

SYNTHESE TOTALE DE LA (\pm) NEGAMYCINE

ANDRÉ PIERDET, LUCIEN NÉDÉLEC,* VLADIMIR DELAROFF et ANDRÉ ALLAIS
Centre de Recherches Roussel-Uclaf, 93230 Romainville, France

(Received in France 19 December 1978)

Abstract—A total synthesis of (\pm) negamycin 1 has been achieved in 14 steps from the acrolein dimer 6, which possesses the same carbon skeleton as the key intermediate lactone 4. Treatment of 2-acetoxyethyl 3,4-dihydro[2H]pyran 8, obtained from 6, with lead tetracetate gave the allylic hemiketal 15, which was converted into the corresponding anomeric methyl ethers 23. Hydroxylation of the double bond of 23 with mercuric acetate, occurred selectively at the γ -position and the resulting isomeric alcohols 24 were isolated as their dimethyls 25a and 25b. Condensation of sodium azide with the *trans*-derivative 25a resulted in the formation of the *cis*-diazide 26a by inversion of configuration at C₃. Hydrogenation of 26a followed by acetylation of the intermediate diamine gave the *cis*-diamide 28 having the required stereochemistry. Oxidation of the corresponding hemiketal 29 by means of silver silicate yielded the diacetamido-lactone 4, which was then hydrolysed into (\pm) δ -hydroxy β -lysine 2 by refluxing aqueous HCl. Under the conditions required to protect the amino-groups as benzylcarbamates, the lactone 30 was produced. However, 30 gave directly the hydrazine 36 by condensation with benzyl N-methylhydrazinoacetate in refluxing acetonitrile in the presence of SiO₂. Finally (\pm) negamycin was obtained by hydrogenolysis of the protecting groups of 36. The antibacterial activities of the racemic antibiotic have been compared, *in vitro* and *in vivo*, with those of the natural product and with gentamicin C.

Résumé—Une synthèse totale de la (\pm) négamycine 1 a été réalisée en 14 stades à partir du dimère de l'acroléine qui possède le squelette carboné nécessaire à l'édification de la lactone intermédiaire 4. Le traitement de l'acétoxy-méthyl-2 dihydro-3,4[2H]pyranne 8, provenant de 6, par le tetracétate de plomb conduit à l'hémicétal allylique 15, qui est transformé en éthers méthyliques anomères correspondants 23. L'hydroxylation de la double liaison de 23 par l'acétate mercurique s'effectue sélectivement en position γ pour donner les alcools isomères 24 qui sont isolés sous forme des diméthyls 25a et 25b. La condensation de l'azoture de sodium sur le dérivé *trans* 25a fournit le diazide *cis* 26a par inversion de la configuration en C₃. L'hydrogénation de 26a suivie de l'acétylation de la diamine intermédiaire non isolée conduit alors au diamide 28 ayant la stéréochimie attendue. Par oxydation de l'hémicétal correspondant 29 avec le silicate d'argent, on obtient la diacétamido lactone 4, qui est ensuite hydrolysée en (\pm) δ -hydroxy β -lysine 2 par reflux dans HCl dilué. La protection des fonctions aminées de 2 sous forme de benzylcarbamates est accompagnée de cyclisation en lactone 30. Cependant, celle-ci, traitée par l'ester benzylique de l'acide N-méthylhydrazinoacétique en présence de silice conduit directement à l'hydrazine 36, puis à la (\pm) négamycine après hydrogénéolyse des groupements protecteurs. Les activités antibactériennes de l'antibiotique racémique ont été comparées *in vitro* et *in vivo* à celles du produit naturel et de la gentamicine C.

La négamycine 1 est un antibiotique isolé par Umezawa *et al.* en 1970, d'une culture de *Streptomyces purpeofuscus*.¹

Selon les auteurs, la négamycine présente une activité inhibitrice intéressante sur la croissance des souches bactériennes gram positive et gram negative.² De plus, son mécanisme d'action l'apparente à celui des aminoglycosides, c'est-à-dire qu'il induit des erreurs de traduction du code génétique.^{3,4}

Ces résultats, ainsi que la structure relativement simple de la nouvelle substance, nous ont conduits à envisager son

accès par synthèse totale, en vue de la préparation d'analogues structuraux.[†]

La négamycine est un hydrazide formé de deux fragments séparables par hydrolyse acide: d'une part, la δ -hydroxy β -lysine 2 isolée sous forme de la lactone correspondante acétylée 4 de configuration *cis* (3R, 5R), et, d'autre part, l'acide méthyl-1-hydrazinoacétique 3 (Schéma 1).

La structure de la lactone a été confirmée par une hémisynthèse réalisée à partir de l'acide D-galacturonique 5 par le même groupe.⁶ Cette lactone 4 a également permis de recréer l'antibiotique naturel par condensation du reste méthylhydrazinoacétique.

Nous nous sommes attachés dans un premier temps, à rechercher une synthèse plus simple de cet intermédiaire clef sous forme de racémique.

La dimère de l'acroléine⁶ nous a paru constituer un produit de départ intéressant, car il possède le squelette carboné nécessaire à l'édification de la lactone 4. On pouvait notamment envisager d'introduire par substitution allylique en position 4 du dihydropyranne acétoxylé 8, un halogène ou un hydroxyle précurseur de la fonction aminée située en β de la lactone, le groupe méthylol permettant de former le fragment amino-méthylé, tandis que la fonction lactone serait créée par oxydation de l'éther dihydropyranillyque.

Au cours d'une première tentative, nous avons traité

†À la fin de ce travail, nous avons eu connaissance de trois publications relatives à la synthèse de la négamycine: (a) Umezawa *et al.*¹ dans la première, décrivent la synthèse et les propriétés de quelques analogues structuraux de la négamycine, caractérisés notamment par l'absence de l'hydroxyle ou par son blocage sous forme d'éther méthylique, variations qui conservent dans l'ensemble, les activités de l'antibiotique naturel, à condition que le carbone porteur de la fonction aminée centrale soit de configuration R. (b) Dans une publication plus récente, Streicher *et al.*¹⁶ font état d'une synthèse totale de la (\pm) négamycine utilisant l'hydroxyméthyl-6 dihydro-5,6 éthoxy-2[2H]pyranne précédemment décrit par Zamojski *et al.*¹⁰ (c) La dernière équipe¹⁷ vient par ailleurs d'accéder à un précurseur de la lactone 4 (\pm), le (\pm)-diacétylamino-3,6 tétradéc xy-2,3,4,6- α -thréo-hexopyrannoside de méthyle, anomère de 28.

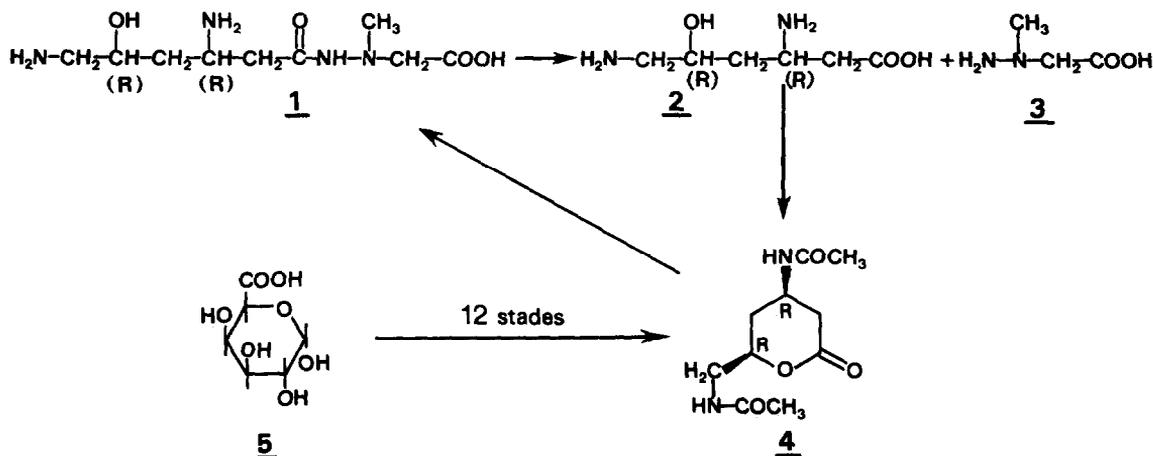


Schéma 1.

l'acétate 8 par le N-bromosuccinimide dans le chloroforme à basse température en présence d'acide acétique ou de méthanol (Schéma 2). En fait, dans les deux cas, on isole respectivement les dérivés de bromhydrines 10, 11, 12 et 13, correspondant aux produits d'addition *trans* sur la double liaison, et non le dérivé allylique bromé

dihydropyranillyque 8 par le tétracétate de plomb dans le benzène ne conduit pas à l'acétate allylique attendu 14, mais à l'hémicétal allylique 15 (rendement 55% en produit cristallisé) qui s'est révélé utilisable pour la suite de la synthèse.

Par oxydation au moyen du silicate d'argent l'alcool 15

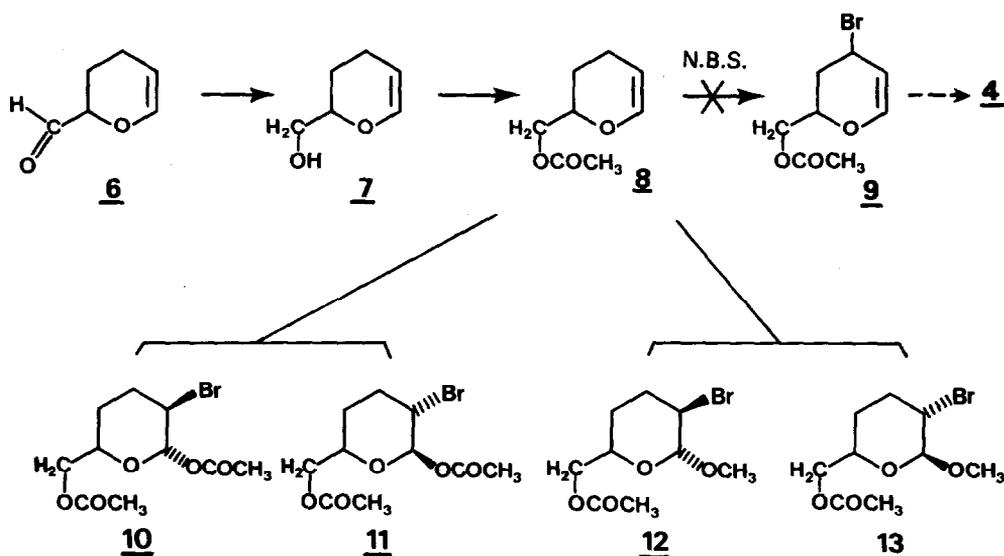


Schéma 2.

attendu 9. D'après le couplage et la fréquence des hydrogènes en 1 et 2† (voir Partie Expérimentale), il apparaît que les dérivés 10 et 12, où le brome en 2 est en position axiale, sont prépondérants.

A la suite de cet échec, nous avons tenté d'introduire en position allylique une fonction oxygénée au moyen de tétracétate de plomb (Schéma 3). L'action de ce réactif sur le dihydro-3,4(2H)-pyranne non substitué conduit en effet, d'après Hurd et Edwards,⁷ à l'acétate allylique en 4 à côté de l'isomère en 2 résultant d'un déplacement de la double liaison en position 3-4.

En fait, dans notre cas, le traitement de l'acétate

conduit, avec de bons rendements, à la lactone conjuguée 16, à partir de laquelle nous avons tenté d'introduire la fonction aminée par addition 1-4 de la benzylamine. Mais le cycle lactonique de 16 s'est révélé trop sensible aux agents nucléophiles et nous n'avons pas obtenu l'aminolactone attendue 17.

Nous avons alors condensé l'azoture de sodium selon Gregersen,⁸ ce qui a permis d'accéder à l'azido-lactone 18. Cette lactone est accompagnée du produit d'ouverture correspondant 19 qui peut être facilement recyclisé en milieu chlorhydrique à température ambiante. A température plus élevée, l'acétoxyde de 19 est hydrolysé et on isole l'azido-alcool 20.

La réduction de l'azido-lactone 18 en amine a présenté quelques difficultés. Ainsi, quand on l'hydrogène dans l'éthanol en présence de charbon palladié, on n'obtient

†Conformément aux règles de l'IUPAC, la numérotation des carbohydrates a été appliquée aux dérivés hémicétaliés ayant trois carbones asymétriques.

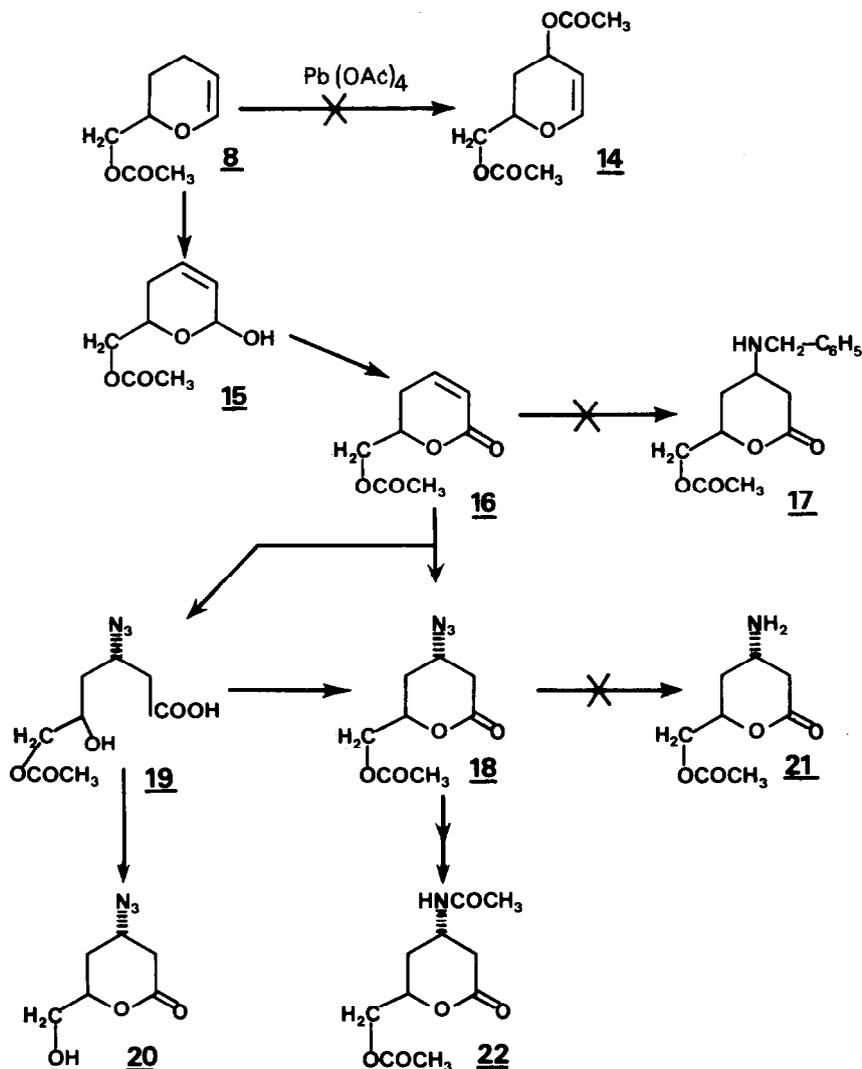


Schéma 3.

pas l'amino-lactone cherchée **21**, mais un amide résultant de l'ouverture du cycle lactonique par l'amine formée à partir d'une autre molécule.

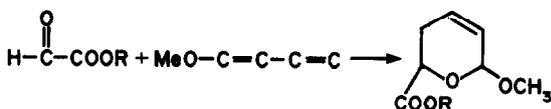
Cependant, si la réduction est effectuée dans l'acide acétique et que l'on traite dès la fin de l'hydrogénation le produit réduit par l'anhydride acétique, comme cela a été réalisé dans la série des sucres,⁹ la fonction aminée se trouve bloquée par acétylation et on isole la lactone de l'acide (\pm) acétamido-3 acétyloxy-6 hydroxy-5 hexanoïque **22**.

La configuration "trans" de cette acétamido-lactone, et par suite de l'azido-lactone **18**, a été établie sans ambiguïté par diffraction de rayons X de **22** qui montre, entre autres, que le groupe en 3 se trouve en position axiale.¹⁸

Par suite de l'impossibilité d'accéder directement à un dérivé *cis* par cette voie nous avons cherché, au cours d'une nouvelle approche, à ne former la lactone qu'après l'élaboration des chaînes aminées en bonne position l'une par rapport à l'autre.

Pour cela, nous avons protégé dans un premier temps l'hydroxyle allylique de **15** sous forme d'éther méthyle **23** au moyen d'iode de méthyle dans l'acétone en présence d'oxyde d'argent, ce qui provoque la formation

des deux anomères α et β (Schéma 4). Des molécules d'un type voisin ont également été obtenues par diène-synthèse selon Zamojski *et al.*¹⁰

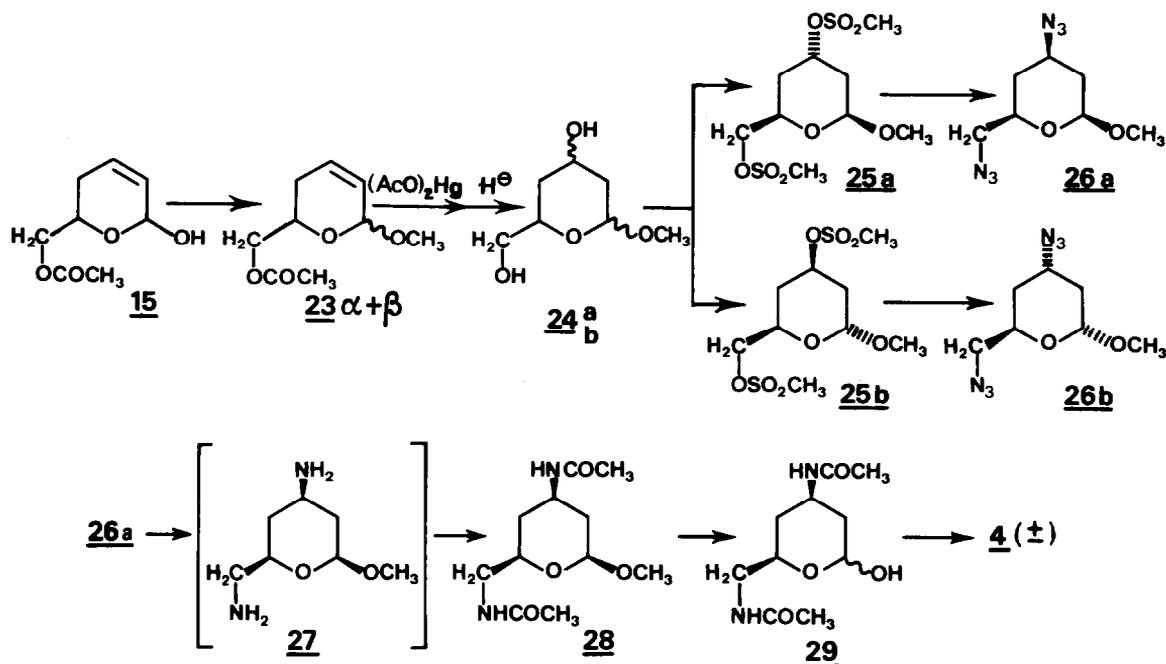


L'oxymercuration de la double liaison du mélange **23** par l'acétate mercurique dans le tétrahydrofurane, suivie de la réduction par le borohydrure de sodium, a conduit à un mélange des deux alcools isomères **24a** (75% d'après RMN) et **24b** (~25%), correspondant à l'introduction de l'hydroxyle sur le carbone 4 du cycle dihydropyranique.

Les deux produits ainsi formés ont été isolés par chromatographie sous forme des mésylates **25a** (66%) et **25b** (~26%). Leur stéréochimie a été établie par l'analyse des couplages des protons en position 1 et 3 pour une conformation du cycle proche de la chaise (Tableau 1).

Dans le dimésylate **25a** le méthoxyle est équatorial et le mésoxyloxy en 3 axial, alors que ce dernier est équatorial dans l'isomère **25b**.

L'orientation équatoriale de la chaîne en 5, bien que



très probable, n'a pu être prouvée au niveau des dimésylates **25a** et **25b**; elle a pu être confirmée au stade ultérieur sur le diazide **26b**. Le groupe mésoxyyle en 3 de **25a** occuperait une position *trans* par rapport aux substituants en 1 et 5, alors que dans l'isomère **25b** il serait *trans* vis-à-vis du méthoxyyle en 1 et *cis* par rapport à la chaîne latérale en 5.

Il est intéressant de noter que les deux alcools obtenus par oxymercuration correspondent à l'introduction de l'hydroxyle en position *trans* par rapport au méthoxyyle, ce qui implique une fixation du réactif mercuriel sur la double liaison de **15** du même côté que l'éther méthylé, pour donner un complexe mercurinium qui pourrait être stabilisé par liaison du métal à l'oxygène du méthoxyyle suivant le schéma ci-dessous. Une assistance de ce type a été avancée précédemment pour rendre compte notamment de l'hydroxylation *trans* d'oléfines cycliques possédant à proximité certains groupements tels que C≡N, OH et OMe susceptibles de se lier au mercure.^{11,12}

Le traitement des mésylates **25a** et **25b** par l'azoture de sodium dans le DMF à 100° a conduit aux azides correspondants **26a** et **26b** avec inversion de configuration en C₃.

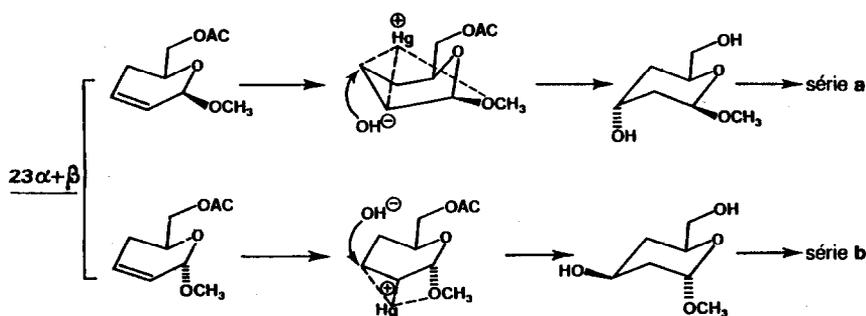
La configuration 1-3 *cis* et 3-5 *trans* de l'isomère indésirable **26b** a été confirmée par RMN. Le méthylène

Tableau 1. Couplages des protons H₁ et H₃ des dimésylates **25a** et **25b** (90 MHz, solvant: CDCl₃)

Proton en 1 (anomère)	OCH ₃	Proton en 3
δ = 4.75 ppm Quadruplet 25a J _{1,2} ≈ 3 et 9 Hz axial	δ = 3.50 ppm	δ = 5.2-5.3 ppm Quintuplet J _{2,3} ~ J _{3,4} ~ 3-4 Hz équatorial
δ = 4.90 ppm Singulet; largeur à mi-hauteur ~ 6 Hz 25b équatorial	δ = 3.33 ppm	δ = 5.1 ppm Multiplet très étale J ~ 10 Hz (2 fois) J ~ 3-4 Hz (2 fois) axial

en 2 (δ ~ 1.95 ppm) se présente sous forme d'un triplet (J_{app} ~ 3-4 Hz et le proton en 3 (δ ~ 4.0 ppm) ne présente pas de couplage *trans* diaxial. Par irradiation du méthylène en 6 le proton en 5 donne un doublet de doublet (δ ~ 4.2 ppm J_{app} 5 et 8 Hz) correspondant à un proton axial. En admettant une conformation chaise du cycle, les substituants en 1, 3, 5 sont respectivement axial, axial et équatorial.

Par contre, dans l'isomère **26a** le méthoxyyle en 1



occupe une position équatoriale ($J_{\text{vic-1-2}} \sim 3$ et 9 Hz). Ce dérivé possédant les deux substituants azotés en position *cis* a été choisi pour accéder à la diacétamido-lactone 4.

L'hydrogénation du diazide 26a en présence de charbon palladié dans l'acide acétique, suivie d'un traitement par l'anhydride acétique, a conduit au diamide 28, puis, par hydrolyse ménagée au moyen d'acide sulfurique aqueux, à l'hémiacétal 29.

L'oxydation de ce composé par l'eau de brome selon von Euw^{13,14} a fourni un mélange de la lactone attendue accompagnée de produits d'ouverture. La formation de ces derniers a pu être évitée par l'utilisation du silicate d'argent dans le dioxanne qui a permis d'accéder à 4 avec un rendement de l'ordre de 80% en produit pur.

L'analyse au 1er ordre des couplages des méthylènes en C₃ et C₅ (numérotation du pyranne) avec les protons vicinaux confirme la stéréochimie *cis* de la lactone 4 (Tableau 2).

Pour accéder à la négamycine racémique, à partir de 4, nous avons choisi dans un premier temps de suivre une voie analogue à celle précédemment indiquée, d'une manière succincte, pour le passage de la lactone optiquement active à l'antibiotique naturel⁶ (Schéma 5).

Cette voie impliquait l'ouverture de la lactone en δ -hydroxy β -lysine 2, la protection des fonctions aminées et hydroxylées, puis, l'activation de l'acide sous forme d'ester avec le N-hydroxy-succinimide, de manière à permettre l'amidification par l'acide méthyl-1-hydrazinoacétique.

En fait, nous avons observé que le blocage des fonctions aminées de l'acide racémique 2 par le chloroformate de benzyle ne conduit pas directement à l'hydroxyacide 31 mais à la lactone correspondante 30. Après ouverture de cette dernière, estérification de l'acide obtenu 31 sous forme d'ester méthylique 32 et blocage de l'hydroxyle par le dihydropyranne 33 on a formé l'hydrazide 35 par condensation de l'ester benzylique de l'acide méthyl-1-hydrazinoacétique sur l'acide 34 au moyen de dicyclohexylcarbodiimide dans l'acétonitrile, selon une méthode préconisée par Streicher pour la préparation de l'azanégamycine.¹⁵ L'hydrolyse acide du céral tétrahydropyrannique suivie d'une hydrogénolyse, nous a permis d'accéder à la (\pm) négamycine attendue 1.

Une méthode beaucoup plus rapide, évitant le blocage de l'hydroxyle et l'activation de l'acide, a été trouvée en prenant avantage de la formation intermédiaire de la lactone 30. En effet, celle-ci traitée par l'ester hydrazinoacétique au reflux de l'acétonitrile en présence de silice très divisée a donné naissance directement à l'hydrazide 36 précurseur de la (\pm) négamycine. Bien que dans ces conditions la réaction ne soit pas complète, cette méthode apparaît plus avantageuse que la précédente, dans la mesure où la lactone de départ n'ayant pas réagi peut être récupérée et recyclée.

La négamycine racémique ainsi préparée en 14 stades à partir du dimère de l'acroléine a été obtenue à l'état pur et la plupart de ses caractéristiques physiques (potentiométrie, électrophorèse, spectres IR et RMN) sont identiques à celles du produit naturel examiné parallèlement.[†]

Les activités antibiotiques de la (\pm) négamycine ont été comparées à celles du produit naturel et de la gentamicine C sur un certain nombre de souches gram positive et gram négative.[‡]

In vitro, sur gélose pauvre à 0.5% de peptone, la (\pm) négamycine et l'échantillon d'origine naturelle présentent des activités identiques, si l'on tient compte de la nature racémique du produit synthétique qui a toujours été introduit à une concentration double de celle du produit naturel (Tableau 3).

En fait, sur gélose nutritive usuelle et en milieu liquide normal, les activités observées sont faibles, comparées à celles publiées précédemment,² ainsi que par rapport à la gentamicine C qui s'est montrée environ 100 fois plus active dans les mêmes conditions.

In vivo, sur la souris infectée expérimentalement par *E. coli* 026 B6 ou *Pseudomonas aeruginosa* 3935, la négamycine racémique (ou naturelle), apparaît également peu active comparée à la gentamicine C: le rapport des doses curatives est de l'ordre de 10 pour la première souche gram négative et nettement supérieur pour la deuxième (Tableau 4).

PARTIE EXPERIMENTALE

Avec la collaboration de Patrick Fauveau.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) et les chromatographies préparatives (CCP) ont été effectuées respectivement sur Kieselgel Merck de type 60 F 254 et H(60). Les points de fusion ont été déterminés sur banc de Kofler. Les spectres IR ont été enregistrés sur "Spectromaster" Grubb-

Tableau 2. Couplage des protons en C₃ et C₅ de la lactone 4 (90 MHz, solvant: C₅D₅N)

	H ₃ : δ = 2.7 ppm	J ₃₋₄ = 9 Hz	J _{3-3'} = 17.5 Hz
	H _{3'} : δ = 3.2 ppm	J _{3'-4} = 6.5 Hz	J _{3'-5'} ~ 1 Hz
	H ₅ : δ = 1.8 ppm	J ₅₋₆ ~ J ₃₋₄ ~ 11 Hz	J _{5-5'} ~ 13-14 Hz
	H _{5'} : δ = 2.4 ppm	J _{5'-6} ~ J ₃₋₄ \leq 4 Hz	

Les valeurs des constantes de couplage dans le tableau suggèrent que les dièdres 4-5 et 5-6 sont voisins de 60°, alors que le dièdre 3-4 serait nettement aplati et avoisinerait 30°. Ces résultats confirment l'orientation *cis* des 2 substituants en 4-6.

[†]Nous remercions le Prof. H. Umezawa pour l'envoi d'un échantillon de négamycine naturelle.

[‡]Essais effectués dans le laboratoire du Docteur Lutz, que nous remercions vivement.

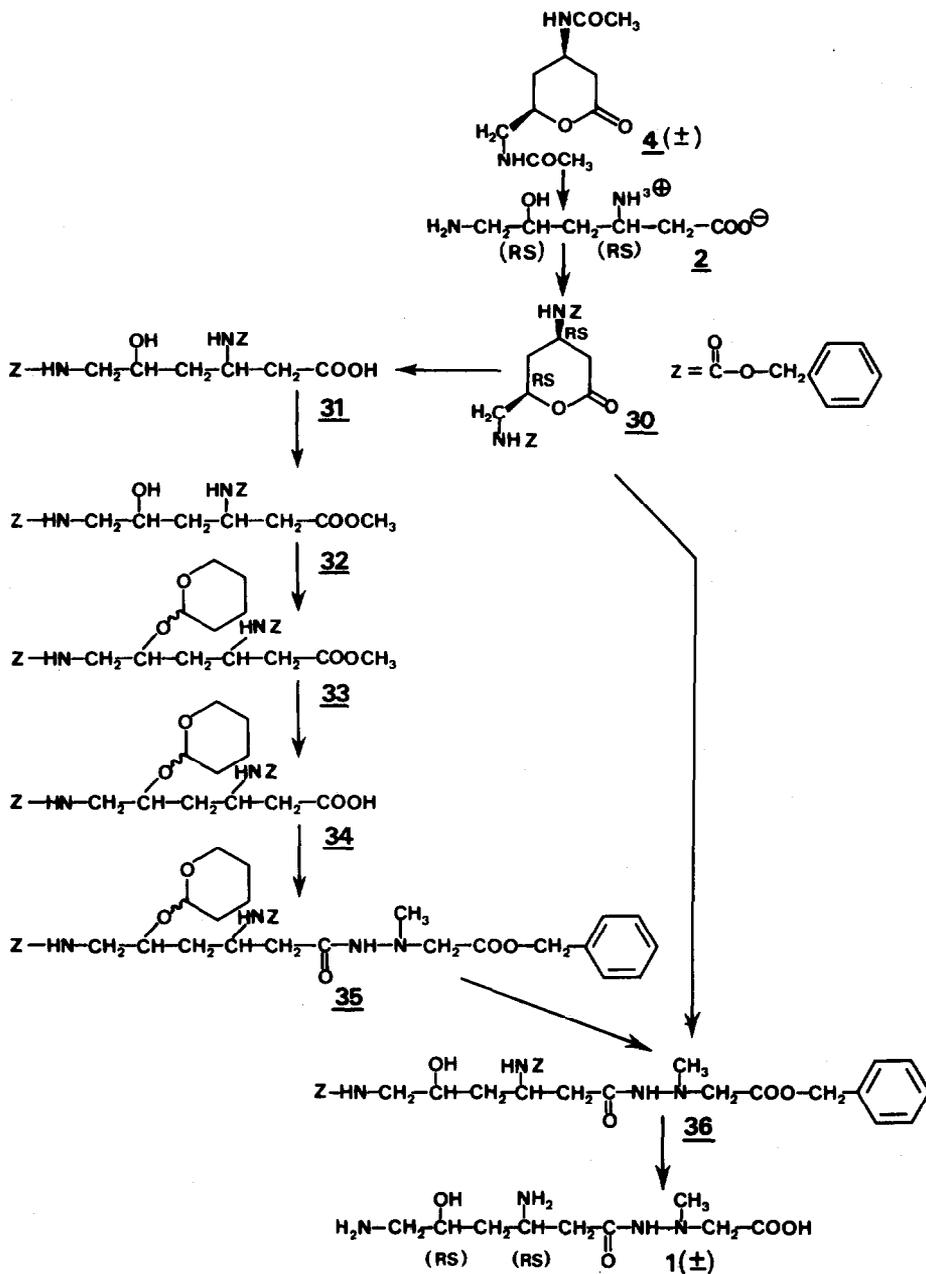


Schéma 5.

Parsons; les spectres UV sur spectromètre Cary 14 et 15, les spectres de résonance magnétique nucléaire sur spectromètre Varian T60 A60 A et Bruker WH90; les spectres de masse sur spectromètre CEC 110C. Les spectres de diffraction de rayons X δ sur diffractomètre automatique AED Siemens. Sauf indications contraires, les mesures sont faites à température ambiante; les solvants utilisés étant le chloroforme pour l'IR, l'éthanol à 95% pour l'UV, le chloroforme deutéré pour la RMN. Les spectres de masse sont obtenus par introduction directe. Les positions des maxima d'absorption sont données en cm^{-1} pour l'IR et en nm pour l'UV; dans ce dernier cas, ils sont suivis entre parenthèses par la valeur de l' ϵ . Les déplacements chimiques δ , sont exprimés en ppm par rapport au tétraméthylsilane, utilisé comme étalon interne. Les constantes de

†Docteur Paulus, Laboratoire de Physique appliquée, Hoechst AG.

couplage J et les largeurs de bande à mi-hauteur $W_{1/2}$ sont en Hz. Les lettres s, d, t, q, m, correspondent à singulet, doublet, triplet, quadruplet, multiplet ou massif. Deux nombres séparés par un tiret définissent le domaine à l'intérieur duquel se situe le maximum (IR) ou les δ des différents protons (l'absorption observée expérimentalement peut dépasser ce domaine). En SM seuls les pics les plus intenses ou les plus significatifs sont cités.

Les valeurs de pK apparent correspondent aux pH de 1/2 neutralisation mesurés par potentiométrie. La mesure de déplacement vers la cathode est effectuée par électrophorèse, sous 3500 volts 65 mA appareil Shandon-Southern Q11.

Hydroxyméthyl-2 dihydro-3,4[2H]pyranné 7

On met en solution à 0° sous azote 100 g (0.89 mol) de dimère de l'acroléine 6 dans 500 ml de méthanol. En 30 min, on introduit 100 g (1.85 mol) d'hydroborure de potassium; après 1 h de réaction, le mélange est versé dans 2 l d'eau froide. Le pH est amené

Tableau 3. Mesure des activités antibiotiques "in vitro" CMI en µg/ml, 24 heures

	Négamycine racémique			Négamycine naturelle	
	Milieu liquide normal	Gélose IP	Gélose à 0.5% de peptone		Gélose à 0.5% de peptone
			1	2	
Staphylococcus aureus	100	100	12	50	25
Escherichia coli 1020	100	100	6		
Escherichia coli R55123D	> 40	50-100	3		
Escherichia coli 026B6	> 40			12	6
Escherichia coli E6				6	3.12
Escherichia coli Galle				6	3
Salmonella typhosa T420	100	50-100	6		
Pseudomonas aer. 3935	> 40	100	25	50	25
Klebsiella pneumoniae 52145	40	50-100	6	12	6.25
Pseudomonas aer. 8951	> 40	100	25		
Proteus mirabilis A 235		100	25		

¹Première série d'expériences.

²Seconde série: l'échantillon naturel a été testé parallèlement au produit racémique.

à 7.5 par addition d'environ 50 ml d'acide acétique. Après extraction à l'éther et évaporation du solvant, on obtient 81 g de 7, Rdt = 79%. Eb₁₆₋₁₈ = 84°. IR: 3600 (OH libre); 1655 (C=C).

Acétyloxyméthyl-2 dihydro-3,4[2H]pyranne 8

73 g (0.64 mol) d'hydroxyméthyl dihydropyrane 7 sont mis en solution sous azote dans 150 ml de pyridine. On ajoute lentement à 25° 75 ml d'anhydride acétique. Après 1 h de réaction, le mélange est versé dans l'eau. Le produit organique est extrait à l'éther. On lave à l'acide chlorhydrique dilué, au bicarbonate de sodium, à l'eau et évapore à sec le solvant. On recueille 95 g de 8 (Rdt = 95%) sous forme d'huile incolore. IR: 1739 (C=O); 1652 (C=C). RMN: 1.5-2.3 (m, 3-et 4-CH₂); 2.08 (s, CH₃); 3.85-4.25 (m, H₂ et 2'-CH₂); 4.7 (m, H₃); 6.38 (dt, J = 6 et 2, H₆).

(±)-Bromo-2 di-O-acétyl-1,6 tridésoxy-2,3,4 hexopyrannoses 10 et 11

On dissout sous azote 1.328 g (8.5 mmol) d'acétyloxyméthyl dihydropyrane 8 dans 50 ml de chloroforme. A -20° on ajoute sous agitation 1.7 g (9.5 mmol) de N-bromosuccinimide en solution dans 100 ml de chloroforme et 12 ml d'acide acétique puis 32 g d'éthylmorpholine. La solution jaune obtenue est agitée 1 h, en laissant remonter la température à +18°. Le mélange réactionnel est versé dans l'eau, extrait au chlorure de méthylène, lavé à l'acide chlorhydrique dilué au bicarbonate de sodium et à l'eau. Après évaporation à sec du solvant, on obtient 2.485 g de mélange d'isomères 10 et 11, que l'on sépare par CCP en benzène-acétate d'éthyle 9:1. On obtient 0.385 g de 11 (R_f 0.30). Rdt = 15.5% et 1.690 g de 10 (R_f 0.27). Rdt = 68%.

Isomère 11: IR: 1739 (C=O, 2 groupes). RMN: 1.5-2.7 (m, 3-et 4-CH₂); 2.08 et 2.15 (s, CH₃); 3.5-4.2 (m, H₂, H₅ et 6-CH₂); 5.70 (d, J = 8, H₁). C₁₀H₁₅BrO₅ calc. C, 40.69; H, 5.12; Tr: C, 41.0; H, 5.12%.

Isomère 10: IR: 1739 (C=O, 2 groupes). RMN: 2.10 et 2.12 (s, CH₃); 4.0-4.3 (m, H₂, H₆ et 6-CH₂); 6.13 (s, H₁).

(±)-O-Acétyl-6 bromo-2 tridésoxy-2,3,4 hexopyrannosides de méthyle 12 et 13

On met en solution sous azote 3.120 g (20 mmol) d'acétyloxyméthyl dihydropyrane 8 dans 50 ml de chlorure de méthylène. A -20°, on ajoute 4 g (22 mol) de N-bromosuccinimide en solution dans 50 ml de chlorure de méthylène et 15 ml de méthanol. On agit 1 h en laissant la température revenir à 20°, puis on ajoute 100 ml de chlorure de méthylène, lave à l'eau et évapore à sec le solvant. On obtient 6 g de mélange d'isomères 12 et 13 que l'on sépare par CCP en benzène-acétate d'éthyle 9:1. On obtient 3.6 g de 12 (R_f 0.4). Rdt = 67% et 1.13 g de 13 (R_f 0.35). Rdt = 21%.

Isomère 12: IR: 1743 (C=O). RMN: 1.7-2.5 (m, 3-et 4-CH₂); 2.09 (s, CH₃); 3.39 (s, OCH₃); 3.9-4.2 (m, H₂, H₅ et 6-CH₂); 4.75 (s, W^{1/2} = 3, H₁).

Isomère 13: IR: 1739 (C=O). RMN: 1.5-2.5 (m, 3-et 4-CH₂); 2.08 (s, CH₃); 3.54 (s, OCH₃); 3.5-4.2 (m, H₂, H₅ et 6-CH₂); 4.35 (d, J = 8, H₁).

(±) [(Acétyloxy)méthyl]-6 dihydro-5,6 hydroxy-2 [2H] pyranne 15

On dissout sous argon, 36 g (0.23 mol) d'acétyloxyméthyl dihydropyrane 8 dans 150 ml de benzène. A +12°, on ajoute en 45 min sous forte agitation 108 g (0.20 mol) de tétracétate de plomb. La température atteint 26°, on ajoute 150 ml de benzène pour fluidifier le mélange et agit encore 15 min puis sépare les sels de plomb par filtration. La solution benzénique lavée au bicarbonate de sodium et à l'eau est évaporée et fournit 34 g de produit résineux que l'on purifie par CCP en benzène-acétate d'éthyle 7:3. On obtient une 1ère fraction de 15, 10.5 g. F = 91°.

Les eaux de lavages bicarbonatées sont amenées à pH 9 et extraites à l'acétate d'éthyle. Après lavage à l'eau salée et

Tableau 4. Activité "in vivo". Dose curative 50 en mg/kg souris

Infection	Négamycine		
	Naturelle selon (2)	Naturelle ou (±)	Gentamicine C
Escherichia coli 026B6		15	1.5 (1-2)
Pseudomonas aerug.	4.4	Aucun effet à 16	25 (20-25)
Klebsiella pneumo.	5.0		3
Salmonella typhosa	2.5		
Staphylococcus aureus	12.5		

évaporation à sec du solvant, on recueille une deuxième fraction de 15 11.5 g. $F = 90-91^\circ$.

Les deux fractions réunies sont empâtées à 20° dans 1 volume d'éther isopropylique (19.8 g) $F = 92^\circ$. Rdt = 50%. IR: 3577 (OH associé intramoléculairement); 1743 (C=O). RMN: 1.9-2.1 (m, 4-CH₂); 2.12 (s, CH₃); 3.7 (s, $W^{1/2} \sim 5$, échangeable D₂O); 4.2 (H₃); 4.1-4.3 (m, 6-CH₂); 5.7 à 6.1 (m, H₂ et H₃); 5.43 (s, $W^{1/2} \sim 5$, H₁). SM: 172 (M), 155, 112, 99, 70, 43.

δ -Lactone de l'acide acétyloxy-6 hydroxy-5 hex-2-ène oïque 16

On dissout, sous azote, 16 g (93 mmol) du pyranne 15 dans 320 ml de benzène anhydre. On ajoute 48 g de silicate d'argent et porte le mélange à ébullition sous vive agitation, tandis que l'on distille 50 ml de solvant pour entraîner l'eau formée. L'ébullition est maintenue 1 h. Les sels d'argent sont séparés par filtration et la solution benzénique est évaporée à sec. On recueille 15.3 g de résidu que l'on purifie par CCP en benzène-acétate d'éthyle 5:5. On obtient 12 g de 16. Rdt = 76%. IR: 1734-1742 (large, C=O). RMN: 2.10 (s, CH₃); 2.3-2.6 (m, 4-CH₂); 4.28 (d, J_{app} 4.5, 6-CH₂); 4.6-4.8 (m, H₃); 6.05 (dt, $J = 9$ et 2, H₂); 6.92 (m, H₃).

δ -Lactone de l'acide(3RS-5SR)acétyloxy-6 azido-3 hydroxy-5 hexanoïque 18

On met en solution 5 g (29 mmol) de lactone 16 dans 15 ml d'acide acétique. On ajoute 2.1 g d'azide de sodium dissous dans 10 ml d'eau. On agite 15 h à 20° , puis extrait à l'éther en présence d'eau salée et lave au bicarbonate de sodium. Après évaporation du solvant, on obtient 3.5 g d'azide 18. Rdt = 56%. IR: 1743 (C=O); 2115 (bande forte, N₃), RMN (C₆D₆): 1.1-1.3 (m, 4-CH₂); 1.68 (s, CH₃); 2.15 (d, J_{app} 5, 2-CH₂); 3.17 (quintuplet, J_{app} 4.5, H₃); 3.8-3.9 (m, 6-CH₂); 4.1 (m, H₃).

Les eaux des lavage sont acidifiées à pH 1 par addition d'acide chlorhydrique, puis extraites à l'éther. Après lavage à l'eau salée et évaporation à sec du solvant, on isole 2 g de produit acide 19 (Rdt = 32%), correspondant à l'ouverture de la lactone 18. IR: 3596 et 3575 (OH libre et associé).

δ -Lactone de l'acide (3RS-5SR) azido-3 dihydroxy-5,6 hexanoïque 20

Une solution de 0.3 g (1.3 mmol) d'azido-acide 19 dans 3 ml d'acide chlorhydrique normal est chauffée à 80° pendant 30 min. Après extraction au chlorure de méthylène en présence d'eau salée et évaporation à sec, on obtient 0.1 g d'hydroxyméthyl-azidolactone 20. Rdt = 45%. IR: 3608 (OH); 2110 (N₃); 1743 (C=O). RMN: complexe à 60 MHz; peu ou pas d'acétyle; ~ 3.1 (s, $W^{1/2} \sim 5$, échangeable D₂O, OH. SM: 140 (M-CH₂OH) 97, 69.

δ -Lactone de l'acide (3RS-5SR) acétamido-3 acétyloxy-6 hydroxy-5 hexanoïque 22

On dissout 1.9 g (8.9 mmol) d'azidolactone 18 dans 8 ml d'acide acétique, ajoute 0.95 g de noir palladié à 10% palladium et agite sous hydrogène à 25° pendant 2 h 30. Le catalyseur est filtré, la solution acétique est amenée à sec sous vide et le résidu huileux obtenu est dissous dans 6 ml d'anhydride acétique. Après avoir agité 15 h à 20° , on ajoute 10 ml d'eau, 1 ml de méthanol et laisse en contact 30 min. La solution acide est neutralisée au carbonate de sodium, puis extraite au chlorure de méthylène en présence d'eau salée. Après évaporation à sec du solvant, on obtient 1.15 g d'acétamidolactone 22. Rdt = 56%. F 141° (recristallisé en isopropanol F 142°). IR: 3440 (NH libre); 3350 (NH associé); 1743 (C=O, lactone et ester); 1681 (C=O amide). RMN: 1.5-2.2 (m, 4-CH₂); 2.02 et 2.12 (s, CH₃); 2.6-2.8 (m, 2-CH₂); 4.0-5.2 (m, H₃, H₂ et 6-CH₂); 6.5 (NH). SM: 230 (M + 1), 229 (M), 229, 201, 170, 156, 97, 43. RX: Produit cristallisé dans le système monoclinique. $a = 9.91 \text{ \AA}$, $b = 11.33 \text{ \AA}$, $c = 9.96 \text{ \AA}$, $\beta = 91.7$ maille correspondant à 4 molécule. Lactone trans (3SR, 5RS) sur cycle 1/2 chaise. C₁₀H₁₅NO₃; Calc: C, 52.39; H, 6.59; N, 6.11; Tr: C, 52.5; H, 6.7; N, 6.0%.

(\pm)Acétyloxyméthyl-6 dihydro-5,6 méthoxy-2 [2H] pyranne 23

On met en solution, sous argon 1.83 g (9.8 mmol) de 15 dans 30 ml d'acétone, ajoute 3.5 ml d'iode de méthyle puis 3.5 g d'oxyde d'argent, et agite la suspension 20 h à 20° . On effectue une seconde addition de 1 ml d'iode de méthyle et chauffe 6 h à

50° ; une troisième addition de 1 ml d'iode de méthyle est encore effectuée tandis que le chauffage est poursuivi 15 h à 50° . L'oxyde d'argent est filtré et la solution acétonique est évaporée à sec. On obtient 2 g de 23 qui est purifié par CCP en benzène-acétate d'éthyle 7/3, Rdt 1.562 g, 79% (mélange d'anomères en CCM). IR: 1740 (C=O); 1667 (C=C). RMN: 2.08 et 2.10 (s, CH₃); 3.43 et 3.67 (s, OCH₃, respectivement 3/5 et 2/5); 4.0-4.2 (m, 6-CH₂ et H₃); 4.85 (s, $W^{1/2} = 5$, H₁); 5.0 (m, H₁); 5.6-6.2 (m, H₂ et H₃).

(\pm) Didésoxy-2,4 hexopyranosides de méthyle, 24a + 24b

A une solution de 78.6 g (0.24 mol) d'acétate mercurique dans 250 ml d'eau on ajoute, sous argon, 250 ml de tétrahydrofurane purifié par passage sur colonne d'alumine Merck. Il se forme un précipité jaune. A 20° , on ajoute en 10 min, 43 g (0.23 mol) de 23 dissous dans 239 ml de tétrahydrofurane purifié et 203 ml d'eau. On agite 55 min afin d'obtenir une solution limpide décolorée, puis encore 17 h. On refroidit à 10° , ajoute 263 ml de soude aqueuse 3 M, puis, en 15 min 263 ml (0.13 mol) de solution 0.5 N d'hydroborure de sodium dans la soude 3 M. La température s'élève à 17° tandis que le mélange réactionnel devenu noir verdit, puis se décolore après 2 h 30 d'agitation. Le mercure précipité en petites gouttelettes est séparé par filtration et la solution est additionnée de 90 ml d'acide chlorhydrique pur pour atteindre pH 6. Après évaporation à sec du solvant, le résidu obtenu est empâté dans un mélange de chlorure de méthylène-méthanol 1:1. La majeure partie des sels minéraux insolubles est séparée par filtration. Le filtrat est écoulé sur une colonne de CCP, puis élué au chloroforme-méthanol 9:1. On recueille 3 g de produit éthylénique de départ dont la fonction acétoxylée a été hydrolysée. Rdt = 9% et 17.9 g d'alcools anomères 24a + 24b (3:1 par RMN) Rdt = 47.8%. IR: 3614 (OH libre); OH associé; 1050 (C-O-C). RMN: Anomère principal 24a, 4.35 (quintuplet, J_{app} 3, H₃); 4.80 (dd, $J = 3$ et 9, H₁); 3.52 (s, OCH₃). Anomère secondaire 24b 3.33 (s, CH₃O); 4.9 (H₁).

(\pm) Didésoxy-2,4 di O-méthylsulfonyl-3,6- β -érythro-hexopyranoside de méthyle 25a et (\pm) didésoxy-2,4 di O-méthylsulfonyl-3,6- α -thréo-hexopyranoside méthyle 25b

17.9 g (0.11 mol) du mélange d'anomères 24a + 24b sont mis en solution à $0^\circ + 5^\circ$ dans 115 ml de pyridine. On ajoute 28.9 ml (0.37 mol) de chlorure de mésyle, agite 1 h puis laisse reposer 15 h à $0^\circ + 5^\circ$. Le mélange est versé dans l'eau, extrait à l'acétate d'éthyle, lavé à l'acide chlorhydrique et à l'eau. Après distillation du solvant on obtient 39 g de mésylates bruts, que l'on sépare par CCP en benzène-acétate d'éthyle 7:3. On recueille 9 g de 25b, R_f 0.15, Rdt = 26%; et 23 g de 25a, R_f = 0.12, Rdt = 65.5%. RMN (cf Tableau 1) sur produit principal 25a: 3.07 (s, CH₃-SO₂-); sur produit secondaire 25b: 3.02 et 3.07 (s, CH₃-SO₂-).

(\pm) Diazido - 3,6 tétradésoxy - 2,3,4,6 - β - thréo - hexopyranoside de méthyle 26a

On met en solution sous argon 23 g (0.072 mol) de dimésylate trans 25a dans 300 ml de diméthylformamide, ajoute 72 g (1.1 mol) d'azide de sodium et chauffe sous agitation de façon à atteindre 100° en 30 min. On maintient encore 30 min à cette température, puis verse la solution réactionnelle dans l'eau, extrait à l'éther et évapore le solvant. On obtient 14.8 g de diazide "cis" 25a. Rdt = 97%. Le produit brut instable (risque de décomposition) est utilisé tel quel pour la suite de la synthèse. Cependant une partie aliquote a été purifiée par CCP en benzène-acétate d'éthyle 9:1. R_f 0.45. Rdt = 83%. IR: 2115 (N₃). RMN: 3:0-3.9 (m, H₃, H₂ et 6-CH₂); 3.52 (s, OCH₃); 4.39 (dd, $J = 3$ et 9, H₁).

(\pm) Diazido - 3,6 tétradésoxy - 2,3,4,6 - α - érythro - hexopyranoside de méthyle 26b

A une solution de 3.05 g (9.5 mmol) de dimésylate "cis" 25b dans 38 ml de diméthylformamide, on ajoute 9.3 g (140 mmol) d'azide de sodium, puis agite 4 h à 100° . La solution réactionnelle versée dans l'eau est extraite à l'éther. On obtient 2.05 g de résidu brut, que l'on peut purifier par passage sur 10 parties de silice en

benzène-acétate d'éthyle 9/1. **26b**: $R_f = 0.42$, Rdt = 75% (1.83 g). RMN: 1.6–1.7 (m, 4-CH₂); 1.9–2.0 (t, J_{app} 4, 2-CH₂); 3.25 (d, J 5, 6-CH₂); 3.42 (s, CH₃O); 4.00 (quintuplet, J_{app} 3.5, H₃); 4.2 (m, irradiation du 6-CH₂ → dd, $J_{app} = 5$ et 8, H₅); 4.80 (t, J 3, H₁).

(±) *Diacétylamino - 3,6 tétradésoxy - 2,3,4,6 - β - thréo - hexopyrannoside de méthyle 28*

On dissout 14.8 g (0.069 mol) de diazide **26a** dans 200 ml d'acide acétique, ajoute 14.8 g de noir palladié à 10% palladium et agite sous hydrogène 1 h 30 à 25°: la réduction est exothermique et la température s'élève en début de réaction à 40°. Après séparation du catalyseur, la solution filtrée est évaporée à sec sous vide et le résidu aminé huileux est remis en solution dans 45 ml d'anhydride acétique et maintenu sous agitation 5 h à 20°. On ajoute 10 ml d'eau, agite 1 h à 30° et neutralise par addition de bicarbonate de sodium. On évapore à sec et obtient 26 g de résidu. Les sels minéraux sont séparés par CCP en benzène-méthanol 9:1. On recueille 11.5 g de diacétamide **28** R_f 0.3. F = 174°. Rdt = 67.5%, recristallisé en acétate d'éthyle F = 176°. IR: 3440, 1673,


1518 (–C–NH–). RMN: 1.93 et 1.97 (s, CH₃); 3.43 (s, CH₃O); 4.3 (dd, J 2 et 9.5, H₁); 6.2–6.3 (m, NH). C₁₁H₂₀N₂O₄ Calc: C, 54.08; H, 8.25; N, 11.47; Tr: C, 54.0; H, 8.4; N, 11.3%.

(±) *Diacétylamino - 3,6 tétradésoxy - 2,3,4,6 - thréo - hexopyrannose 29*

On met en solution 11.5 g (0.047 mol) de diacétylamino-pyrannoside de méthyle **28** dans 120 ml d'acide sulfurique aqueux normal et chauffe sous argon pour atteindre 58° en 30 min. On maintient à cette température 50 min, neutralise par addition de bicarbonate de sodium, évapore à sec, puis extrait le produit organique par empâtages successifs au méthanol. Le résidu brut obtenu par évaporation du solvant est purifié par CCP en chloroforme-méthanol 8/2. On recueille 7.5 g de diacétamido-pyrannose **29**. Rdt = 65.5%. F = 208° (212° cristallisé en MeOH/AcOEt/CH₂Cl₂). IR (Nujol): 3363–3267–3082 (OH et NH

associé); 1658–1643; 1555 (–C–NH–). RMN (D₂O; mélange d'anomères β = 1:2) 1.97 et 2.0 (s, CH₃); 4.85 (dd, J 2 et 10, H₁, anomère α); 5.4 (s, W^{1/2} 6, H₁ anomère β). C₁₀H₁₈N₂O₄ Calc: C, 52.16; H, 7.88; N, 12.17; Tr: C, 52.4; H, 7.8; N, 12.0%.

Lactone de l'acide (3RS, 5RS) hydroxy-5 diacétylamino-3,6 hexanoïque 4

Une suspension de 4 g (0.017 mol) de diacétylamino-pyrannose **29** dans 600 ml de dioxanne, contenant 4 ml d'eau et 8 g de silicate d'argent, est portée à l'ébullition pendant 2 h sous agitation et azote. A la solution obtenue, on ajoute encore 4 g de silicate d'argent et on maintient l'ébullition 2 h 30. L'oxydant est séparé par filtration et est lavé abondamment au dioxanne bouillant. La solution filtrée limpide est distillée à sec. On obtient 3.8 g de diacétamidolactone **4** (±). F = 170°. Rdt = 96%. F = 174° (cristallisée en acétone), fines aiguilles. IR (Nujol): 1742 (C=O) lac-


tone; 1660–1646, 1568 (–C–NH–). RMN (C₂D₂N): 1.8 (td, H₄); 2.00 et 2.03 (s, CH₃); 2.4 (dm, J = 13.5, W^{1/2} ~ 10, H₂); 2.7 (q, H₂); 3.2 (qd, H₂); 3.6 (m, 6-CH₂); 4.5–4.7 (m, H₃ et H₅); 8.8–9.0 (m, NH). J (cf Tableau 2). C₁₀H₁₆N₂O₄ Calc: C, 52.62; H, 7.06; N, 12.27; Tr: C, 52.7; H, 7.2; N, 12.1%.

Acide (3RS-5RS) diamino-3,6 hydroxy-5 hexanoïque 2

On porte à ébullition sous azote, pendant 2 h, une solution de 1 g (4.3 mmol) de diacétamidolactone **4** (±) dans 5 ml d'acide chlorhydrique aqueux 5 N. La solution refroidie est neutralisée par addition d'ammoniaque, puis est écoulée lentement sur une colonne contenant 70 ml de résine amberlite CG 50 (NH₄⁺). Le chlorure d'ammonium est éliminé par élution à l'eau, puis l'acide est élué par de l'ammoniaque 0.2 N (pH d'élution 9.4 à 10.2). Après évaporation à sec, on recueille 0.305 g de δ-hydroxy β-lysine **2**. Rdt = 43%. IR (Nujol) 1658–1555 (COO[–] et NH₂ déformation). Dosage potentiométrique: NH₂ libre ~ 4.2 m éq/g et COO[–] (acide sous forme de zwitterion).

Lactone de l'acide (3RS, 5RS) hydroxy-5 bis[(phénylméthoxy)carbonyl] amino]-3,6 hexanoïque 30

On met en solution 0.45 g (2.8 mmol) de δ-hydroxy β-lysine **2** dans 0.7 ml (2.8 mmol) de soude aqueuse 4 N. Sous vive agitation on ajoute régulièrement et simultanément à 20°, 2 ml (5.6 mmol) de chloroformate de benzyle en solution toluénique à 47% et 1.4 ml (5.6 mmol) de soude 4 N. La réaction s'effectue à pH compris entre 9 et 10 pendant 2 h. La phase aqueuse est extraite à l'éther, puis elle est acidifiée à pH 3 par addition d'acide chlorhydrique. On extrait au chlorure de méthylène, lave à l'eau salée et évapore à sec. On obtient 0.91 g de **30**, F = 166° (F 168°-cristallisée en CH₂Cl₂/éther). Rdt = 75%. IR: 1730 (C=O,


lactone); 3440, 1730, 1515 (–O–C–NH–). UV: (HCl aq. dans l'éthanol) 252 (290) 258 (390) 261 (290) 264 (320) 267 (200). RMN: (C₅D₅N) 1.9 (m, H₄, axial); 2.4 (m, H₄' équatorial); 2.7 (q, H₂ axial); 3.2 (q, H₂' équatorial); 3.6 (m, 6-CH₂); 4.3–4.7 (m, H₃ et H₅); 5.31 (s, O–CH₂–Φ); 7.2–7.5 (m, C₆H₅–). Les constantes de couplage sont similaires à celles de l'acétamido-lactone **4** (±). C₂₂H₂₄N₂O₆ Calc: C, 64.06; H, 5.86; N, 6.79; Tr: C, 63.9; H, 5.8; N, 6.6%.

(3RS-5RS)-Hydroxy-5 bis[(phénylméthoxy)carbonyl] amino]-3,6 hexanoate de méthyle 32

On dissout 2.5 g (6 mmol) de dicarbobenzyloxylactone **30** dans 25 ml de méthanol et 1.65 ml (6 mmol) de soude aqueuse 4 N, puis agite 2 h à 20° et évapore sous vide une partie du méthanol. On ajoute 20 ml d'eau, extrait à l'éther et acidifie la phase aqueuse jusqu'à pH 3 par addition d'acide chlorhydrique à 0° + 5°. On extrait au chlorure de méthylène, lave à l'eau et sèche sur sulfate de magnésium. A la solution chlorométhylénique filtrée, on ajoute 25 ml d'une solution de diazométhane en chlorure de méthylène (titre 12.5 g/l). On agite 15 min à 0°, puis évapore le solvant et recueille 2.8 g d'hexanoate de méthyle **32** à l'état huileux. Rdt quantitatif. IR: 3432 (OH et NH associés); 1727–1715, 1515


(–C–O– et –NH–C–O). RMN: 1.4–1.6 (m, 4-CH₂); 2.5 (t, J = 4, 2-CH₂); 3.61 (s, OCH₃); 3.9–4.4 (m, H₃ et H₅); 5.11 (s, O–CH₂–Φ); 5.6–5.8 (d, NH); 7.36 (s, C₆H₅).

(3RS-5RS) bis[(phénylméthoxy)carbonyl] amino]-3,6 [2-(tétrahydro-pyranyloxy)]-5 hexanoate de méthyle 33

A une solution de 3.3 g (7.4 mmol) d'ester méthylique **32** dans 33 ml de chloroforme et 3 ml de dihydropyranne, on ajoute 0.15 g d'acide p. toluène sulfonique. Après 1 h d'agitation à 20°, on ajoute 1 ml de dihydropyranne et laisse la réaction se poursuivre pendant 2 h. On amène à pH 8 par addition de bicarbonate de sodium décante la phase organique et l'évapore à sec. On obtient 5.6 g de produit brut que l'on purifie par CCP en benzène-acétate d'éthyle 7/3. On isole 2.2 g d'ester **33**. Rdt = 56%. IR: 3430 (NH);


1716, 1515 (–C–O– et –O–C–NH–). RMN: 3.64 (s, –OCH₃); 4.6 (m, –O–CH–O); 5.09 et 5.16 (s, O–CH₂–Φ); 7.3 (s, C₆H₅–).

Acide (3RS-5RS) bis[(phénylméthoxy)carbonyl] amino]-3,6 [2-(tétrahydro-pyranyloxy)]-5 hexanoïque 34

On porte à l'ébullition pendant 2 h 30 une solution de 2.2 g (4.2 mmol) de tétrahydro-pyranyloxyhexanoate de méthyle **33** dans 30 ml de méthanol et 7 ml de soude aqueuse N. Ajoute 10 ml d'eau, extrait à l'éther et acidifie la phase aqueuse décantée à pH 3 par addition d'acide chlorhydrique. On extrait au chlorure de méthylène en présence de chlorure de sodium et évapore à sec. On recueille 2 g d'acide **34** brut. Rdt = 93%. IR: 3500 (acide monomère); 3418, 3336 (NH libre et associé); 1717, 1516, 1503


(–COOH, –NH–C–O–). RMN: présence de deux isomères de THP 1:1. 1: 2.5 (m, –O–CH–O); 5.09 et 5.13 (s, OCH₂–Φ); 2: 4.3 (m, –O–CH–O); 5.08 (s, O–CH₂–Φ).

Méthyl - 2 [(phénylméthoxy)carbonyl]méthyl] - 2 - hydrazide de

l'acide (3RS-5RS) bis[(phénylméthoxy)carbonyl]amino] - 3,6 [2-(tétrahydropyranyloxy)] - 5 hexanoïque 35

0.18 g (0.35 mmol) d'acide tétrahydropyranyloxy N-dicarbobenzoyloxy hexanoïque **34** et 0.128 g (0.30 mmol) d'ester benzylique de l'acide 1-méthylhydrazinoacétique sous forme de tosylate sont mis en solution dans 2 ml d'acétonitrile contenant 0.03 ml de triéthylamine. Sous agitation à 0°, on ajoute une solution de 0.080 g de dicyclohexylcarbodiimide dans 2 ml d'acétonitrile, et laisse se poursuivre la réaction 2 h à 0°, puis 4 h à 20°. Après séparation de l'urée formée, la phase organique est diluée au chloroforme, lavée à l'eau et évaporée à sec. On obtient 0.25 g de résidue que l'on purifie par CCP en chloroforme-méthanol 9.5/0.5. On recueille 0.175 g d'hydrazide **35**. Rdt = 75%.

IR: 3425 (NH libre); 3255 (NH associé); 1724, 1716 ($\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{O}- \end{array}$) et

$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{O}-\text{C}-\text{NH}- \end{array}$ 1685-1674 ($\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{NH}- \end{array}$). RMN 2.73 (s, NCH₃); 3.69 (s, -N-CH₂-CO₂-); 4.5-4.6 (m, -OCHO-); 5.09 et 5.17 (s, OCH₂-Φ); 7.3 (m, C₆H₅).

Méthyl - 2 [(phénylméthoxy)carbonyl]méthyl] - 2 hydrazide de l'acide (3RS-5RS) hydroxy-5bis[(phénylméthoxy)carbonyl]amino]-3,6 hexanoïque 36

(a) A partir du composé hydrazinique O-tétrahydropyranylé **35**. 0.12 g (0.17 mmol) de **35** sont dissous dans 2 ml d'acide acétique à 50% d'eau. On agite 4 h à 20%, ajoute 5 ml d'eau et neutralise par addition de bicarbonate de sodium; après extraction au chlorure de méthylène, lavage à l'eau salée et évaporation du solvant, on obtient 0.115 g de produit brut que l'on purifie par CCP en chloroforme-méthanol 9.5/0.5. On recueille 0.078 g d'ester benzylique de la N-dicarbobenzoyloxy négamycine **36** F = 90° à 100°. Rdt = 73.5%.

(b) Accès direct à partir de la N-dicarbobenzoyloxy lactone **30**. 0.072 g (0.2 mmol) de tosylate de l'ester benzylique de l'acide 1-méthylhydrazinoacétique est agité dans 10 ml d'eau contenant 2 ml (0.2 mmol) de soude 0.1 N. Le pH de la solution est ~6. On extrait à l'éther et obtient 0.031 g de réactif "libre" sous forme de résine incolore. 0.041 g (0.1 mmol) de dicarbobenzoyloxy lactone **30** est mis en solution sous argon dans 5 ml d'acétonitrile et on ajoute 0.031 g du réactif préparé ci-dessus en solution dans 1 ml d'acétonitrile. On ajoute 1 g de Kieselgel Merck H(60), et porte à l'ébullition (85°) sous agitation 17 h. Il reste alors 50% de produit non transformé (CCM). Après séparation de la silice, la solution filtrée est évaporée à sec et le résidu est purifié par CCP en chloroforme-méthanol 9.5/0.5. Deux essais identiques ont été réunis pour cette purification. On recueille 0.017 g d'ester benzylique de la N-dicarbobenzoyloxy négamycine **36**. Rdt = 14% (identique au produit obtenu selon le procédé (a)). RMN: 2.73 (s, NCH₃); 3.71 (s, N-CH₂-COO); 5.09 et 5.15 (s, -OCH₂-Φ). C₃₇H₃₈N₄O₈ Calc: C, 63.36; H, 6.31; N, 3.23; Tr: C, 63.1; H, 6.5; N, 8.9%.

Négamycine racémique 1 (±)

On dissout 0.13 g (0.21 mmol) d'ester benzylique de la N-dicarbobenzoyloxy-négamycine **36** dans 13 ml de méthanol et 6 ml d'acide acétique à 10% d'eau, ajoute 0.065 g de noir palladié à 10% palladium et agite sous hydrogène 1 h à 20°. Le catalyseur est séparé par filtration et la solution est évaporée à sec. On obtient 0.080 g de négamycine brute que l'on purifie par passage sur amberlite CG50 (NH₄⁺). On élue à l'eau, puis à l'ammoniacale à 1%. De l'élution ammoniacale évaporée à sec, on recueille 0.04 g de négamycine racémique pure **1** (±) que l'on remet en solution dans 5 ml d'eau et lyophilise. Poids = 0.037 g, Rdt = 69%. IR (KBr): 3430, 3200, 3050, 2950, 1660, 1590, 1405, 1320, 1140, 1050, 890, 720. RMN (D₂O): 1.6-1.7 (m, 4-CH₂); 2.41 (d, J = 7 2-CH₂); 2.63 (s, CH₃-N); 2.9-3.2 (m, 6-CH₂); 3.3-3.4 (m, H₃); 4.0 m, H₄; 3.39 (s, N-CH₂-COO). Potentiométrie: pK₁ ≤ 3.7; pK₂ = 8.2; pK₃ = 9.8. Electrophorèse: Déplacement vers la cathode = 12 cm (témoin L-alanine = 8.25 cm). Rapport des mobilités ~ 1.4.

BIBLIOGRAPHIE

- M. Hamada, T. Takeuchi, S. Kondo, Y. Ikeda, H. Naganawa, K. Maeda, Y. Okami et H. Umezawa, *J. Antibiotics* **23**, 170 (1970).
- H. Umezawa, S. Kondo, K. Maeda, T. Takeuchi et M. Hamada, *Brevet Belge* No. 750.096 (1970). *Chem. Abstr.* **73**, 21494 m.
- Y. Uehara, S. Kondo, H. Umezawa, K. Suzukake et M. Hori, *J. Antibiotics* **25**, 685 (1972).
- Y. Uehara, M. Hori et H. Umezawa, *Biochim. Biophys. Acta* **82**, 394 (1974).
- S. Kondo, K. Iinuma, K. Yoshida, K. Yokose, Y. Ikeda, M. Shimazaki et H. Umezawa, *J. Antibiotics* **29**, 208 (1976).
- S. Kondo, S. Shibahara, S. Takahashi, K. Maeda et H. Umezawa, *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 6305 (1971) et S. Shibahara, S. Kondo, K. Maeda et H. Umezawa, *Ibid.* **94**, 4353 (1972).
- C. D. Hurd et O. E. Edwards, *J. Org. chem.* **19**, 1319 (1954).
- N. Gregersen et C. Pedersen, *Acta Chem. Scand.* **26**, 2695 (1972).
- Y. Ali, L. Hough et A. C. Richardson, *Carbohydr. Res.* **14**, 186 (1970).
- A. Zamojski, A. Konowal et J. Jurczak, *Rocz. Chem.* **44**, 1587 (1970).
- H. B. Henbest et B. Nicholls, *J. Chem. Soc.* 227 (1959).
- D. Jasserand, J. P. Girard, J. C. Rossi et R. Granger, *Tetrahedron* **32**, 1535 (1976).
- J. von Euw et T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **33**, 485 (1950).
- F. Shafizadeh, *Advan. Carbohydr. Chem.* **13**, 10 (1958).
- W. Streicher et H. Reinshagen, *Chem. Ber.* **108**, 813 (1975).
- W. Streicher, H. Reinshagen et F. Turnowsky, *J. Antibiotics* **31**, 725 (1978).
- M. Chmielewski, J. Jurczak et A. Zamoski, *Tetrahedron* **34**, 2977 (1978).
- E. Paulus, Hoechst AG, communication personnelle.