

136. Radicaux libres dérivés de sucres. V¹⁾. Dérivés d'osamines N-hydroxylées et composés voisins

Communication préliminaire²⁾

par Jean M.J. Tronchet, Dominique Schwarzenbach, Eva Winter-Mihaly, Charalambos Diamantides, Ubavka Likić, Griselda Galland-Barrera, Chantal Jorand, Kemal Deen Pallie, Joëlle Ojha-Poncet, Joyce Rupp et Gilles Moret

Institut de Chimie Pharmaceutique de l'Université de Genève, 30, quai Ernest-Ansermet, CH-1211 Genève 4

et Michel Geoffroy

Département de Chimie Physique, Université de Genève, 30, quai Ernest-Ansermet, CH-1211 Genève 4

(10. V. 82)

Free sugar radicals. V. Deoxyhydroxylaminosugar derivatives and related compounds

Summary

We describe several synthetic routes to deoxyhydroxylaminosugar derivatives of the type Glyc-N(OH)-R where Glyc stands for a sugar moiety linked by any of its C-atoms except the anomeric one and R for one of the following substituents: H-atom, acyl, phosphoryl groups, aminoacid or sugar residues.

Compounds of the above structure are potentially close analogs, homo-isosteres, –NOH– replacing –O–, of biochemically important molecules. Under aerobic conditions, solutions of these derivatives contain minute concentrations of the corresponding nitroxide radicals which do not decrease significantly the resolution of the NMR. spectra but render these compounds usable as a new kind of spin labels. Spectroscopic properties (¹H-NMR., ¹³C-NMR., ESR.) of some of these compounds are reported.

Le rôle en immunologie classique de restes oligosaccharidiques est connu depuis longtemps mais l'extension de ces concepts aux processus de reconnaissance cellulaire et, en particulier, aux phénomènes de cancérisation a encore accru l'intérêt biologique des analogues d'oligosaccharides immunocompétents [2]. Des sondes radicalaires fixées sur des oligosaccharides analogues proches de produits naturels seraient, d'autre part, très utiles en immunochimie. Les notions d'analogue *proche* et de sonde radicalaire sont difficilement compatibles car les radicaux libres utilisés

1) IV: [1].

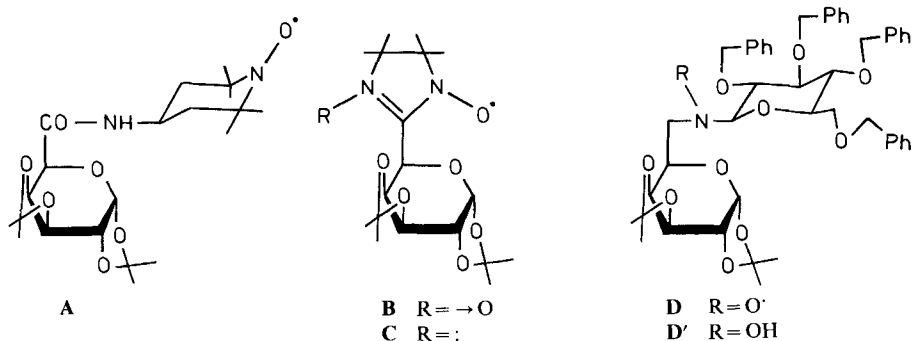
2) Une communication plus détaillée paraîtra ultérieurement.

comme marqueurs à spin sont dans la règle stabilisés par encombrement stérique, ce qui entraîne des différences de structure considérables entre la molécule ainsi marquée et la molécule naturelle modèle. En chimie des sucres, seuls des marqueurs à spin de type classique comme, par exemple, **A** [3] avaient été préparés. Ils sont caractérisés par le fait que, pour éviter que le site radicalaire encombré n'interfère avec l'activité biologique du reste glycosyle, ces deux parties de la molécule sont très éloignées. Dans ces conditions, la sonde radicalaire ne fournit que des informations imprécises sur les phénomènes intéressant la copule glucidique. Une première étape de notre programme de rapprochement du sucre et de la sonde radicalaire a été la synthèse de toute une série de composés des types **B** et **C** [4] dans lesquels le couplage hyperfin entre le spin électronique et le proton le plus proche du reste glycosyle permet d'étudier la conformation au niveau de la liaison entre le reste glycosyle et l'aglycone radicalaire. De ce point de vue, ces composés sont des modèles de nucléosides.

Le terme ultime dans la synthèse de marqueurs à spin dérivés de sucres analogues aussi proches que possible – après déblocage – de composés naturels et dont la sonde radicalaire, constituée par un reste nitroxyde fixé dans une position stratégique, informe aussi bien sur la conformation de la molécule que sur son environnement, nous semble réalisé par les composés du type de **D** dont nous avons récemment décrit quelques exemples [1]. Ces composés sont obtenus par l'oxydation, le plus souvent spontanée à l'air, des hydroxylamines **D'**. Il se trouve que, dans la majorité des cas, les solutions de désoxy-hydroxylaminosucres contiennent une concentration stationnaire du radical libre nitroxyde correspondant suffisamment faible pour ne pas dégrader la résolution du spectre de RMN, de l'hydroxylamine mais néanmoins suffisante pour fournir de bons spectres de RPE. Les désoxyhydroxylaminosucres possèdent donc *a priori* deux qualités majeures pour des études biologiques: ce sont des analogues proches de produits naturels et ils peuvent être utilisés comme sondes radicalaires.

Alors que quelques exemples de désoxy-hydroxylaminosucres dans lesquels l'atome d'oxygène anomérique est remplacé par un groupe hydroxyimino (*N*-hydroxyglycosylamines) sont connus depuis la fin du siècle dernier [5], leurs analogues ayant subi la même modification à une position autre qu'anomérique

Schéma 1



(*N*-hydroxyosamines) étaient inconnus avant notre description [6] des premiers exemples de composés de ce type, composés dont la préparation a été rendue possible par notre synthèse des premières nitrones de sucres [6]. Ce sont les *N*-hydroxyosamines qui font l'objet de cette communication où nous décrivons un certain nombre de voies d'accès à ces composés et quelques unes de leurs réactions dont leur oxydation en nitroxydes. L'ensemble de ces réactions constitue la base de l'arsenal synthétique permettant l'élaboration d'analogues désoxy-hydroxyl-amino de dérivés d'oses, d'oligosaccharides, de nucléosides et de glycosylamino-acides.

La première voie synthétique consiste dans la réduction d'oximes. Ainsi la cétone³⁾ **1** (F. 203,5–204,5°) obtenue (89%) par oxydation de l'alcool *gluco* correspondant [7] est convertie (91%) en l'oxime **2** (F. 222,0–223,6°) dont la réduction (BH₃/pyridine) fournit l'hydroxylamine **3** (56%, F. 238,8–239,2°) dont le spectre ¹H-RMN. (*J*(2,3) ≈ 4 Hz) prouve la configuration *allo*. De la même façon, les oximes **4** (95%, F. 126,4–129,5), **5** (86% à partir de **4**, F. 133,4–144,3°) et **6** (94%, F. 46,5–47,5°), préparées par des techniques standard, sont réduites (NaBH₃CN) respectivement en **7** (78%, F. 108–117°), **8** (F. 145,3–146,6°) obtenu de préférence à partir de **7** (60%) et **9** (69%, F. 87,8–89,3°).

La *N*-tosyl-hydroxyimino-4-*L*-proline (**10**) [8] a été réduite en hydroxylamine **11** (85%, F. 93,6–98,5°) dont la configuration en C(4), probablement *S*, n'a pas été établie de façon définitive. L'intérêt de **11** est double: analogue de la thioproline dont l'activité comme agent de redifférenciation de cellules cancéreuses a été proposée [9], analogue de l'hydroxyproline utilisable pour créer des jonctions glycopeptidiques d'un nouveau type comme dans **12** (55%, F. 178,5–180,0°). Le dialdéhyde formé par oxydation periodique de l'adénosine fournit les oximes **13** (60%) et **14** (75%). Alors qu'un des isomères géométriques de **13** a pu être obtenu à l'état pur (F. 184–185°), le mélange des isomères de **14** n'a pu être résolu. Les «acyclonucléosides» **13** et **14** sont antiviraux vis-à-vis des rhinovirus RV₃.

Une autre voie générale d'accès aux désoxy-hydroxylaminosucres consiste dans l'addition d'un réactif nucléophile sur une nitrone de sucre, par exemple **15** [10], **16** [6] [11] et **17** [1]. Les hydroxylamines **18** (74%, sirop) et **19** (77%, F. 91,8–92,9°)

³⁾ Les analyses élémentaires et les données spectroscopiques (UV., IR., RMN., SM.) de tous les composés diamagnétiques décrits sont en accord avec la structure proposée. La structure des espèces radicalaires est établie par leur RPE.

Schéma 2

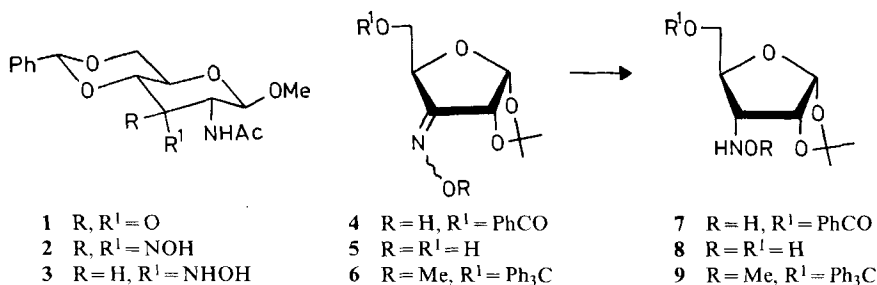
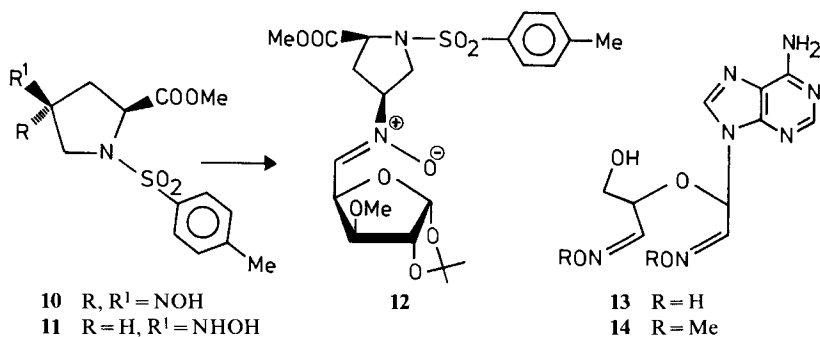


Schéma 3



sont obtenues sous la forme d'un seul isomère alors que la même attaque par un organomagnésien, appliquée à **17**, fournit un mélange, résolu, des deux épimères en C (5) de **20**: **20a** (51%, sirop) et **20b** (1%, sirop).

Les phosphonates **21–23** ont été obtenus avec des rendements de l'ordre de 70% en traitant par un phosphite de dialcyle l'une des nitrones **15** et **16**. Dans tous les cas, un isomère est prépondérant (exclusif pour **21**) et a été isolé à l'état de pureté [**21** (F. 85,0–86,5°), (5*R*)-**22** (F. 131–133°), (5*R*)-**23** (F. 131,0–133,5°)] alors que pour le second isomère, lorsqu'il est présent, seuls les paramètres de ¹H- et ¹³C-RMN. ont été obtenus. Ces données sont rassemblées dans le *Tableau*. On note d'abord,

Schéma 4

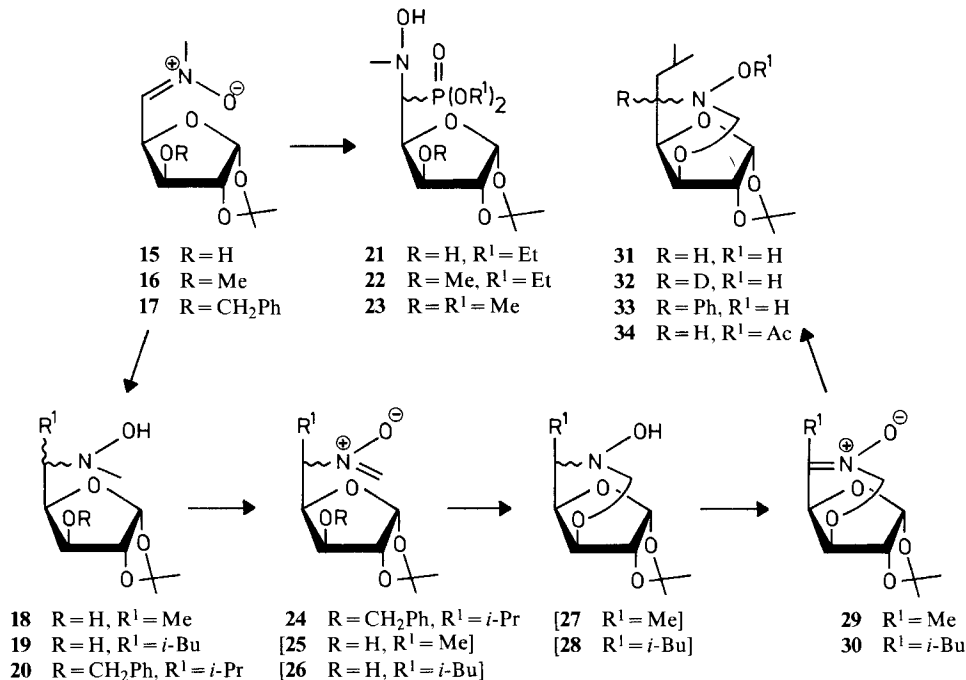


Tableau. Quelques paramètres de RMN. d'hydroxylamines phosphorées et données de RPE. des nitroxydes correspondants

Composé	¹ H-RMN. ^{a)}					¹³ C-RMN. ^{a)}			RPE. ^{b)}				
	³ J (4,5)	³ J (P,4)	² J (P,5)	⁵ J (P,2)	⁵ J (P,1)	³ J (P,C(3))	² J (P,C(4))	¹ J (P,C(5))	a _P	a _N	a _{CH₃}	a _H	a _H
(5 <i>R</i>)- 22	10	6,2	14	2	0	8,5	4,6	134	50,2	14,3	12,2	3,6	
^{c)}	11	9	16	2	0	9,4	2,7	139					
(5 <i>R</i>)- 23	10	6,4	14	2	0	8,6	2,5	134	50,2	14,4	12,1	3,4	0,3
^{d)}	11	7,5	17	2	0	9	2,5	140					
(5 <i>R</i>)- 21^{e)}	10	9	14	1	0	8,6	2,4	137					
(5 <i>R</i>)- 22^{e)}						9,3		137					
(5 <i>R</i>)- 21	5,5	12	18	0	0	5	5,8	142	41,2	14,6	12,3	3,6	
(5 <i>S</i>)- 22	11	5	20	0	1	0	7,5	146	44,8	14,4	12,2	2,4	0,8
(5 <i>S</i>)- 23	11	4,5	17	0	1	0	6,8	146	44,8	14,4	12,2	2,4	0,8

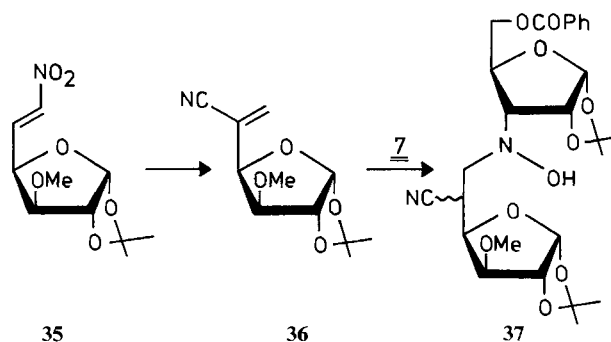
^{a)} *J* en Hz; sauf mention contraire, solution dans CDCl₃. ^{b)} *a* en G; solution dans le benzène. ^{c)} Dérivé *O*-acétylé de (5*R*)-**22**. ^{d)} Dérivé di-*O*-acétylé de (5*R*)-**21**. ^{e)} Dans D₆-DMSO.

qu'indépendamment de leur configuration les composés **22** et **23** (R ≠ H) adoptent une conformation antipériplanaire pure au niveau de la liaison C(4), C(5). L'attribution de configuration est, dès lors, directe, l'existence d'un couplage ³*J*(P, C(3)) *trans*, vérifié par irradiation sélective de H–C(3), prouvant la configuration 5*R* attributions confirmées par des couplages à longue distance faibles mais significatifs, ⁵*J*(P, 2) pour les isomères 5*R*, ⁵*J*(P, 1) pour les 5*S*. Pour **21**, l'attribution de configuration n'est pas univoque du fait que cette molécule adopte une conformation différente de celle de **22** et **23**. Ceci est dû à l'établissement d'une liaison hydrogène entre les deux groupements hydroxyles. La rupture de la liaison hydrogène soit en effectuant le spectre dans le DMSO, soit en di-*O*-acétylant **21** permet d'attribuer à ce composé la configuration 5*R*.

L'oxydation (PbO₂) de chacun des deux isomères de **20** fournit quantitativement la nitrone méthylénique correspondante **24** caractérisée en ¹H-RMN. par le système *AB* du groupe méthylène nitronique (²*J*(*A*, *B*) = 7,7 Hz dans un cas, 8,7 dans l'autre). Lorsqu'il existe dans la molécule un groupe nucléophile convenablement placé pour fermer un cycle, les nitrones méthyléniques (p. ex. **25** et **26**) ne sont pas isolables, ni les hydroxylamines «de deuxième génération» **27** et **28**. On obtient directement les nitrones cycliques **29** (67% à partir de **18**, sirop) et **30** (54% à partir de **19**, F. > 300°). Les attaques nucléophiles sur **30** procèdent stéréospécifiquement par la face *exo* du système oxolanno-perhydrooxazine pour fournir (*S*)-**31** (NaBH₄, 92%, F. 90,2–91,2°), son analogue deutérié (*S*)-**32** (NaBD₄, 92%) ou (*R*)-**33** (PhMgBr, 54%, sirop). La configuration de **33** est établie sans ambiguïté par le blindage des protons portés par l'atome de carbone C(2) du cycle perhydrooxazine (surtout le proton *pro-S*), celle de **31** par l'absence de couplage ⁴*J* entre les protons H_{*pro-R*}–C(2) et H–C(6) du cycle perhydrooxazine. L'hydroxylamine cyclique de «troisième génération» **31** est facilement convertie en son dérivé acétylé **34** (87%, sirop).

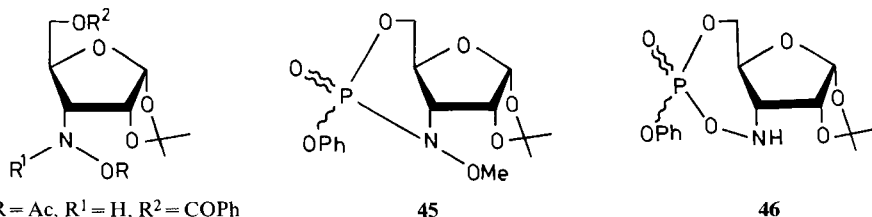
Des diglycosylhydroxylamines peuvent être préparées par addition nucléophile conjuguée. Ainsi, le nitroénose bloqué **35** [11], traité par un cyanure alcalin, fournit le dérivé d'énuronitrile ramifié **36** (68%, sirop) qui, opposé à **7**, conduit à **37** (26%, sirop), obtenu comme le mélange de deux isomères difficilement séparables.

Schéma 5



Pour faciliter leur utilisation en synthèse, les désoxy-hydroxylaminosucres doivent pouvoir être l'objet de réactions de blocage-déblocage sélectif. Les hydroxylamines primaires peuvent être *O*-acétylées sélectivement (Ac_2O , 1 équiv., acétone) – 7 fournit ainsi **38** (80%, sirop) – *O,N*-diacétylées pour conduire à des composés du type de **39** (87%, F. 154,6–155,8°) que l'on peut sélectivement *O*-désacétyler en **40** (72%, F. 60,4–62,1°), facilement détritylable en **41** (74%, F. 150,4–151,3°). De la même façon, l'hydroxylamine *O*-méthylée **9** acétylable en **42**, est détritylée en **43** (73%, sirop), acétylable en **44** (83%, F. 62,0–65,6°). Le traitement de **43** par du phosphorodichloridate de phényle a permis d'obtenir avec un rendement de 80% le mélange (48:52) des deux épimères au niveau du phosphore du *N*-methoxyphosphoramidate cyclique **45** alors que la même réaction appliquée à l'hydroxylamine moins protégée **8** fournit un mélange complexe comportant probablement les analogues *O*-déméthylés de **45** (RMN.) mais dont nous n'avons isolé à l'état de pureté que la dioxazaphosphépine **46** (28%, F. 163,1–163,6°, un seul isomère) dont la structure est établie par l'existence de couplages 3J du proton imino avec l'atome de phosphore (10,5 Hz) et le proton méthinique voisin (7 Hz), par l'absence de couplage entre ^{31}P et H–C(3) et C(3) du reste glycosyle et l'impossibilité

Schéma 6



38 R = Ac, R¹ = H, R² = COPh

39 R = R¹ = Ac, R² = CPh₃

40 R = H, R¹ = Ac, R² = CPh₃

41 R = R² = H, R¹ = Ac

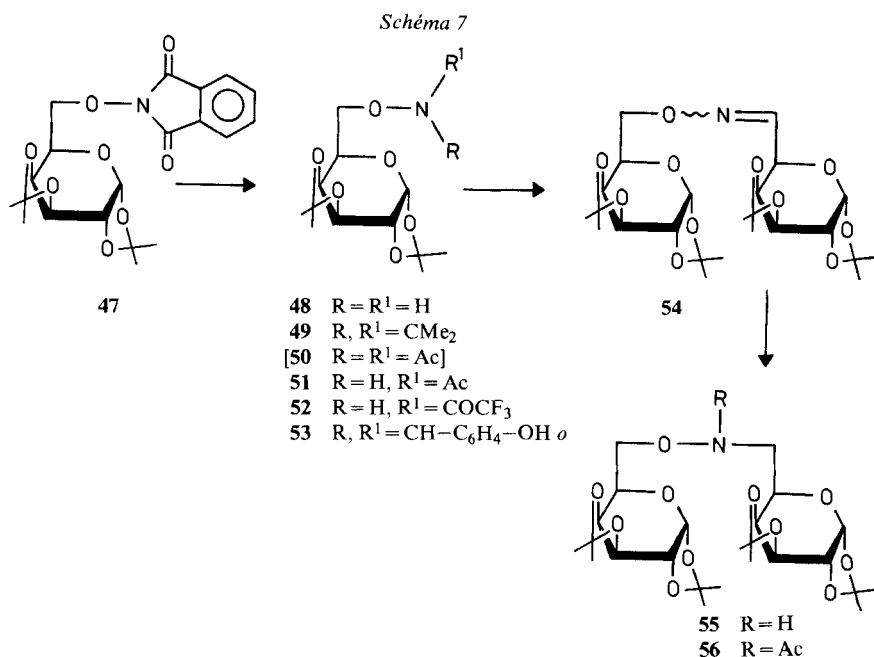
42 R = Me, R¹ = Ac, R² = CPh₃

43 R = Me, R¹ = R² = H

44 R = Me, R¹ = R² = Ac

d'oxyder le composé en radical libre nitroxyde (RPE.). Les spectres de $^1\text{H-RMN}$. et de $^{13}\text{C-RMN}$. des deux isomères de **45** sont très peu différents. Néanmoins sur la base d'un léger blindage du proton *pro-S* porté par l'atome C(6) du cycle oxazaphosphorine ainsi que du proton H-C(4) du même cycle, nous attribuons la configuration *S* (S_p) à l'isomère le moins abondant (S_p)-**45** (F. 132,8–135,2°). L'isomère le plus abondant, (R_p)-**45** (F. 116,8–117,6°), présente en dichroïsme circulaire des bandes positives à 247, 254, 261 et 267 nm, correspondant à l'absorption du reste phényle tandis que des bandes négatives, symétriques des précédentes sont trouvées pour (S_p)-**45**. La comparaison avec les courbes de dichroïsme circulaire de l'analogue de (S_p)-**45** dans lequel le groupe N-OMe est remplacé par un atome d'oxygène [13] ainsi qu'avec celles des deux épimères au niveau du phosphore des analogues *xylo* de ce dernier composé [13] montre qu'une règle peut être énoncée: lorsque le groupement phénoxy de ce type de composé est en *trans* par rapport à H-C(4) de la copule glucidique, les bandes de dichroïsme circulaire sont négatives.

Une autre famille de dérivés glycosylés de l'hydroxylamine sont les *O*-glycosylhydroxylamines. Le composé **47** était connu [14] mais son déblocage en **48** (72%, F. 69,2–70,2°) n'avait, à notre connaissance, jamais été décrit, sans doute du fait de la grande réactivité de **48** avec les électrophiles, ce qui rend sa purification difficile. En présence d'acétone, on obtient en effet facilement **49** (76%, F. 66,8 à 68,1°), tandis que dans des conditions classiques d'acétylation, le dérivé *N,N*-diacétylé **50** est obtenu presque pur (RMN.), qui, soumis à une désacétylation (MeOH/MeONa), se transforme en **51** (27%, F. 161,0–162,0°). La trifluoroacétylation fournit par contre d'emblée le dérivé monoacétylé **52** (71%, F. 115,3–115,8°).



L'hydroxylamine **48** réagit également très bien avec les aldéhydes: avec le salicylaldéhyde, elle fournit **53** (70%, sirop) et avec le di-*O*-isopropylidène-[1,2:3,4]-*α*-D-galacto-hexodialdopyrannose [15] la *C, O*-diglycosyloxime **54** (rendement global 61%), cette dernière sous forme d'un mélange (61:39) de (*Z*)-**54** (F. 120,1–121,5°) et de (*E*)-**54** (F. 154,4–156,1°), réductible en **55** (77%, sirop) dont le dérivé acétylé **56** (F. 123,3–124,4°) a été préparé (74%).

Parmi les hydroxylamines préparées, celles qui possèdent un reste NOH sont oxydables en le radical libre nitroxyde correspondant. Cette opération a lieu spontanément à l'air pour les hydroxylamines secondaires et réclame souvent l'usage d'un oxydant (PbO₂, NaIO₄ ou dichloro-2,3-dicyano-5,6-*p*-quinone) pour les hydroxylamines primaires. Nous donnons dans le *Tableau* à titre d'exemples, les paramètres de RPE. des nitroxydes obtenus par oxydation des hydroxylamines **21–23**. Comme noté pour les spectres RMN., les isomères de **22** et **23** de même configuration fournissent des spectres très semblables et différents de ceux de leurs isomères alors que le composé (*S*R)-**21** possède des propriétés intermédiaires.

Le *Tableau* donne un aperçu de la variété de informations spectroscopiques, indicatives de la structure, que peuvent fournir ces *N*-hydroxyosamines.

Nous remercions le *Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique* d'un subside, le Prof. A. Buchs et Melle O. Clerc de l'enregistrement des SM., les Drs K. et H. Eder de la réalisation des analyses élémentaires et M. G. Zosimo-Landolfo de la préparation des produits **38** et **39**. Nous exprimons notre gratitude aux Drs G.H. Werner et A. Zérial et à leurs collaborateurs du *Centre Nicolas Grillet de Rhône-Poulenc S.A.* à Vitry-sur-Seine (France) qui ont effectué les mesures d'activité antivirale et cytotoxique.

REFERENCES

- [1] J.M.J. Tronchet, E. Winter-Mihaly, F. Habashi, D. Schwarzenbach, U. Likic & M. Geoffroy, *Helv. Chim. Acta* **64**, 610 (1981).
- [2] M. Debray, *Bull. Cancer (Paris)* **66**, 353 (1979).
- [3] L. Evelyn & L.D. Hall, *Carbohydr. Res.* **70**, C1 (1979).
- [4] J.M.J. Tronchet, E. Winter-Mihaly, K.D. Pallie, J. Ojha-Poncet & M. Geoffroy, *Carbohydr. Res.* **95**, 27 (1981); J.M.J. Tronchet, J. Ojha-Poncet, E. Winter-Mihaly, B. Kohler & M. Geoffroy, *Helv. Chim. Acta* **60**, 888 (1977); J.M.J. Tronchet, E. Mihaly & M. Geoffroy, *ibid.* **58**, 1187 (1975).
- [5] P. Richsbieth, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **20**, 2673 (1887).
- [6] J.M.J. Tronchet & E. Mihaly, *Helv. Chim. Acta* **55**, 1266 (1972).
- [7] A. Neuberger, *J. Chem. Soc.* **1941**, 50.
- [8] R.H. Andreatta, V. Nair, A.V. Robertson & W.R.J. Simpson, *Aust. J. Chem.* **20**, 1493 (1967).
- [9] A. Brugarolas & M. Gosalvez, *Lancet* **1980**, 68; R.A. Newman, M.P. Hacker, J.J. McCormack & I.H. Krakoff, *Cancer Treat. Rep.* **64**, 837 (1980).
- [10] H. Paulsen & M. Budzis, *Chem. Ber.* **107**, 1998 (1974).
- [11] J.M.J. Tronchet & E. Mihaly, *Carbohydr. Res.* **31**, 159 (1973).
- [12] J.M.J. Tronchet, A.-P. Bonenfant, K.D. Pallie & F. Habashi, *Helv. Chim. Acta* **62**, 1622 (1979).
- [13] J.M.J. Tronchet & J.-R. Neeser, résultats non publiés.
- [14] E. Grochowski & J. Surczak, *Carbohydr. Res.* **50**, C15 (1976); *ibidem*, *Synthesis* **1976**, 682.
- [15] D. Horton, M. Nakadate & J.M.J. Tronchet, *Carbohydr. Res.* **7**, 56 (1968).