

SYNTHESE D'ANTIBIOTIQUES AMINOSIDIQUES A PARTIR DE DESOSAMINE

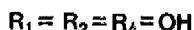
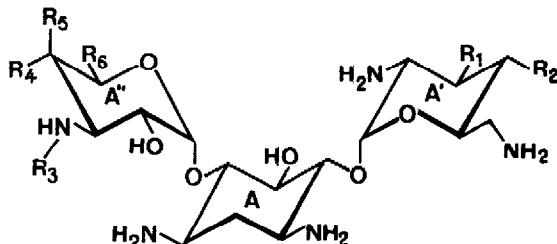
Jean-Bernard CHAZAN et Jean-Claude GASC^{**}

Centre de Recherches Roussel Uclaf

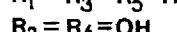
102 route de Noisy, 93230 Romainville, FRANCE

(Received in France 14 June 1976; received in UK for publication 19 July 1976)

Different auteurs ont décrit l'hémisynthèse d'analogues des antibiotiques de la série kanamycine/gentamicine par glycosidation d'un fragment pseudodissacharidique "naturel" convenablement protégé, au moyen du dérivé halogéné d'un aminosucre (1). Par ailleurs, l'activité antibiotique des aminoglycosides paraît liée à la présence d'un groupe aminé à la position 3 du cycle A" (figure 1).



Kanamycin



Tobramycin



Gentamicine C₁A



Fig. I

Nous avons trouvé qu'une modification de la désosamine, 1a, aminosucre rencontré dans les antibiotiques de la série macrolide, fournit un "synthon", 2, d'une réactivité exceptionnelle et conduit à une série originale de produits d'activité comparable aux meilleurs antibiotiques de la série aminoglycosidique.

Le monosaccharide 2 est obtenu selon la séquence de réactions suivante (schéma 1) : l'éthyl désosaminide 1b (mélange d'anomères) obtenu par hydrolyse acide de l'érythromycine est N-déméthylé et converti en N et O dicarbonate (2) au cours de la même réaction ($ClCO_2Et-Na_2CO_3-CHCl_3$; rendement : 92%). Le carbonate en 2 est saponifié sélectivement ($NaOH-2N$, EtOH : rendement 99%) puis l'hydroxyle est benzylé (NaH , $Br-CH_2-C_6H_5$, THF; rendement : 78%). L'acétolyse de l'éther glycosidique (HCl , $AcOH$, Ac_2O ; rendement : 96%) conduit au mélange des acétates anomères α et β . Le dérivé chloré 2 s'obtient de façon classique (HCl , $AcCl$, dioxane) et est utilisé à l'état brut, pour les différentes réactions de glycosidation.

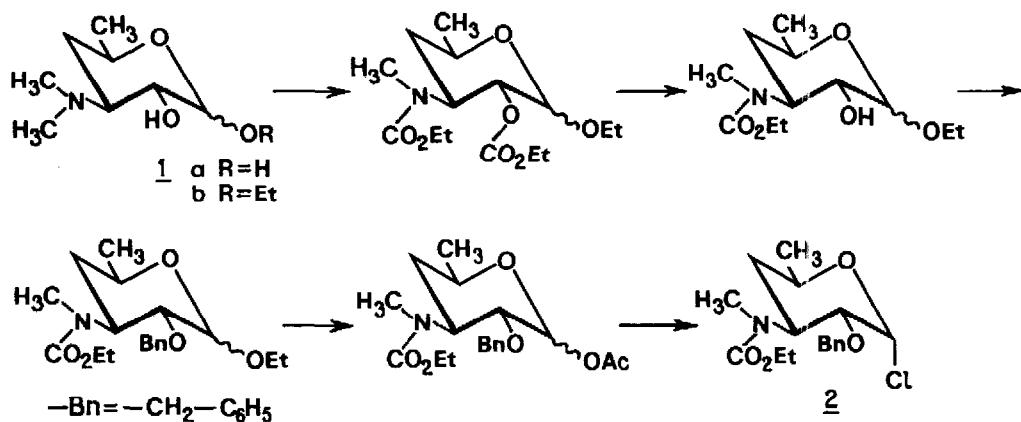


Schéma 1

Pour le pseudododissacharide 2, la néamine 3 a été convertie en intermédiaire 4 décrit par H. Umezawa et Coll. (3). Le dérivé benzylé en 3'4' ($C_6H_5-CH_2Br$, LiOH, DMF; rendement : 45%) après décétalation ($AcOH$, H_2O ; rendement : 99%) fournit le diol 5. On effectue alors une réaction de glycosidation type Koenigs-Knorr, selon la modification de Helferich (4), appliquée aux halogéno-sucres portant un groupe "non participant" en position 2 (en particulier le groupe benzyle, par opposition aux fonctions esters susceptibles de former intermédiairement un ion acyloxonium). On traite un équivalent de 5, dans le dioxane anhydre, en présence de 1,2 à 1,5 équivalents de cyanure mercurique par un excès de dérivé chloré 2 (préparé à partir de 2 à 3 équivalents d'acétates anomères) à $60^\circ C$ pendant vingt à vingt-deux heures. Cette réaction s'est avérée hautement régiosélective vis-à-vis de l'hydroxyle en 6 du diol 5. Le rendement, par rapport à l'intermédiaire 5 est de 81%, et il est possible dans ce cas de séparer par chromatographie sur gel de silice (solvant = chloroforme-acétone 9/1) les deux anomères α (52%) et β (25%). La déprotection comprend l'hydrogénolyse des éthers benzyliques (H_2 , Pd à 10% sur carbone, EtOH; rendement : 94%) et la saponification des groupes carbamates par la baryte en solution aqueuse. Au cours de cette dernière réaction, il se forme une certaine quantité d'une urée interne portant en 1,3 la désoxystreptamine. Ce type de réaction secondaire a déjà été signalé pour des hydrolyses analogues (5). Ce produit indésirable s'élimine par chromatographie, sur résine échangeuse d'ions (XE64 sous forme NH_4^+) et élution par l'ammoniaque diluée.

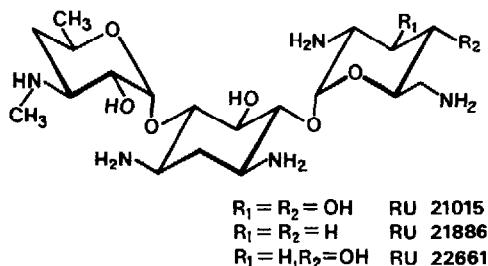


Fig. 2

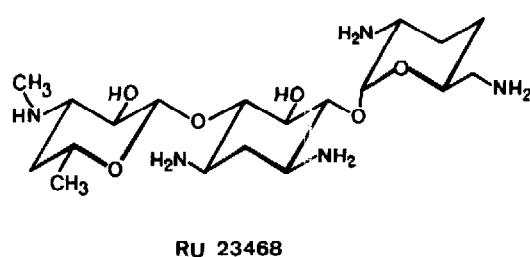
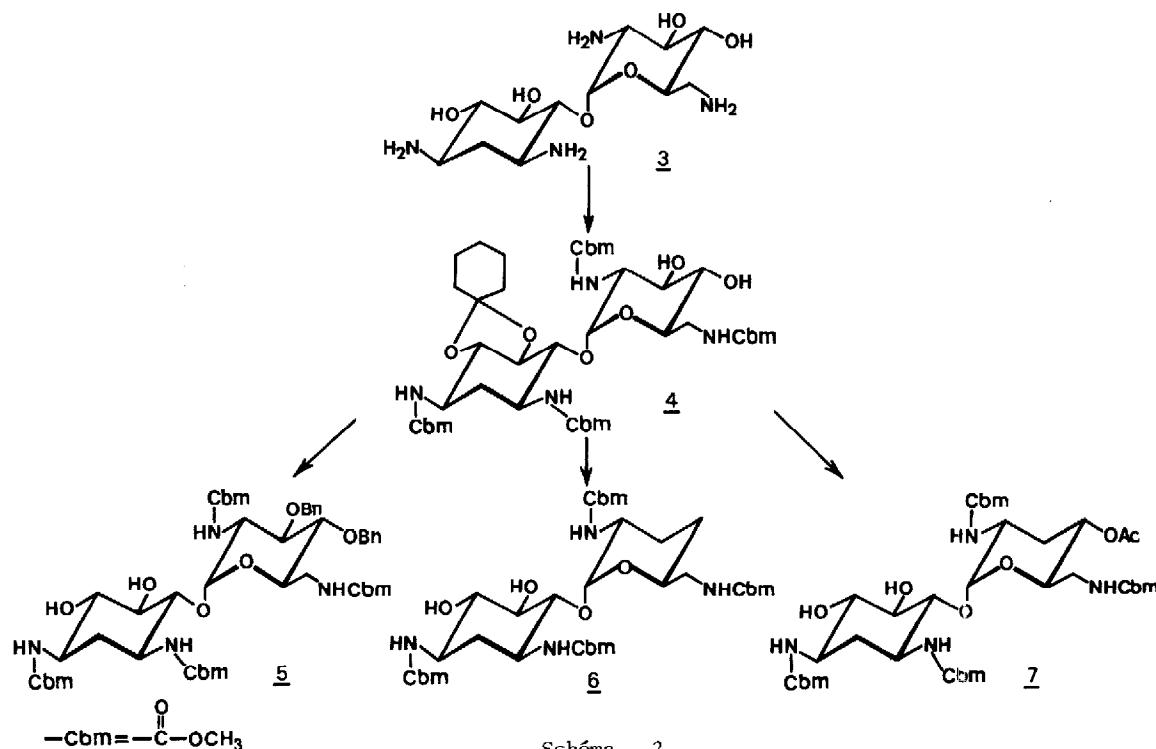


Fig. 3

On isole ainsi le RU 21015 (figure 2) dont la structure est confirmée par fragmentation en spectrométrie de masse mesurée sur le dérivé N-acétate, O-TMS et spectre de RMN (H^1 5,43 p.p.m $J = 3,5$ par comparaison avec le dérivé $1''\beta$ (H^1 4,56 p.p.m $J = 7,5$).



L'activité antibiotique des aminoglycosides dépend tout autant de la nature du cycle A'', que de la nature et de la stéréochimie des groupes fonctionnels présents dans l'aminosucre substituant la désoxystreptamine en position 4 (cycle A') : ainsi entre la kanamomycine, son dérivé didésoxy en 3'4' et la tobramycine on observe une augmentation de l'activité qui s'explique en partie par l'inactivation due à une enzyme phosphoryltransférase capable de réagir en 3' quand il y a un hydroxyle dans cette position (6). C'est pourquoi nous avons préparé les deux diols intermédiaires 6 et 7, qui s'obtiennent à partir du même produit de départ 4 (schéma 2). Le diol 6 est préparé selon une méthode décrite (?) (préparation du dimésylate 3',4' traité par NaI dans DMF en présence de zinc et hydrogénéation puis décétalation). La préparation de l'intermédiaire 7 s'effectue dans des conditions voisines de celles du trisaccharide correspondant (8) : monotosylate en 3' (ClTs, pyridine) inversion par NaI dans le DMF, réduction du dérivé iodé par le nickel-Raney et acétylation de l'hydroxyle en 4'). La glycosidation de ces diols par le dérivé chloré 2 s'effectue dans les mêmes conditions que précédemment mais on ne peut plus séparer à ce stade les anomères α et β qui ont exactement la même polarité en C.C.M. (rendement : 84%). Fort heureusement, après déprotection (hydrogénolyse et saponification), on les sépare par chromatographie sur gel de silice (solvant : $\text{CHCl}_3\text{-MeOH-NH}_4\text{OH/2.2.1}$) et sur résine échangeuse d'ions, type carboxylique (XE64, forme NH_4^+ , élution par NH_4OH diluée). Le rapport des anomères α/β s'établit à 2/1. La structure des produits RU 21886 (3'4' didésoxy) et RU 22661 (3' désoxy) est fixée

par leurs spectres de RMN et de masse.

L'examen du tableau montre une amélioration du spectre d'activité antibiotique en passant du RU 21015, au RU 21186 puis au RU 22661. Ainsi qu'il était prévisible le composé RU 23468 (anomère 1"β, figure 3), isolé dans la série 3',4' didésoxy ne présente plus aucune activité antibiotique décelable. La lecture des toxicités aiguës (i.v. souris) montre d'une part que des différences appréciables existent entre les produits actifs mais d'autre part que la toxicité ainsi mesurée n'est pas liée à l'activité antibiotique, puisque le composé RU 23468 (anomère β n'ayant pas d'activité antibiotique) montre une toxicité comparable à celle du RU 21886 (anomère α doué d'une bonne activité antibiotique). L'étude de ces produits se poursuit au laboratoire, des résultats plus complets seront publiés par ailleurs (9).

Produits Souches	RU 21015	RU 21886	RU 22661	RU 23468
C.M.I. * exprimées en base après 24 heures				
Staphylococcus aureus U.C. 1061 P.S.	0,4	0,4	0,2	>100
Staphylococcus aureus U.C. 1128 P.R.	0,2	0,6	0,4	>100
Streptococcus pyogenes A 561	0,6	1	0,6	>100
Bacillus Subtilis ATCC 6633	0,05	0,05	0,02	>100
Escherichia Coli U.C. 1020 S.T.	1	2	1	>100
Escherichia Coli Exp. Taylor O ₂₆ B ₆	1	1	0,4	>100
Klebsiella Pneumoniae Exp. 52145	0,1	0,2	0,1	>100
Proteus Mirabilis Indol (-) A 235	2	2	1	>100
Proteus Vulgaris Indol (+) A 232	2	2	2	>100
Enterobacter Cloacae 681	0,4	0,6	0,2	>100
Pseudomonas Exp. 3935	> 40	2	0,6	>100
Serratia 2532	0,2	0,2	0,1	>100
Toxicité aigüe DL 50 **	225	126	86,5	100

* Titrage en milieu liquide Mueller Huiton broth (pH 7,4) et en Todd Hewitt (pH 7,4) pour les Streptocoques effectués par A. LUTZ.

** Exprimées en mg/Kg, i.v. - souris, résultats communiqués par M. GLOMOT.

(1) S.Umezawa, S.Koto, K.Tatsuta et T.Tsumura, *Bull.Chem.Soc.Jap.* 42 (1969) 529; S.Umezawa, K.Tatsuta et S.Koto, *ibid.* 533; S.Umezawa, S.Koto, K.Tatsuta, H.Hineno, Y.Nishima et T.Tsumura, *ibid.* 537; S.Umezawa, Y.Nishimura, H.Hineno, K.Watanabé, S.Koike, T.Tsuchiya et H.Umezawa, *ibid.* 45 (1972) 2847.

(2) H.Newman, *J.Org.Chem.* 30, 1287 (1965).

(3) T.Jikihara, T.Tsuchiya, S.Umezawa et H.Umezawa, *Bull.Chem.Soc.Jap.* 46 (1973) 3507.

(4) B.Helferich et J.Zirner, *Chem.Ber.* 95, 2604 (1961)

(5) Brevet Japonais JA-4865580-Q du 24.12.1971.

(6) J.Davies, M.Bizejinska, R.Benveniste (1971) *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 182, 226; H.Umezawa, *Progress in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, 2, 567 (1970), University of Tokyo Press.

(7) S.Umezawa, T.Tsuchiya, T.Jikihara et H.Umezawa, *J.Antibiotics* 24, 711 (1971)

(8) Y.Takagi, T.Miyake, T.Tsuchiya, S.Umezawa et H.Umezawa, *J.Antibiotics* 26, 403 (1973)

(9) M.A.Cousin, O.Lando, T.Ojasoo, and J.P.Raynaud, soumis à publication.