

GUANIDYLATION D'ANALOGUES DE RGD A BASE HÉTÉROCYCLES-SUCRES FUSIONNÉS

Issa SAMB^{2,3*}, Nadia PELLEGRINI-MOÏSE¹,
Mohamed Lamine GAYE² et Yves CHAPLEUR¹

¹ *Groupe S.U.C.R.E.S, UMR 7565 Nancy Université, CNRS, BP 239,
F-54506 Nancy Vandoeuvre, France*

² *Laboratoire de Chimie de Coordination Organique (LCCO),
Département de chimie, Université Cheikh Anta Diop (UCAD) de Dakar
³ Équipe de Recherche Chimie Organique et Thérapeutique (ECOT) de
l'Université Alioune Diop de Bambe (UADB), Sénégal*

* Correspondance, e-mail : issa.samb@uadb.edu.sn

RÉSUMÉ

De nombreux processus physiologiques sont favorisés par les protéines adhésives de la matrix extracellulaire via des récepteurs spécifiques appelés intégrines. La séquence tripeptide arginine-glycine-acide aspartique (RGD) reconnue par les intégrines joue un rôle crucial dans l'adhésion cellulaire. Ce travail décrit la conception peptidomimétique RGD à base de nouvelles plates-formes bis-hétérocycles-sucres.

Mots-clés : *bis-hétérocycle, pyrimidino-pyranoside, peptidomimétiques.*

ABSTRACT

Guanidylation of RGD analogs based on sugar bicyclic scaffolds

A great number of physiological disorders are promoted by extracellular adhesion proteins on specific receptors called integrins. The recognition of arginine-glycine-acide aspartic (RGD) amino acid sequence by integrins plays a crucial role in cellular adhesion. This work describes the design of RGD mimetics based on new sugar bicyclic scaffolds.

Keywords : *scaffolds, pyrimidino-pyranoside, peptidomimetic.*

I - INTRODUCTION

Dans le cadre des mécanismes de reconnaissance cellulaire, les ligands de nature peptidique présentent un manque de biodisponibilité et leur stabilité métabolique est limitée. Le développement de structures peptidomimétiques capables de mimer les peptides bioactifs apparaît comme une approche intéressante [1 - 3]. L'utilisation de la fonctionnalité et la structure plus ou moins rigide des sucres comme répartiteur de fonction [4 - 6] nous a conduits à la création de nouvelles plates-formes rigides bis-hétérocycles-sucres. Le bicyclic SMe-pyrimidino-pyranoside 1 est une plate-forme intéressante à utiliser pour la construction de composés peptidomimétiques de RGD [7]. En effet, nous avons montré que ce composé présente trois sites réactionnels dont on maîtrise la réactivité : les deux hydroxyles en position 4 et 6 de la partie pyranose et la fonction thioéther de méthyle sur la partie pyrimidine.

II - MÉTHODOLOGIE

II-1. Synthèse de mimes du tripeptide RGD

A partir du composé 2 issu de l'alkylation régiosélective de la SMe-pyrimidino-pyranoside 1 (diol-4,6) et possédant une fonction ester jouant le rôle de la chaîne latérale de l'acide aspartique, nous avons réalisé une réaction de couplage de type Stille en utilisant un stannane fonctionnalisé et préalablement préparé [7]. Cette réaction nous a permis d'introduire sur la partie hétérocycle pyrimidine un bras comportant une fonction amine protégée par un Boc qui jouera le rôle de mime de la chaîne latérale de l'arginine. La réaction de couplage pallado-catalysé sur le composé 2 a permis d'obtenir les produits doublements fonctionnalisés 3, 4 et 5 avec des rendements convenables de 62 %, 76 % et 74 % respectivement.

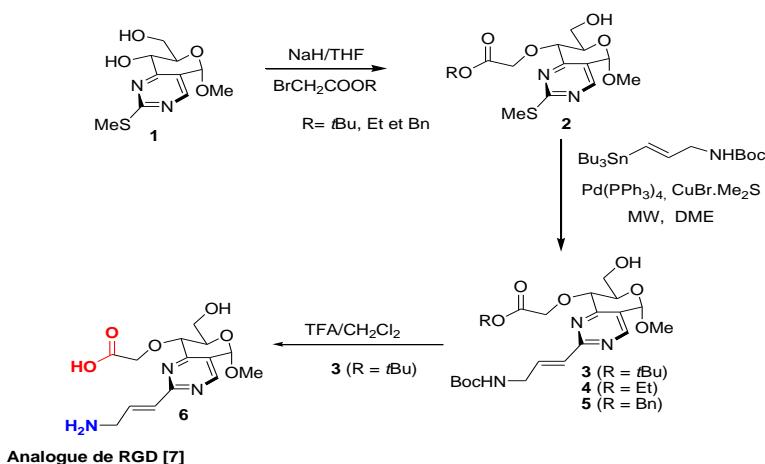


Figure 1 : Synthèse d'analogue de RGD

Les groupements Boc et l'ester de *tertbutyle* étant labiles en milieu acide, nous avons déprotégé les fonctions amine et ester par action du TFA dans le dichlorométhane. Le produit totalement déprotégé 5 obtenu avec un rendement de 52 % après purification sur une colonne préparative de silice C18. Ce composé 5 peut être considéré comme un premier analogue du tripeptide RGD.

III - RÉSULTATS ET DISCUSSION

III-1. Réactions de guanidylation

III-1-1. Déprotection du Boc

Nous avons souhaité également explorer des conditions permettant de transformer la fonction amine en fonction guanidine. Ces composés solubilisés dans le dichlorométhane en présence de 10 à 15 % de TFA ont permis d'accéder aux produits *N*-déprotégés 7 et 8. Les rendements n'ont pas été calculés puisque les produits n'ont pas été purifiés. En outre, les spectres RMN ¹H ont montré sans ambiguïté la disparition du groupement Boc.

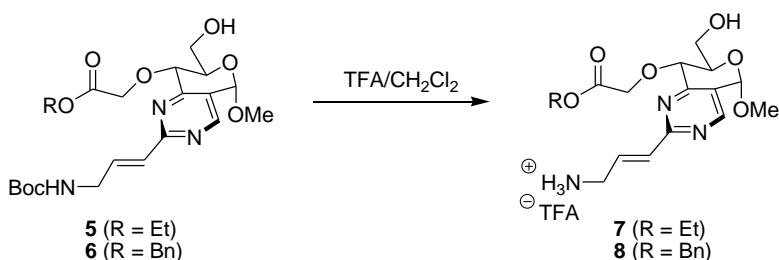


Figure 2 : Déprotection du groupement Boc

III-1-2. Réactions de guanidylation

Ayant en main la plate-forme fonctionnalisée par une fonction ester (éthylique ou benzyllique) et un bras portant une amine libre, nous avons envisagé de transformer la fonction amine en guanidine [8]. Les *N,N*-di-(*tert*butoxycarbonyl)-S-méthylisothiourée et *N,N*-di-(benzyloxycarbonyl)-S-méthylisothiourée ont été préparées à partir de la S-méthylthiourée [9 - 13]. Les couplages ont été réalisés dans un minimum de DMF en présence de HgCl₂ et d'Et₃N. Au départ de l'amine 8, le produit de guanidylation attendu 9 a été obtenu avec un rendement global sur les deux étapes de 26 % (réaction de déprotection du Boc et guanidylation). Deux autres produits ont été aussi obtenus : l'un présentant la fonction guanidine totalement déprotégée 10 (8 % sur les deux étapes : réaction de déprotection du Boc et guanidylation) et

un deuxième où la fonction guanidine ne présente qu'un groupe benzyloxycarbonyle 11 (5 % sur les deux étapes : réaction de déprotection du Boc et guanidylation). La perte du (ou des) groupement(s) protecteur(s) a pu être confirmée par RMN ¹H et spectrométrie de masse.

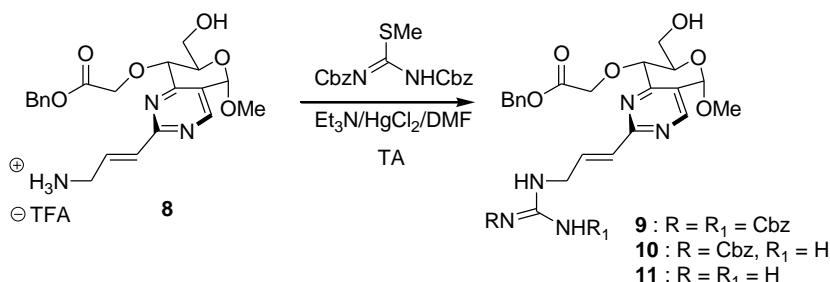


Figure 3 : Guanidylation 1 : synthèse de mime de RGD

Le composé 12 aussi est obtenu par condensation de *N,N*-di-(tertbutoxycarbonyl)-S-méthylisothiourée sur l'amine 7.

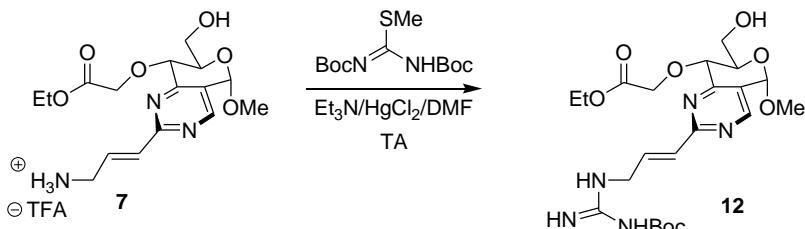


Figure 4 : Guanidylation 2 : synthèse de mime de RGD

Le produit de guanidylation est obtenu avec un rendement de 36 % (sur les deux étapes : réaction de déprotection du Boc et guanidylation), mais là encore la perte d'un groupement *tert*butoxycarbonyl a été observée et confirmée par RMN ¹H et spectrométrie de masse.

III-2. Procédures générales de synthèse des composés

- *Composé 7*

(5*S*,7*R*,8*S*)-2-[1-(3-amino)propényl]-5,8-dihydro-8-[(éthyoxy carbonylméthyl)oxy]-7-hydroxyméthyl-5-méthoxy-pyrano[3,4-d]pyrimidine. Le composé 5 (200 mg, 0.42 mmol) est solubilisé dans 1 mL de dichlorométhane à 0°C. A 0°C, on ajoute 1 mL d'une solution de TFA à 20 % dans le dichlorométhane. La réaction suivie en CCM est totale au bout de 2 heures d'agitation à température ambiante. Après évaporation à sec, le brut est

repris trois fois dans l'hexane. Le résidu est purifié par chromatographie en phase inverse sur gel de silice C18 (éluant, H₂O / CH₃CN 95 / 5). Après lyophilisation, le composé 7 est isolé. C₁₆H₂₃N₃O₆, MM = 353,2 g / mol, R_f = 0.15 (DCM / MeOH, 9:1) ; RMN ¹H (MeOH-d₄, 250 MHz) : δ 1.26 (t, 3H, H₁₁, J₁₁₋₁₀ = 7 Hz), 3.60 (s, 3H, OMe), 4.00-4.20 (m, 7H, H₆, H_{6'}, H₅, 2H₁₄, 2H₉), 4.27 (q, 2H, H₁₀, J₁₀₋₁₁ = 7 Hz), 4.60 (d, 1H, H₄, J₄₋₅ = 9.3 Hz), 5.63 (s, 1H, H₁), 6.76 (br d, 1H, H₁₂, J₁₂₋₁₃ = 15.4 Hz), 6.90-7.03 (m, 1H, H₁₃).

- *Composé 8*

(5S,7R,8S)-2-[1-(3-amino)propényl]-5,8-dihydro-8-[(benzyloxycarboxyméthyl)oxy]-7-hydroxyméthyl-5-méthoxy-pyrano[3,4-d]pyrimidine. Le composé 8 a été préparé selon le même mode opératoire que le composé 7, au départ du produit 6. C₂₁H₂₅N₃O₆, MM = 415.2 g / mol, R_f = 0.25 (DCM / MeOH, 9:1), RMN ¹H (D₂O, 250 MHz) : δ 3.53 (s, 3H, OMe), 3.70-4.15 (m, 7H, H₆, H_{6'}, H₅, 2H₁₂, 2H₉), 4.70 (d, 1H, H₄, J₄₋₅ = 9 Hz), 5.15 (d, 1H, CH₂Ph, J_{gem} = 12.3 Hz), 5.21 (d, 1H, CH₂Ph, J_{gem} = 12.3 Hz), 5.70 (s, 1H, H₁), 6.67 (br d, 1H, H₁₀, J₁₀₋₁₁ = 15.4 Hz), 6.98 (dt, 1H, H₁₁, J₁₀₋₁₁ = 15.4 Hz, J₁₁₋₁₂ = 6.3 Hz), 7.25-7.35 (m, 5H, H aromatique), 8.62 (s, 1H, H₇).

- *Composés 9, 10 et 11*

0.2 g du composé 8 (0.48 mmol) est solubilisé dans 3 mL de DMF. On ajoute 131 mg de HgCl₂ (1 éq., 0.48 mmol), 0.347 g de la N,N-di(benzyloxycarbonyl)-S-méthylisothiourée (2 éq., 0.96 mmol) et 0.21 mL de Et₃N (3 éq., 1.44 mmol). La réaction suivie en CCM est totale au bout de 7 heures d'agitation à température ambiante. Après évaporation à sec, le brut réactionnel est extrait par le dichlorométhane puis lavé à l'eau. Une purification par chromatographie sur gel de silice permet d'isoler les composés correspondants.

- *Composé 9*

Rdt = 26 % sur deux étapes, C₃₈H₃₉N₅O₁₀, MM = 725.3 g / mol, solide blanc, [α]_D = + 84.2 (c = 1.02, CHCl₃), R_f = 0.32 (Hexane / EtOAc, 1 / 2), IR : 3336, 2927, 1801, 1731, Pf = 165-166°C, RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 3.55 (s, 3H, OMe), 3.80-4.10 (m, 2H, H₆, H₅), 4.30-4.50 (m, 3H, H_{6'}, 2H₁₂), 4.69 (d, 1H, H₄, J₄₋₅ = 9.8 Hz), 4.70 (d, 1H, H₉, J_{9-9'} = 17.8 Hz), 5.12 (s, 2H, CH₂Ph), 5.18 (s, 2H, CH₂Ph), 5.31 (d, 1H, H_{9'}, J_{9-9'} = 17.8 Hz), 5.54 (s, 1H, H₁), 6.66 (br d, 1H, H₁₀, J₁₀₋₁₁ = 15.6 Hz), 7.13 (dt, 1H, H₁₁, J₁₀₋₁₁ = 15.6 Hz, J₁₁₋₁₂ = 5.2 Hz), 7.30-7.45 (m, 15H, H aromatique), 8.50 (s, 1H, H₇), 8.51 (m, 1H, NH), 11.7 (s, 1H, NH). RMN ¹³C (CDCl₃, 62.9 MHz) : δ 42.3 (C₁₂), 56.2 (OMe), 61.8 (C₅), 67.3 (CH₂Ph), 67.4, (CH₂Ph), 68.5 (CH₂Ph), 69.3 (C₆), 70.3 (C₄), 71.7 (C₉), 96.4 (C₁), 124.7 (C₂), 128.07 (C, aromatique), 128.3 (2C, aromatique), 128.5 (2C, aromatique), 128.6 (2C, aromatique), 128.8

(3C, aromatique), 128.8 (2C, aromatique), 128.9 (3C, aromatique), 130.6 (C₁₁), 134.7 (Cq, aromatique), 135.0 (Cq, aromatique), 135.9 (Cq, aromatique), 136.9 (C₁₀), 153.9 (CO-N), 156.01 (CO-N), 156.2 (C₇), 163.7 (C₁₃), 163.8 (C₃), 164.9 (C₈), 172.5 (CO). MS (ES⁺) *m/z* : 726 (100, [M + H]⁺), 748 (10, [M + Na]⁺)

- *Composé 10*

Rdt = 8 % sur deux étapes, C₃₀H₃₃N₅O₈, MM = 591.2 g / mol, R_f = 0.25 (Hexane / EtOAc, 1 / 2), RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 3.54 (s, 3 H, OMe), 3.90-4.05 (m, 2 H, H₆, H₅), 4.10-4.30 (m, 3 H, H_{6'}, 2 H₁₂), 4.67 (d, 1 H, H₄, *J*₄₋₅ = 9 Hz), 4.68 (d, 1 H, H₉, *J*_{9-9'} = 17.5 Hz), 5.16 (s, 2 H, CH₂Ph), 5.18 (s, 2 H, CH₂Ph), 5.27 (d, 1 H, H_{9'}, *J*_{9-9'} = 17.5 Hz), 5.51 (s, 1 H, H₁), 6.65 (br d, 1 H, H₁₀, *J*₁₀₋₁₁ = 15.9 Hz), 7.02 (dt, 1 H, H₁₁, *J*₁₀₋₁₁ = 15.9 Hz, *J*₁₁₋₁₂ = 5.6 Hz), 7.30-7.40 (m, 10 H, *H* aromatique), 7.99 (s, 1 H, NH), 8.47 (s, 1 H, H₇). MS (ES⁺) *m/z* : 615 (100, [M + Na + H]⁺)

- *Composé 11*

Rdt = 5 % pour deux étapes, C₂₂H₂₇N₅O₆, MM = 457.2 g / mol, R_f = 0.28 (Hexane / EtOAc, 1 / 2), IR : 3351, 2921, 1720; RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 3.55 (s, 3 H, OMe), 3.90-4.05 (m, 2 H, H₆, H₅), 4.20-4.30 (m, 3 H, H_{6'}, 2 H₁₂), 4.69 (d, 1 H, H₄, *J*₄₋₅ = 9.8 Hz), 4.70 (d, 1 H, H₉, *J*_{9-9'} = 17.6 Hz), 5.23 (s, 2 H, CH₂Ph), 5.27 (d, 1 H, H_{9'}, *J*_{9-9'} = 17.6 Hz), 5.53 (s, 1 H, H₁), 6.66 (br d, 1 H, H₁₀, *J*₁₀₋₁₁ = 15.7 Hz), 6.75 (s, 1 H, NH), 7.13 (dt, 1 H, H₁₁, *J*₁₀₋₁₁ = 15.6 Hz, *J*₁₁₋₁₂ = 5.3 Hz), 7.30-7.40 (m, 5 H, *H* aromatique), 8.49 (s, 1 H, H₇). RMN ¹³C (CDCl₃, 100.6 MHz) : δ 41.1 (C₁₂), 56.2 (OMe), 61.7 (C₅), 67.4 (CH₂Ph), 69.3 (C₆), 70.3 (C₄), 71.7 (C₉), 96.3 (C₁), 125.1 (C₂), 128.6 (C, aromatique), 128.8 (2C, aromatique), 128.9 (C₁₁), 131.9 (C, aromatique), 132.1 (C, aromatique), 132.3 (C, aromatique), 134.2 (Cq, aromatique), 135.0 (C₁₀), 156.1 (C₇), 163.2 (C₁₃), 165.0 (C₃), 166.9 (C₈), 172.4 (CO). MS (ES⁺) *m/z* : 458 (40, [M + H]⁺)

- *Composé 12*

0.15 g du composé 7 (0.42 mmol) est solubilisé dans 3 mL de DMF. On ajoute 0.115 g de HgCl₂ (1 éq., 0.42 mmol), 0.248 g de la *N,N*-di(tertbutoxycarbonyl)-S-méthylisothiourée (2 éq., 0.85 mmol) et 0.18 mL de Et₃N (3 éq., 1.3 mmol). La réaction suivie en CCM est totale au bout de 7 heures d'agitation à température ambiante. Après évaporation à sec, le brut réactionnel est extrait dans le dichlorométhane puis lavé à l'eau. Une purification par chromatographie sur gel de silice permet d'isoler le composé 12 avec un rendement de 36 % (85 mg). Rdt = 36 % sur deux étapes, C₂₂H₂₇N₅O₆, MM = 457.2 g / mol, R_f = 0.28 (Hexane / EtOAc, 1 / 2), IR : 3351, 2921, 1720, RMN ¹H (CDCl₃, 250 MHz) : δ 1.50 (s, 9 H, C(CH₃)₃), 3.55 (s, 3 H, OMe), 3.90-4.10 (m, 2 H, H₆, H₅), 4.10-4.40 (m, 5 H, H_{6'}, 2 H₁₀, 2 H₁₄), 4.66 (d, 1 H, H₉, *J*_{9-9'} = 17.6 Hz), 4.68 (d, 1 H, H₄, *J*₄₋₅ = 9.9 Hz), 5.29

(d, 1 H, H_{9'}, $J_{9.9'} = 17.6$ Hz), 5.53 (s, 1 H, H₁), 6.70 (br d, 1 H, H₁₂, $J_{12-13} = 15.6$ Hz), 7.15 (dt, 1 H, H₁₁, $J_{12-13} = 15.6$ Hz, $J_{12-14} = 5.3$ Hz), 8.1 (s, 1 H, NH), 8.47 (s, 1 H, H₇). MS (ES⁺) m/z : 519 (100, [M + Na + H]⁺)

IV - CONCLUSION

Ces travaux nous ont permis dans un premier temps un accès rapide à un premier composé analogue du tripeptide RGD en peu d'étapes avec des rendements tout à fait satisfaisants. Les travaux montrent les potentialités de la plate-forme SMe-pyrimidino-pyranoside dans la synthèse de mimes moléculaires de RGD. Les réactions de guanidylation ont été effectuées sur les composés présentant une amine libre et ont conduit à l'introduction de fonction guanidine.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Mme Brigitte Fernette et Mme Sandrine Adach pour leurs assistances techniques (RMN et MS)

RÉFÉRENCES

- [1] - LIANG YANG, PING WANG, JI-FENG WU, LIU-MENG YANG, RUI-RUI WANG, WEI PANG, YONG GANG LI, YUE-MAO SHEN, YONG-TANG ZHENG, XUN LI, *Bioorg. Med. Chem.*, 9 (2016) 2125 - 2136.
- [2] - LORENZO SERNISSI, ANDREA TRABOCCHI, DINA SCARPI, FRANCESCA BIANCHINI, ERNESTO G. OCCHIATO, *Bioorg. Med. Chem.*, 4 (2016) 703 - 711.
- [3] - S. BASU, P. S. KANDIYAL, V. S. K. NEELAMRAJU, H. SINGH, R. S. AMPAPATHI ET T. K. CHAKRABORTY, *Tetrahedron*, 70 (2014) 1169 - 1175.
- [4] - MYLENE RICHARD, ALICIA CHATEAU, CHRISTIAN JELSCH, CLAUDE DIDIERJEAN, XAVIER MANIVAL, CHRISTOPHE CHARRON, BERNARD MAIGRET, MURIEL BARBERIHEYOB, YVES CHAPLEUR, CEDRIC BOURA, NADIA PELLEGRINI-MOÏSE, *Bioorg. Med. Chem.*, 21 (2016) 5315 - 5325.
- [5] - A. NOVOA, N. PELLIGRINI-MOÏSE, D. BECHET, M. BARBERIHEYOB ET Y. CHAPLEUR, *Bioorg. Med. Chem.*, 18 (2010) 3285 - 3298.
- [6] - N. MOITESSIER, S. DUFOUR, F. CHRETIEN, J. P. THIERY, B. MAIGRET, Y. CHAPLEUR, *Bioorg. Med. Chem.*, 9 (2001) 511 - 523.
- [7] - I. SAMB, N. PELLEGRINI-MOÏSE, S. LAMANDE-LANGLE, Y. CHAPLEUR, *Tetrahedron*, 65 (2009) 896 - 902.

- [8] - F. BIANCHINI, P. FABBRIZZI, G. MENCHI, S. RASPANTI, A. BOTTONCETTI, A. PASSERI, E. ANDREUCCI, A. GUARNA, L. CALORINI et A. PUPI, *Bioorg. Med. Chem.*, 23 (2015) 1112 - 1122.
- [9] - K. S. KIM, L. QUIAN, *Tetrahedron Lett.*, 34 (1993) 7677.
- [10] - R. J. BERGERON, J. S. MC MANIS, *J. Org. Chem.*, (1987) 1700.
- [11] - S. HAN, R. A. MOORE, R. E. VIOLA, *Bioorg. Chem.*, 30 (2002) 81.
- [12] - J. D. ROSE, J. A. MADDY, R. N. COMBER, W. J. SULING, L. N. WILSON, R. C. REYNOLDS, *Carbohydr. Res.*, 337 (2002) 105.
- [13] - X. WANG, J. THOTTATHIL, *Tetrahedron : Asymmetry.*, 11 (2000) 3665.