et **2** de configuration absolue (3*S*,4*R*) et (3*R*,4*S*) dans le rapport 7:3 avec un rendement de 70% en produit distillé^{3,4}.

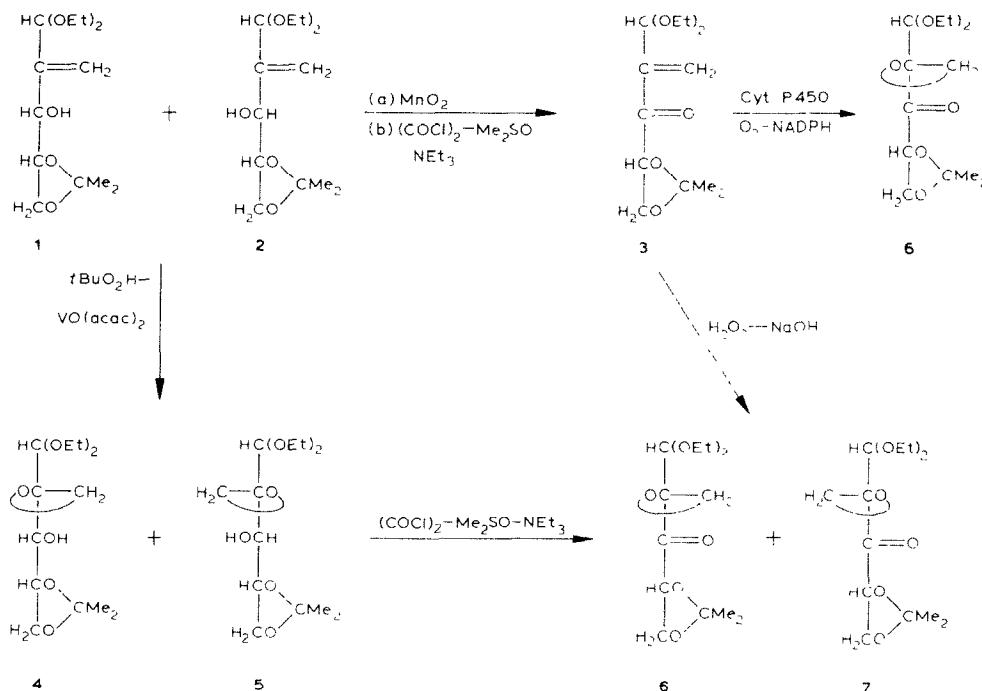
Les acétals diéthyliques du 2-désoxy-4,5-O-isopropylidène-2-C-méthylène-D-*érythro*- **1** et -D-*thréo*-pentose **2** ont été oxydés en uloses selon deux méthodes: (a) L'oxydation par l'oxyde de manganèse activé⁵ nécessite d'effectuer plusieurs recyclages pour obtenir un taux de transformation de 85%. (b) L'oxydation selon Mancuso et Swern⁶ (diméthylsulfoxyde en présence de chlorure d'oxalyle à -60°), peu sensible à l'encombrement stérique, permet d'obtenir directement l'acétal diéthylique du 2-désoxy-4,5-O-isopropylidène-2-C-méthylène-D-glycéro-pentos-3-ulose **3** avec un rendement de 70% en produit distillé.

En préliminaire à l'étude de l'époxydation chimique et enzymatique de **3**, il était nécessaire d'obtenir et de caractériser de façon univoque les époxycétones diastéréoisomères **6** et **7**. L'époxydation selon Sharpless et coll.⁷ d'un mélange 7:3 de **1** et **2** est stéréospécifique et conduit⁸ aux époxyalcools **4** et **5** respectivement de configuration (2*S*,3*R*,4*R*) et (2*R*,3*S*,4*R*) dans les proportions 7:3.

L'oxydation par le diméthylsulfoxyde et le chlorure d'oxalyle -60° du mélange de **3** et **4** donne avec un rendement de 100% les époxycétones correspondantes **6** (2*R*,4*R*) et **7** (2*S*,4*R*) que l'on distingue et caractérise par chromatographie sur colonne de silice et détection par réaction avec l'anthrone et l'acide sulfurique.

graphie capillaire en phase vapeur couplée à un spectromètre de masse (c.p.v.-s.m.).

L'époxydation chimique de **3**, effectuée par un réactif nucléophile (peroxyde d'hydrogène-hydroxyde de sodium) a lieu avec induction asymétrique. Les époxycétones diastéréoisomères sont ainsi obtenues dans le rapport 17:3 avec un rendement quantitatif. La comparaison des études de chromatographie capillaire (c.p.v.-s.m.) effectuées pour les deux voies d'accès aux époxycétones montre que l'époxycétoine majoritaire s'identifie à **6** (*2R,4R*) et la minoritaire à **7** (*2S,4R*).



Le système des monooxygénases hépatiques⁹ qui font intervenir le cytochrome P450 est capable d'effectuer l'époxydation d'alcènes ou d'hydrocarbures aromatiques. Cette réaction s'effectue dans la fraction microsomale de foie de rats et fait intervenir de l'oxygène et du NADPH*, co-substrats nécessaires aux monooxygénases à cytochrome P450. Il était intéressant de savoir si un tel système enzymatique était capable d'époxyder une double liaison électrophile et si cette réaction était stéréospécifique.

L'acétal diéthylique **3** (0,2mM) a été mis à incuber à 37° dans un milieu tamponné à pH 7,4 en présence de cytochrome P450 (2μM) contenu dans les microsomes de foie de rats traités au phénobarbital et d'un système régénérateur de

*Abréviations. NADPH, nicotinamide-adénine-dinucléotide-phosphate, forme réduite NADP^+ , forme oxydée.

NADPH, (NADP⁺, D-glucose-6-phosphate, D-glucose-6-phosphate déshydrogénase). L'étude par chromatographie capillaire (c.p.v.-s.m.) de l'extrait organique brut de réaction obtenu après 10 min d'incubation montre la présence d'une seule époxycétole qui s'identifie à **6** (2*R*,4*R*). Le dosage par chromatographie indique qu'il y a une concentration 12μM de **6**, ce qui correspond à une activité enzymatique de 0,6 nmol/nmol de cytochrome P450/min.

Pour s'assurer que la mise en évidence du seul époxyde stéréoisomère **6** n'est pas due à une décomposition *in situ*, après formation, de l'épimère en **2** **7**, un mélange de **6** et **7** (17:3) préparé par voie chimique a été soumis aux conditions de l'époxydation enzymatique. À la fin du temps d'incubation le mélange de **6** et **7** se retrouve dans des proportions inchangées.

L'époxydation stéréospécifique de la double liaison électrophile conjuguée au groupe carbonyle du substrat chiral **3** a pu ainsi être effectuée par le système des monooxygénases à cytochrome P450 en présence d'oxygène et de NADPH.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Méthodes générales. — Les spectres i.r. ont été enregistrés sur un spectrophotomètre Perkin–Elmer 457. Les spectres de r.m.n.-¹H et -¹³C ont été enregistrés sur les appareils Varian EM-390 ou Cameca 250-MHz pour ¹H et sur Bruker WH-90 (22,93 MHz) pour ¹³C. Les valeurs des déplacements chimiques sont données en δ, le tétraméthylsilane étant pris comme référence. Les chromatographies en phase vapeur sont effectuées sur un appareil Girdel Série 30 muni d'une colonne capillaire (CP Sil 5). Les couplages c.v.p.-s.m. sont effectués sur un appareil Riber 10-10 (colonnes de chromatographie CP Sil 5, 40 m, diam. 0,3 mm interne, épaisseur de film 1 μm). Les analyses ont été effectuées par le Service de Microanalyse de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI).

Acétal diéthylique du 2-désoxy-4,5-O-isopropylidène-2-C-méthylène-D-glycéro-pentos-3-ulose (3). — (a) *Par oxydation avec le bioxyde de manganèse.* Dans une solution du mélange des pentoses diastéréoisomères⁴ **1** et **2** (1,6 g) dans le dichlorométhane (160 mL) sont mis en suspension du bioxyde de manganèse activé (16 g); le mélange est porté au reflux pendant 48 h. Après filtration et évaporation du solvant on obtient une huile (1,4 g) qui contient 40% de produit oxydé **3**, le reste étant du produit de départ. Le composé **3** est séparé par distillation et le produit de départ récupéré est recyclé.

(b) *Par oxydation par le diméthylsulfoxyde.* Sous atmosphère d'azote, à une solution de chlorure d'oxalyle (0,1 mL, 1,1 mmol) dans le dichlorométhane (2,5 mL) est additionnée goutte à goutte à -60° une solution de diméthyl sulfoxyde distillé (0,17 mL, 2,2 mmol) dans le dichlorométhane (0,5 mL). Après 10 min d'agitation, une solution du mélange de **1** et **2** (260 mg, 1 mmol) dans le dichlorométhane (1 mL) est ajoutée goutte à goutte en contrôlant la température à -60°. Après 15 min d'agitation de la triéthylamine (0,7 mL, 5 mmol) est additionnée à -60° et cette température est maintenue pendant 10 min. On laisse remonter

la température jusqu'à 20°. On ajoute de l'eau (5 mL) pour dissoudre le chlorhydrate de triéthylamine formé et ensuite on extrait au dichlorométhane. Après évaporation du solvant, le résidu (240 mg) est distillé et on obtient **3** avec 80% de rendt, p.éb_{13 Pa} 120°, [α]_D²⁰ + 9,3° (c 1,5, dichlorométhane); r.m.n.-¹H [90 MHz, (²H)chloroforme]: δ 6,2 (d, 2 H, CH₂-C), 5,4 (s, 1 H, H-1), 5,05 (t, 1 H, H-4), 4,2 (dd, 2 H, H-5,5'), 3,6 (m, 4 H, 2 OCH₂CH₃), 1,5 [s, 6 H, C(CH₃)₂], 1,3 (t, 6 H, OCH₂CH₃); r.m.n.-¹³C [(²H)chloroforme]: δ 197,3 (C=O), 144,1 (C-CH₂), 125,8 (C-CH₂), 110,7 (CO), 98,5 [CH(OEt)₂], 77,8 (C-4), 68,2, 62,6, 63,1 (C-5, OCH₂CH₃), 25,5, 25,9 (OCH₂CH₃), 15,2 [C(CH₃)₂]; s.m. (intensité rel.); *m/z* 243 (M - 15), 155(15), 127(15), 101(100), 83(50).

Anal. Calc. pour C₁₃H₂₂O₅: C, 60,5; H, 8,6. Trouvé: C, 60,0; H, 9,1.

*Acétal diéthylique du 2,2¹-anhydro-2-désoxy-2-C-hydroxyméthyl-4,5-O-isopropylidène-D-thréo- (**6**) et du -D-érythro-3-pentulose (**7**). — (a) Par oxydation de 2,2¹-anhydro-2-désoxy-2-C-hydroxyméthyl-4,5-O-isopropylidène-D-arabinose (**4**) et -D-xyllose⁸ (**5**). Sous atmosphère d'azote, à une solution de chlorure d'oxalyle (0,1 mL, 1,1 mmol) dans le dichlorométhane (2,5 mL) est additionnée goutte à goutte à -60° une solution de diméthyl sulfoxyde distillé (0,17 mL, 2,2 mmol) dans le dichlorométhane (0,5 mL). Après avoir laissé remonter la température jusqu'à -20°, le mélange⁸ de **4** et **5** (0,5 mmol, 7:3) en solution dans le dichlorométhane (0,5 mL) est ajouté goutte à goutte en maintenant la température à -20° pendant 15 min, puis de la triéthylamine (0,35 mL) est ajoutée. On laisse remonter la température à 20°, puis on hydrolyse et on extrait au dichlorométhane. Après évaporation du solvant on obtient le mélange de **6** et **7** (140 mg, 7:3) qui est analysé par chromatographie en phase vapeur (c.p.v., colonne capillaire Sil 5, 150°); temps de rétention: 1523 s (majoritaire **6**) et 1665 s (minoritaire **7**).*

(b) *Par époxydation de **3**.* Le composé **3** (130 mg, 0,5 mmol) et de l'eau oxygénée (110 vol. 0,2 mL, 1,5 mmol) sont mélangés avec de l'éthanol (5 mL). À cette solution est ajoutée goutte à goutte une solution d'hydroxyde de sodium 6M (40 μL, 0,24 mmol) à température comprise entre 15 et 20°. On verse dans la glace et on extrait ensuite à l'éther; la phase éthérée est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium jusqu'à pH 7-8. Après traitement on obtient le mélange de **6** et **7** (140 mg) dans les proportions 17:3 évaluées par c.p.v. (colonne capillaire, Sil 5, 150°); temps de rétention: 1524 s (majoritaire **6**) et 1664 s (minoritaire **7**).

*Composés **6** et **7**:* r.m.n.-¹H [(²H)chloroforme, 90 MHz]: δ 5,2 (s, 1 H, H-1), 4,7 (t, 1 H, H-4), 3,64 et 3,0 (m, 6 H, 2 OCH₂CH₃, H-5), 3,2 et 2,95 (2d, 2 H, CH₂O-), 1,6 (s, 6 H, 2 CH₃), 1,4 (t, 6 H, 2 OCH₂CH₃); r.m.n.-¹³C [(²H)chloroforme]: 203,0 (C=O), 111,0 [C(CH₃)₂], 98,6 (C-1), 76,7 (C-4), 66,1 64,0 (C-5, OCH₂CH₃), 62,8 (C-2), 48,6 (CH₂O-), 26,0, 25,6 [C(CH₃)₂], 15,4, 14,8 (OCH₂CH₃); s.m. (intensité rel.); *m/z* 259 (M - 15), 229(20), 171(15), 103(90), 101(100).

Anal. Calc. pour C₁₃H₂₂O₆: C, 56,9; H, 8,1. Trouvé: C, 56,9; H, 8,2.

(c) *Par époxydation enzymatique de **3**.* Dans un incubateur à 37° sont mélangés les produits suivants: Du tampon phosphate de sodium 0,1M, pH 7,4 (48

mL); du cytochrome P450 (0,1 µmol) de microsomes de foie de rats traités au phénobarbital (80 mg/kg, intrapéritonéal pendant 3 jours dans du serum physiologique); le substrat **3** (10 µmol) dissous dans le méthanol (25 µL); du NADP⁺ (100 µmol); du D-glucose 6-phosphate (1000 µmol). La réaction débute après l'addition de 100 UI G6PDH (D-glucose-6-phosphate déshydrogénase EC 1.1.1.49). Après 10 min d'incubation, le milieu réactionnel est saturé par du chlorure de sodium, puis extrait par l'éther (2 × 100 mL). Après séchage et évaporation du solvant, le résidu contenant l'époxycétones est étudié par c.p.v.-s.m. qui démontre la présence de **6** (*2R,4R*) ayant le même temps de rétention et même spectre de masse que le produit décrit sous (a) et (b).

REMERCIEMENTS

Nous remercions Mme. M. Jaouem pour l'aide affortée à la réalisation de l'époxydation enzymatique.

RÉFÉRENCES

- 1 E. FUJITA ET Y. NAGAO. *Bioorg. Chem.*, 6 (1977) 287-309.
- 2 V. NAIR ET A. K. SINHABABU. *J. Org. Chem.*, 45 (1980) 1893-1897.
- 3 J. C. DEPEZAY ET Y. LE MERRER. *Tetrahedron Lett.*, (1974) 2751-2754; *ibid.* (1978) 2865-2868
- 4 J. C. DEPEZAY ET Y. LE MERRER. *Carbohydr. Res.*, 83 (1980) 51-62.
- 5 A. J. FATIADI. *Synthesis*, (1976) 65-79.
- 6 A. J. MANCUSO ET G. D. SWERN. *Synthesis*, (1981) 165-185
- 7 K. B. SHARPLESS ET R. C. MICHAELSON. *J. Am. Chem. Soc.*, 95 (1973) 6136-6137; S. TANAKA, H. YAMAMOTO, H. NOZAKI, K. B. SHARPLESS, R. C. MICHAELSON ET J. D. CUTTING. *ibid.*, 96 (1974) 5254-5255, K. B. SHARPLESS ET T. R. VFRHOEVEN. *Aldrichimica Acta*, 12(4) (1979) 73-74
- 8 J. C. DEPEZAY ET A. DUREAULT. *Tetrahedron Lett.*, (1978) 2869-2872; J. C. DEPEZAY, A. DUREAULT ET M. SANIERE. *Carbohydr. Res.*, 83 (1980) 273-286.
- 9 V. ULLRICH. *Top. Curr. Chem.*, 83 (1979) 68-104.