

SYNTHESES DE L'ACIDE (2R, 3S) ; (2S, 3R) AGARIQUE (^{14}C -4) ET DE L'ACIDE (2R, 3R) ; (2S, 3S) AGARIQUE (^3H -4,4,5,5).

J.P. Lellouche, J.P. Beaucourt, L. Pichat *

SERVICE DES MOLECULES MARQUEES -CEN-SACLAY

91191-GIF-SUR-YVETTE CEDEX

SUMMARY

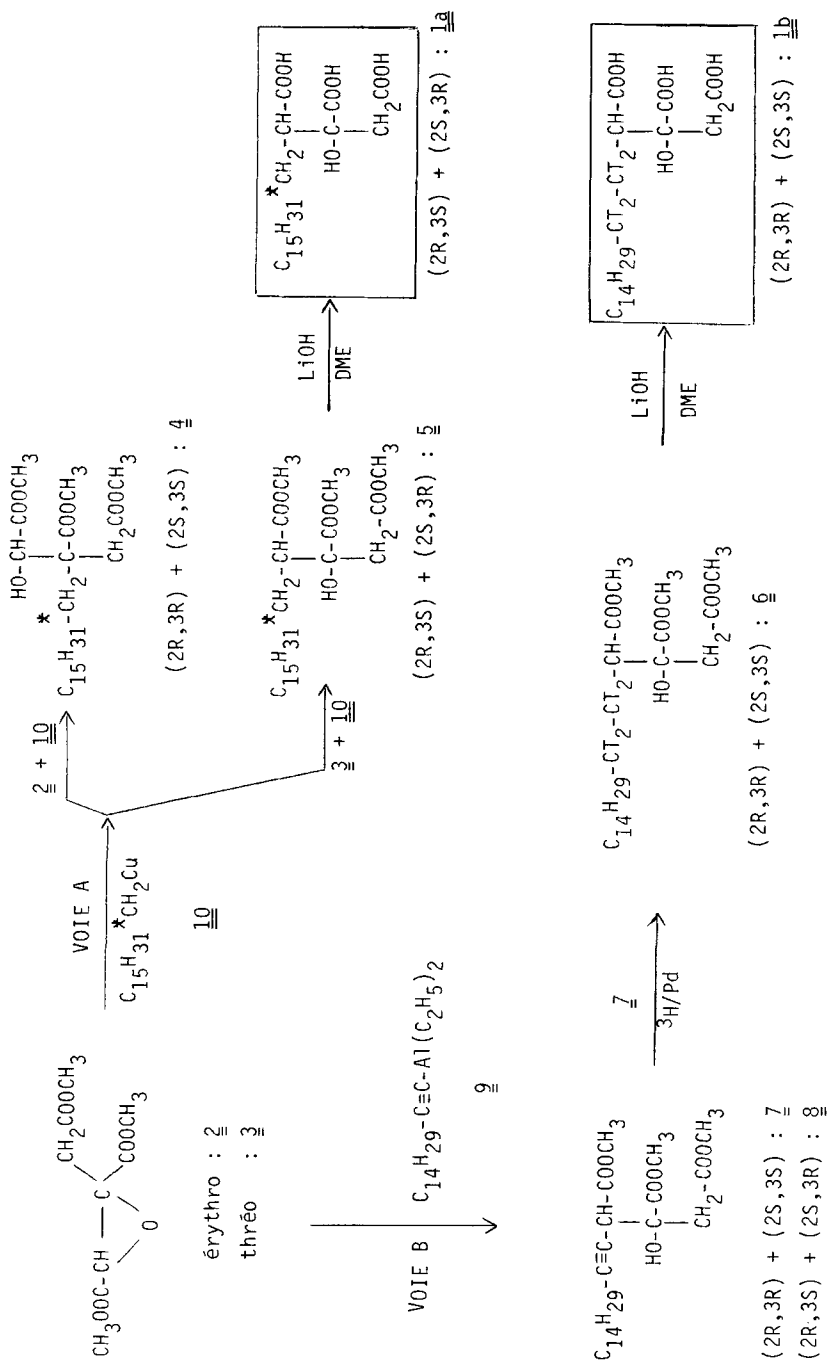
(2R, 3S) ; (2S, 3R) [$4\text{-}^{14}\text{C}$] Agaric acid and (2R, 3R) ; (2S, 3S) [$4,4,5,5\text{-}^3\text{H}$] agaric acid were synthesized from respectively threo methyl 1,2-epoxypropane-1,2,3-tricarboxylate 3 and erythro epoxide 2.

Epoxy ring opening of 2 and 3 with [$1\text{-}^{14}\text{C}$] hexadecyl copper 10 gave respectively the analog 4 of agaric acid trimethyl ester and methyl [$4\text{-}^{14}\text{C}$] agaricate 5, which was hydrolysed to 1a by lithium hydroxide in 1,2-dimethoxyethane (DME).

Epoxy ring trans opening of 2 with diethyl 1-hexadecynylalane 9 gave the alcyngyl derivative 7 which was saturated with tritium in presence of Pd/C to lead to 6. After hydrolysis (LiOH + DME), 1b was obtained.

The structures of the diastereoisomers (2R, 3R) ; (2S, 3S) 1b and (2R, 3S) ; (2S, 3R) 1a rest on $^1\text{H-NMR}$.

* Address any correspondence to this author.

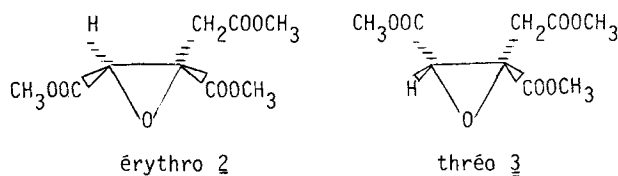


SYNTHESES DE L'ACIDE AGARIQUE - ¹⁴C et -³H

L'acide hydroxy-2 nonadécane-tricarboxylique-1,2,3 ou acide agarique (acide α -cétylcitrique) : 1, isolé du champignon *Polyporus officinalis*, a fait l'objet d'une revue (1) concernant sa chimie, toxicologie et pharmacologie. Dans un article précédent (5), nous avons brièvement rappelé les propriétés biologiques intéressantes de 1 (2-4) et décrit des synthèses de l'acide agarique (^{14}C -3), mélange des quatre diastéréoisomères : (2R, 3R) ; (2S, 3S) ; (2R, 3S) ; (2S, 3R). La configuration absolue de l'acide agarique naturel, déterminée par S. Brandänge (6), est (2S, 3S).

Pour faciliter l'étude des mécanismes biologiques d'inhibitions d'enzymes, nous avons synthétisé 1 marqué au carbone 14 sous forme du couple de diastéréoisomères (2R, 3S) + (2S, 3R) et ensuite 1 marqué au tritium sous forme du couple (2R, 3R) + (2S, 3S).

Le principe des synthèses que nous décrivons consiste en l'ouverture alcoylante des époxy-1,2 propanetricarboxylates-1,2,3 de méthyle érythro 2 et thréo 3 (7,8) :



soit par des organocuvreux (voie A), soit par des alcynyldialcoylalanes (voie B).

x VOIE A

Les époxydes 2 et 3 sont traités (9) par l'héxadécyle cuivre ^{14}C -1 10 obtenu par action du bromure de n-hexadécyl magnésium sur le cyanure cuivreux ou l'iodure cuivreux (10, 11). L'époxyde 2 conduit au carbométhoxyméthyl-3 carbométhoxy-2 hydroxy-2 nonadécanoate de méthyle ^{14}C -4 : (2R, 3R) + (2S, 3S) 4 (rendement : 28%), qui est un analogue de 5. L'époxyde 3, traité de même, conduit au tricarbométhoxy-1,2,3 hydroxy-2 nonadécane (^{14}C -4) : (2R, 3S) + (2S, 3R) 5 (A.S. = 1 mCi/mM, rendement : 10%).

La saponification par la lithine dans le diméthoxyéthane (5) de l'ester 6 donne sans racémisation, l'acide (2R, 3S) + (2S, 3R) agarique ^{14}C -4 1a (A.S. = 1 mCi/mM).

Les structures chimiques de 4 et de 5 ont été déterminées par l'analyse élémentaire et par l'étude des spectres de masse et de RMN du proton. L'organocuvreux 10, préparé par action du lithio-1 hexadécane (^{14}C -1) sur CuCN ou CuI , ne permet d'obtenir 4 et 5 qu'avec des rendements respectifs de 10% et de 5%. L'ouverture alcoylante de 2 et de 3 par des homocuprates de lithiens tels que $(\text{C}_{16}\text{H}_{33})_2\text{CuI}$ (12) ; $(\text{C}_{16}\text{H}_{33})_2\text{CuBr}$, $\text{S}(\text{CH}_3)_2$ (13) et $(\text{C}_{16}\text{H}_{33})_2\text{CuI}$, $2(\text{CH}_3\text{O})_3\text{P}$ (14) n'a pas conduit aux composés 4 et 5.

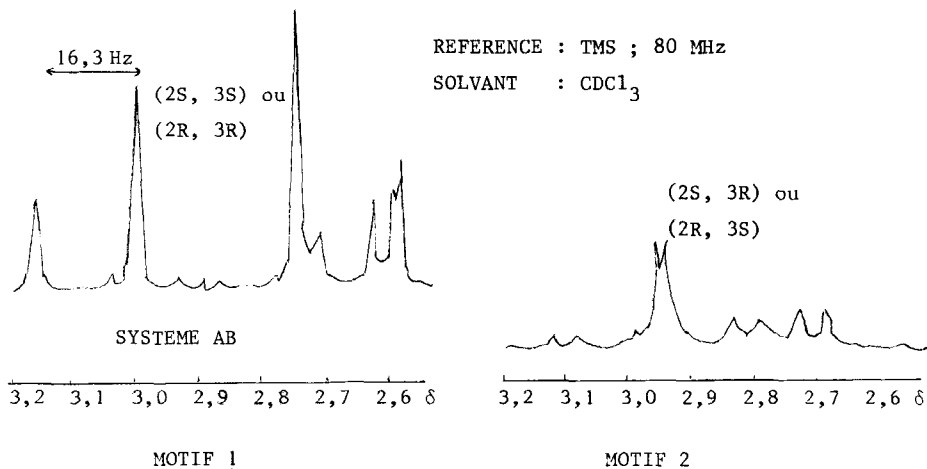
* VOIE B

Elle utilise le principe d'ouverture trans des époxydes par les alcynylalcoylalanes $\text{R}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{AlR}'_2$ selon FRIED et al. (15, 16). L'hexadécynyl-1 diéthylalane 9 est obtenu quantitativement par action du chlorure de diéthylaluminium sur le n-hexadécynyl-1 lithium dans le toluène (15). L'action de l'ane 9 sur l'époxyde 3 conduit au (2R, 3S) + (2S, 3R) tricarbométhoxy-1,2,3 hydroxy-2 nonadécyne-4 8 très instable (rendement : 12%).

De même, l'action de l'ane 9 sur l'époxyde 2 donne le (2R, 3R) + (2S, 3S) tricarbométhoxy-1,2,3 hydroxy-2 nonadécyne-4 7 (rendement : 28%). Ce composé assez stable, réduit par le tritium en présence de charbon palladié, donne quantitativement le tricarbométhoxy-1,2,3 hydroxy-2 nonadécane [^3H -4,4,5,5] 6 (A.S. = 40 Ci/mM).

La saponification par la lithine dans le diméthoxyéthane (5) de l'ester 6 donne sans racémisation l'acide agarique (2R, 3R) + (2S, 3S) [^3H -4,4,5,5] 1b (A.S. = 40 Ci/mM).

Les couples de diastéréoisomères (2R, 3R) + (2S, 3S) et (2R, 3S) + (2S, 3R) ont pu être caractérisés par les spectres de RMN du proton selon (6) ; le méthylène C-1 donne un signal différent pour chaque couple envisagé, selon le schéma suivant :



PARTIE EXPERIMENTALE

Les puretés chimiques et radiochimiques sont contrôlées par chromatographie en couche mince (C.C.M.) sur plaque de gel de silice Merck 60 F 254. Les spectres de masse sont enregistrés sur un appareil CH7A Varian en introduction directe (70 eV). Les spectres RMN du proton et du carbone 13 sont obtenus sur un spectromètre à onde pulsée Varian FT80 à des champs respectifs de 80 MHz et 20 MHz. Les analyses élémentaires sont obtenues sur Perkin-Elmer 240.

1 - $\frac{(2R, 3S) + (2S, 3R) \text{ Tricarbométhoxy-1,2,3 hydroxy-2 nonadécane}}{(\text{}^{14}\text{C-4}) \underline{\underline{5}}}$.

0,92 mM de thréo époxyde 3 est agitée 30 mn à -50°C avec 0,05 mM d'iode de cuivre sec dans 6 ml de THF anhydre. On injecte à -50°C 1 mM de bromure d'hexadécyl-(¹⁴C-1)-magnésium en solution étherée. Après agitation à 0°C pendant 2 heures, on hydrolyse par 2 ml de H₂SO₄ 1N et on extrait à l'éther. Le résidu d'évaporation est purifié par chromatographie liquide sur gel de silice type "H" (chloroforme).

Rendement : 10%, A.S. = 1 mCi/mM

C.C.M. : Chloroforme : R_F = 0,43
 Hexane-Ether (50 : 50) : R_F = 0,43
 Cyclohexane-Acétate d'éthyle (80:20) : R_F = 0,31
 Cyclohexane-Acétone (95:05) : R_F = 0,15

Dans ces systèmes de solvants 5 est superposable à un témoin obtenu à partir de la forme naturelle de 1.

S.M. : m/e = 458-440-427-399.

RMN-¹H : δ = 0,9 ppm (m, 3H)- δ = 1,25 ppm (m, 30H)-δ = 3ppm (s, 2H)
 δ = 3,5 ppm (t, 1H)- δ = 3,6 ppm (s, 3H)- δ = 3,65 ppm
 (s, 3H)- δ = 3,7 ppm (s, 3H).

2 - $\frac{(2R, 3R) + (2S, 3S) \text{ Carbométhoxyméthyl-3 carbométhoxy-3 hydroxy-2 nonadécane}}{(\text{}^{14}\text{C-4}) \underline{\underline{4}}}$

L'érythro époxyde 2 est traité comme le thréo 3 et conduit à 4 avec un rendement de 28%.

C.C.M. : Chloroforme : R_F = 0,35
 Chloroforme-méthanol (99 : 01) : R_F = 0,50

RMN¹H : δ = 0,9 ppm (m, 3H)- δ = 1,2 ppm (m, 30H)- δ = 3 ppm (système AB, 2H)- δ = 3,65 ppm (s, 3H)- δ = 3,7 ppm (s, 3H)
 δ = 3,75 ppm (s, 3H)- δ = 3,9 ppm (s, 1H).

Analyse : $C_{25}H_{44}O_7$
 Calc. % : C 64,44 ; H 9,87.
 Tr. : C 65,47 ; H 10,11.

S.M. : m/e (%) = 385 (0,3%)-384 (1,05%)-326 (1,82%)-225 (28,48%).

3 - Acide agarique (2R, 3S) + (2S, 3R) [$^{14}C-4$] 1a : il est obtenu à partir de 5 selon (5).

4 - (2R, 3R) + (2S, 3S) Tricarbométhoxy-1,2,3 hydroxy-2 nonadécyne -4 7.

Une solution de 2 mM de n-hexadécyne-1 dans 10 ml de toluène anhydre est traitée à 0°C par 2 mM de nBuLi. Après injection de 2 mM de chlorure de diéthylaluminium (solution dans le toluène à 20%) et agitation 1h à 0°C, 1 mM d'érythro époxyde 2 en solution dans le toluène est ajoutée au mélange réactionnel. La réaction dure 24h à 0°C. Après hydrolyse à l'eau, extraction à l'éther et évaporation, le résidu est purifié par chromatographie liquide sur colonne de gel de silice type "60H" (Benzène-Acétate d'éthyle : 97-03).

Rendement : 28%.

C.C.M. : Benzène-Acétate d'éthyle (97:03) : $R_F = 0,24$
 Hexane-Ether (90:10) : $R_F = 0,20$

Analyse : $C_{25}H_{42}O_7$
 Calc. % : C 66,29 ; H 10,35 ; O 24,25.
 Tr. : C 66,05 ; H 9,31 ; O 24,64

RMN¹H : $\delta = 1$ ppm (m, 3H)- $\delta = 1,3$ ppm (m, 24H)- $\delta = 1,9$ ppm (m, 2H)
 $\delta = 3,2$ ppm (s, 2H)- $\delta = 3,35$ ppm (s, 6H)- $\delta = 3,5$ ppm (s, 1H)- $\delta = 3,6$ ppm (s, 3H).

RMN-¹³C : δ (ppm) = 19 ; 28 ; 33 ; 34 ; 35 ; 37 ; 46 ; 48 ; 56 ; 56,5 ; 58 ; 81 ; 82 ; 92 ; 172 ; 175 ; 179.

S.M. : m/e (%) = 454 (15,32%)-437 (5,8%)-423 (5,98%)-395 (53,79%)-381 (31,54%)-363 (94,77%).

5 - (2R, 3 S) + (2S, 3R) Tricarbométhoxy-1,2,3 hydroxy-2 nonacédyne-4 8.

8 est obtenu dans les mêmes conditions que 7 par action de l'alanine 9 sur l'époxyde thréo 3. Ce composé 8 obtenu est chimiquement très instable ce qui a limité son utilisation ultérieure.

Rendement : 12%.

C.C.M. : Benzène-Acétate d'éthyle (97 : 03) : $R_F = 0,24$.
Hexane-Ether (90 : 10) : $R_F = 0,20$.

RMN-¹H : $\delta = 0,9$ ppm (m, 3H)- $\delta = 1,25$ ppm (m, 24H)- $\delta = 1,55$ ppm
(m, 2H)- $\delta = 3,1$ ppm (s, 2H)- $\delta = 3,65$ ppm (s, 3H)- $\delta = 3,7$
ppm (s, 3H)- $\delta = 3,75$ ppm (s, 3H)- $\delta = 3,8$ ppm (s, 1H).

6 - (2R, 3R) + (2S, 3S) Tricarbométhoxy-1,2,3 hydroxy-2 nonadécane
(³H-4,4,5,5) 6.

A l'aide d'une pompe Toepler, 3,3 ml de tritium gaz (A.S. = 20 Ci/mM) sont transférés sur une solution de 7 dans le dioxanne anhydre. La réduction est effectuée à température normale et pression normales en présence de charbon palladié. Après 1h d'agitation, filtration et évaporation, le résidu est purifié par chromatographie préparative sur plaque de gel de silice (cyclohexane-acétate d'éthyle : 70:30) puis par chromatographie liquide sur colonne de gel de silice type "60H" (cyclohexane-acétate d'éthyle : 90-10).

Rendement : 90%.

C.C.M. : Benzène-Acétate d'éthyle (90:10) : $R_F = 0,25$
Chloroforme-Acétone (50:0,5) : $R_F = 0,80$
Hexane-Ether (50:50) : $R_F = 0,43$

S.M. m/e (%) = 458 (5%)-399 (68,6%)-368 (28,1%)-298 (42,35%).

7 - (2R, 3R) + (2S, 3S) Acide agarique [³H-4,4,5,5] 1b

Il est obtenu par saponification de 6 selon (5).

Remerciements

Nous remercions Monsieur le Professeur VIGNAIS et le Docteur LAUQUIN (CEN-G-Biochimie) pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail et Monsieur AUDINOT pour les opérations de tritiation.

BIBLIOGRAPHIE

- 1) - I. TADDEI, D. GIACHETTI
Riv. Ital. Essenze, Profumi, Piante off. Aromi, Saponi,
Cosmet, Aerosol, 1975, 57, 107.
- 2) - E. CHAVEZ, M. KLAPP.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 1975, 67, 272.

- 3) - E. CHAVEZ, R. CHAVEZ, N. CARRASCO.
Life Sciences, 1978, 23, 1423.
- 4) - E.I. CIACCIO, G.E. BOXER, T.M. DEVLIN, R.T. FORD.
Cancer Res. 1967, 27, 1070.
- 5) - J.P. LELLOUCHE, J.P. BEAUCOURT, L. PICHAT.
Publication en cours.
- 6) - S. BRANDÄNGE, S. JOSEPHSON, L. MÖRCH, S. VALLEN.
Acta Chem. Scand. 1977, B31, 307.
- 7) - J. GUTHRIE, R. WILLIAM, FAIRFIELD, HAMILTON, N. KIRSTEAD, R.
WITHMAN, E. C. SULLIVAN
A.C. Ger. Offen., 2 258 955, 1973.
- 8) - J. GUTHRIE, R. WILLIAM, FAIRFIELD, KIERSTEAD, R. WITHMAN.
A.C. Ger. Offen. 2 258 257, 1973.
- 9) - C. HUYNH, F. DERGUINI-BOUMECHAL, G. LINSTRUMELLE.
Tetrahedron Letters, 1979, 17, 1503.
- 10) - H. GILMAN, R.G. JONES, L.A. WOODS.
J. Org. Chem., 1952, 17, 1630.
- 11) - J.F. NORMANT.
Synthesis, 1972, 2, 63
- 12) - G.M. WHITESIDES, W.F. FISCHER, J. SANS FILIPPO, R.W. BASHE,
H.O. HOUSE.
J. Amer. Chem. Soc., 1969, 91 4871.
- 13) - H.O. HOUSE, C.V. CHU, J.M. WILKINS, M.J. UMEN.
J. Org. Chem., 1975, 40, 1460.
- 14) - H.O. HOUSE, W.F. FISCHER, M. GALL, T.E. Mc LAUGHLIN, N.P. PEET
J. Org. Chem. 1971, 36, 3429.
- 15) - J. FRIED, C.H. LIN, S.H. FORD.
Tetrahedron Letters, 1969, 18, 1379.
- 16) - J. FRIED, S. HEIM, S.J. ETHEREDGE, P. SUNDER-PLASSMAN, T.S.
SANTHANAKRISHNAN, J.I. HIMIZU, C.H. LIN.
J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1968, 634.