



Synthèse Stéréosélective de Thymidine Substituée en C-5'

Jean-Marc Escudier*, Isabelle Tworkowski, Leila Bouziani et Liliane Gorrichon

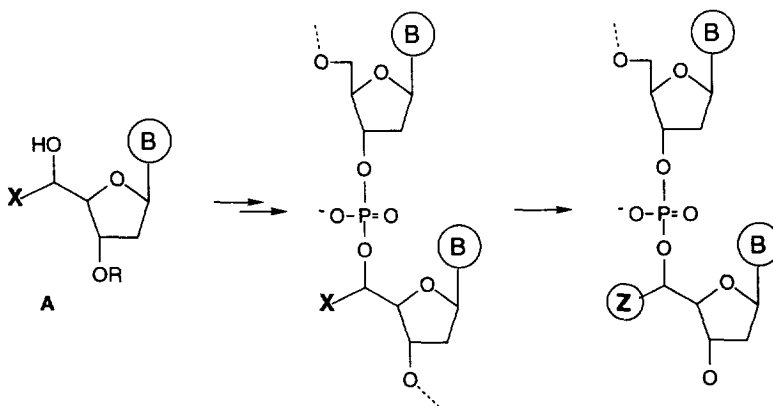
Laboratoire de synthèse et physicochimie organique associé au C. N. R. S., Université Paul Sabatier,
118 route de Narbonne, 31062 Toulouse (France)

Key-words: Aldolisation, enoxysilane, 2'-deoxynucleosides, X-Ray.

Abstract: Stereocontrolled enolate addition on thymidine C-5' aldehydes provides functionalized nucleosides. After appropriate protections of the hydroxyl functions, and reduction of the carbonyl function these "armed" nucleosides can be tosylated to permit subsequent modification on the oligonucleotide in which they could be incorporated. Copyright © 1996 Published by Elsevier Science Ltd

La préparation de 2'-désoxynucleosides **A** portant une fonctionnalisation supplémentaire (X) sur le carbone 5' peut permettre d'obtenir des synthons intéressants pour l'élaboration d'oligonucléotides dans le cadre d'une approche antisens¹. On peut attendre une stabilité accrue vis à vis des nucléases^{2,3,4} ainsi que des propriétés d'hybridation avec les séquences cibles comparables à celles d'un oligonucléotide naturel^{3,4}. Par ailleurs, (schéma 1) une modulation des propriétés biologiques (par exemple facilitant la pénétration) de l'oligonucléotide pourrait être obtenue par greffage de molécules appropriées (Z) sur cette position laissant les extrémités 5' et 3' libres pour d'autres modifications.

Schéma 1



Le nucléoside **A** possède un carbone asymétrique en C-5' et il est donc important d'en contrôler la stéréochimie. Nous avons, dans un article précédent, abordé ce problème par synthèse totale de 2'-désoxynucleosides à partir d'époxyaldéhydes chiraux *via* des butyrolactones⁵. Nous décrivons une autre approche, l'addition stéréosélective d'énolates sur des aldéhydes (**1,2**) en C-5' de la thymidine (schéma 2). Les aldéhydes **1** et **2** sont préparés, selon la méthode de Pfizner-Moffatt⁶, à partir de la thymidine protégée en 3' (et N3 pour **2**)⁷.

Les résultats obtenus lors des condensations aldoliques sont consignés dans le tableau 1.

Schéma 2 :

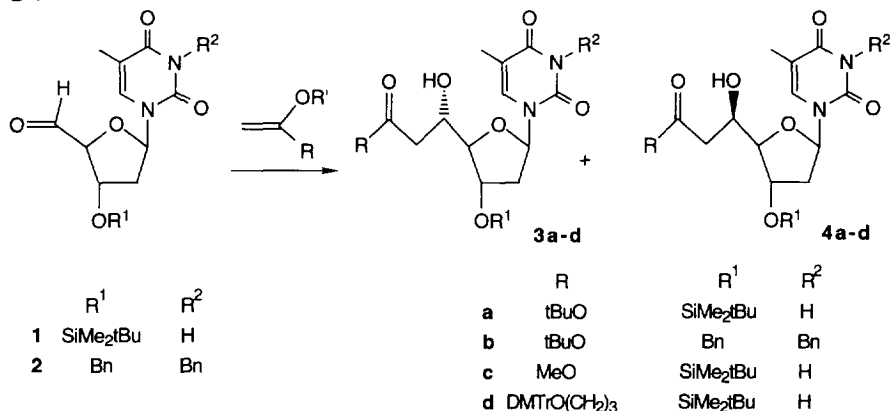


Tableau 1

Entrée	Aldéhyde	Enolate		Composés	3/4	Rdt %
		R	R'			
1	1	tBuO	Li	3a/4a	1/1*	50
2	1	tBuO	SiMe₂tBu	3a/4a	6,7/1**	70
3	1	MeO	Li	3c/4c	1/1*	45
4	1	MeO	SiMe₂tBu	3c/4c	19/1**	70
5	1	DMTrO(CH₂)₃	SiMe₃	3d/4d	9/1#	60
6	2	tBuO	Li	3b/4b	1/9**	45
7	2	tBuO	SiMe₂tBu	3b/4b	5,6/1**	70

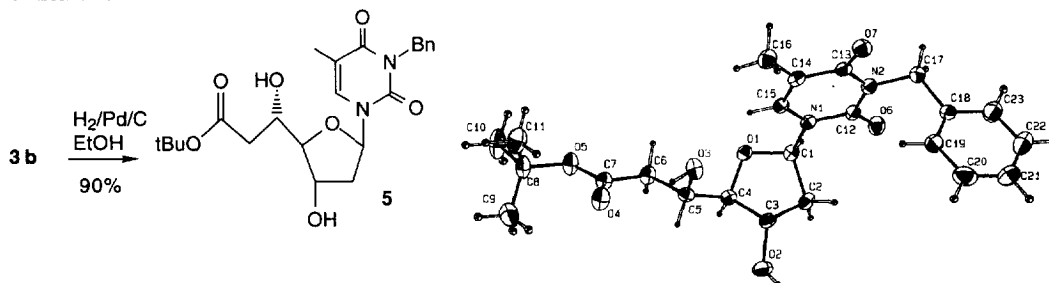
Détermination des rapports: *: RMN ¹H, **: CLHP analytique, #: produits isolés.

La diastéréosélectivité est bonne lorsque la condensation est effectuée à température ambiante, dans le dichlorométhane avec un énolate silylé (2 équivalents) en présence de BiCl₃/ZnI₂ (catalytique)⁸ quelle que soit la nature des groupements protecteurs de l'aldéhyde (entrées 2,4,5 et 7), la meilleure étant réalisée avec l'énolate silylé de l'acétate de méthyle pour donner **3c**¹³. Nous obtenons les adduits **3** et **4** dont la fonction hydroxyle en 5' est libre et seulement 10-15% des adduits silylés attendus dans ce type de condensation⁸. En revanche, si l'on observe une perte de sélectivité avec les énoles lithiés (2 équivalents, -78°C, THF) sur l'aldéhyde **1** (entrée 1 et 3), la diastéréosélectivité s'inverse avec l'aldéhyde **2**, par rapport à celle observée avec l'énolate silylé, (entrée 6 vs 7). Cette particularité peut s'avérer très intéressante pour la préparation de l'un ou l'autre des diastéréoisomères du nucléoside suivant les propriétés conférées aux oligonucléotides.

- La configuration du centre asymétrique créé en C-5', a été déterminée par diffraction aux rayons X sur le composé **5** issu de l'hydrogénation catalytique de l'adduit majoritaire **3b** obtenu dans la condensation de l'aldéhyde **2** avec l'énolate silylé de l'acétate de tertibutyle. La configuration des composés **3a**, **3c** et **3d** est déduite de celle de **3b** par comparaison des spectres IR et RMN ¹H qui présentent de grandes analogies, dans tous les cas la fonction hydroxyle en 5' est chélatée avec le carbonyle en 7' (ν_{C=O}: 1710-1705 cm⁻¹) formant ainsi une pseudo cycle à six chaînons⁹. On observe pour les adduits **3**: J_{H5'-4'} ≈ 2 Hz (4 Hz pour

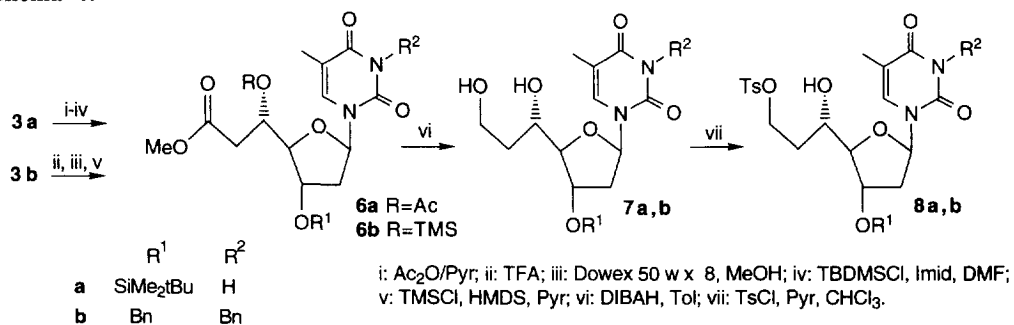
4), $J_{H6'a-5'} \approx 9,5$ Hz (3,5 Hz pour **4**) et $J_{H6'b-5'} \approx 3,3$ Hz (9,7 pour **4**). Il faut noter que la configuration absolue "R" du C-5' dans ce cas, est l'inverse de celle observée lors de l'addition d'allyl triméthylsilane en présence d'éthérate de BF_3 sur des aldéhydes équivalents¹⁰.

Schéma 3:



La réduction directe des esters de tertiobutyle étant infructueuse, nous avons converti ces derniers en esters de méthyle avec la fonction hydroxyle en 5' protégée (schéma 4). Dans le cas de **3a**, afin de conserver les deux fonctions hydroxyles secondaires différenciées, le choix de la protection en 5' s'est porté sur un groupement acétate, stable lors du traitement par l'acide trifluoroacétique, qui conduit à la formation de l'acide. Au reflux du méthanol avec une résine acide, on obtient l'ester de méthyle. La fonction hydroxyle en 3' partiellement déprotégée au cours des étapes précédentes est silylée à nouveau pour donner **6a** (40% pour les quatre étapes). La transestérisation de **3b** suivie de la silylation conduit à **6b** avec un rendement de 90%. Les fonctions ester de méthyle de **6a,b** sont réduites à basse température par le DIBAH¹¹ pour former **7a,b** (80%). La protection acétate de **6a** est réduite de façon concomitante et l'éther silylé de **6b** est éliminé au cours du traitement acide en fin de réaction. La fonction hydroxyle primaire est alors tosylée sélectivement¹³ (60% pour **8a** avec une déprotection partielle en 3', 85% pour **8b**).

Schéma 4:



Les composés **7a** et **7b** (ainsi que **3d**) peuvent, parallèlement, être utilisés afin de préparer des oligonucléotides branchés de type Y^{3,13} si on utilise les deux fonctions hydroxyles en 5' et 7' (10' pour **3d**) pour commencer chacune une nouvelle chaîne nucléotidique.

Les nucléosides **8a**¹⁴ et **8b** présentent leurs deux fonctions hydroxyle secondaire 3' et 5' différenciées ce qui permettra de les introduire dans un enchaînement oligonucléotidique. Le groupement tosyl leur confère un caractère électrophile qui autorise le greffage de molécule par attaque nucléophile.

Remerciements: Nous remercions La Fondation pour la Recherche Médicale pour son soutien financier et le Dr. J. Jaud (CEMES, Toulouse) pour la détermination de structure aux rayons X.

Références:

1. a: Hélène C., Toulmé J.-J. *Biochim. Biophys. Acta.* **1990**, *1049*, 99-125. b: Uhlmann E., Peyman A. *Chem. Rev.* **1990**, *90*, 543-584. Englisch U., Gauss D. H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 613-722.
2. Saha A. K., Caulfield T. J., Hobbs C., Upson D. A., Waychunas C., Yawman A. M. *J. Org. Chem* **1995**, *60*, 788-789
3. Thrane H., Fensholdt J., Regner M., Wengel J. *Tetrahedron.* **1995**, *51*, 10389-10402.
4. Wang G., Midleton P. J. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 2739-2742.
5. Nacro K., Escudier J.-M., Baltas M., Gorrichon L. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 7867-7870.
6. a: Pfitzner K. E., Moffatt J. G. *J. Amer. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 5661-5678. b: Jones G. H., Taniguchi M., Tegg D., Moffatt J. G. *J. Org. Chem* **1979**, *44*, 1309-1317.
7. Greene T. W., Wuts P.G., *Protective groups in organic chemistry*, J. Wiley & Sons, Inc, New York **1991**.
8. Le Roux C., Iloughmane H. G., Dubac J. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 1835-1839.
9. Calmes D., Gorrichon-Guigon L., Maroni P., Accary A., Barret R., Huet J. *Tetrahedron.* **1981**, *37*, 879-885.
10. Danishefsky S. L., DeNinno S. L., Chen S. H., Boisvert L., Barbachyn M. *J. Amer. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5810-5818.
11. Winterfeldt E. *Synthesis* **1975**, 617-630.
12. Kabalka G. W., Varma M., Varma R. S. *J. Org. Chem* **1986**, *51*, 2386-2388.
13. Brandenburg G., Petersen G. V., Rasmussen K., Wengel J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 791-795.
14. Composé **3c**: RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8,56 (s, 1H, NH) 7,66 (d, 1H, J=1,2 Hz, H-6) 6,27 (part X d'un syst ABX(Y) 1H, J=6,0; 6,1 Hz, H-1') 4,52 (m, 1H, J=1,0; 3,2; 7,5 Hz, H-3') 4,18 (qd, 1H, J=2,1; 3,2; 9,8 Hz, H-5') 3,78 (dd, 1H, J=1,0; 2,1 Hz, H-4') 3,73 (s, 3H, OMe) 2,74 et 2,54 (part AB d'un syst ABX, 2H, J=9,8; 3,2; 17,0 Hz, H-6') 2,28 et 2,17 (part AB d'un syst ABX(Y), 2H, J=6,0; 7,5; 3,2; 6,1; 13,2 Hz, H-2') 1,91 (d, 3H, J=1,2 Hz, Me-5) 0,88 (s, 9H, SitBu) 0,08 (s, 6H, SiMe₂). RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃) δ ppm: 173,7; 163,7; 150,4; 136,9; 110,9; 89,1; 86,1; 72,8; 67,4; 52,1; 4,5; 38,1; 25,7; 17,9; 12,7; -4,6; -4,8. Analyse (calculée/trouvée): % C 53,25 (53,54), % H 7,53 (7,57), % N 6,14 (6,48).
Composé **8a**: RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8,93 (s, 1H, NH) 7,79 et 7,36 (m, 5H, H-6 et arom) 6,04 (part X d'un syst ABX(Y) 1H, J=6,2; 7,6 Hz, H-1') 4,25 (m, 1H, J=2,5; 3,0; 6,1 Hz, H-3') 4,30 et 4,15 (m, 2H, H-7') 3,85 (m, 1H, H-5') 3,73 (t, 1H, J=2,5 Hz, H-4') 3,22 (d, 1H, J=7,4 Hz, OH) 2,44 (m et s, 4H, H-2' et MePh) 2,12 (part B d'un syst ABX(Y), 1H, J=3,0; 6,2; 13,3 Hz, H-2') 1,90 (m, 5H, H-6' et Me-5) 0,88 (s, 9H, SitBu) 0,08 (s, 6H, SiMe₂). RMN ¹³C (63 MHz, CDCl₃) δ ppm: 163,8; 150,4; 145,0; 137,8; 132,8; 129,9; 127,9; 111,1; 89,8; 88,2; 73,1; 67,6; 67,1; 39,8; 33,7; 25,8; 21,7; 17,9; 12,5; -4,6; -4,8. SM (DCI, NH₃): 572 (M+18, 100%), 555 (M+1, 30%)

(Received in France 3 April 1996; accepted 8 May 1996)