

NOUVELLE SYNTHÈSE DE LA TENTOXINE

Robert Jacquier et Jean Verducci*

Equipe de Recherche Associée au CNRS N° 169, Place E. Bataillon
 34060 MONTPELLIER Cédex - France.

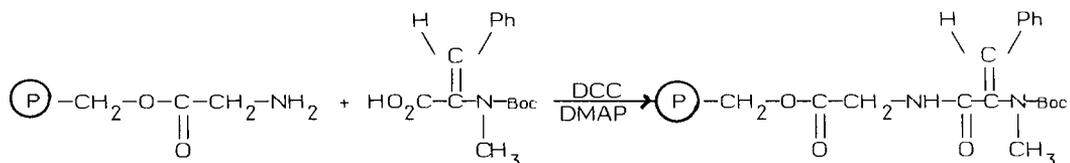
Abstract : We describe a new synthesis of tentoxine, cyclo(N-Me(L)Ala-(L)Leu-N-Me(ZΔ)Phe-Gly), with a direct introduction of the dehydro residue in the peptide chain. This method affords the linear tetrapeptide with a yield four times better than that given by the method of Rich.

La tentoxine est un cyclotétrapeptide, cyclo(N-Me(L)Ala-(L)Leu-N-Me(ZΔ)Phe-Gly), produit par un champignon (*Alternaria tenuis*) qui provoque la chlorose des germes d'un certain nombre de plantes¹. La structure de la tentoxine a été établie par Meyer et coll.²⁻⁵ et sa synthèse réalisée en 1974 par Rich et coll.⁶ puis modifiée en 1978⁷.

La synthèse de la tentoxine présente deux difficultés : l'une, commune à tous les cyclopeptides, est le faible rendement des réactions de cyclisation même en solution hautement diluée; la seconde, particulière à la tentoxine, provient de la présence d'un acide aminé α-déhydro : la conjugaison entre cette double liaison et le carboxyle provoque la désactivation de ce dernier qui rend difficile son couplage par les carbodiimides, même en présence d'hydroxybenzotriazole (HOBT). C'est pour cette raison que dans ses synthèses, Rich utilise un précurseur, la β-S-benzylthiophénylalanine; ce n'est qu'au niveau du tri ou tétrapeptide linéaire que la double liaison est créée par β-élimination à partir du S-oxyde correspondant. De plus, afin de n'obtenir que le composé de configuration Z lors de cette β-élimination, il est nécessaire de séparer à l'un des stades les isomères érythro et thréo du système β-benzylthiophénylalanine.

Nous avons donc recherché une voie de synthèse plus commode de la tentoxine afin de pouvoir en préparer des quantités suffisantes ainsi que divers analogues en vue d'études biologiques.

Dans un premier temps, nous avons tenté une synthèse en phase solide en couplant la Boc-N-Me(ZΔ)phénylalanine avec la glycine fixée sur un support de type Merrifield :

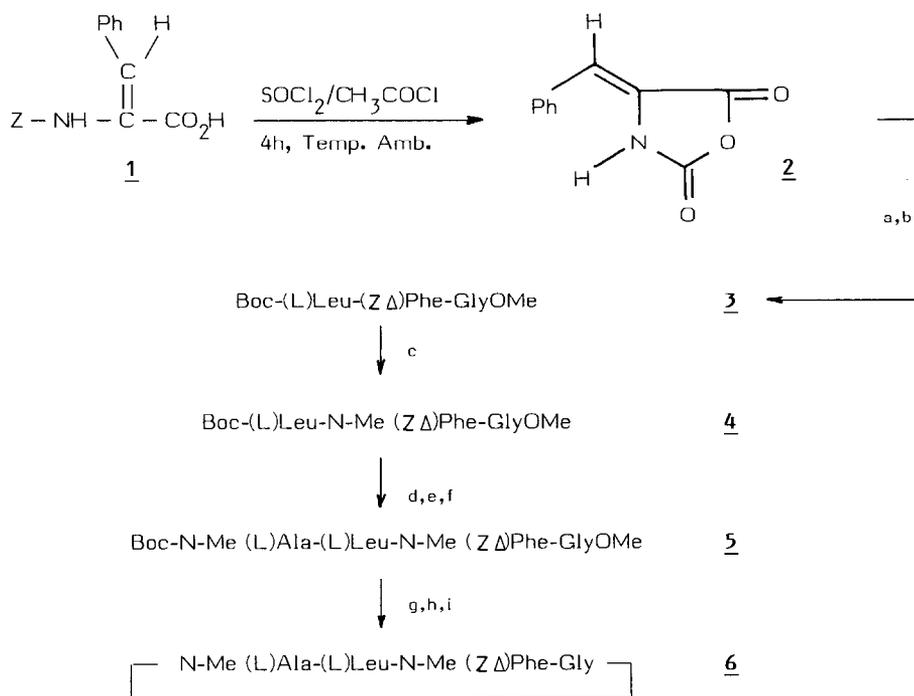


(P) = Polystyrène.

Comme nous l'avons montré précédemment⁸, l'utilisation de la diméthylamino-4 pyridine (DMAP) comme additif aux carbodiimides permet de réaliser de façon pratiquement quantitative ce type de couplage.

S'il nous a donc été facile de surmonter cette difficulté, il n'en a pas été de même de celle rencontrée à l'étape suivante : en effet, la coupure du groupement Boc tentée dans différentes conditions classiques (TFA, HCl ou $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$) s'accompagne de l'hydrolyse du dérivé N-déprotégé, du fait de son comportement énaminique.

Devant ces difficultés, nous nous sommes orientés vers une synthèse en phase homogène basée sur l'utilisation des N-carboxyanhydrides⁹ qui permet d'obtenir, directement dans une réaction sans isolement intermédiaire, le tripeptide et par suite, la tentoxine dans de très bonnes conditions :



- a) $(\text{Boc Leu})_2\text{O}$; b) GlyOMe ; c) $\text{ICH}_3/\text{K}_2\text{CO}_3/\text{DMF}$; d) $\text{TFA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$; e) NEt_3 ;
 f) $\text{Boc NMe-Ala}/\text{DCC}/\text{HOBT}$; g) KOH/EtOH ; h) $\text{Acide trifluoroacétique}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$;
 i) $\text{Diphénylphosphorylazide(DPPA)}/\text{DMF}$.

Une suspension de N-Z (Z Δ)Phe^{10,11} **1** (10 mmol dans 6 ml de chlorure d'acétyle et 4 ml de chlorure de thionyle) est agitée 4 h à température ambiante; le N-carboxyanhydride **2** est filtré et recristallisé dans l'acétate d'éthyle ($F = 230\text{-}232^\circ$; Litt.¹² : $229\text{-}232^\circ$; rendement 80%).

A une solution refroidie à 0° de 2 (10 mmol) dans un minimum de THF est ajoutée une solution dans le THF d'anhydride de la Boc Leucine (préparée à 0° à partir de 20 mmol de Boc Leu, H₂O et 32 mmol de DCC). Le mélange est agité 15 mn à 0° puis 4 h à température ambiante. On ajoute ensuite 12 mmol de chlorhydrate de glycinate de méthyle en suspension dans le THF et le pH est ramené à 8 par addition de triéthylamine; le mélange est agité une nuit à température ambiante puis filtré pour éliminer les restes de DCU. La solution est lavée successivement par HCl 1N, l'eau, une solution saturée de NaHCO₃ et l'eau. La phase organique séchée et évaporée conduit au tripeptide 3 qui est recristallisé dans un mélange dichlorométhane-éther (F = 140°; Rdt. 60 %).

Le tripeptide 3 est ensuite méthylé de façon pratiquement quantitative et sélectivement sur le résidu déhydrophénylalanyle suivant la méthode de Rich^{6,7} (ICH₃/K₂CO₃ dans le DMF); le composé 4 présente des caractéristiques (RMN et CCM) identiques à celles décrites par cet auteur. Le tripeptide 4 est ensuite déprotégé par action du TFA 30% dans le dichlorométhane (30 mn); la solution est évaporée sous pression réduite, le résidu repris par le méthanol et évaporé à nouveau. Le produit obtenu est solubilisé dans le dichlorométhane et neutralisé par addition de triéthylamine (pH 8); 1,1 équivalent de Boc N-Me Ala et un équivalent d'HOBt sont ensuite ajoutés et la solution refroidie à 0° avant l'addition de 1,1 équivalent de DCC. Le mélange est agité une nuit à température ambiante puis filtré. La solution est lavée à l'acide chlorhydrique 1N puis à l'hydrogénocarbonate de sodium, séchée et évaporée sous pression réduite; le tétrapeptide linéaire 5 est obtenu avec un rendement de 90% et présente des caractéristiques identiques à celles décrites par Rich.

Le rendement global non optimisé en tétrapeptide 5 par rapport à la déhydrophénylalanine N-protégée de départ est de 43% c'est-à-dire 4 fois supérieur à celui obtenu par Rich à partir de la N-acétyl déhydrophénylalanine.

Le composé 5 est hydrolysé par la potasse dans l'alcool 95%⁷ pour conduire à l'acide correspondant qui, traité par le TFA comme plus haut, conduit au tétrapeptide entièrement déprotégé sous forme de trifluoroacétate. Ce dernier est mis en solution dans le DMF (4 mmol/l) et traité par 4 équivalents de triéthylamine et 1,5 équivalent de diphenylphosphorylazide (DPPA)¹³ à 0° pendant 70 h. L'évaporation du solvant à 40° conduit à un résidu dont la chromatographie sur silice (éluant acétate d'éthyle-3% d'éthanol) permet d'isoler la tentoxine pure (F = 171-172°) avec un rendement de 16%.

Des travaux sont actuellement en cours afin de transposer ces résultats à la synthèse en phase solide et d'améliorer les rendements de la réaction de cyclisation.

Bibliographie

- ¹ J.M. Daly in "Toxins in Plant Disease", R.D. Durbin (Ed.), Physiological Ecology Series, Academic Press, 1981 p. 357.
- ² G.E. Templeton, W.L. Meyer, C.I. Grabel et C.W. Sigel, *Phytopathology*, 57, 833 (1967).
- ³ W.L. Meyer, G.E. Templeton, C.I. Grabel, C.W. Sigel, R. Jones, S.H. Woodhead et C. Sauer, *Tetrahedron Letters*, 2357 (1971).
- ⁴ W.L. Meyer, L.F. Kuyper, R.B. Lewis, G.E. Templeton et S.H. Woodhead, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 56, 324 (1974).

- ⁵ W.L. Meyer, L.F. Kuyper, D.W. Phelps et A.W. Cordes, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, 339 (1974).
- ⁶ D.M. Rich et P. Mathiapparanam, *Tetrahedron Letters*, 4037 (1974).
- ⁷ D.M. Rich, P. Bhatnagar, P. Mathiapparanam, J.A. Grant et J.P. Tam, *J. Org. Chem.*, 43, 296 (1978).
- ⁸ J.-P. Gamet, R. Jacquier et J. Verducci, *Tetrahedron* sous presse.
- ⁹ C.G. Shin, T. Yamada et Y. Yonezawa, *Tetrahedron Letters*, 24, 2175 (1983).
- ¹⁰ T.J. Nitz, E.M. Holt, B. Rubin et C.H. Stammer, *J. Org. Chem.*, 46, 2667 (1981).
- ¹¹ C.G. Shin, Y. Yonezawa, K. Unoki et J. Yoshimura, *Tetrahedron Letters*, 1049 (1979).
- ¹² C.G. Shin, Y. Yonezawa et J. Yoshimura, *Chem. Letters*, 1635 (1981).
- ¹³ S.F. Brady, S.L. Varga, R.M. Freidinger, D.A. Schwenk, M. Mendlowski, F.W. Holly et D.F. Veber, *J. Org. Chem.*, 44, 3101 (1979).

(Received in France 6 March 1984)