

OBTENTION SELECTIVE DE SYNTHONS NUCLEOSIDIQUES UTILISABLES  
EN SYNTHÈSE OLIGORIBONUCLEOTIDIQUE : DIFFÉRENCIATION 2',3' EN SÉRIE NUCLEOSIDIQUE

F. Dumont, R.H. Wightman, J.C. Ziegler, C. Chavis et J.L. Imbach

Université des Sciences et Techniques du Languedoc  
Laboratoire de Chimie Bio-Organique, E.R. n° 195 du C.N.R.S.  
Place E. Bataillon, 34060 Montpellier Cédex (France)

*Abstract* : A practical regio- and stereoselective synthesis of asymmetrically substituted ribonucleosides is described in which glycosylation of ribofuranoid 2-O-ethers (alkyl or silyl) with either pyrimidines or purines is the key step.

L'un des problèmes fondamentaux qui se pose au chimiste désirant synthétiser des oligoribonucléotides est le manque de méthode simple permettant de parvenir rapidement et avec des rendements satisfaisants à des ribofurannucléosides dissymétriquement substitués en 2'.

En règle générale, ce type de "building blocks" est obtenu par une protection préalable de la fonction hydroxylée en 5' du nucléoside, et des fonctions aminées de l'aglycone, suivie d'une substitution non sélective en 2' et d'une séparation, souvent délicate par chromatographie des isomères 2' et 3' (1). Les positions 2' et 3' de la partie osidique sont ainsi différenciées au niveau du nucléoside. C'est par ce moyen que sont préparés, jusqu'à présent, la plupart des synthons nucléosidiques substitués en 2', que ce soit par un groupement O-tert-butyl diméthylsilyle (2-10), O-orthonitrobenzyle (11-13), ou même par un O-méthyle dans le cas des nucléosides rares (14).

Or, il est possible d'atteindre cette différenciation des fonctions hydroxylées en 2' et 3' en synthétisant dans un premier temps un ribofurannose dissymétrique, tel 1, puis en le couplant avec un aglycone quel qu'il soit, ce qui est tout particulièrement intéressant dans le cas des nucléosides difficilement accessibles.

Pour qu'une telle approche puisse être envisagée, trois conditions doivent être remplies :

- le ribofurannose dissymétriquement substitué en 2 doit être préparé avec un bon rendement et d'une manière simple.
- le groupement protecteur en 2 doit être choisi en fonction de sa stabilité lors des synthèses nucléosidiques.
- les méthodes de condensation de 1 avec l'aglycone doivent être sélectionnées en fonction de leur régiosélectivité et stéréospécificité de façon à obtenir l'isomère thermodynamique le plus stable (15) d'anomérie  $\beta$  - configuration des nucléosides naturels- et conduire à des rendements satisfaisants.

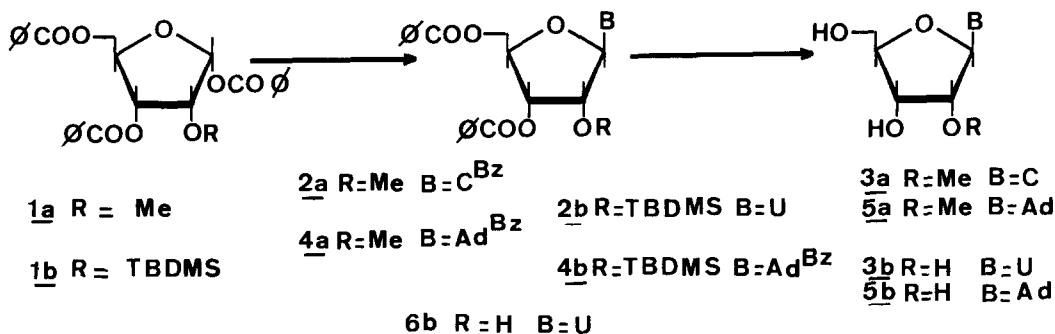
Précédemment, nous avons décrit la synthèse de plusieurs ribofurannes diversement substitués en 2 (16) à partir du dérivé tri-O-benzoyl-1,3,5- $\alpha$ -D-ribofurannose, par exemple 1a. Notons que nous avons amélioré le rendement de ces synthèses en hydrolysant le chloro-1 tri-O-benzoyl-2,3,5 D-ribofurannose à la place du dérivé bromé correspondant.

Compte tenu de l'emploi récent du groupement protecteur tert-butyl-diméthylsilyle (TBDMS) en synthèse des oligoribonucléotides (2-10), nous avons préparé 1b selon une voie identique, avec un rendement de 65 % à partir du O-acétyl-1 tri-O-benzoyl-2,3,5 D-ribofurannose\*.

Le couplage de 1a et 1b, stables dans les conditions réactionnelles, est effectué avec des aglycones dont le choix nous a été dicté par leur utilité ultérieure en couplage oligonucléotidique.

Ainsi, 1a condensé avec le dérivé silylé de la N<sup>4</sup>benzoylcytosine en présence de deux équivalents de tétrachlorure d'étain au reflux du dichloroéthane anhydre (17), conduit à 2a avec un rendement de 70 %, après purification par chromatographie ; 2a, traité par le méthanol ammoniacal, donne 3a en tout point identique au nucléoside obtenu par substitution non sélective (18).

La N<sup>6</sup> benzoyladénine, sous forme de son sel chloromercurique, en présence de tétrachlorure de titane (19) donne 4a avec 70 % de rendement après chromatographie, et ensuite 5a.



Dans les mêmes conditions opératoires, le riboside 1b est condensé avec l'uracile et la N<sup>6</sup> benzoyladénine pour fournir les nucléosides 2b et 4b avec des rendements respectivement égaux à 95 % et 93 %. Ces derniers sont ensuite débenzoylés et traités par les ions fluorures pour donner 3b et 5b.

Dans un but de simplification, nous avons directement utilisé le fluorure de potassium, en présence de dibenzo-18 crown-6 dans le tétrahydrofurane, pour éliminer le groupement tert-butyl-diméthylsilyle. Cette technique présente l'avantage de ne pas avoir à préparer le fluorure de tétrabutylammonium, réactif habituellement utilisé pour cette réaction (7). Ainsi, 2b, traité par le fluorure de potassium permet d'isoler avec un rendement de 75 % la di-O-benzoyl-3'-5' uridine

6b. Cependant, au cours de cette réaction, nous avons constaté une migration 3 → 2 des groupements benzoyles (20), mais l'isomère 3', prépondérant, cristallise aisément à partir de la solution mère, d'où la facilité de séparation. La même réaction a été effectuée sur la di-O-benzoyl-3',5'-O-TBDMS-2' N<sup>6</sup> benzoyladénosine.

L'anomérisme  $\beta$  de l'ensemble des dérivés obtenus est vérifiée après déprotection par comparaison des nucléosides 3 et 5 (point de fusion, RMN) avec ceux décrits dans la littérature (14, 18, 21). La stéréospécificité lors de ces réactions de couplage avec 1a et 1b est particulièrement remarquable, aucune trace d'anomère  $\alpha$  n'ayant été constatée. Les nouveaux composés décrits dans ce travail ont été identifiés par les méthodes usuelles d'analyse (RMN, spectrographie de masse, microanalyse...). Nous présentons dans le tableau I les caractéristiques en résonance magnétique nucléaire du proton de 1b et des composés de type 2 et 4

!	:	:	:	:	!	
!	:	Rdt	RMN	$\delta$ (ppm)	J Hz	TMS
!	:	:	:	CDC1 <sub>3</sub>	:	référence interne
!	:	:	:	:	:	!
!	:	<u>1b</u> : 65 %	:	8,23 - 7 (m, 15H), 6,60 (d, J=4,2, 1H)	5,60 (dd, J=6, J=1,8, 1H),	!
!	:	:	:	4,88 - 4,38 (m, 4H)	0,7 (s, 9H) 0,03 (s, 6H).	!
!	:	:	:	:	:	!
!	:	<u>2a</u> : 70 %	:	8,94 (NH, 1H), 8,4 - 7,4 (m, 17H), 6,09 (d, J=1,4, 1H), 5,7 (dd, J=5,		!
!	:	:	:	J=8,3, 1H), 4,98 - 4,58 (m, 3H), 4,35 (dd, J=1,4, J=5, 1H).		!
!	:	:	:	:	:	!
!	:	<u>4a</u> : 70 %	:	9,33 (NH, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,33 - 6,76 (m, 16H), 6,20 (d, J=5,4, 1H),		!
!	:	:	:	6 - 5,66 (m, 1H), 5,06 (dd, J=6, J=6, 1H), 5 - 4,36 (m, 3H), 3,45 (s, 3H)		!
!	:	:	:	:	:	!
!	:	<u>2b</u> : 95 %	:	9,63 (NH, 1H), 8,78 - 7,23 (m, 11H), 5,99 (s, J=3,6, 1H), 5,56 (d, J=7,8,		!
!	:	:	:	1H), 5,4 (t, 1H), 5 - 4,53 (m, 3H), 0,8 (s, 9H), 0,08 (s, 3H).		!
!	:	:	:	:	:	!
!	:	<u>4b</u> : 93 %	:	8,65 (NH, 1H), 8,2 - 7,4 (m, 17H), 6,15 (d, J=6, 1H), 5,77 (m, 1H),		!
!	:	:	:	5,45 (t J=6, J=6, 1H), 4,9 - 4,7 (m, 3H), 0,72 (s, 9H), -0,07 (s, 3H),		!
!	:	:	:	-0,2 (s, 3H).		!
!	:	:	:	:	:	!

TABLEAU I.

Nous avons ainsi -grâce à l'utilisation de ribofurannoses dissymétriquement substitués de type 1- proposé une méthode générale d'obtention de synthons nucléosidiques, intermédiaires clefs des synthèses oligoribonucléotidiques.

La voie que nous proposons, répond aux trois conditions préalablement citées, et est particulièrement flexible car 2 et 4 constituent les précurseurs généraux des divers types de nucléosides de départ convenablement protégés.

L'application de cette approche aux bases rares, constituants des t-ARN, permet d'envisager l'obtention aisée des synthons correspondants, prélude à leur incorporation dans les oligoribonucléotides de synthèse, travaux actuellement en cours dans notre Laboratoire.

REFERENCES

- 1 - C.B. REESE, *Tetrahedron*, 34, 3143 (1978).
- 2 - K.K. OGILVIE, *Can. J. Chem.*, 51, 3799 (1973).
- 3 - K.K. OGILVIE, K.L. SADANA, E.A. THOMPSON, M.A. QUILLIAM, J.B. WESTMORE, *Tetrahedron Letters*, 2861 (1974).
- 4 - K.K. OGILVIE, E.A. THOMPSON, M.A. QUILLIAM, J.B. WESTMORE, *Tetrahedron Letters*, 2865 (1974).
- 5 - K.K. OGILVIE, S.L. BEAUCAGE, D.W. ENTWISTLE, E.A. THOMPSON, M.A. QUILLIAM, J.B. WESTMORE, *J. Carbohydrates, Nucleosides, Nucleotides*, 3, 197 (1976).
- 6 - K.K. OGILVIE, N. THERIAULT, K.L. SADANA, *J. Amer. Chem. Soc.*, 99, 7741 (1977).
- 7 - K.K. OGILVIE, S.L. BEAUCAGE, A.L. SCHIFMAN, N.Y. THERIAULT, K.L. SADANA, *Can. J. Chem.*, 56, 2768 (1978).
- 8 - K.L. SADANA, P.C. LOEWEN, *Tetrahedron Letters*, 5095 (1978).
- 8 - W. PFLEIDERER, Conférence présentée à la 3e Table Ronde Internationale : "Nucléosides, Nucléotides et Applications Biologiques". J.L. BARASCUT et J.L. IMBACH, Ed. I.N.S.E.R.M., édition 1979 (sous presse).
- 10 - W. KÜHLER, W. SCHLOSSER, G. CHARUBALA, W. PFLEIDERER, dans "Chemistry and Biology of Nucleosides and Nucleotides". R.E. HARMON, R.K. ROBINS, L.B. TOWNSEND Ed. Academic Press, 1978, p. 347.
- 11 - D.G. BARTHOLOMEW, A.D. BROOM. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 38 (1975).
- 12 - E. OHTSUKA, S. TANAKA, M. IKEHARA. *Chem. Pharm. Bull.*, 25, 949 (1977).
- 13 - E. OHTSUKA, S. TANAKA, M. IKEHARA. *Nucleic Acids Research*, 1, 1351 (1974).
- 14 - R. HALL "The Modified Nucleosides in Nucleic Acids". Columbia University Press. New-York. 1971.
- 15 - J.L. BARASCUT, J.L. IMBACH, dans "Chemistry and Biology of Nucleosides and Nucleotides". R.E. HARMON, R.K. ROBINS, L.B. TOWNSEND. Ed. Academic Press. New-York, 1978, pp 239.
- 16 - C. CHAVIS, F. DUMONT, J.L. IMBACH, *J. Carbohydrates, Nucleosides, Nucleotides*, 5, 133 (1978).
- 17 - U. NIEDBALLA, H. VORBRUGGEN. *J. Org. Chem.*, 39, 3654-3660 - 3664-3668 (1974).
- 18 - M.J. ROBINS, S.R. NAIK, A.S.K. LEE. *J. Org. Chem.*, 39, 1891 (1974).
- 19 - N. PRAVDIC, I. FRANJIC-HIMALIC. *Carbohydr. Res.*, 62, 301 (1978).
- 20 - C.B. REESE, D.R. TRENTAN, *Tetrahedron Letters*, 2467 (1965).
- 21 - L.B. TOWNSEND, dans "Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry", W.W. ZORBACH, R.S. TIPSON, Ed. Wiley Interscience. New-York. 1979, vol. 2, pp 267.

\* Pfanstiehl Laboratories, Inc. Waukegan, Illinois 60085, USA.

(Received in France 6 June 1979)