

Université de Montréal

Synthèse d'une nouvelle classe d'inhibiteurs potentiels
d'enzymes à base de phosphore.

par

Olivier Rogel

Département de chimie

Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée à la Faculté des études
supérieures en vue de l'obtention du grade de
Philosophiæ Doctor (Ph.D.) en chimie



Octobre 1999

©Olivier Rogel, 1999

Université de Montréal

QD

3

U54

2000

v. 024



Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée

Synthèse d'une nouvelle classe d'inhibiteurs potentiels
d'enzymes à base de phosphore.

Présenté par

©Olivier Rogel

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Professeur D. Gravel

Président

Professeur S. Hanessian

Directeur

Professeur J. Keillor

Jury

Professeur D. Dalorne

Examinateur externe

Professeur G. Szygusch

Représentant des docteurs CES

Thèse
Mémoire accepté le *19 avril 2000* à Montréal

A Caroline, Denise, Yves, Frédéric et Emmanuel

Le destin de l'homme est dans son caractère.

Héraclite

On y entre les yeux fermés, on en sort les yeux ouverts.

Définition de l'école par les Babyloniens

Sommaire

Les carbohydrates sont des composés importants au niveau biologique. De nombreux analogues contenant un hétéroatome autre que l'oxygène sur le cycle hémiacétallique existent dans la nature et ont fait l'objet de nombreuses synthèses dans de nombreux groupes de recherche depuis près de 40 ans.

Cependant les hétéroatomes présents sur le cycle hémiacétallique sont essentiellement les atomes d'azote et de soufre et il existe peu de carbohydrates contenant la liaison carbone-phosphore. Quant aux analogues concernant le remplacement du carbone anomérique par un hétéroatome, ils sont très peu nombreux. Nous avons synthétisé un nouveau type d'analogue : les phostones. Les phostones sont des analogues de carbohydrates où le carbone anomérique est remplacé par un atome de phosphore pentacovalent. Nous avons synthétisé différents analogues dans quatre projets.

Notre premier projet concerne la synthèse des L-fucophostones, des analogues du L-fucose. Plusieurs oligosaccharides présents à la surface des cellules contiennent une unité L-fucose. Ces oligosaccharides sont aussi communs à de nombreux cancers dont ceux du foie, de l'ovaire et du sein. La modification de son carbone anomérique pourrait mener à une activité inhibitrice sur les enzymes concernées par le L-fucose tel que les fucosidases et les fucosyltransférases. Nous avons utilisé le L-fucose comme produit de départ afin de conserver au maximum sa stéréochimie.

Quant aux N-acétyl-D-glucosaminophostone et N-acétyl-D-mannosaminophostone, elles sont des analogues des N-acétyl-D-glucosamine et N-acétyl-D-mannosamine. Ces saccharides sont des composants essentiels de nombreuses glycoprotéines. Ces glycoprotéines sont une classe de produits

naturels jouant un rôle crucial dans les phénomènes de reconnaissance moléculaire. Nous avons pu effectuer pour la première fois la réaction d'Abramov sur une oxime, ce qui a généré les phosphonates cycliques avec une fonction alkoxy amine en α du phosphore.

Le troisième projet concerne le phosphoramidon qui est un puissant inhibiteur d'une métalloprotéase à zinc jouant un rôle particulièrement important au niveau des cellules endothéliales, l'enzyme de conversion de l'endothéline (ECE). Cette enzyme est impliquée dans la régulation du flux sanguin et son dérèglement est reconnu comme un important facteur déclenchant dans de nombreuses maladies. L'analogie en phosphonate du phosphoramidon modifie la structure du phosphoramidon en incorporant la fonction phosphonamide à l'intérieur du L-rhamnose et en supprimant la fonction acide phosphonique.

En dépit des progrès considérables faits dans la compréhension du mécanisme d'action et de la biologie du virus de la grippe, celui-ci continue d'être la plus importante cause de mortalité au niveau des maladies respiratoires. Le mécanisme unique de propagation du virus de la grippe a permis aux chercheurs d'identifier un certain nombre de cibles potentielles dont l'hémagglutinine et la neuraminidase, les deux glycoprotéines de surface les plus importantes impliquées dans la propagation du virus. L'activité enzymatique des neuraminidases repose sur la coupure du lien $\alpha 2,3$ entre l'acide sialique et le carbohydrate auquel il est lié. Dans ce dernier projet, nous avons synthétisé les sialophosphonates, des analogues de l'acide sialique où l'action de l'acide carboxylique et de l'hydroxyle anomérique est remplacé par un acide phosphonique.

TABLE DES MATIÈRES

Sommaire.....	i
Liste des figures.....	iii
Liste des schémas.....	vi
Liste des tableaux.....	xi
Liste des abréviations et des définitions	xii
Remerciements	xv

PARTIE THÉORIQUE

1. INTRODUCTION.....	1
1.1 Introduction.....	2
1.2 Analogues de carbohydrates possédant un hétéroatome à la place de l'oxygène sur le cycle hémiacétallique.....	2
1.2.1 Introduction	2
1.2.2 Carbohydre possédant un atome d'azote	3
1.2.3 Carbohydre possédant un atome de soufre.....	5
1.2.4 Carbohydre possédant un atome de phosphore	6
1.3 Modification du carbone anomérique par un atome de phosphore.....	9
1.3.1 Introduction	9
1.3.2 Remplacement du carbone par un atome de phosphore	10
1.3.2.1 Les premiers analogues	10
1.3.2.2 Les phostones.....	12
1.4 Conclusion	14
1.5 Références	15

2. SYNTHÈSE DES L-FUCOPHOSTONES	18
2.1 Introduction.....	19
2.2 Les fucosidases.....	20
2.3 Les fucosyltransférases	21
2.4 Quelques analogues du L-fucose.....	22
2.4.1 Inhibiteurs sans atome de phosphore	22
2.4.2 Inhibiteurs avec atome de phosphore	24
2.5 Travaux réalisés	26
2.5.1 Introduction	26
2.5.2 Retrosynthèse.....	26
2.5.3 Synthèse	27
2.5.3.1 Synthèse du 3,4-di-O-benzyl-L-fucal.....	27
2.5.3.2 Synthèse des phosphonates	29
2.5.3.3 Synthèse des produits finaux.....	31
2.6 Conclusion	35
2.7 Références	35

3. SYNTHÈSE DES ACIDES PHOSPHONIQUES DE LA N-ACÉTYL-D-GLUCOSAMINOPHOSTONE ET DE LA N-ACÉTYL-D-MANNOSAMINOPHOSTONE.....	41
3.1 Introduction.....	42
3.2 Importance biologique des N-Acétyle glucosamine et mannosamine ...	43
3.2.1 Les N-acétylglucosaminyltransférases.....	43
3.2.2 Les N-acétylhexosaminidases.....	44
3.2.3 Les NeuAc aldolases.....	44
3.3 Quelques analogues de la N-Acétyle-D-glucosamine et de la N-Acétyle-D-mannosamine.....	45

3.3.1 Analogues de la N-acétyl-D-glucosamine et de la N-acétyl-D-mannosamine.....	46
3.3.2 Analogues de la N-acétyl-D-glucosamine et de la N-acétyl-D-mannosamine avec phosphore	47
3.4 La synthèse de la N-acétyl-D-glucosaminophostone et de la N-acétyl-D-mannosaminophostone.....	49
3.4.1 Introduction	49
3.4.2 Retrosynthèse.....	49
3.4.3 Synthèse	51
3.4.3.1 Synthèse des phosphonates cycliques	51
3.4.3.2 Fonctionnalisation.....	53
3.4.3.3 Synthèse des acides et déprotection	55
3.5 Conclusion	58
3.6 Références	58

4. SYNTHÈSE D'UN ANALOGUE EN PHOSTONE DU PHOSPHORAMIDON.....	65
4.1 Introduction.....	66
4.2 Partie biologique	67
4.2.1 Introduction	67
4.2.2 Les endothélines	68
4.2.2.1 Introduction.....	68
4.2.2.2 Identification et caractérisation	69
4.2.2.3 Biosynthèses.....	71
4.2.2.4 Effets biologiques des endothélines.....	72
4.2.2.5 Conclusion.....	74
4.2.3 Les Inhibiteurs.....	74
4.2.3.1 Introduction.....	74
4.2.3.2 Design des inhibiteurs de l'ECE.....	74

4.2.3.2.1 En se basant sur les inhibiteurs de NEP et ECA.....	75
4.2.3.2.2 Par recherche systématique	76
4.2.3.2.3 En se basant sur la structure du phosphoramidon.....	77
4.2.4 Conclusion.....	78
4.3 Travaux réalisés.....	79
4.3.1 Introduction	79
4.3.2 Retrosynthèse.....	80
4.3.3 Synthèse	81
4.3.3.1 Synthèse de la L-rhamnophostone	81
4.3.3.2 Synthèse du dipeptide	84
4.3.3.3 Couplage entre la L-rhamnophostone et le dipeptide	85
4.3.3.3.1 Introduction.....	85
4.3.3.3.2 Revue des différentes méthodes disponibles.....	86
4.3.3.3.2.1 Couplage à partir d'acide phosphonique	86
4.3.3.3.2.1.1 Par la réaction de Mitsunobu.....	86
4.3.3.3.2.1.2 Par utilisation du BOP-Cl.....	87
4.3.3.3.2.1.3 Par utilisation du BOP ou du PyBOP	88
4.3.3.3.2.1.4 Couplage à partir du chlorure d'acide phosphonique.....	89
4.3.3.3.2.2 Synthèse du chlorure d'acide phosphonique.....	90
4.3.3.3.2.2.1 Utilisation du pentachlorure de phosphore	90
4.3.3.3.2.2.2 Utilisation du tétrachlorure de carbone.....	90
4.3.3.3.2.2.3 Utilisation du tris(2,4,6-tribromophénoxy)-dichlorophosphorane.....	91
4.3.3.3.2.2.4 Utilisation du dichlorotriphénylphosphorane.....	91
4.3.3.3.2.2.5 Utilisation du chlorure de thionyle.....	92
4.3.3.3.2.2.6 Utilisation du chlorure d'oxalyle	92
4.3.3.3.2.2.7 Utilisation d'additifs lors de la réaction de couplage.....	93
4.3.3.3.2.2.7.1 Et ₂ NTMS	93
4.3.3.3.2.2.7.2 Par transestérification des p-nitrophényle phosphonates	94
4.3.3.3.2.2.7.3 HOBT et HOAT.....	95
4.3.3.3.2.2.7.4 Et ₃ N	96
4.3.3.3.2.2.7.5 Tetrazole.....	97
4.3.3.3.3 Couplage et déprotection finals	97
4.3.3.3.4 Séparation et déprotection finales.....	100

4.3.3.4 Tests biologiques	101
4.3.4 Conclusion.....	102
4.4 Références	102
5. SYNTHÈSE DES SIALOPHOSTONES.....	112
5.1 Introduction.....	113
5.2 Partie biologique.....	113
5.2.1 Mécanisme du virus	115
5.2.1.1 L'hémagglutinine.....	115
5.2.1.2 Les neuraminidases	116
5.2.1.3 Conclusion.....	118
5.2.2 Les Inhibiteurs de neuraminidases.....	119
5.2.2.1 Introduction.....	119
5.2.2.2 Modification de l'hydroxyle situé sur le carbone 4 du Neu5Ac2en.....	121
5.2.2.3 Modification de la chaîne du Neu5Ac2en.....	122
5.2.2.4 Modification de la double liaison du Neu5Ac2en	124
5.2.2.5 Modification de l'acide carboxylique du Neu5Ac2en.....	126
5.2.2.6 Proposition d'un nouvel inhibiteur de neuraminidase	127
5.2.3 Conclusion.....	128
5.3 Travaux réalisés.....	129
5.3.1 Introduction	129
5.3.2 Retrosynthèse.....	130
5.3.3 Synthèse	131
5.3.3.1 Synthèse du 5-acétamido-4,7,8,9-tetra-O-acétyl-2,3,5-tridésoxy-D-glycéro-D-galacto-non-2-énopyranosate de méthyle	131
5.3.3.2 Incorporation du phosphore.....	132
5.3.3.3 Cyclisation intramoléculaire.....	135
5.3.3.4 Désoxygénation et déprotections.....	139
5.3.4 Tests biologiques.....	143

5.3.5 Conclusion.....	144
5.3.6 Références.....	144

PARTIE EXPÉRIMENTALE

6. NOTES GÉNÉRALES SUR LA PARTIE EXPÉRIMENTALE	152
6.1 Instrumentation.....	153
6.2 Chromatographie.....	154
6.2.1 Chromatographie sur colonne	154
6.2.2 Chromatographie sur couche mince.....	154
6.3 Les révélateurs.....	154
6.3.1 Lumière ultraviolette.....	155
6.3.2 Molybdate d'ammonium en solution aqueuse.....	155
6.4 Purification des solvants.....	155
6.5 Nomenclature	156
6.6 Généralités.....	157

7 : PARTIE EXPÉRIMENTALE DU CHAPITRE 2

Synthèse des L-fucophostones

1,2,3,4-Tetra- <i>O</i> -acétyl-L-fucose : 2.16	159
Bromure de 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-L-fucopyranosyle : 2.17	160
3,4-Di- <i>O</i> -acétyl-L-fucal : 2.18	161
L-fucal : 2.19	162
3,4-Di- <i>O</i> -benzyl-L-fucal : 2.20	163
2,3-Di- <i>O</i> -benzyl-5-désoxy-1-diméthylphosphonyl-4- <i>O</i> -formyl-L-fucose	
2.21	
et 2,3-di- <i>O</i> -benzyl-5-désoxy-1-diméthylphosphonyl-4- <i>O</i> -formyl-	
L-talose 2.22	164
4,5-Di- <i>O</i> -benzyl-6-méthyl-L- <i>galacto</i> -(2 <i>R</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -	
oxaphosphorinan-2-	

one 2.23 et 4,5-di- <i>O</i> -benzyl-6-méthyl-L- <i>galacto</i> -(2 <i>S</i>)-méthoxy -1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one 2.24	168
4,5-Di- <i>O</i> -benzyl-6-méthyl-L- <i>talo</i> -(2 <i>R</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan- 2-one 2.25 et 4,5-di- <i>O</i> -benzyl-6-méthyl-L- <i>talo</i> -(2 <i>S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ - oxaphosphorinan- 2-one 2.26	170
4,5-Di- <i>O</i> -benzyl-6-méthyl-L- <i>galacto</i> -(2 <i>R</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ - oxaphosphorinan- 2-one 2.27	173
3,4,5-Tri- <i>O</i> -acétyl-6-méthyl-L- <i>galacto</i> -(2 <i>R</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ - oxaphosphorinan- 2-one 2.28	175
L-Fuco-(2 <i>R</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one : 2.3	176
L-Fuco-(2 <i>S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one : 2.4	178
L-Fuco-(2 <i>R</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one : 2.2	179

8 : PARTIE EXPÉRIMENTALE DU CHAPITRE 3

Synthèse des acides phosphoniques de la N-acétyl-D-glucosaminophostone et de la N-acétyl-D-mannosaminophostone

2,3,5-Tri- <i>O</i> -benzyl-1-benzyloxime-D-arabinose : 3.21	181
4,5-Di- <i>O</i> -benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6-benzyloxyméthyl-D- <i>gluco</i> - (2 <i>R/S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one (3.22 et 3.23) et 4,5-di- <i>O</i> -benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6-benzyloxyméthyl-D- <i>manno</i> - (2 <i>R/S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one (3.24 et 3.25)	182
3- <i>N</i> -Acétyl-4,5-di- <i>O</i> -benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6- benzyloxyméthyl-D- <i>gluco</i> -(2 <i>R/S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one (3.26 et 3.27) et 3- <i>N</i> -acétyl-4,5-di- <i>O</i> -benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6- benzyloxyméthyl-D- <i>manno</i> -(2 <i>R/S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one (3.28 et 3.29)	183
3- <i>N</i> -Acétyl-4,5-di- <i>O</i> -benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6- benzyloxyméthyl-D-	

<i>gluco</i> -(2 <i>R</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one 3.30 et 3- <i>N</i> -acétyl-4,5-di- <i>O</i> -benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6-benzyloxyméthyl-D- <i>manno</i> -(2 <i>R</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one 3.31	188
3- <i>N</i> -Acétyl-3-désoxy-D- <i>gluco</i> -(2 <i>S</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one : 3.3	193
3- <i>N</i> -Acétyl-3-désoxy-D- <i>manno</i> -(2 <i>S</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one : 3.4	194

9 : PARTIE EXPÉRIMENTALE DU CHAPITRE 4

Synthèse d'un analogue en phostone du phosphoramidon

1,2,3,4-Tetra- <i>O</i> -acétyl-L-rhamnose : 4.7	196
3,4-Di- <i>O</i> -acétyl-L-rhamnal : 4.9	197
2,3-Di- <i>O</i> -acétyl-5-désoxy-1-diméthylphosphonyl-4- <i>O</i> -formyl-L-lyxose	
4.10	
et 2,3-di- <i>O</i> -acétyl-5-désoxy-1-diméthylphosphonyl-4- <i>O</i> -formyl-L-xylose	
4.11	197
2,3,4-Tri- <i>O</i> -acétyl-L- <i>rhamno</i> -(2 <i>R/S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one	
4.12a,b et 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-L- <i>talo</i> -(2 <i>R/S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one 4.13a,b	199
2,3,4-Tri- <i>O</i> -acétyl-L- <i>rhamno</i> -(2 <i>S</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one 4.14 et 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-L- <i>talo</i> -(2 <i>S</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one 4.15	200
N-[(Phénylméthoxy)carbonyl]-L-leucine : 4.16	202
Monohydrochlorure de L-tryptophanoate de méthyle : 4.17	203
N-[N-[(Phénylméthoxy)carbonyl]-L-leucyl]-L-tryptophanoate de méthyle : 4.18	204
N-[N-[(Phénylméthoxy)carbonyl]-L-leucyl]-L-tryptophane : 4.19	205
2,3,4-Tri- <i>O</i> -acétyl-L- <i>talo</i> -(2 <i>S</i>)-(Leu-Trp-OMe)-1,2λ ⁵ -oxaphosphinane-2-one	
4.20 et 2,3,4-tri- <i>O</i> -acétyl-L- <i>talo</i> -(2 <i>S</i>)-(Leu-Trp-OMe)-1,2λ ⁵ -oxaphosphinane-2-one 4.21	208

L- <i>rhamno</i> -(2 <i>S</i>)-(Leu-Trp-ONa)-1,2λ ⁵ -oxaphosphinan-2-one	: 4.5.....	210
L- <i>talo</i> -(2 <i>S</i>)-(Leu-Trp-ONa)-1,2λ ⁵ -oxaphosphinan-2-one	: 4.22	212

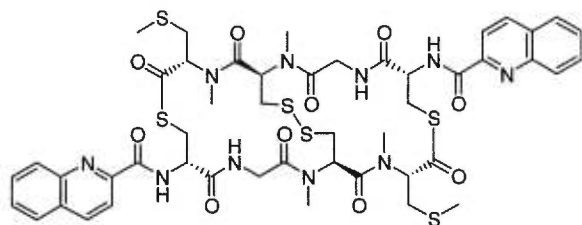
10 : PARTIE EXPÉRIMENTALE DU CHAPITRE 5

Synthèse des sialophostones

5-Acétamido-2,4,7,8,9-penta- <i>O</i> -acétyl-3,5-didésoxy-D- <i>glycéro</i> -D- <i>galacto</i> -2-nonulopyranosate de méthyle	: 5.5	213	
5-Acétamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -acétyl-2,3,5-tridésoxy-D- <i>glycéro</i> -D- <i>galacto</i> -non-2-énopyranosate de méthyle	: 5.7.....	214	
5-Acétamido-2,6-anhydro-2,3,5-tridésoxy-D- <i>glycéro</i> -D- <i>galacto</i> -non-2-énonate de méthyle	: 5.8.....	216	
5-Acétamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -benzyl-3,5-didésoxy-D- <i>glycéro</i> -D- <i>galacto</i> -non-2-énonate de méthyle	5.9-1 et 5-acétamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -benzyl-3,5-didésoxy-D- <i>glycéro</i> -D- <i>galacto</i> -non-2-énonate de benzyle	5.9-2 ...	217
3-Acétamido-2,5,6,7-tetra- <i>O</i> -benzyl-2-désoxy-4- <i>O</i> -(méthyloxalate)-1-diméthylphosphonyl-D- <i>erythro</i> -L- <i>manno</i> -heptitol	5.11 et 3-acétamido-2,5,6,7-tetra- <i>O</i> -benzyl-2-désoxy-4- <i>O</i> -(méthyloxalate)-1-diméthylphosphonyl-D- <i>erythro</i> -L- <i>gluco</i> -heptitol	5.12.....	219
5-Acétamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -benzyl-3,5-didésoxy-D- <i>glycéro</i> -D- <i>galacto</i> -non-2-éne-1-ol	: 5.13.....	222	
5-Acétamido-4,7,8,9-tetra- <i>O</i> -benzyl-3,5-didésoxy-D- <i>glycéro</i> -D- <i>galacto</i> -non-2-éne	: 5.14	223	
5-Acétamido-4- <i>O</i> -benzyl-5-désoxy-6-(1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,3'-tribenzyloxypropyl)-L- <i>manno</i> -(2 <i>R/S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one	5.16 et 5.17	225	
5-Acétamido-4- <i>O</i> -benzyl-5-désoxy-6-(1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,3'-tribenzyloxypropyl)-L- <i>gluco</i> -(2 <i>R/S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one	5.18 et 5.19 ..	227	
5-Acétamido-4- <i>O</i> -benzyl-5-désoxy-6-(1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,3'-tribenzyloxypropyl)-L- <i>lyxo</i> -(2 <i>R</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one	5.20	228	
5-Acétamido-4- <i>O</i> -benzyl-5-désoxy-6-(1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,3'-tribenzyloxypropyl)-L- <i>lyxo</i> -(2 <i>S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one	5.21	230	
5-Acétamido-5-désoxy-6-(1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,3'-trihydroxypropyl)-L- <i>lyxo</i> -(2 <i>R</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one	5.3	232	
5-Acétamido-5-désoxy-6-(1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,3'-trihydroxypropyl)-L- <i>lyxo</i> -(2 <i>S</i>)-méthoxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one	5.4	233	
5-Acétamido-4- <i>O</i> -benzyl-5-désoxy-6-(1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,3'-tribenzyloxypropyl)-L-			

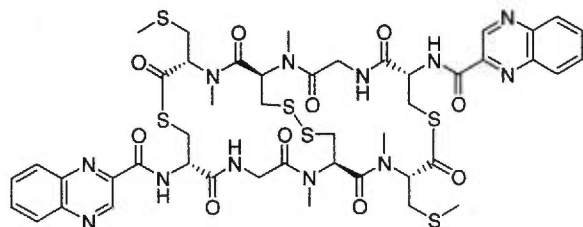
<i>lyxo</i> -(2 <i>R</i>)-hydroxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one 5.22	234
5-Acétamido-5-désoxy-6-(1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> ,3'-trihydroxypropyl)-L- <i>lyxo</i> -(2 <i>R</i>)- hydroxy-1,2λ ⁵ -oxaphosphorinan-2-one 5.2	235

ANNEXE A : Données cristallographiques du composé 2.28



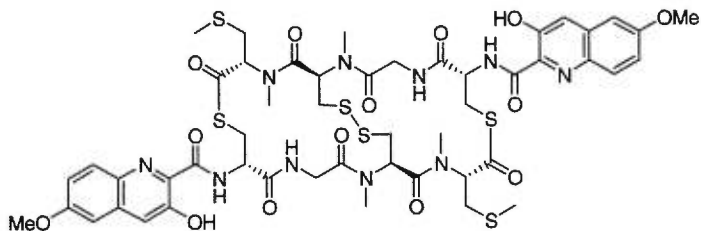
SI-03

$C_{49}H_{56}N_{10}O_{10}S_6$
 Exact Mass: 1124.25051
 Mol. Wt.: 1125.41564



SI-04

$C_{46}H_{54}N_{12}O_{10}S_6$
 Exact Mass: 1126.24101
 Mol. Wt.: 1127.39184



SI-05

$C_{50}H_{60}N_{10}O_{14}S_6$
 Exact Mass: 1216.26147
 Mol. Wt.: 1217.46640

ANNEXE A : Données cristallographiques du composé 2.28

Liste des figures

Figure 1.1. Quelques exemples d'analogues de saccharides.....	2
Figure 1.2. Structure de la nojirimycine.....	3
Figure 1.3. Quelques analogues soufrés.....	5
Figure 1.4. Le D-Glucose et quelques 5-désoxy analogues.....	8
Figure 1.5. Quelques analogues ayant un atome de phosphore	10
Figure 2.1. Structure du L-fucose.....	19
Figure 2.2. Structure des L-fucophostones proposées.....	19
Figure 2.3. Quelques inhibiteurs de fucosidase et de fucosyltransférase	23
Figure 2.4. Quelques inhibiteurs de fucosidase et de fucosyltransférase	24
Figure 2.5. Le L-fucose et ses phostones.....	26
Figure 2.6. Rayons X de l'acide phosphonique 2.28	31
Figure 3.1. Structures de la N-acétyl-D-glucosamine et de la N-acétyl-D-mannosamine.....	42
Figure 3.2. Structures des analogues proposés de la GlcNAc et de	

la ManNAc	42
Figure 3.3. Quelques analogues sans phosphore.....	46
Figure 3.4. Structures des N-acétyl-D-glucosamine 1-phosphate et N-acétyl-D-mannosamine 1-phosphate.....	47
Figure 3.5. Structures des analogues avec phosphore	48
Figure 4.1. Structure du phosphoramidon.....	66
Figure 4.2. Structure chimique de l'endothéline-1.....	70
Figure 4.3. Structure chimique de l'endothéline-2.....	70
Figure 4.4. Structure chimique de l'endothéline-3.....	71
Figure 4.5. Quelques inhibiteurs d'ECE et de NEP.....	75
Figure 4.6. Structure d'un acide hydroxamique inhibiteur d'ECE.....	76
Figure 4.7. Molécules obtenues par screening.....	76
Figure 4.8. Quelques inhibiteurs basés sur la structure du phosphoramidon ...	78
Figure 4.9. Structure du phosphoramidon et de son analogue phostone.....	79
Figure 4.10. Structures du BOP et du PyBOP.	88
Figure 4.11. Structures du HOBT et HOAT	95
Figure 5.1. Structures de l'acide sialique et de son analogue.....	113
Figure 5.2. Structure de l'adamantine et de la rimantadine	114

Figure 5.3. Structure de la neuraminidase.	117
Figure 5.4. Structure de l'acide sialique.....	118
Figure 5.5. Résultats de la recherche systématique	119
Figure 5.6. Structure du Neu5Ac2en	120
Figure 5.7. Structure du Zanamivir.....	122
Figure 5.8. Inhibiteurs contenant une chaîne lipophile	124
Figure 5.9. Produits de départ pouvant mimer l'acide sialique.....	124
Figure 5.10. Structures du Neu5Ac, ePANA et aPANA.....	126
Figure 5.11. Autres exemples d'inhibiteurs.	127
Figure 5.12. Structures de l'acide sialique et des phostones proposées.....	129

Liste des Schémas

Schéma 1.1. Synthèse de la nojirimycine 1.3	4
Schéma 1.2. Synthèse d'analogues azotés de l'arabinose.....	4
Schéma 1.3. Synthèse de l'analogue soufré 1.5	5
Schéma 1.4. Synthèse du 5-thio-D-glucose (1.7).....	6
Schéma 1.5. Synthèse d'un analogue avec phosphore.....	7
Schéma 1.6. Synthèse améliorée d'un analogue avec phosphore	7
Schéma 1.7. Synthèse du 5-éthylphosphinyl-5-désoxy-D-glucose	9
Schéma 1.8. Première synthèse de Paulsen.....	11
Schéma 1.9. Deuxième synthèse de Paulsen.....	11
Schéma 1.10. Autres synthèses d'analogues.....	12
Schéma 1.11. Synthèse de Drueckhammer	13
Schéma 1.12. Synthèse d'Hanessian.....	13
Schéma 1.13. Synthèse de Weiler.....	14
Schéma 2.1. Action de la fucosidase.....	20
Schéma 2.2. Action de la fucosyltransférase FucT V.....	21
Schéma 2.3. Retrosynthèse de la fucophostone.....	27

Schéma 2.4. Choix du produit de départ	27
Schéma 2.5. Synthèse du L-fucal.....	28
Schéma 2.6. Changement de groupes protecteurs.....	28
Schéma 2.7. Synthèse des phosphonates 2.21 et 2.22	29
Schéma 2.8. Cyclisation intramoléculaire	30
Schéma 2.9. Synthèse de l'acide 2.28	32
Schéma 2.10. Estérification de l'acide phosphonique 2.27	32
Schéma 2.11. Synthèse de la L-fucophostone 2.2	32
Schéma 2.12. Synthèse des produits finaux 2.3 et 2.4	33
Schéma 2.13. L'effet anisotropique	34
Schéma 3.1. Les 6 types de GlcNAc.....	43
Schéma 3.2. Mécanisme présumé de la N-acétylglucosaminidase.....	44
Schéma 3.3. Synthèse enzymatique de l'acide sialique.....	45
Schéma 3.4. Première synthèse envisagée.....	49
Schéma 3.5. Retrosynthèse des acides phosphoniques des N-acétyl-D-glucosamino- et mannosaminophostone.....	51
Schéma 3.6. Chiron commun aux deux phostones.....	51
Schéma 3.7. Synthèse des phosphonates cycliques.....	52
Schéma 3.8. Deux voies pour accéder à l'amide.....	54

Schéma 3.9. Acétylation des dérivés O-benzyloxy amine.....	55
Schéma 3.10. Synthèse des acides phosphoniques 3.30 et 3.31	56
Schéma 3.11. Estérification des acides 3.30 et 3.31	57
Schéma 3.12. Obtention des produits finaux 3.3 et 3.4	58
Schéma 4.1. Incorporation de la fonction phosphate	67
Schéma 4.2. Production de peptides vasoactifs dans la paroi vasculaire	68
Schéma 4.3. Représentation du précurseur de l'endothéline-1.....	72
Schéma 4.4. Représentation des précurseurs des endothéline-2 et 3.....	72
Schéma 4.5. Retrosynthèse.....	80
Schéma 4.6. Synthèse du L-rhamnal 4.9	81
Schéma 4.7. Synthèse des phosphonates.....	82
Schéma 4.8. Synthèse des acides phosphoniques	83
Schéma 4.9. Préparation des peptides.....	84
Schéma 4.10. Synthèse du dipeptide 4.19	85
Schéma 4.11. Couplage à partir de l'acide phosphonique.....	86
Schéma 4.12. Synthèse de phosphonates par la réaction de Mitsunobu.....	87
Schéma 4.13. Mécanisme du couplage avec BOP-Cl	87
Schéma 4.14. Réactivité du BOP.....	89
Schéma 4.15. Couplage à partir du chlorure d'acide phosphonique	89

Schéma 4.16. Utilisation du PCl_5	90
Schéma 4.17. Action du tétrachlorure de carbone.....	91
Schéma 4.18. Utilisation du BDCP	91
Schéma 4.19. Action du dichlorotriphénylphosphorane.....	92
Schéma 4.20. Action du chlorure de thionyle	92
Schéma 4.21. Synthèse du chlorure d'acide phosphonique	93
Schéma 4.22. Utilisation du Et_2NTMS	94
Schéma 4.23. Transestérification avec les PNP.....	94
Schéma 4.24. Utilisation du HOBT.....	96
Schéma 4.25. Formation du sel d'ammonium	96
Schéma 4.26. Utilisation du 1H-tetrazole pour la synthèse de phosphonates mixtes	97
Schéma 4.27. Couplage entre les phosphones et le dipeptide.....	98
Schéma 4.28. Réaction de couplage.....	100
Schéma 4.29. Déprotection finale.....	101
Schéma 5.1. Action de l'hémagglutinine	115
Schéma 5.2. Coupure du lien α 2,3	118
Schéma 5.3. Action de la neuraminidase.....	120
Schéma 5.4. Modification de l'hydroxyle en 4 du Neu5Ac2en.....	121

Schéma 5.5. Modification de la chaîne du Neu5Ac2en.....	123
Schéma 5.6. Variation de la position de la double liaison	124
Schéma 5.7. Phostone basée sur la structure de l'ePANA	128
Schéma 5.8. Retrosynthèse.....	130
Schéma 5.9. Stéréochimie conservée au maximum.....	131
Schéma 5.10. Synthèse du Neu5Ac2en.....	131
Schéma 5.11. Changement de groupe protecteur.....	133
Schéma 5.12. Synthèse des phosphonates acycliques.....	134
Schéma 5.13. Plan initial de fin de synthèse	135
Schéma 5.14. Désoxygénation par la méthode de Dolan et MacMillan.....	136
Schéma 5.15. Compétition lors de la désoxygénation.....	136
Schéma 5.16. Changement de l'oxalate de méthyle pour un groupement acétyle	137
Schéma 5.17. Synthèse du composé 5.14	137
Schéma 5.18. Pas de réaction d'Abramov avec le composé 5.14	138
Schéma 5.19. Cyclisation intramoléculaire.....	138
Schéma 5.20. Désoxygénation radicalaire par la méthode de Barton et McCombie	139
Schéma 5.21. Désoxygénation des phostones.....	140
Schéma 5.22. Déprotection finale.....	140

Schéma 5.23. Effet anisotropique sur les composés 5.3 et 5.4	141
Schéma 5.24. Synthèse de l'acide phosphonique.....	143

Liste des tableaux

Tableau 2.1. Déplacements chimiques des composés 2.3 et 2.4	34
Tableau 4.1. Activités vasoconstrictives.....	72
Tableau 4.2. Méthodes essayées	97
Tableau 5.1. Déplacements chimiques des composés 5.3 et 5.4	141

Liste des abréviations et des définitions

$[\alpha]_D^{25}$	Pouvoir rotatoire à la raie du sodium (589 nm)
δ	Déplacement chimique en ppm
μL	Microlitre
Ac	Acétyle
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ADMS	Dihydrobis(2-méthoxyéthoxy) aluminate de sodium
APTS	Acide para-toluène sulfonique
Arg	Arginine
Bn	Benzyle
Bz	Benzoyle
ccm	Chromatographie sur couche mince
cm	Centimètre
d	Doublet
DBU	Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène
DCC	1,3-Dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
dd	Doublet de doublets
DIEA	Amine de diisopropyle et d'éthyle
DMAP	DiMéthylAminoPyridine
DMF	Diméthylformamide
ECE	Endothéline Converting Enzyme
éq	Equivalent
ET-1	Endothéline-1
ET-2	Endothéline-2
ET-3	Endothéline-3
FAB ⁺	"Fast Atom Bombardment (cationique)"
FucT	Fucosyltransférase
GlcNAc	N-acétyl-D-glucosamine

GlcNAcT	N-acétyl-D-glucosaminyltransférase
Glu	Glutidine
GNase	N-acétylhexosaminidase
g	Gramme
h.	Heure
HA	Hémagglutinine
HOBT	1-Hydroxybenzotriazole
l	Large
Leu	Leucine
litt.	Littérature
m	Multiplet
ManNAc	N-acétyl-D-mannosamine
Me	Méthyle
mg	Milligramme
min.	Minute
mL	Millilitre
mm	Millimètre
mm. Hg	Millimètre de mercure
mmol	Millimole
NA	Neuraminidase
NEP	Neutral EndoPeptidase
Neu5Ac	Acide sialique
NOE	Nuclear Overhauser Effect
P.f.	Point de fusion
pH	Potentiel hydrogène
ppm	Partie par million
Ph	Phényle
q	Quadruplet
RMN ¹ H	Résonance magnétique nucléaire du proton
RMN ¹³ C	Résonance magnétique nucléaire du carbone

RMN ³¹ P	Résonance magnétique nucléaire du phosphore
s	Singulet
sat.	Saturé/ée
t	Triplet
THF	Tétrahydrofurane
TMSBr	Bromure de triméthyle silyle
Trp	Tryptophane

1. INTRODUCTION

1.1 Introduction

Les saccharides sont des molécules essentielles dans de nombreux processus biologiques. Les saccharides les plus communs possèdent un oxygène sur le cycle hémiacétallique, ainsi que des fonctions hydroxyles. Il existe des composés où l'oxygène du cycle hémiacétallique est substitué par un autre atome comme l'atome de soufre ou d'azote. Il n'existe cependant pas dans la nature d'analogues ayant un atome de phosphore sur le cycle.

1.2 Analogues de carbohydrates possédant un hétéroatome à la place de l'oxygène sur le cycle hémiacétallique

1.2.1 Introduction

Depuis plusieurs dizaines d'années la synthèse d'analogues de saccharides a suscité l'intérêt de nombreux groupes de recherches. On peut citer par exemple quelques saccharides amino ou thio comme le 2-acétamido-2-désoxy- α -D-glucose (**1.1**)¹ et le 7-(5-S-méthyl-5-thio- β -D-ribofuranose)-adénine (vitamine L₂, **1.2**)² ; le premier est présent dans plusieurs polysaccharides de mammifères et dans certaines protéines alors que le dernier est un facteur nécessaire dans le processus de la lactation.

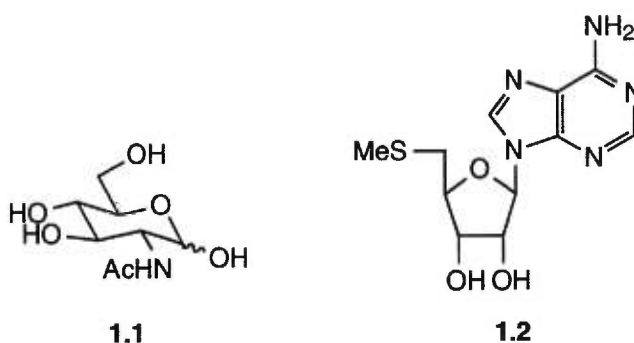


Figure 1.1. Quelques exemples d'analogues de saccharides

Les modifications apportées aux saccharides ne se sont pas cantonnées aux fonctions hydroxyles situées sur le cycle. Elles sont aussi effectuées à l'intérieur du cycle hémiacétallique en substituant notamment l'atome d'oxygène par d'autres atomes. Un des plus connus est l'antibiotique nojirimycine (5-amino-5-désoxy-D-glucopyranose, **1.3**) où l'atome d'oxygène est remplacé par un atome d'azote.³

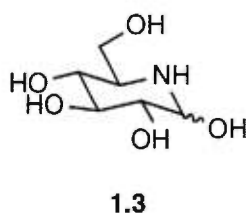


Figure 1.2. Structure de la nojirimycine

1.2.2 Carbohydrates possédant un atome d'azote

La substitution de l'atome d'oxygène par l'atome d'azote a considérablement accru le pouvoir inhibiteur de ces analogues vis-à-vis notamment des glycosidases.⁴ Leur emploi s'est rapidement généralisé et est actuellement utilisé dans le traitement du diabète,⁵ du cancer⁶ et comme agent antiviral dans le traitement du virus d'immunodéficience (VIH).⁷

La nojirimycine **1.3** fut le premier saccharide 5-aminé à être découvert dans la nature. Ses effets antibiotiques particulièrement puissants en ont stimulé la synthèse (Schéma 1.1).

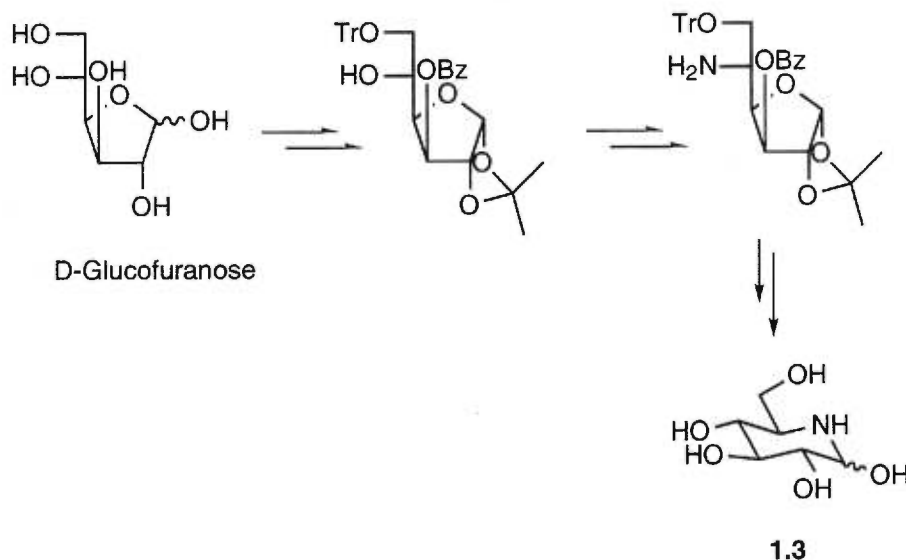


Schéma 1.1. Synthèse de la nojirimycine 1.3

Les analogues azotés n'existent pas seulement sous la forme pyranosique. Le professeur Nicotra et son équipe ont synthétisé des analogues azotés sous forme furanosique, comme les dérivés azotés de l'arabinose **1.4** (Schéma 1.2).⁸

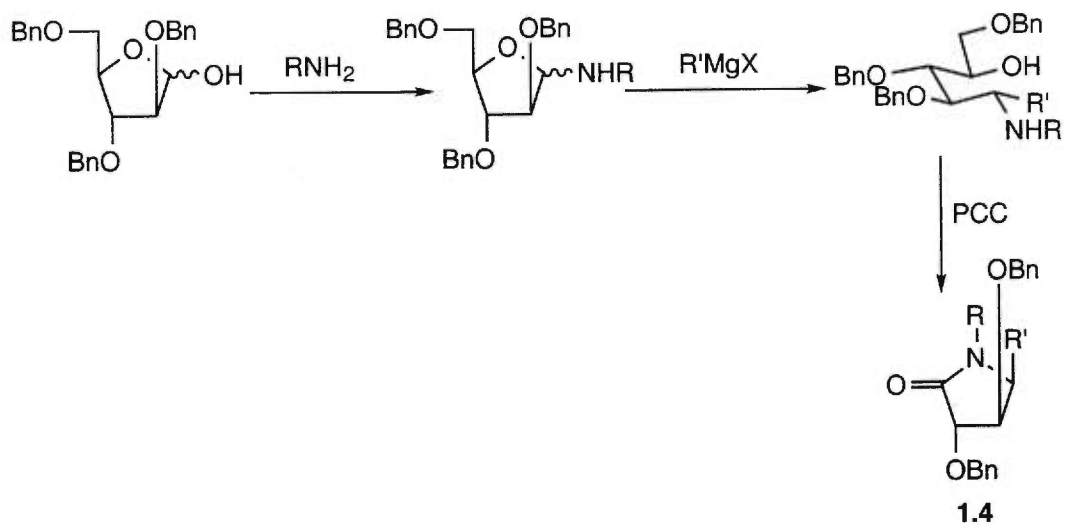


Schéma 1.2. Synthèse d'analogues azotés de l'arabinose

1.2.3 Carbohydrates possédant un atome de soufre

L'introduction de l'atome de soufre dans le cycle hémiacétallique se fait par substitution nucléophile d'un groupement tosyle par un dérivé nucléophile soufré. Cette réaction donne accès au composé 5-thio furanose⁹ qui, par extension du cycle, nous conduit au 5-thio pyranose **1.5** (Schéma 1.3).

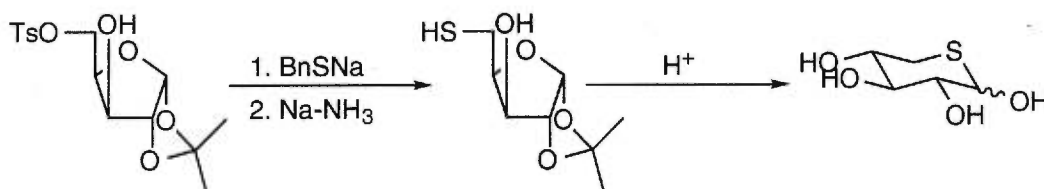


Schéma 1.3. Synthèse de l'analogue soufré **1.5**

Tout comme les analogues azotés, la substitution de l'atome d'oxygène du cycle hémiacétallique, cette fois-ci par un atome de soufre, a augmenté le pouvoir inhibiteur. Parmi les composés les plus actifs, on peut citer la 4'-thio-toyokamycine (**1.6**),¹⁰ 5-thio-D-glucose (**1.7**)¹¹ et le 5-thio-L-rhamnose (représenté sous sa forme tétraacétylée (**1.8**)¹² (Figure 1.3).

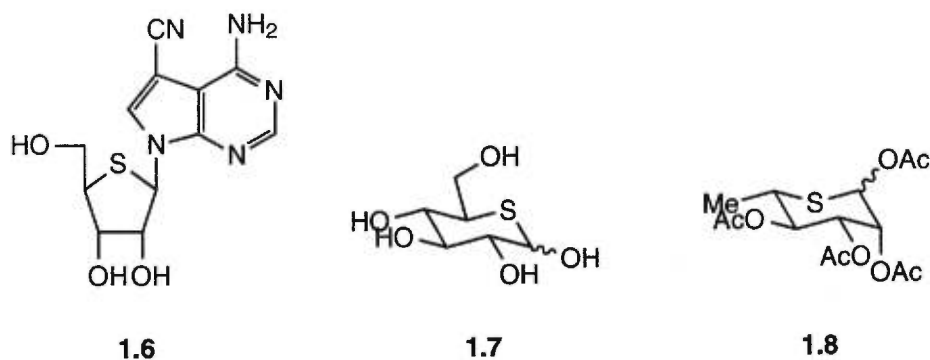


Figure 1.3. Quelques analogues soufrés

Vu l'importance du D-glucose comme composant essentiel de nombreux polysaccharides, la synthèse du 5-thio-D-glucose (**1.7**) est très intéressante (Schéma 1.4).

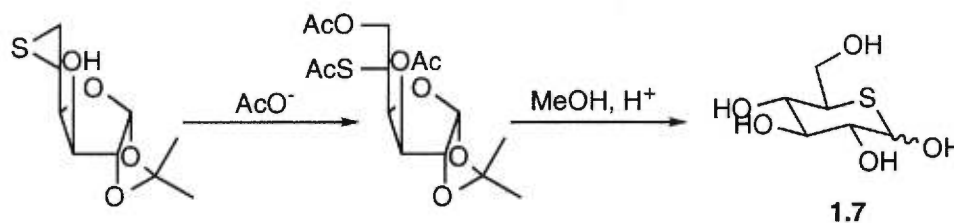


Schéma 1.4. Synthèse du 5-thio-D-glucose (**1.7**)

1.2.4 Carbohydrates possédant un atome de phosphore

Les saccharides possédant un atome de phosphore sont largement répandus dans la nature. On peut citer par exemple les phosphono lipides,¹³ la phosphomycine¹⁴ et la phosphinothricine.¹⁵ De nombreux groupes de recherches se sont intéressés à ce genre de molécules.

Whistlet et Wang furent les premiers chercheurs à proposer la synthèse d'un analogue de saccharide possédant un atome de phosphore dans le cycle hémiacétallique (Schéma 1.5).¹⁶

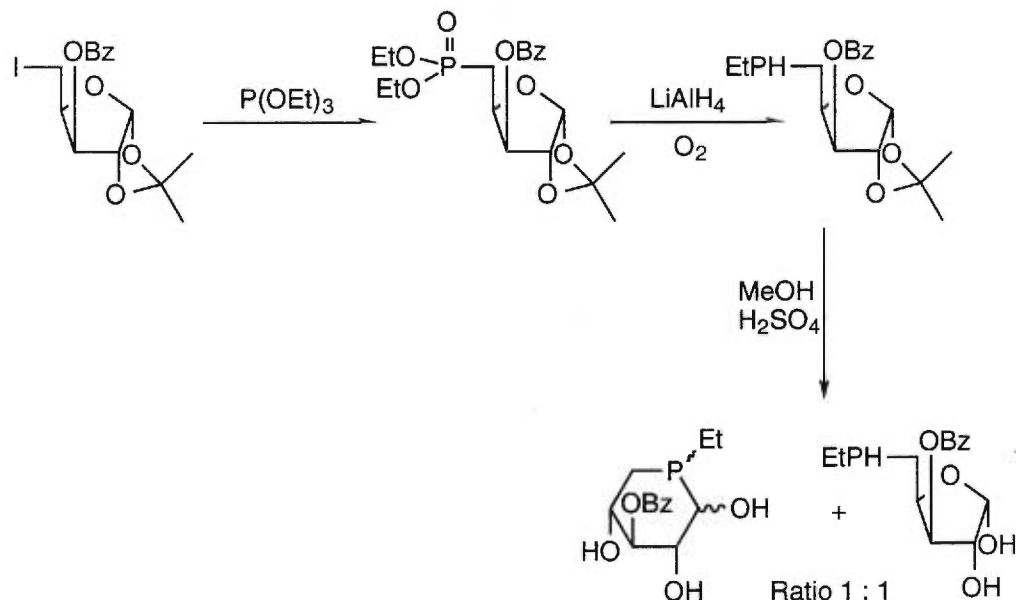


Schéma 1.5. Synthèse d'un analogue avec phosphore

Une nouvelle synthèse donnant exclusivement l'analogue possédant l'atome de phosphore dans le cycle hémicétabolique fut proposée par Inokawa (Schéma 1.6).¹⁷ Elle se veut une amélioration de la synthèse de Whistlet et Wang où le produit désiré n'est obtenu qu'à 50%.

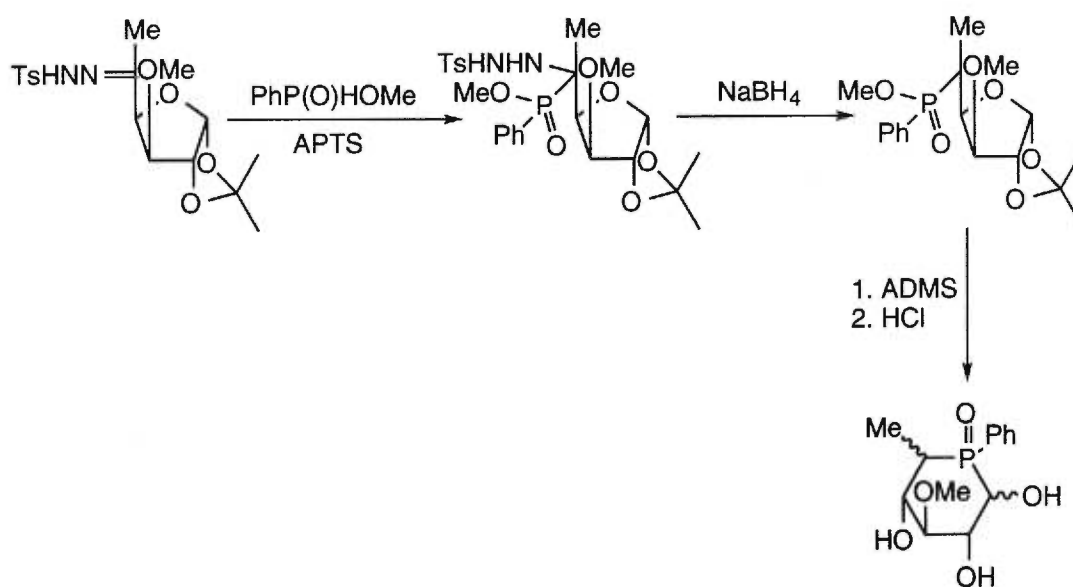


Schéma 1.6. Synthèse améliorée d'un analogue avec phosphore

Comme nous l'avons déjà évoqué, les analogues du D-glucose où l'on a substitué l'atome d'oxygène du cycle hémiacétallique par un atome de soufre ou d'azote, ont donné des activités biologiques intéressantes. La nojirimycine (5-amino-5-désoxy-D-glucose) est un antibiotique ayant de nombreuses activités antibactériennes et le 5-thio-5-désoxy-D-glucose est un puissant inhibiteur du transport du glucose dans la membrane et développe des activités antitumorales (Figure 1.4).

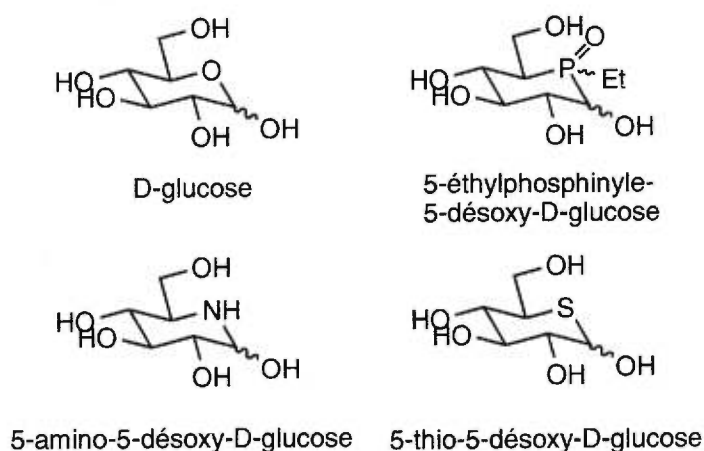


Figure 1.4. Le D-Glucose et quelques 5-désoxy analogues

En 1985, Inokawa proposa la première synthèse d'un analogue du D-glucose avec un atome de phosphore sur le cycle hémiacétallique, le 5-éthylphosphinyl-5-désoxy-D-glucose.¹⁸

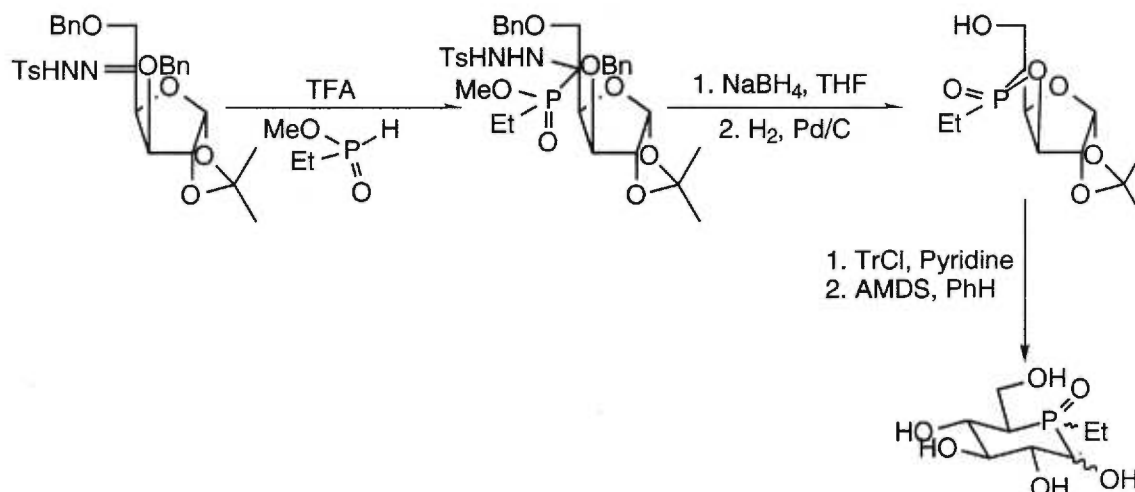


Schéma 1.7. Synthèse du 5-éthylphosphinyl-5-désoxy-D-glucose

Ces produits ne montrèrent aucune activité antibactérienne ou antivirale. Cependant malgré les efforts de quelques groupes de recherches, ce genre d'analogues est resté rare.

1.3 Modification du carbone anomérique par un atome de phosphore

1.3.1 Introduction

Comme nous venons de l'évoquer, la majorité des modifications sur le cycle hémiacétallique se sont faites en remplaçant l'atome d'oxygène par d'autres atomes. En complément à ces modifications, nous nous sommes intéressés à la synthèse de différents analogues dont le carbone anomérique serait modifié par un atome de phosphore pentacovalent.

1.3.2 Remplacement du carbone anomérique par un atome de phosphore chez certains carbohydrates

1.3.2.1 Les premiers analogues

Des molécules ressemblant à des saccharides possédant un atome de phosphore à la place du carbone anomérique ont déjà été étudiées par quelques groupes de recherches. On peut ainsi retrouver dans la littérature les synthèses des 2-oxo-1,2-oxaphospholanes et des phospholènes (Figure 1.5).¹⁹

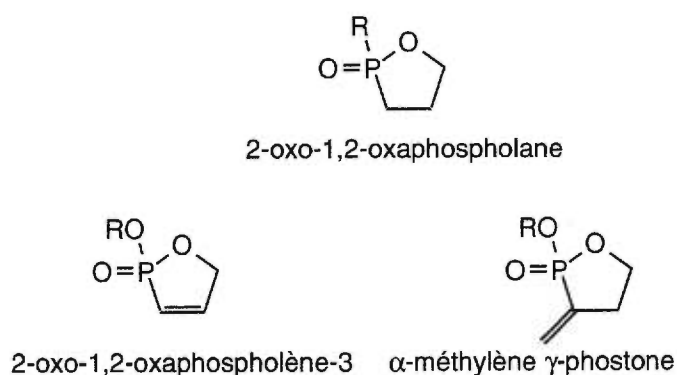


Figure 1.5. Quelques analogues ayant un atome de phosphore

L'intérêt de ces molécules vient du fait qu'elles sont des analogues en phosphore de lactones. L'intérêt biologique de ce type de composés est déjà reconnu notamment comme inhibiteur de la cholinestérase.²⁰

C'est Paulsen²¹ qui proposa la première synthèse d'un analogue de saccharide possédant un atome de phosphore à la place du carbone anomérique. C'est par la réaction de Wittig sur un dérivé aldéhydique d'un saccharide en utilisant le phosphonate de diphenyle triphenyl

phosphoranylidèneméthane qu'il a obtenu un phosphonate oléfinique cyclique (Schéma 1.8).

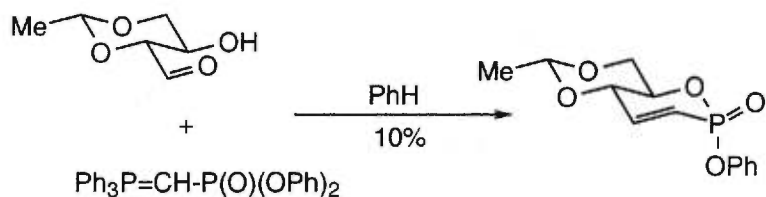


Schéma 1.8. Première synthèse de Paulsen

Paulsen et ses collaborateurs proposèrent une nouvelle synthèse²² de ce genre d'analogues en utilisant la réaction d'Abramov sur un dérivé du mannofuranose (Schéma 1.9). Ils obtinrent, après tosylation du produit obtenu, un composé cristallin qui montra pour la première fois que le composé phosphorylé pouvait adopter une conformation chaise comme son analogue oxygéné.

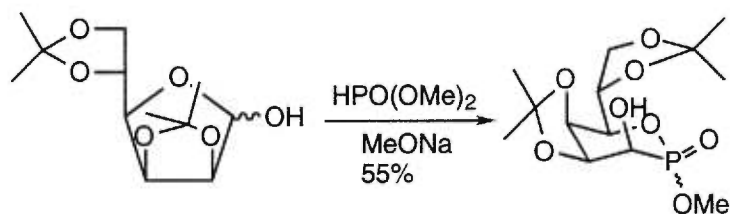
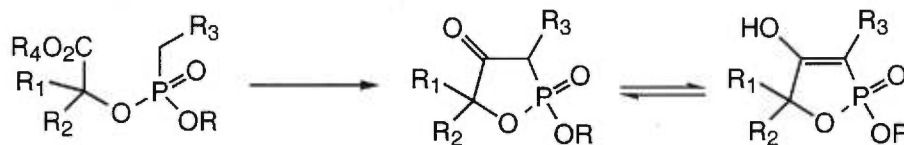


Schéma 1.9. Deuxième synthèse de Paulsen

Paulsen ne fut pas le seul à s'intéresser à ces analogues. Stachel²³ et Benezra²⁴ proposèrent eux aussi des synthèses (Schéma 1.10). C'est d'ailleurs Benezra qui inventa le nom phostone, en contractant les mots phosphore et lactone.

Synthèse de Stachel



Synthèse de Benezra

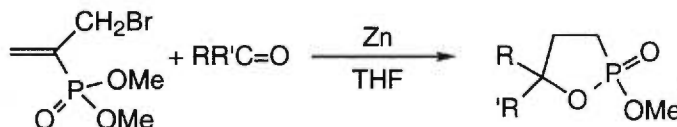


Schéma 1.10. Autres synthèses d'analogues

1.3.2.2 Les phostones

Récemment la synthèse d'analogues de saccharides dont le carbone anomérique a été remplacé par un atome de phosphore pentacovalent (phostone) a reçu un regain d'intérêt. Notre groupe de recherches ainsi que quelques autres se sont intéressés à la synthèse de divers analogues.

Drueckhammer²⁵ a synthétisé des analogues des saccharides D-glucose et D-mannose. En partant du D-glucal et après une coupure oxydante du double lien, il a obtenu un mélange de quatre isomères correspondants, deux D-glucophostones et deux D-mannophostones (isomères au niveau du phosphore) en employant la réaction d'Abramov en milieu acide (Schéma 1.11).

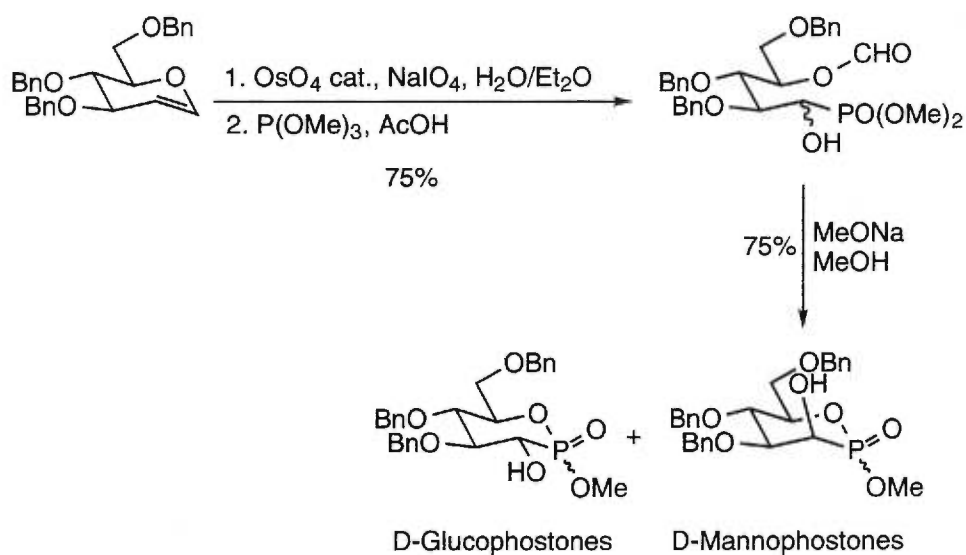


Schéma 1.11. Synthèse de Drueckhammer

Au même moment, le professeur Hanessian²⁶ complétait la synthèse des D-glucophostones et D-mannophostones par la réaction d'Abramov mais cette fois-ci en milieu basique (Schéma 1.12). Le produit de départ utilisé est le 2,3,5-tri-O-benzyl-D-arabinose et permet d'accéder aux quatre isomères désirés.

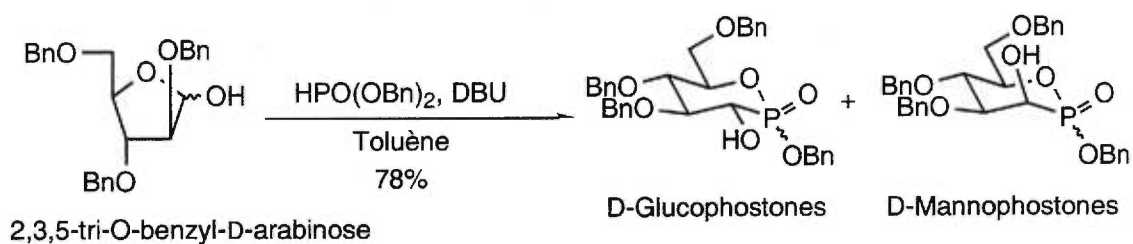


Schéma 1.12. Synthèse d'Hanessian

Weiler²⁷ s'est inspiré de la synthèse de Drueckhammer pour synthétiser les analogues du lyxose et du xylose. Au lieu d'utiliser le D-glucal, il utilisa le D-xylal (Schéma 1.13).

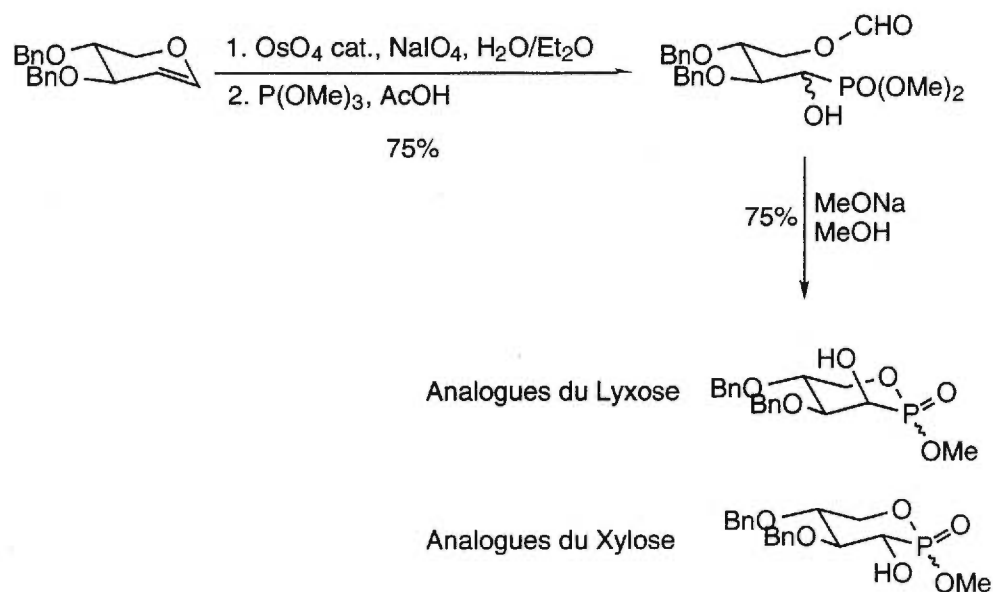


Schéma 1.13. Synthèse de Weiler

1.4 Conclusion

Nous venons de résumer une partie de la littérature concernant les analogues de saccharides contenant un hétéroatome sur le cycle hémiacétallique. Nous avons remarqué que les analogues possédant un atome de phosphore sont peu nombreux et sont essentiellement situés sur le carbone 5 du cycle. Nous proposons la synthèse de plusieurs phostones, des analogues de saccharides dont le carbone anomérique est remplacé par un atome de phosphore pentacovalent. Nous synthétiserons des L-fucophostones, la N-acétyl-D-glucosaminophostone et la N-acétyl-D-manno-saminophostone sous la forme d'acide phosphonique, un analogue en phostone du phosphoramidon et des sialophostones.

1.5 Références

¹ Salton, M.J.R. "Chemistry and function of amino sugars and derivatives" *Ann. Rev. Biochem.*, **1966**, *35*, 485-496.

² Nakahara, W.; Inukami, F.; Ugami S., *Sci. Pap. Inst. Phys. Chem. Res. (Jpn.)*, **1943**, *40*, 433-440.

³ Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Ito, T.; Niida, T. "Structure and synthesis of nojirimycin" *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2125-2128.

⁴ Truscheit, E.; Frommer, F. "Chemistry and biochemistry of microbial α -glucosidase inhibitors" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1981**, *20*, 744-750.

⁵ W. Creutzfeld, ed *Proceedings First International Symposium on Acarbose* (Montreux, Oct 8-11 1981), Excerpta medica, Amsterdam, **1982**.

⁶ Bernacki, R.J.; Niedbala, M.J.; Korytnyk, W. *Cancer Metastasis Rev.* **1985**, *4*, 81-85.

⁷ De Clercq, E.; "Chemotherapeutic approach of AIDS", Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België, **1988**, *2*, 166-175.

⁸ Lay, L.; Nicotra, F.; Paganini, A.; Pangraziano, C.; Panza, L. "A new procedure for the synthesis of azasugars" *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4555-4559.

⁹ Delorme, D.; Lépine-Frenette, C.; Roy, C. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 1843-1846.

¹⁰ Bobek, M.; Whistler, R.L.; Block, A. "Synthesis and biological activity of 4'-thio analogs of the antibiotic toyoamycin" *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 168-175.

¹¹ Whistler, R.L.; Feather, M.S.; DIngles, D.L. "Introduction of a new heteroatom into a sugar ring" *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 122-126.

¹² Anisuzzaman, A.K.M.; Whistler, R.L. "5-Thio-L-Rhamnose" *Carbohydr. Res.* **1977**, *55*, 205-210.

¹³ Horiguchi, M.; Kandatsu, M. *Nature*, **1959**, *184*, 901-902, idem. *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **1960**, *24*, 565.

¹⁴ Glamkowski, E.J.; Gal., G.; Purik, R.; Davidson, A.J.; Sletzing, M. "A new synthesis of the antibiotic phosphomycin" *J. Org. Chem.*, **1970**, *35*, 3510.

¹⁵ Bayer, E.; Gugel, K.H.; Haegel, K.; Hagenmaier, H.; Jessipow, S.; Koenig, W.A.; Zhaener, H. "Stoffwechselprodukte von mikroorganismen" *Helv. Chem. Acta* **1972**, *55*, 224.

¹⁶ Whistler, R.L.; Wang, C.C. "Synthesis of sugar analogs with phosphorus at the ring heteroatom" *J. Org. Chem.*, **1968**, *33*, 4455.

¹⁷ Yamashita, M.; Nakatsukasa, Y.; Yoshikane, M.; Yoshida, H.; Ogata, T.; Inokawa, S. "A novel method for the synthesis of sugar derivatives containing a phosphorus atom in the hemiacetal ring" *Carbohydr. Res.*, **1977**, *59*, C12.

¹⁸ Inokawa, S.; Yamamoto, H.; Yamamoto, K.; Yamashita, M.; Armour, M.A.; Nakashima, T.T. "Synthesis of 1,2,3,4,6-penta-O-acetyl-5-deoxy-5-C-[(*R-S*)-ethylphosphinyl]- α - and - β -D-glucopyranoses and their structural analysis by 400-MHz proton nuclear magnetic resonance" *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 435.

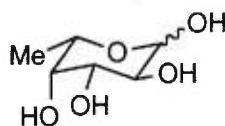
¹⁹ Quin, L.D. *The heterocyclic chemistry of phosphorus*, Wiley-Intersciences, New York, **1981**, 196-254.

-
- ²⁰ K. K. ESAI. , Japan Patent, 5035-043 (1978)
- ²¹ Paulsen, H.; Thiem, J.; Gunther, M.; Kopf, J. "Ringerweiterung von Furanose-Ringen zu 1,2-l-Oxaphosphorinanen" *Chem. Ber.* **1977**, *110*, 3190-3200.
- ²² Paulsen, H.; Bartsch, W.; Thiem, J. "Darstellung von Zuckerphosphonaten durch Wittig- und Horner- Reaktion" *Chem. Ber.* **1971**, *104*, 2545.
- ²³ Stachel, H.D.; Hampl, B. "Herstellung und Eigenschaften von β -ketopropanphostonen und -phostanem" *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 405-410.
- ²⁴ Benezra, C.; Collard, J-N. "A-methylene- γ -phostones (5,5,di and 5-monoalkyl-2-methoxy-3-methylene-1,2-oxaphospholan-2-ones). A phosphorus analog of the one-step Reformasky synthesis of α -methylene- γ -butyrolactones from ketones and aldehydes" *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 3725-3729.
- ²⁵ Darrow, J.W.; Dueckhammer, D.G. "A cyclic phosphonamidate analogue of glucose as a selective inhibitor of inverting glycosidases" *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 1341-1348.
- Darrow, J.W.; Druockhammer, D.G. "Cyclic phosphonate analogs of hexopyranoses" *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2976-2985.
- ²⁶ Hanessian, S.; Galéotti, N.; Rosen, P.; Oliva, G.; Babu, S. "Synthesis of carbohydrate phostones as potential glycomimetics" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 2763-2768.
- ²⁷ Harvey, T.C.; Simiand, C.; Weiler, L.; Withers, S.G. "Synthesis of cyclic phosphonate analogs of ribose and arabinose" *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6722-6725.

2. SYNTHÈSE DES L-FUCOPHOSTONES

2.1 Introduction

Plusieurs oligosaccharides présents à la surface des cellules contiennent une unité L-fucose **2.1** (Figure 2.1). Ces oligosaccharides sont aussi communs à de nombreux cancers¹ dont ceux du foie,² de l'ovaire³ et du sein.⁴



2.1

Figure 2.1. Structure du L-fucose

Nous nous proposons de synthétiser les L-fucophostones **2.2**, **2.3** et **2.4**, des analogues du L-fucose où le carbone anomérique est remplacé par un atome de phosphore pentacovalent (Figure 2.2). Cette modification pourrait mener à une activité inhibitrice sur les enzymes concernées par le L-fucose tel que les fucosidases et les fucosyltransferases.

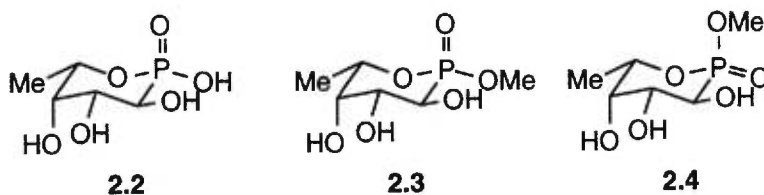


Figure 2.2. Structure des L-fucophostones proposées

2.2 Les fucosidases

Les fucosidases sont des enzymes effectuant l'hydrolyse du lien reliant le L-fucose au reste des polysaccharides. L'absence ou le manque relatif de ces enzymes entraînent de graves problèmes de santé dont le plus important est la «fucosidosis», maladie entraînant la démence et la perte de la force musculaire.⁵

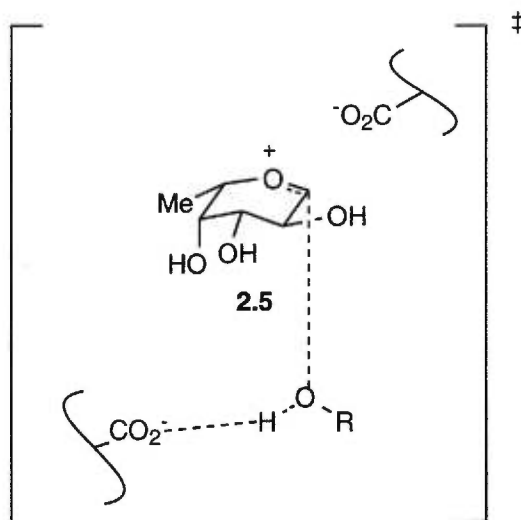


Schéma 2.1. Action de la fucosidase

Les différentes recherches effectuées sur le mécanisme de ces enzymes montrent que celui-ci passerait par un ion oxocarbénium **2.5** (Schéma 2.1). La structure de cet intermédiaire servira de point de départ à l'élaboration de nombreux inhibiteurs de L-fucosidase.

2.3 Les fucosyltransférases

Les fucosyltransférases (FucT) sont des enzymes catalysant le transfert du L-fucose, venant de la guanosine diphosphate β -L-fucose (Fuc-GDP), vers un glycosyle accepteur pour former un lien α 1/2, α -1,3/4 ou α -1,6.⁶ Cinq α -1,3-fucosyltransférases ont été répertoriées sur les chromosomes humains parmi lesquelles la α -1,3-fucosyltransférase V (FucT V) (Schéma 2.2).⁷

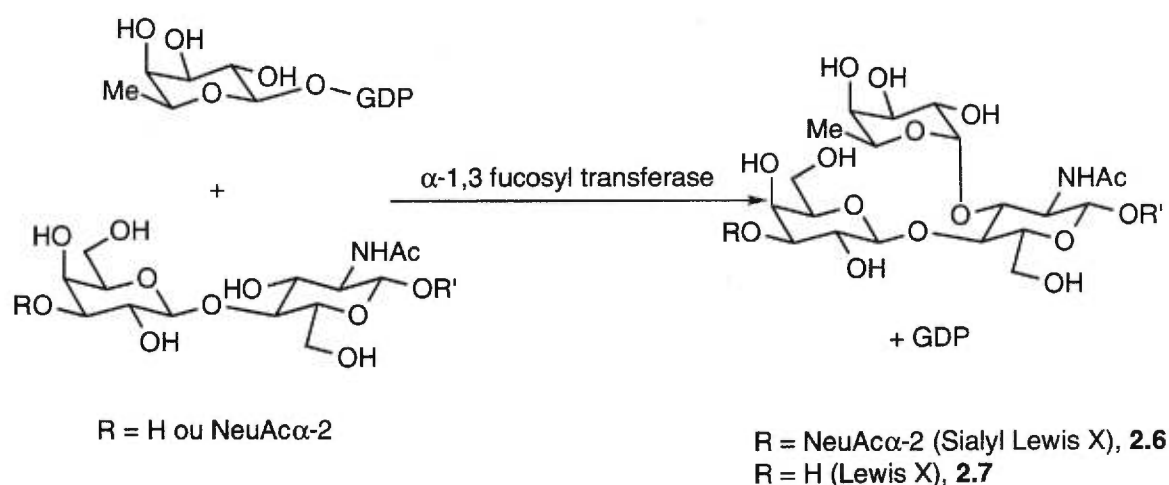


Schéma 2.2. Action de la fucosyltransférase FucT V

Cette enzyme est d'un très grand intérêt biologique ainsi il a été démontré qu'elle était responsable de la production du sialyl Lewis X **2.6**,⁸ un ligand de la E-selectine impliquée dans le processus inflammatoire et dans le développement de tumeurs.⁹ Cette enzyme synthétise également le Lewis X, **2.7**.

2.4 Quelques analogues du L-fucose

Le L-fucose est un composant important qui intervient dans de nombreux processus biologiques. Le fait d'inhiber les enzymes impliquant ce saccharide, les fucosidases et les fucosyltransférases, a non seulement un potentiel thérapeutique mais permet aussi de mieux comprendre certains phénomènes biologiques et leurs mécanismes où le L-fucose est impliqué. De plus, ces inhibiteurs connus sont la plupart du temps actifs envers les deux types d'enzymes.¹⁰ Nous verrons quelques analogues de ces enzymes, nous les avons séparés en deux catégories : des inhibiteurs avec atome de phosphore et des inhibiteurs sans atome de phosphore.

2.4.1 Inhibiteurs sans atome de phosphore

Les inhibiteurs de fucosidase et de fucosyltransférase sont très exigeants du point de vue stéréochimique. En effet, pour avoir de bonnes activités biologiques les chercheurs ont remarqué que leur marge de manoeuvre était bien faible car dès que l'on modifie la stéréochimie des carbones 2 à 4 (où sont situés les 3 hydroxyles) l'activité biologique décroît rapidement.¹¹ Les chercheurs ont donc décidé de faire leur modification sur le cycle hémiacétallique en substituant d'autres atomes à l'atome d'oxygène (Figure 2.3).

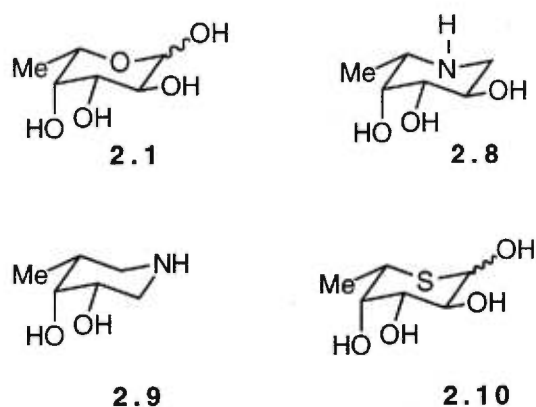


Figure 2.3. Quelques inhibiteurs de fucosidase et de fucosyltransférase

En se basant sur la nojirimycine¹² (5-amino-5-désoxy-D-glucopyranose), un inhibiteur très puissant, les chercheurs ont remplacé l'atome d'oxygène du cycle hémiacétallique par un atome d'azote donnant notamment le composé **2.8**, la déoxyfuconojirimycine qui est un inhibiteur de la α -1,3-fucosyltransférase.¹³ Cet atome d'azote est protoné dans le site actif de l'enzyme, le cation résultant ressemble ainsi à l'ion oxocarbenium **2.5** en terme de polarité. D'autres auteurs ont aussi pensé à cette modification en décalant cette substitution vers le carbone 1 pour donner le composé **2.9** qui est un inhibiteur de fucosidase α ($K_i = 6.4 \mu\text{M}$).¹⁴ Mais l'atome d'azote n'est cependant pas le seul atome à substituer l'atome d'oxygène sur le cycle hémiacétallique, l'atome de soufre donne aussi des résultats intéressants, le composé **2.10** en est un exemple, c'est un inhibiteur de fucosidase α ($K_i = 0.77 \text{ mM}$).¹⁵

2.4.2 Inhibiteurs avec atome de phosphore

L'importance biologique des glycosyles phosphates, agissant comme glycosyles donneurs,¹⁶ régulateurs métaboliques¹⁷ ou comme composant d'oligosaccharides,¹⁸ a stimulé la synthèse de nombreux analogues en phosphate du L-fucose **2.1** (Figure 2.4).

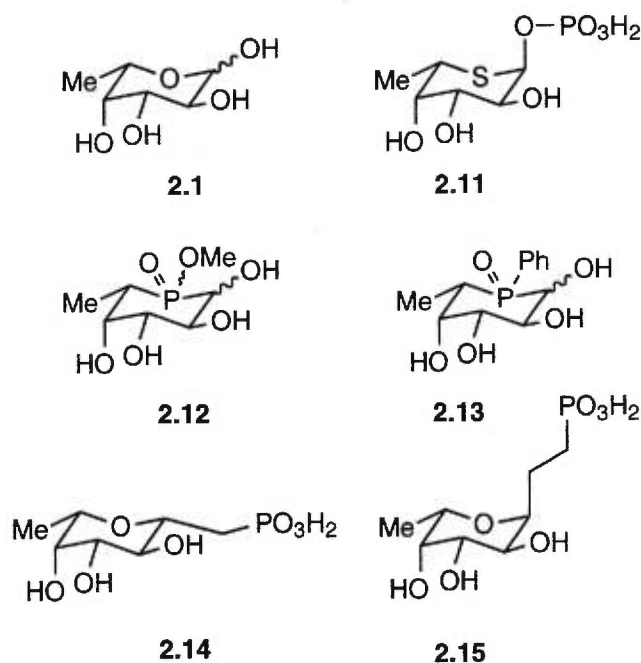


Figure 2.4. Quelques inhibiteurs de fucosidase et de fucosyltransférase

En se basant sur les résultats obtenus avec le composé **2.10**, les auteurs ont voulu augmenter son potentiel d'inhibition en y incorporant un phosphate, donnant ainsi le composé **2.11**.¹⁹ Les tests biologiques effectués sur l' α -L-fucosidase bovine ont démontré une amélioration de l'activité inhibitrice (K_i de 33 μ M pour **2.11** contre 770 μ M pour **2.10**).

Les modifications sur le cycle hémiacétallique, sur le carbone 5, par un atome de phosphore de degré d'oxydation V ont notamment mené à la synthèse de nombreux analogues dont les composés **2.12**²⁰ et **2.13**.²¹ Malheureusement, cette substitution n'a pas amené les activités inhibitrices escomptées.

Si on substitue l'alcool anomérique du carbone 1 par un atome de carbone, la géométrie de la molécule n'est pas affectée mais la liaison oxygène-phosphore devient une liaison carbone-phosphore donc beaucoup plus difficile à briser par les enzymes. De plus, le L-fucose-1-phosphate est un élément primordial dans la synthèse de glycoprotéines aux effets pharmacologiques particulièrement importants comme le sialyl Lewis X ou Lewis X. Les analogues **2.14**²² et **2.15**²³ sont donc des inhibiteurs de fucosyltransférases, enzymes impliquées dans ces biosynthèses.

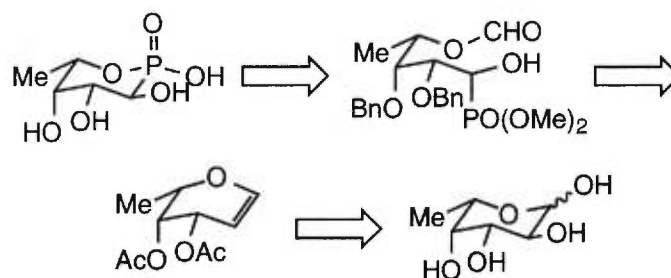


Schéma 2.3. Retrosynthèse de la fucophostone.

On va se servir du L-fucose comme produit de départ pour synthétiser les fucophostones car on ne va modifier que les carbones 1 et 2 pour ainsi conserver le maximum de la stéréochimie du produit de départ.

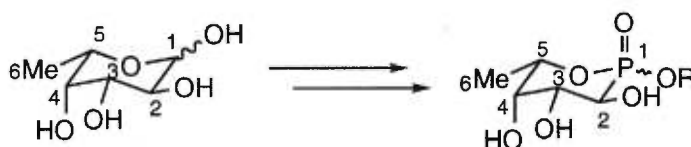


Schéma 2.4. Choix du produit de départ

2.5.3 Synthèse

2.5.3.1 Synthèse du 3,4-di-O-benzyl-L-fucal

La synthèse du L-fucal est connue depuis de nombreuses années et elle demande un L-fucose polyacétylé **2.16** comme produit de départ. Ainsi notre synthèse commence par l'acétylation du L-fucose par la méthode classique : de l'anhydride acétique, une quantité catalytique de DMAP et de la pyridine (Schéma 2.5).²⁴

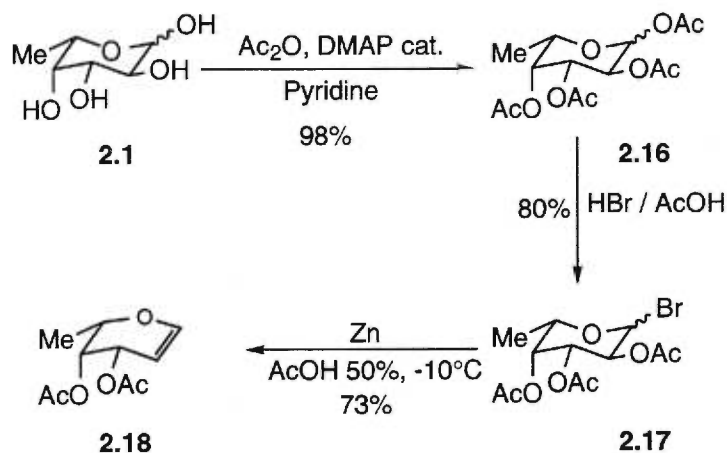


Schéma 2.5. Synthèse du L-fucal

Une fois l'acétylation effectuée, on synthétise le dérivé bromé **2.17**²⁵ avant d'utiliser de la poudre de zinc en milieu acide pour donner le L-fucal **2.18**²⁶ (57% sur 3 étapes) (Schéma 2.5).

Ultérieurement dans la synthèse, il nous faudra effectuer une cyclisation intramoléculaire en milieu basique, des conditions expérimentales inadéquates pour les groupements protecteurs acétyles actuellement présents sur la molécule. Pour changer ces groupements acétyles du composé **2.18** pour des benzyles nous donnant le composé **2.20**, on commence par la déprotection des acétyles avec une solution de méthanoate de sodium dans du méthanol pour donner le composé **2.19**. La nouvelle protection des hydroxyles de **2.19** par des groupements benzyles, se fait en utilisant de l'hydrure de sodium et du bromure de benzyle dans de la DMF (Schéma 2.6).

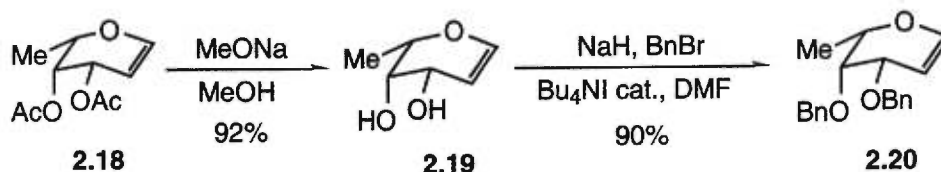


Schéma 2.6. Changement de groupes protecteurs

2.5.3.2 Synthèse des phosphonates

Une fois les bons groupements protecteurs mis en place, la suite de la synthèse consiste en l'incorporation des phosphonates en lieu et place du carbone anomérique en brisant le lien situé entre les carbones 1 et 2, pour cela nous effectuons une ozonolyse (Schéma 2.7).

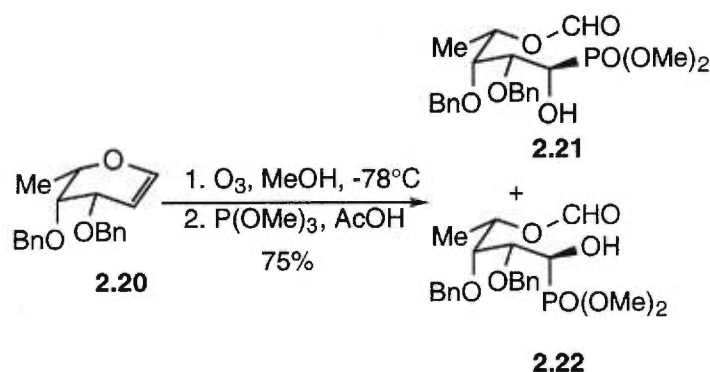


Schéma 2.7. Synthèse des phosphonates **2.21** et **2.22**

Cette ozonolyse de **2.20** nous donnera un groupement formyle sur le carbone 1 et une fonction aldéhyde sur le carbone 2. La réaction d'Abramov en milieu acide²⁷ effectuée par la suite nous donne les phosphonates **2.21** et **2.22** (séparables par chromatographie) avec un ratio respectif de 2/3.

La prochaine étape de la synthèse est la cyclisation intramoléculaire et elle se fait en présence de méthanoate de sodium dans du méthanol. Pour chacun des isomères **2.21** et **2.22**, on obtient 2 phosphonates cycliques correspondants aux isomères α et β situés au niveau de l'atome de phosphore (Schéma 2.8). Il nous reste à déterminer si les phosphonates **2.21** et **2.22** obtenus précédemment nous donnent bien respectivement les L-fucophostones et L-talophostones.

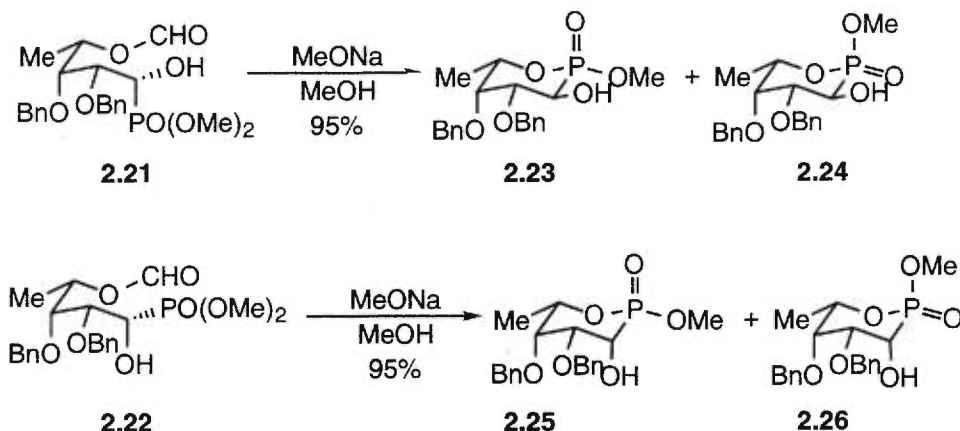


Schéma 2.8. Cyclisation intramoléculaire

L'analyse par RMN des produits obtenus et notamment le couplage entre le proton H_2 et H_3 (la stéréochimie des carbones 3, 4 et 5 étant inchangée depuis le début de la synthèse) nous renseignera sur cette stéréochimie. Le phosphonate **2.21** nous donne les phosphonates cycliques **2.23** et **2.24** où le proton H_2 (celui situé en α du phosphore) a un déplacement chimique d'environ 4.6 ppm. Il apparaît sous la forme d'un doublet dédoublé avec des constantes de couplage $J_{H_2,H_3} = 8.1$ Hz et $J_{H_2,P} = 10.5$ Hz, les protons H_2 et H_3 sont donc en position *trans* l'un par rapport à l'autre ce qui correspond à la stéréochimie des L-fucophostones. Inversement, avec le phosphonate **2.22** nous obtenons les composés **2.25** et **2.26** dont le proton H_2 apparaît sous la forme d'un doublet dédoublés avec des constantes de couplage $J_{H_2,H_3} = 4.0$ Hz et $J_{H_2,P} = 10.5$ Hz, les protons H_2 et H_3 sont donc en position *cis* l'un par rapport à l'autre ce qui correspond à la stéréochimie des L-talophostones.

2.5.3.3 Synthèse des produits finaux

Pour accéder à l'acide phosphonique, nous utilisons le bromure de triméthylsilyle²⁸ qui nous donne qu'un seul isomère d'acide phosphonique **2.27** (configuration β) peut importe la configuration des phosphonates de départ. Cette configuration a été prouvée par l'obtention d'un rayon X du produit acétylé **2.28** (Figure 2.6).

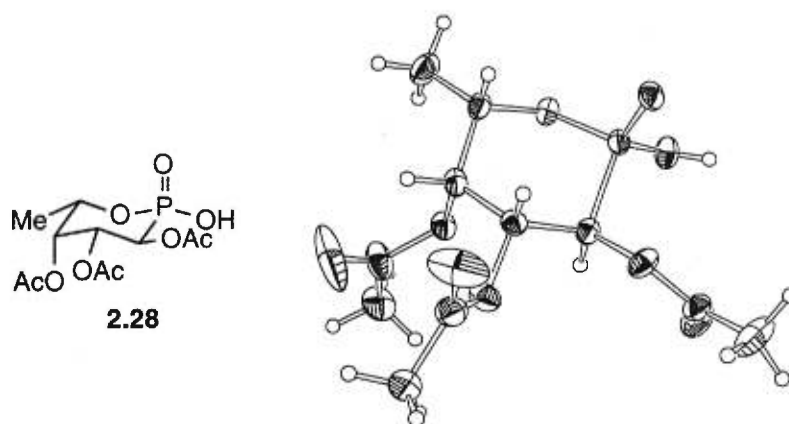


Figure 2.6. Rayons X de l'acide phosphonique **2.28**

L'acide **2.28** est obtenu à partir des phosphones **2.23** et/ou **2.24** (Schéma 2.9). La synthèse commence par la déprotection des alcools par une hydrogénation puis est suivie par une acétylation et finit par l'obtention de la fonction acide par l'utilisation du bromure de triméthylsilyle. La cristallisation de l'acide **2.28** se fait par une évaporation lente du composé dissous dans du chloroforme.

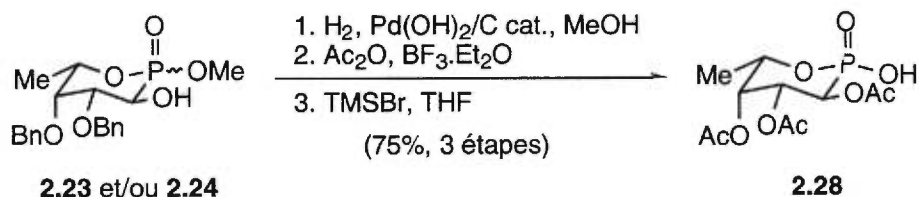


Schéma 2.9. Synthèse de l'acide **2.28**

L'estérification de l'acide **2.27** avec une solution étherée de diazométhane ne nous redonne que le composé **2.23** (Schéma 2.9).

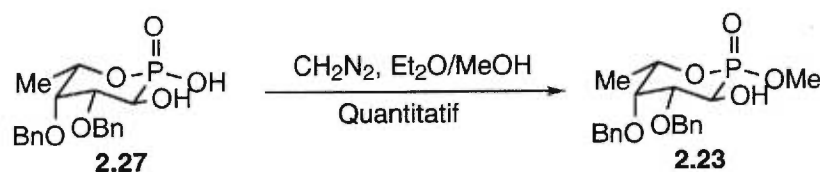


Schéma 2.10. Estérification de l'acide phosphonique **2.27**

L'hydrogénation de l'acide **2.27** à l'aide d'une quantité catalytique d'hydroxyde de palladium sur charbon nous donne la L-fucophostone **2.2** (Schéma 2.11).

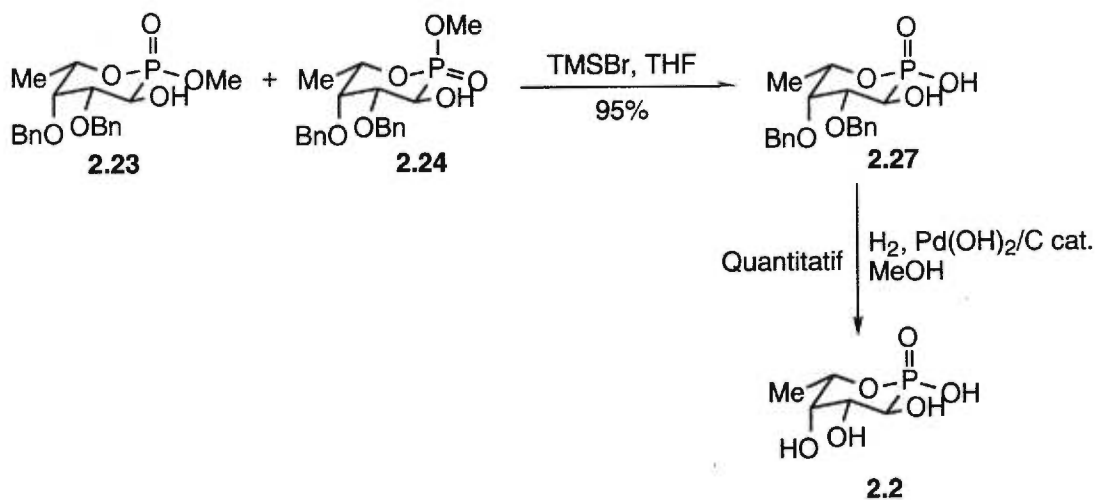


Schéma 2.11. Synthèse de la L-fucophostone **2.2**

De même pour l'obtention des produits finaux **2.3** et **2.4**, nous avons effectué une hydrogénation sous pression des L-fucophostones **2.23** et **2.24** (Schéma 2.12).

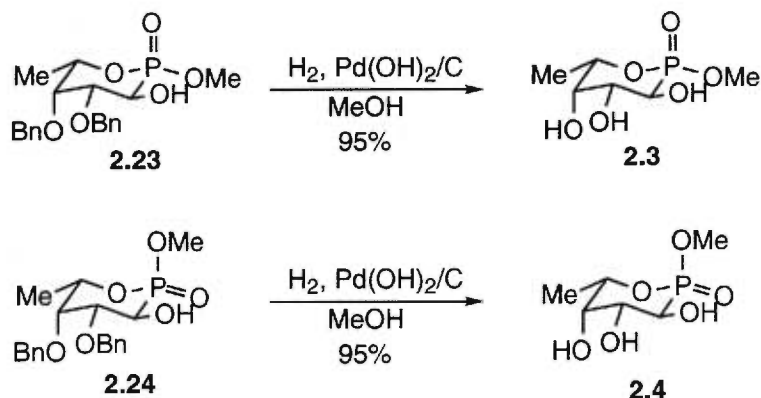
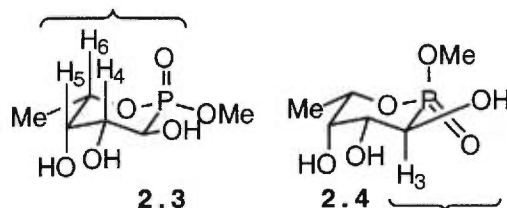


Schéma 2.12. Synthèse des produits finaux **2.3** et **2.4**

Dès l'obtention des produits finaux **2.3** et **2.4**, nous avons été en mesure de prouver la stéréochimie sur l'atome de phosphore. Plusieurs méthodes RMN étaient possibles²⁹ : effectuer un effet NOE (Nuclear Overhauser Effect) sur le groupement méthoxy situé sur l'atome de phosphore ou étudier l'effet anisotropique dû à la liaison P=O. Lors du NOE, nous n'avons pas obtenu de résultats significatifs susceptibles de prouver la stéréochimie sur l'atome de phosphore.

Quant à l'effet anisotropique³⁰ dû à la liaison P=O, il se répercute sur les protons du cycle qui sont dans le même plan que la liaison P=O (Schéma 2.13). Cet effet entraîne un déblindage de ces protons.

P=O, H₄, H₅ et H₆ sont dans le même plan



P=O et H₃ sont dans le même plan

Schéma 2.13. L'effet anisotropique

Le découplage proton-proton (COSY) effectué sur chacun des composés **2.3** et **2.4** nous permet d'assigner le déplacement chimique de chacun des protons du cycle. La comparaison des déplacements chimiques des différents protons illustre bien l'effet anisotropique (Tableau 2.1).

2.3 (P=O axiale)	2.4 (P=O équatoriale)
H ₃ 4.13 ppm	H ₃ 4.12 ppm
H ₄ 3.90 ppm	H ₄ 3.82 ppm
H ₅ 3.78 ppm	H ₅ 3.74 ppm
H ₆ 4.46 ppm	H ₆ 4.35 ppm
H ₇ 1.38 ppm	H ₇ 1.37 ppm

Tableau 2.1. Déplacements chimiques des composés **2.3** et **2.4**

Si le groupement méthoxy est en position équatoriale sur le phosphore alors la liaison P=O est en position axiale (composé **2.3**), l'effet anisotropique agit sur les protons H₄, H₅ et H₆ (Schéma 2.12). Ces protons seront plus déblindés que dans le cas d'une liaison P=O équatoriale (composé **2.4**). Si on consulte le tableau 2.1, on s'aperçoit qu'effectivement les protons H₄ (3.90 ppm contre 3.82 ppm), H₅ (3.78 ppm contre 3.74 ppm) et H₆ (4.46 ppm contre 4.35

ppm) du composé **2.3** sont plus déblindés que ceux du composé **2.4**. On a ainsi la confirmation de la stéréochimie de l'atome de phosphore.

2.6 Conclusion

Nous avons synthétisé trois L-fucophostones sous la forme d'un acide et de deux phosphonates. Aucun test biologique n'a été effectué sur ces analogues. Ces composés pourront aussi être utilisés à la synthèse d'analogues du sialyl Lewis X. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication scientifique.³¹

2.7 Références

¹ Hakomori, S-I "Aberrant glycosylation in tumors and tumor-associated carbohydrate antigens" *Adv. Cancer. Res.* **1989**, *52*, 257-270.

Feizi, T. "Demonstration by monoclonal antibodies that carbohydrate structures of glycoproteins and glycolipids are onco-developmental antigens" *Nature* **1985**, *314*, 52-57.

Hakomori, S-I.; Nudelman, E.; Levery, S.B.; Kannagi, R. "Novel fucolipids accumulating in human adenocarcinoma" *J. Biol. Chem.* **1984**, *259*, 4672-4680.

² Hutchinson, W.L.; Johnson, P.J.; Du, M.Q.; Williams, R. "Serum and tissue α -L-fucosidase activity in the pre-clinical and clinical stages of hepatocellular carcinoma" *Clin. Sci.* **1991**, *81*, 177-182.

³ Chandrasekaran, E.V.; Jain, R.K.; Matta, K.L. "Ovarian cancer α -1,3-L-fucosyltransferase" *J. Biol. Chem.* **1992**, *267*, 23806-23814.

⁴ Thompson, S.; Cantwell, B.M.J.; Matta, K.L.; Turner, G.A. "Parallel changes in the blood levels of abnormally-fucosylated haptoglobin and α -1,3-L-fucosyltransferase in relationship to tumour burden : more evidence for a disturbance of fucose metabolism in cancer" *Cancer Lett.* **1992**, *65*, 115-121.

⁵ Alhadeff, J.A. "Human α -L-fucosidases and fucosidosis" **1981**, 299-314, "Lysosomes and lysosomal storage diseases", Raven Press (Callahan, J.W. et Lowden, J.A eds), New York.

⁶ Qiao, L.; Murray, B.W.; Shimazaki, M.; Schultz, J.; Wong, C-H. "Synergistic inhibition of human α -1,3-L-fucosyltransferase V" *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7653-7662.

⁷ Murray, B.W.; Wittmann, V.; Burkart, M.D.; Hung, S-C.; Wong, C-H. "Mechanism of human α -1,3-fucosyltransferase V: glycosidic cleavage occurs prior to nucleophilic attack" *Biochem.* **1997**, *36*, 823-831.

Murray, B.W.; Takayama, S.; Schultz, J.; Wong, C-H. "Mechanism and specificity of human α -1,3-fucosyltransferase V" *Biochem.* **1996**, *35*, 11183-11195.

⁸ Holmes, E.H.; Ostrander, G.K.; Hakomori, S-I. "Biosynthesis of the sialyl lewis x determinant carried by type 2 chain glycosphingolipids in human lung carcinoma PC9 cells" *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 3737-3743.

Giannis, A. "The sialyl lewis x group and its analogues as ligands for selectins : chemoenzymatic syntheses and biological functions" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 178-180.

DeFrees, S.A.; Phillips, L.; Guo, L.; Zalipsky, S. "Sialyl lewis x liposomes as a multivalent ligand and inhibitor of E-selectin mediated cellular adhesion" *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6101-6104.

⁹ Hanish, F-G.; Mitsakos, A.; Schroten, H.; Uhlenbruck, G. "Biosynthesis of cancer-associated sialyl-x by α (1->3)- α -L-fucosyltransferase of human amniotic fluid" *Carb. Res.* **1988**, *178*, 23-28.

¹⁰ Wang, Y-F.; Dumas, D.P.; Wong, C-H. "Chemo-enzymatic synthesis of five-membered azasugars as inhibitors of fucosidase and fucosyltransferase : an issue regarding the stereochemistry discrimination at transition states" *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 403-406.

¹¹ Simanek, E.E.; McGarvey, G.J.; Jablonowski, J.A.; Wong, C-H. "Selectin-carbohydrate interactions : from natural ligands to designed mimics" *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 833-862.

¹² Inouye, S.; Tsuruoka, T.; Ito, T.; Niida, T. "Structure and synthesis of nojirimycin", *Tetrahedron* **1968**, *24*, 2125-2128.

¹³ Jefferies, I.; Bowen, B.R. "Synthesis of inhibitors of α -1,3-fucosyltransferase" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1171-1174.

¹⁴ Hansen, A.; Tagmose, T.M. "Synthesis of the first 1-azaanalogues of L-sugars" *Tetrahedron* **1997**, *53*, 697-706.

¹⁵ Izumi, M.; Tsuruta, O.; Hashimoto, H. "A facile synthesis of 5-thio-L-fucose and 5-thio-D-arabinose from D-arabinose" *Carbohydr. Res.* **1996**, *280*, 287-302.

¹⁶ Toshima, K.; Tatsuta, K. "Recent progress in O-glycosylation methods and its application to natural product synthesis" *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1503-1531.

¹⁷ Engel, R. "Phosponates as analogues of natural phosphates" *Chem. Rev.* **1977**, *349*, 349-366.

Vasella, A.; Dessinges, A. "Synthesis of a non-isosteric, isopolar monophosphonate analogue of β -D-fructose 2,6-bisphosphate" *Carbohydr. Res.* **1988**, *174*, 47-59.

¹⁸ Jefferies, I.; Bowen, B.R. "Synthesis of inhibitors of α -1,3-fucosyltransferase" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 1171-1174.

¹⁹ Tsuruta, O.; Yuasa, H.; Hashimoto, H. "p-Nitrophenyl 1,5-dithio- α -L-fucopyranoside : a novel sulfur based fucosidase inhibitor" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1989-1992.

²⁰ Tadashi, H.; Yasuda, K.; Yamamoto, H.; Yamamoto, H. "Stereoselectivity in the preparation of 5,6-dideoxy-5-dimethoxyphosphinyl-D- and -L-hexofuranoses, and an efficient synthesis of 5,6-dideoxy-5-hydroxyphosphinyl-L-galactopyranose (a P-in-the-ring L-Fucose analogue)" *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 2315-2322.

²¹ Yamashita, M.; Nakatsukasa, Y.; Yoshida, H.; Ogata, T.; Inokawa, S. "Synthesis of 5,6-dideoxy-3-O-methyl-5-C-(phenylphosphinyl)-D-glucopyranose and its 1,2,4-triacetate" *Carbohydr. Res.* **1979**, *70*, 247-261.

²² Nicotra, F.; Cipolla, L.; La Ferla, B.; Panza, L. "Direct synthesis of the isosteric phosphono analogues of α -L-rhamnose 1-phosphate and β -L-fucose 1-phosphate" *J. Carb. Chem.* **1998**, *17(7)*, 1003-1013.

²³ Luengo, J.I.; Gleason, J.G. "Synthesis of C-fucopyranosyl analogs of GDP-L-fucose as inhibitors of fucosyltransferases" *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 6911-6914.

²⁴ Prihar, H.S.; Tsai, J-H.; Wanamaker, S.R.; Duber, S.J.; Behrman, E.J. "Synthesis of β -L-fucopyranosyl phosphate and L-fucofuranosyl phosphates by the McDonald procedure" *Carbohydr. Res.* **1977**, *56*, 315-324.

²⁵ Tsai, J-H.; Behrman, E.J. "Synthesis of β -L-fucopyranosyl phosphate from L-fucose orthoacetate" *Carbohydr. Res.* **1978**, *64*, 297-301.

²⁶ El Khadem, H.S.; Swartz, D.L.; Nelson, J.K.; Berry, L.A. "Synthesis of 2,6-dideoxy- α -L-lyxo- and 2,6-dideoxy- α -L-arabino-hexapyranosyl halides" *Carbohydr. Res.* **1977**, *58*, 230-234.

²⁷ Darrow, J.W. et Drueckhammer, D.G. "Cyclic phosphonate analogs of hexopyranoses" *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2976-2985.

²⁸ McKenna, C.E.; Higa, M.T.; Cheung, N.H.; McKenna, M-C. "The facile dealkylation of phosphonic acid dialky esters by bromotrimethylsilane" *Tetrahedron Lett.* **1977**, *2*, 155-158.

²⁹ Silverstein, R. M.; Clayton Bassler, G.; Morrill, T. C. dans *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, John Wiley & Sons Ed.

³⁰ Abraham, R.J.; Fisher, J.; Loftus, P. dans *Introduction to NMR Spectroscopy*, édité par John Wiley & Sons. Sturtz, G.; Pondaven-Raphalen, A. *Phosphorus and Sulfur* **1988**, *36*, 39. Cooper, D.B.; Harrison, J.M.; Inch, T.D. *Tetrahedron Lett.* **1974**, 2697.

³¹ Hanessian, S.; Rogel, O. "Synthesis of Glycophosphones : Cyclic Phosphonate Analogues of Biologically Relevant Sugars " *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2667-2674.

3. SYNTHÈSE DES ACIDES PHOSPHONIQUES DE LA N- ACÉTYL-D-GLUCOSAMINOPHOSTONE ET DE LA N- ACÉTYL-D-MANNOSAMINOPHOSTONE

3.1 Introduction

Les saccharides aminés et spécialement les N-acétylés comme la N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc) **3.1** ou la N-acétyl-D-mannosamine (ManNAc) **3.2** (Figure 3.1) sont des composants essentiels de nombreuses glycoprotéines. Ces glycoprotéines sont une classe de produits naturels jouant un rôle crucial dans les phénomènes de reconnaissance moléculaire.¹

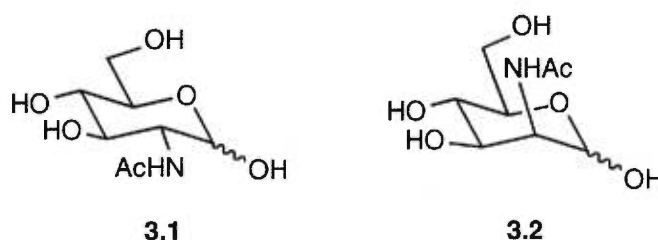


Figure 3.1. Structures de la N-acétyl-D-glucosamine et de la N-acétyl-D-mannosamine

Nous proposons la synthèse d'analogues de ces saccharides en remplaçant le carbone anomérique par un atome de phosphore pentavalent. Nous obtiendrons les phostones **3.3** et **3.4** sous la forme d'acide phosphonique.

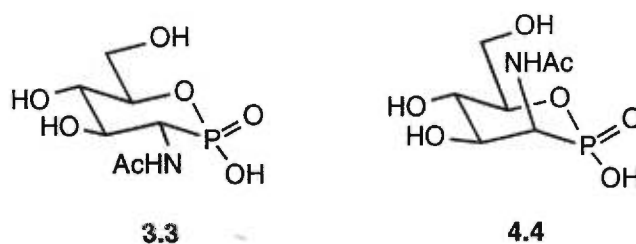


Figure 3.2. Structures des analogues proposés de la GlcNAc et de la ManNAc

3.2 Importance biologique des N-Acétyle glucosamine et mannosamine

Les N-acétyle glucosamines et mannosamines sont des saccharides impliqués dans de nombreux enzymes comme les N-acétylglucosaminyltransférases, les N-acétylhexosaminidases et les NeuAc aldolases.

3.2.1 Les N-acétylglucosaminyltransférases

Les N-acétylglucosaminyltransférases (GlcNAc-T) contrôlent la glycosylation des N-acétylglucosamines sur le mannose ou d'autres récepteurs dans de nombreuses glycoprotéines. Il existe six types de GlcNAc répertoriées chacune agissant à une position distincte (Schéma 3.1).²

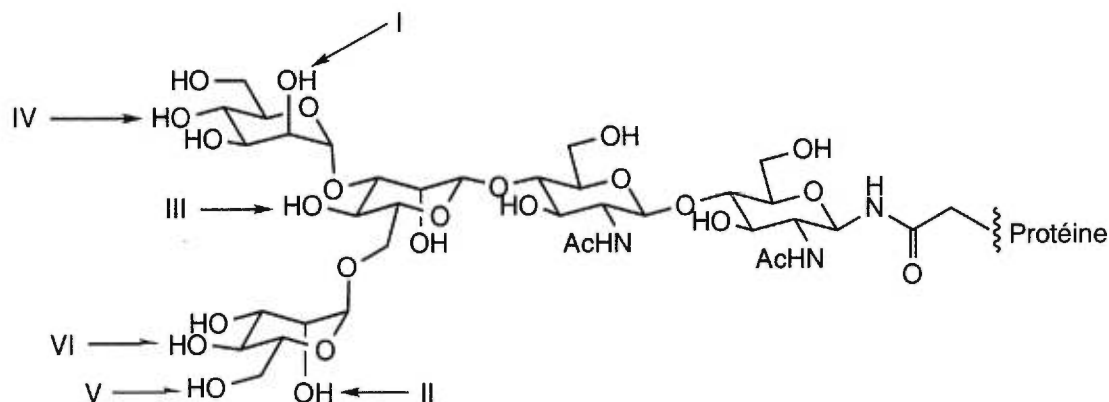


Schéma 3.1. Les 6 types de GlcNAc

Quelques-unes de ces transférases sont utilisées en synthèse. Leurs grandes régiospécificités font de ces enzymes des outils très compétitifs dans la synthèse des polysaccharides.³

Les cellules cancéreuses possèdent généralement un accroissement d'activité de la β 1- \rightarrow 6-N-acétyl-D-glucosamine. Par exemple, une augmentation

de glycosylation des N-acétylglucosamine et N-acétyl-D-mannosamine a été remarquée dans de nombreux cancers dont ceux du sein, du colon et de la peau.⁴ De plus, la progression de la maladie est aussi liée à cette suractivité.⁵

3.2.2 Les N-acétylhexosaminidases

Les N-acétylglucosaminidases et N-acétylmannosaminidases (GNAses) sont des enzymes effectuant l'hydrolyse du lien reliant les N-acétyl-D-glucosamine et N-acétyl-D-mannosamine au reste des polysaccharides (Schéma 3.2). Cette coupure est effectuée durant la biosynthèse des glycoprotéines et durant le catabolisme des glycolipides.⁶

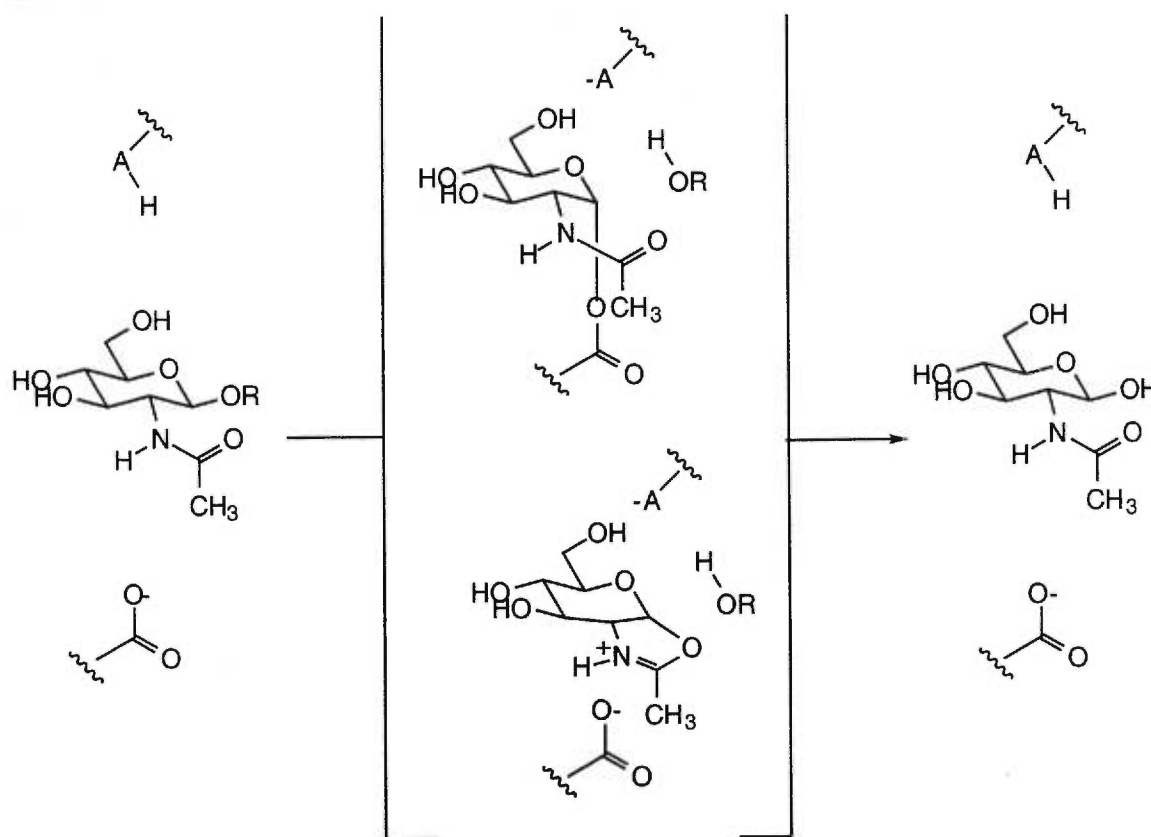


Schéma 3.2. Mécanisme présumé de la N-acétylglucosaminidase

3.2.3 Les NeuAc aldolases

La NeuAc aldolase⁷ catalyse la réaction entre le pyruvate et la N-acétylmannosamine, qui peut être aussi générée à partir de la N-acétylglucosamine par épimérisation (Schéma 3.3). Cette réaction produit l'acide sialique **3.5** qui est un élément essentiel du sialyl Lewis X, un ligand de la E-selectine impliquée dans le processus inflammatoire et dans le développement de tumeurs cancéreuses.⁸

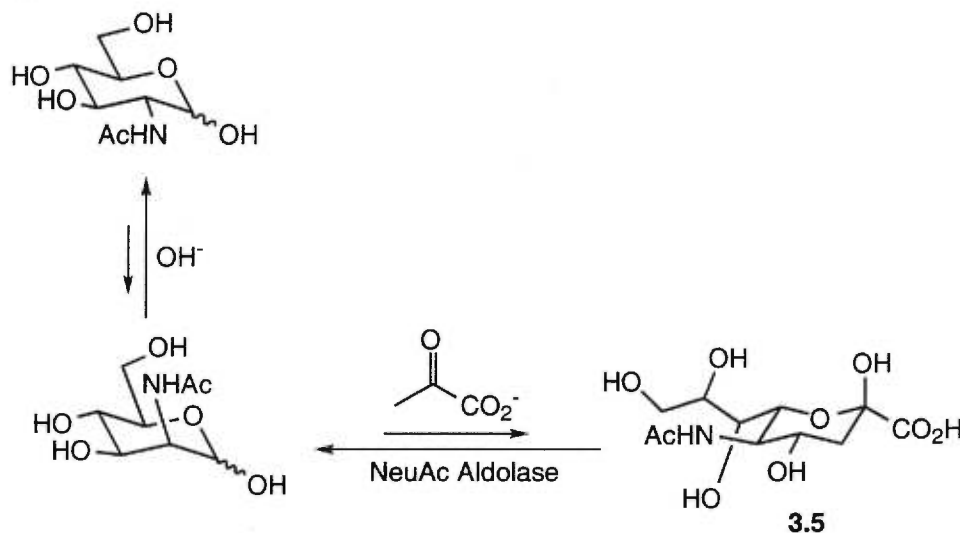


Schéma 3.3. Synthèse enzymatique de l'acide sialique

3.3 Quelques analogues de la N-Acétyl-D-glucosamine et de la N-Acétyl-D-mannosamine

Les N-acétyl-D-glucosamine et N-acétyl-D-mannosamine sont impliqués dans de nombreux phénomènes biologiques à travers les diverses enzymes que nous venons d'évoquer. Dans la lutte contre le cancer, l'inhibition de ces enzymes est un aspect important, c'est ce qui a stimulé la synthèse de nombreux analogues. Afin de mieux les comparer aux phostones que nous nous proposons de synthétiser, nous avons séparé les analogues en deux catégories : les analogues sans phosphore et les analogues avec phosphore.

3.3.1 Analogues de la N-acétyl-D-glucosamine et de la N-acétyl-D-mannosamine

Parmi les nombreux analogues synthétisés ces dernières années, la présence d'inhibiteurs azotés est prépondérante. L'état de transition présumé des glycosidases et des glycosyltransferases comporte une structure à demi-chaise chargée positivement. En remplaçant l'atome d'oxygène sur cycle hémiacétallique par un atome d'azote, on suppose que l'amine sera protonée et que ce cation ressemblera à l'oxocarbénium en terme de polarité.⁹

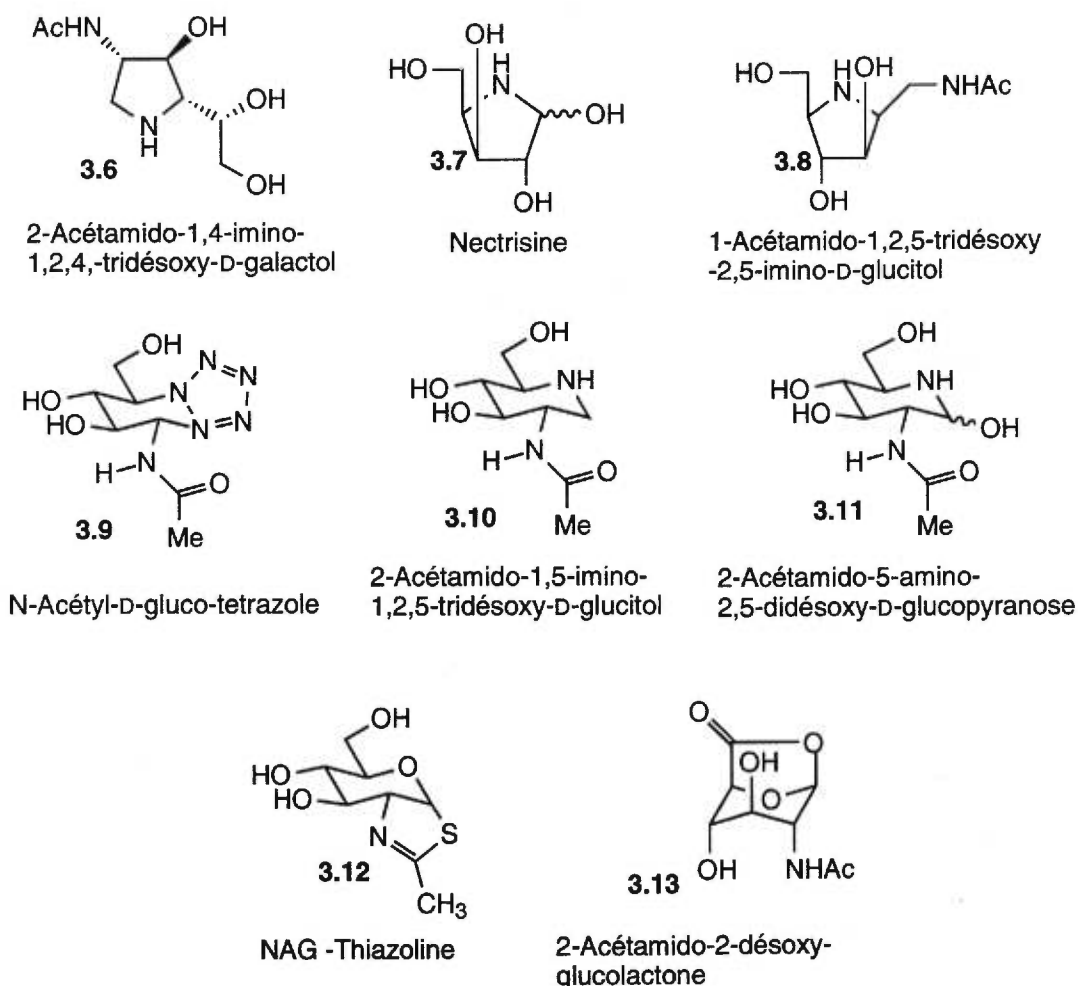


Figure 3.3. Quelques analogues sans phosphore

Parmi ces analogues azotés, on observe des cycles à cinq et des cycles à six. Les analogues comportant un cycle à cinq comme les composés **3.6**,¹⁰ **3.7**¹¹ et **3.8**¹² sont censés avoir une structure plus similaire à l'état de transition que ceux comportant un cycle à 6 comme les composés **3.9**,¹³ **3.10**¹⁴ et **3.11**.¹⁵ Cependant si on compare les activités inhibitrices de ces composés, elles sont similaires ($> 1 \mu\text{M}$).

La substitution de l'atome d'oxygène du cycle hémiacétallique n'est pas la seule modification possible, ainsi l'alcool anomérique est aussi sollicité. Les composés **3.12**¹⁶ et **3.13**¹⁷ sont des illustrations de cette modification. Leur activité inhibitrice envers les N-acétylhexosaminidases est comparable à celle des analogues azotés ($> 1 \mu\text{M}$).

3.3.2 Analogues de la N-acétyl-D-glucosamine et de la N-acétyl-D-mannosamine avec phosphore

Les phosphates de glycosyles comme le N-acétyl-D-glucosamine 1-phosphate **3.14** et N-acétyl-D-mannosamine 1-phosphate **3.15** sont impliqués dans de nombreuses biosynthèses dont celle de l'acide sialique ou encore dans celle de l'UDP-N-acétyl-2-D-glucosamine (Figure 3.4).

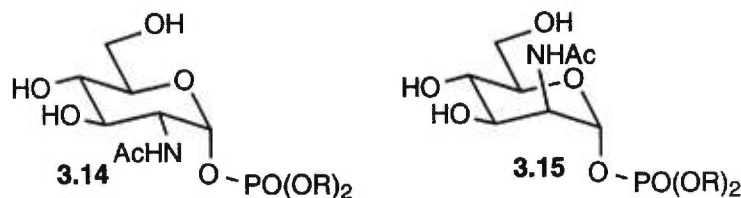


Figure 3.4. Structures des N-acétyl-D-glucosamine 1-phosphate et N-acétyl-D-mannosamine 1-phosphate

Paradoxalement, malgré leur importance biologique il existe peu d'analogues de ces composés. Nicotra et son équipe ont proposé les premiers analogues en synthétisant des C-glycosides sous la forme d'acide **3.16** et **3.17**¹⁸ ou d'esters **3.18** et **3.19**¹⁹ (Figure 3.5). À notre connaissance, les auteurs n'ont cependant pas évalué leur activité inhibitrice.

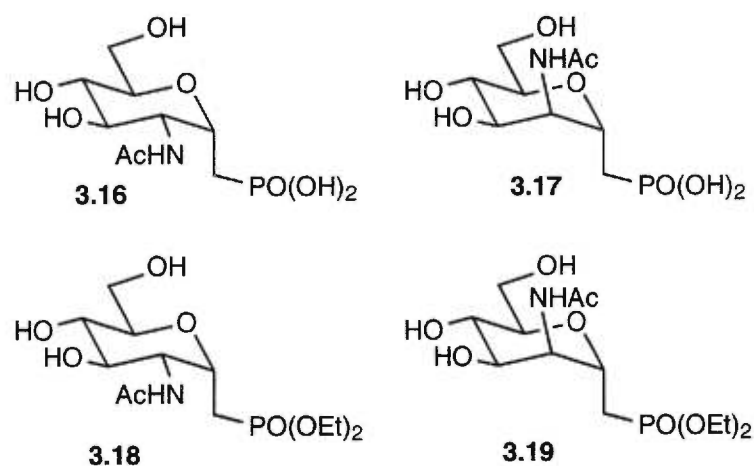


Figure 3.5. Structures des analogues avec phosphore

3.4 La synthèse de la N-acétyl-D-glucosaminophostone et de la N-acétyl-D-mannosaminophostone

3.4.1 Introduction

La synthèse des D-glucophostones et des D-mannophostones a déjà été effectuée lors de mon travail de maîtrise et l'idée pour la synthèse des N-acétyl-D-glucosamino- et mannosaminophostones est cette fois-ci d'introduire une nouvelle fonctionnalité sur le carbone en α du phosphore, soit l'amide NHAc.

3.4.2 Retrosynthèse

La synthèse des D-glucophostones et D-mannophostones a déjà été publiée par notre laboratoire.²⁰ Pour la synthèse des N-acétyl-D-glucosamino- et mannosaminophostones, nous avons le choix entre partir des D-glucophostones et D-mannophostones et fonctionnaliser l'hydroxyle situé sur le carbone 2 (Schéma 3.4) ou proposer une toute nouvelle voie de synthèse. Pour des raisons d'intérêts scientifiques, nous avons choisi d'effectuer une nouvelle synthèse.

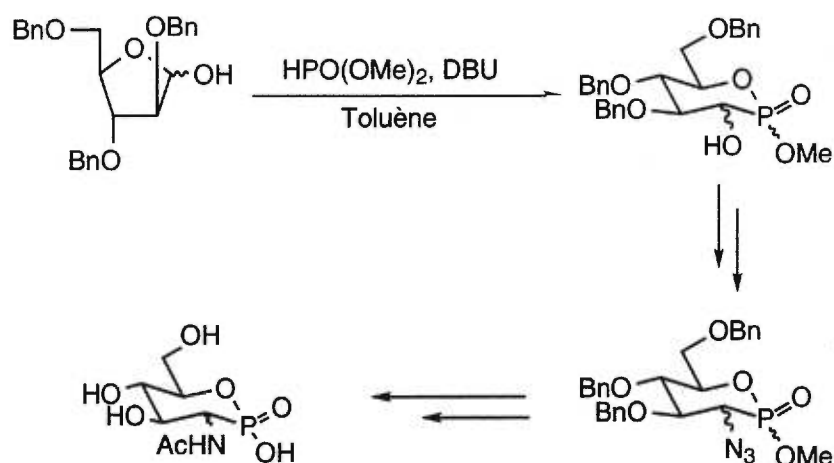


Schéma 3.4. Première synthèse envisagée

La fonction amide N-acétyl provient de l'amine *O*-benzyloxy. L'idée principale de notre synthèse est d'incorporer l'atome d'azote avant d'effectuer la réaction d'Abramov, pour cela nous synthétiserons une oxime.

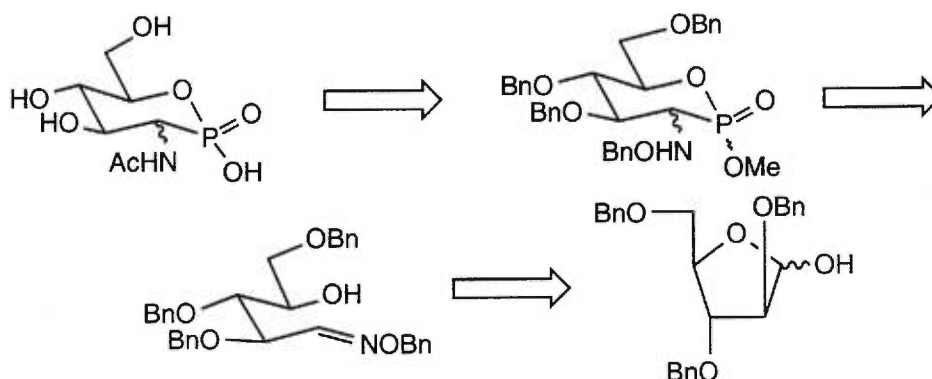


Schéma 3.5. Retrosynthèse des acides phosphoniques des N-acétyl-D-glucosamino- et mannosaminophostone

On peut remarquer que la stéréochimie des N-acétyl-D-glucosamino- et mannosaminophostones est commune pour les carbones 3, 4 et 5, c'est pour cette raison que le D-arabinose est choisi comme produit de départ (Schéma 3.6).

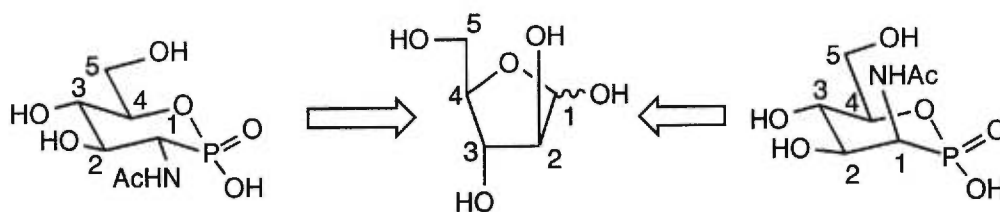


Schéma 3.6. Chiron commun aux deux phostones

3.4.3 Synthèse

3.4.3.1 Synthèse des phosphonates cycliques

Le produit de départ **3.20** de cette synthèse est le D-arabinose dont les alcools 3, 4 et 5 ont été protégés par des groupements benzyles. La réaction avec la *O*-benzyloxy amine²¹ donne l'oxime **3.21** de façon quantitative.²² Cette oxime est traitée selon la réaction d'Abramov,²³ soit avec du phosphite de triméthyle dans de l'acide acétique glacial, pour donner un mélange de quatre phosphonates cycliques **3.22**, **3.23**, **3.24** et **3.25** (isomères au niveau du phosphore et isomères au niveau du carbone situé en α du phosphore) (Schéma 3.7).

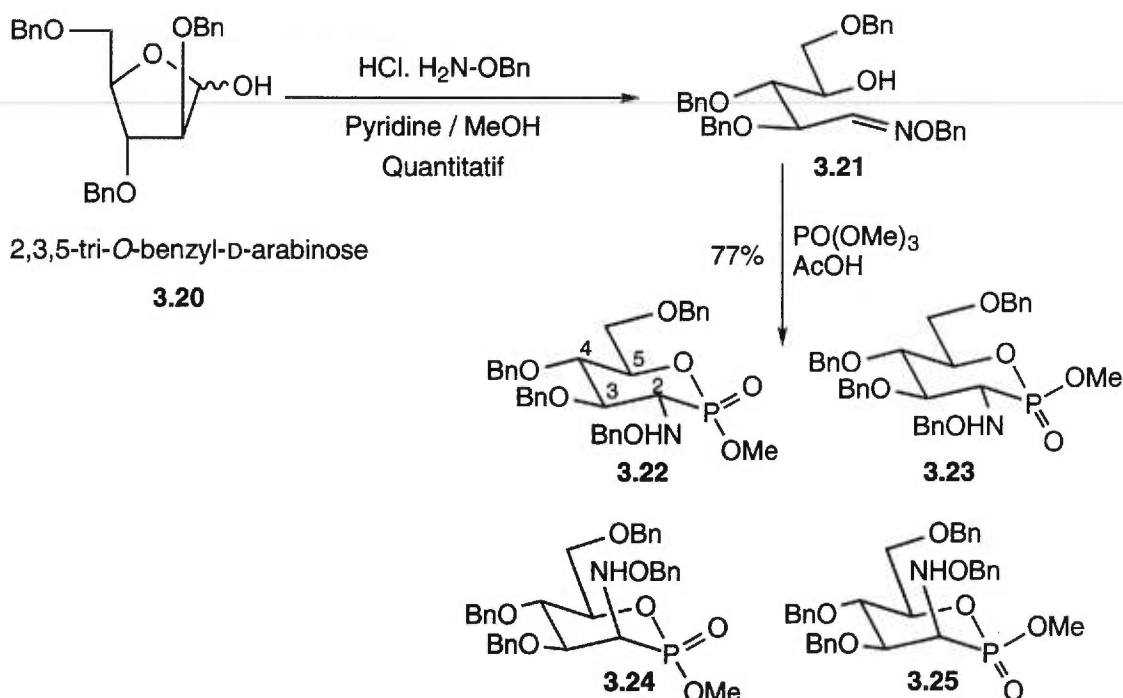


Schéma 3.7. Synthèse des phosphonates cycliques

Lors de la purification par chromatographie flash sur silice, nous n'avons pu qu'isoler le composé **3.22**, les composés **3.23**, **3.24** et **3.25** étant inséparables. La stéréochimie du composé **3.22**, sauf pour l'atome de phosphore, est prouvée par RMN, en effet le proton H₂ situé en α de l'atome de phosphore est un doublet dédoublé avec des constantes de couplage $J_{H_2,H_3} = 7.0$ Hz et $J_{H_2,P} = 10.1$ Hz, les protons H₂ et H₃ sont donc en position *trans* l'un par rapport à l'autre ce qui correspond à la stéréochimie des D-glucophostones. Pour ce qui est de la stéréochimie de l'atome de phosphore, nous ne pouvons pas encore la prouver (spectres RMN trop complexes, superposition des signaux).

La réaction d'Abramov est effectuée généralement sur un aldéhyde et c'est à notre connaissance la première fois qu'elle est effectuée sur une oxime. Il s'en suit une cyclisation intramoléculaire qui nous donne les quatre isomères obtenus, ces produits ne sont pas tous séparables par chromatographie sur gel de silice.

3.4.3.2 Fonctionnalisation

Pour accéder aux produits finaux, il nous faut déprotéger les alcools en 4, 5 et 7 protégés par des groupements benzyles, transformer les phosphonates en acide phosphonique et modifier la fonction amine O-benzyloxy en fonction amide NHAc. Le problème le plus important est bien sûr cette dernière transformation. Elle peut se faire de deux manières (Schéma 3.8):

- briser le lien N-O et acétyler (voie 1)
- acétyler et briser le lien N-O (voie 2)

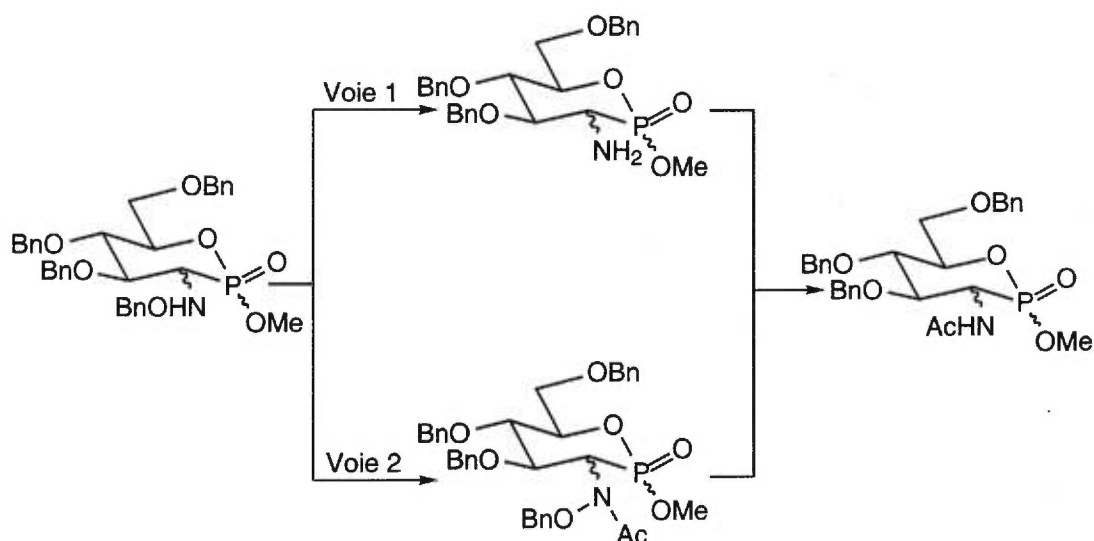


Schéma 3.8. Deux voies pour accéder à l'amide

Briser un lien N-O peut se faire de nombreuses manières, en voici quelques conditions:

- hydrogénation à l'aide de divers catalyseurs au palladium²⁴
- réduction à l'aide d'amalgames au mercure tels que Mg(Hg)/TiCl₄,²⁵ Al(Hg) ou Na(Hg)²⁶
- réduction en utilisant l'hexacarbonyle de molybdène²⁷ Mo(CO)₆, la poudre de zinc dans de l'acide acétique glacial,²⁸ le trichlorure de titane,²⁹ de l'hydruure d'aluminium et de lithium,³⁰ l'iodure de samarium ...

Pour la voie 1, nous avons essayé plusieurs de ces méthodes mais nous n'avons obtenu que de faibles rendements (<10%, avec Sml₂, Mo(CO)₆, Zn/AcOH) ou une dégradation (amalgames au mercure, TiCl₃). Nous gardons l'hydrogénation pour la déprotection finale.

Nous continuerons la synthèse par la voie 2 en acétylant d'abord l'amine *O*-benzyloxy avant d'effectuer les déprotections. L'acétylation de l'amine *O*-benzyloxy des composés **3.22**, **3.23**, **3.24** et **3.25** se fait en employant le chlorure d'acétyle comme agent acétylant, l'anhydride acétique étant inefficace (Schéma 3.9). Cependant le problème de la séparation du mélange d'isomères des composés **3.27**, **3.28** et **3.29** par chromatographie sur gel de silice reste toujours présent.

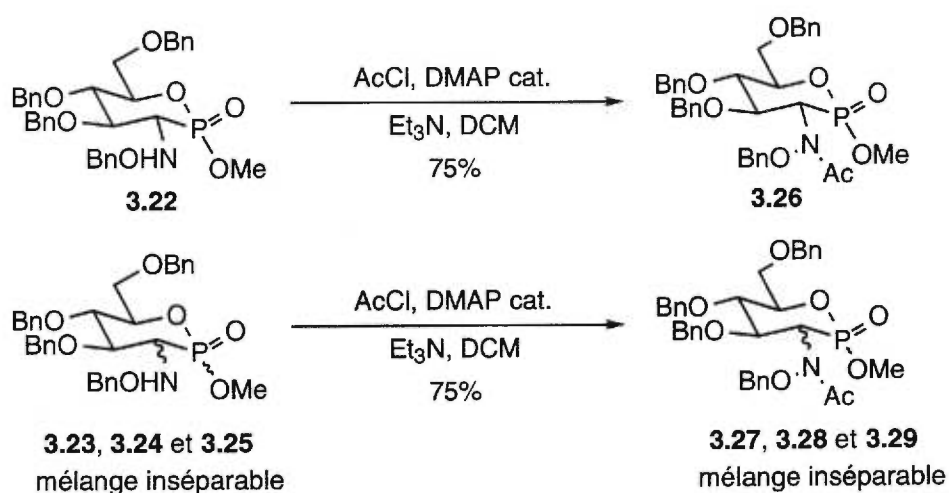


Schéma 3.9. Acétylation des dérivés *O*-benzyloxy amine

3.4.3.3 Synthèse des acides et déprotection

L'accès aux acides phosphoniques est obtenu par l'utilisation du bromure de triméthyle silyle³¹ sur le mélange de phosphonates cycliques. À partir de ce mélange, nous obtenons les deux acides désirés **3.30** et **3.31**, séparables par chromatographie sur gel de silice (Schéma 3.10). L'acide **3.30** peut être aussi obtenu à partir du composé **3.26** (Schéma 3.10).

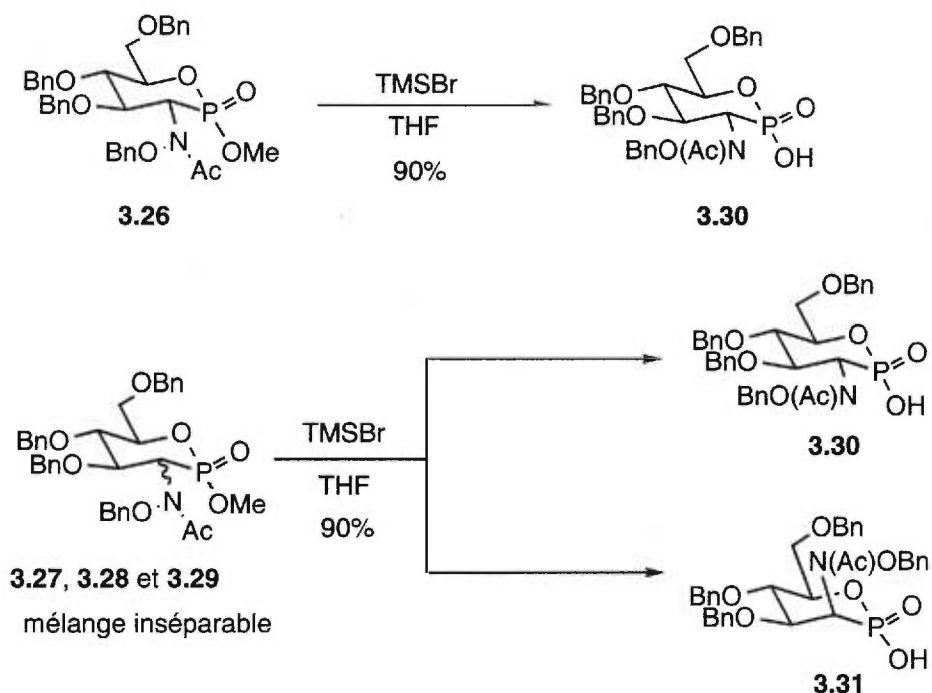


Schéma 3.10. Synthèse des acides phosphoniques **3.30** et **3.31**

La stéréochimie des produits **3.30** et **3.31** est prouvée par la RMN à deux dimensions (corrélation proton-proton et corrélation proton-carbone). La différence entre les deux produits se situe sur le carbone situé en α du phosphore où le proton H_3 a un déplacement chimique de 5.30 et 5.20 ppm. Il apparaît soit sous la forme d'un large triplet ($J = 10.4$ Hz), soit sous la forme d'un large doublet ($J = 10.4$ Hz, la mauvaise résolution laisse supposer une autre constante de couplage beaucoup plus faible). Sachant que la valeur de la constante de couplage J_{H-P} est d'environ 10 Hz, la valeur de $J_{H_3H_4}$ est soit forte (10.4 Hz) ou faible. Nous en déduisons que le produit ayant une valeur de constante de couplage $J_{H_3-H_4}$ forte est celui où H_3 et H_4 sont *trans* l'un par rapport à l'autre, ce qui correspond à la stéréochimie du composé **3.30**. Par déduction, le produit ayant une valeur de constante de couplage $J_{H_3-H_4}$ faible est celui où H_3 et H_4 sont *cis* l'un par rapport à l'autre, ce qui correspond à la stéréochimie du composé **3.31**.

Quant à la stéréochimie de l'atome de phosphore, nous supposons que la liaison P-OH est équatoriale. Faute de pouvoir cristalliser ces composés, nous nous sommes fiés aux résultats obtenus lors de nos précédentes synthèses. Lors de mes travaux de maîtrise,³² la synthèse de la D-glucophostone et de la D-mannophostone avait été effectuée. Nous avons obtenu les structures rayons X de ces composés, ainsi que celle de la L-fucophostone (voir Chapitre 2) où la liaison P-OH était à chaque fois équatoriale et nous supposons donc que l'orientation reste équatoriale pour les composés **3.30** et **3.31**. L'estérification de ces acides avec du diazométhane nous redonne respectivement les composés **3.26** et **3.28** (Schéma 3.11).

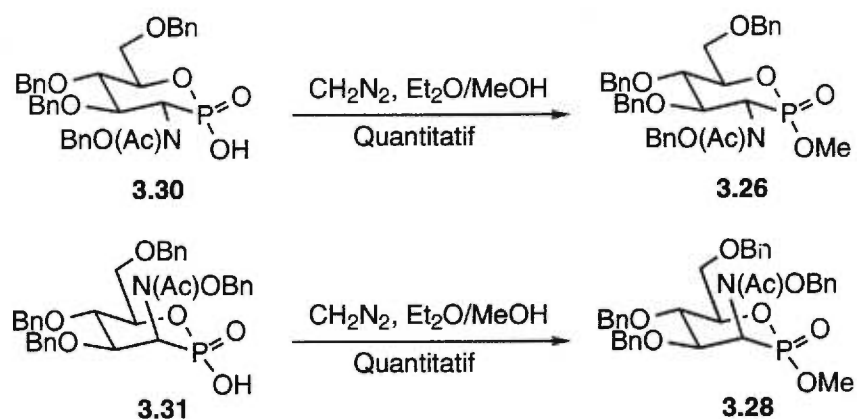


Schéma 3.11. Estérification des acides **3.30** et **3.31**

Pour l'obtention des produits finaux, il nous faut déprotéger les alcools et couper le lien N-O. Cette déprotection se fait simultanément en effectuant une hydrogénation en présence d'une quantité catalytique de Pd(OH)₂/C et de Pd/C (Schéma 3.12).³³

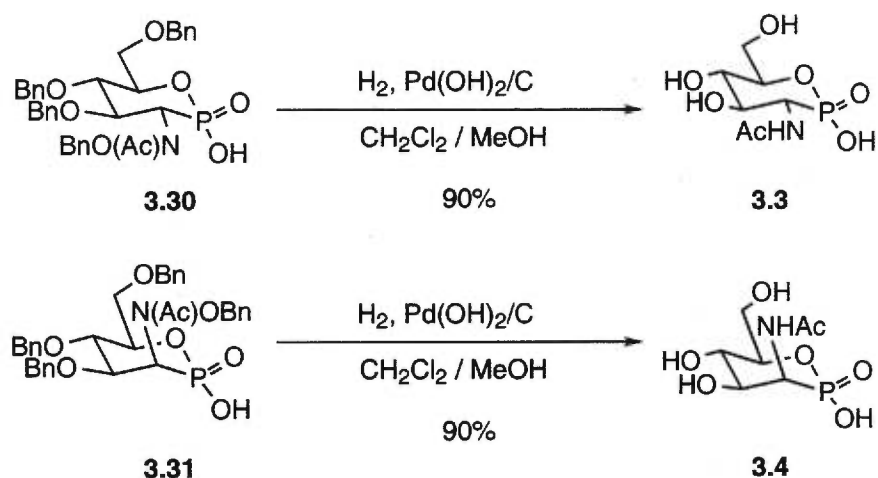


Schéma 3.12. Obtention des produits finaux 3.3 et 3.4

3.5 Conclusion

Nous avons synthétisé les acides phosphoniques correspondants aux phosphates de la N-acétyl-D-glucosamine et de la N-acétyl-D-mannosamine. Ces composés pourront être utilisés à la synthèse d'analogues du sialyl Lewis x et leurs potentiels biologiques devront être évalués. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication scientifique.³⁴

3.6 Références

¹ Montreuil, J. "Primary structure of glycoprotein glycans: basis for the molecular biology of glycoproteins" *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1980**, *37*, 157-223.

² Schachter, H. "Biosynthetic controls that determine the branching and microheterogeneity of protein-bound oligosaccharides" *Biochem. Cell. Biol.* **1986**, *64*, 163-181.

³ Kaur, K.J.; Alton, G.; Hindsgaul, O. "Use of N-acetylglucosaminyltransferases I and II in the preparative synthesis of oligosaccharides" *Carbohydr. Res.* **1991**, *210*, 145-153.

Srivastava, G.; Alton, G.; Hindsgaul, O. "Combined chemical-enzymatic synthesis of deoxygenated oligosaccharide analogs : transfer of deoxygenated GlcpNAc residues from their UDP-GlcoNAc derivatives using N-acetylglucosaminyltransferase I" *Carbohydr. Res.* **1990**, *207*, 259-276.

⁴ Yamashita, K.; Tachibana, Y.; Ohkura, T.; Kobata, A. "Enzymatic basis for the structural changes of asparagine-linked sugar chains of membrane glycoproteins of baby hamster kidney cell induced by polyoma transformation." *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 3963-3969.

Dennis, J.W.; Kosh, K.; Bryce, D-M.; Breitman, M. "Oncogenes conferring metastatic potential induce increased branching of Asn-linked oligosaccharides in rat2 fibroblasts." *Oncogene* **1989**, *4*, 853-860.

Miyoshi, E.; Nishikawa, A. Ihara, y.; Gu, J.; Sugiyama, T.; Hayashi, N.; Fusamoto, H.; Kamada, T.; Taniguchi, N.; "N-acetylglucosaminyltransferase III et V messenger RNA levels in LEC rats during hepatocarcinogenesis" *Cancer Res.* **1993**, *53*, 3899-3902.

Easton, E.W.; Blokland, I.; Geldof, A.A.; Rao, B.R.; van den Eijnden, D.H. "The metastatic potential of rat prostate tumor variant R3327-MatLyLu is correlated with an increased activity of N-acetylglucosaminyltransferase III and V" *FEBS Lett.* **1992**, *308*, 46-49.

⁵ Dennis, J.W.; Laferte, S. "Oncodevelopmental expression of GlcNAc 1-6Man 1-6Man 1-6 branching of Asn-linked oligosaccharide in human breast carcinomas" *Cancer Res.* **1989**, *49*, 945-950.

Fernandes, B.; Sagman, U. Auger, M.; Demetrio, M.; Dennis, J.W. "1-6 branched oligosaccharides as a marker of tumor progression in human breast and colon neoplasia" *Cancer Res.* **1991**, *51*, 718-723.

⁶ Conzelmann, E.; Sandhoff, K. "Glycolipid and glycoprotein degradation" *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **1987**, *60*, 89-216.

Kresse, H.; Glössl, J. "Glycosaminoglycan degradation" *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **1987**, *60*, 217-311.

⁷ Simon, E.S.; Bednarski, M.D.; Whitesides, G.M. "Synthesis of CMP-NeuAc from N-Acetylglucosamine generation of CTP from CMP using adenylate kinase" *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7159-1763.

⁸ Hanish, F-G.; Mitsakos, A.; Schroten, H.; Uhlenbruck, G. "Biosynthesis of cancer-associated sialyl-x by a (1->3)- α -L-fucosyltransferase of human amniotic fluid" *Carbohydr. Res.* **1988**, *178*, 23-28.

⁹ Takaoka, Y.; Kajimoto, T.; Wong, C-H. "Inhibition of N-acetylglucosaminyltransfer enzymes : chemical-enzymatic synthesis of new five-membered acetamido azasugars" *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 4809-4812.

¹⁰ Liessem, B.; Giannis, A.; Sandhoff, K.; Nieger, M. "Synthese von 2-acetamido-1,4-imino-1,2,4-tridesoxy-D-galaktitol und kompetitive inhibition der humanen lysosomalen hexosaminidase A" *Carbohydr. Res.* **1993**, *250*, 19-30.

-
- ¹¹ Tsuji, E.; Muroi, M.; Shiragami, N.; Takatsuki, A. "Nectrisine is a potent inhibitor of glucosidases, demonstrating activities similarly at enzyme and cellular levels" *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, *220*, 459-466.
- ¹² Schumacher-Wandersleb, M.H.M.G.; Petersen, S.; Peter, M.G. "Preparation of the N-acetylglucosaminidase inhibitor 1-acetamido-1,2,5-trideoxy-2,5-imino-D-glucitol from methyl mannopyranoside" *Liebigs Ann. Chem.* **1994**, 555-561.
- ¹³ Heightman, T.D.; Ermert, P.; Klein, D.; Vasella, A. "Synthesis of galactose- and N-acetylglucosamine-derived tetrazoles and their evaluation as glycosidase inhibitors" *Helv. Chim. Acta* **1995**, *78*, 514-532.
- ¹⁴ Fleet, G.W.J.; Smith, P.W.; Nash, R.J.; Fellows, L.E.; Parekh, R.B.; Rademaker, T.W. "Synthesis of 2-acetamido-1,5-imino-1,2,5-trideoxy-D-mannitol and 2-acetamido-1,5-imino-1,2,5-trideoxy-D-glucitol, a potent and specific inhibitor of a number of N-acetylglucosaminidase" *Chem. Lett.* **1986**, 1051-1054.
- ¹⁵ Kappes, E.; Legler, G. "Synthesis and inhibitory properties of 2-acetamido-2-deoxynojirimycin (2-acetamido-5-amino-2,5-dideoxy-D-glucopyranose, 1) and 2-acetamido-1,2-dideoxynojirimycin (2-acetamido-1,5-imino-1,2,5-trideoxy-D-glucitol) *J. Carbohydr. Chem.* **1989**, *8*, 371-388.
- ¹⁶ Knapp, S.; Vocadlo, D.; Gao, Z.; Kirk, B.; Lou, J.; Withers, S.G. "NAG-thiazoline, an N-acetyl-hexosaminidase inhibitor that implicates acetamido participation" *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6804-6805.
- ¹⁷ Conchie, J.; Hay, A.J.; Strachan, I.; Levvy, G.A. "Inhibition of glycosidases by aldonolactones of corresponding configuration" *Biochem. J.* **1967**, *102*, 929-941.

-
- ¹⁸ Panza, L.; Casero, F.; Cipolla, L.; Nicotra, F. 'Stereoselective synthesis of the isosteric phosphono analogues of *N*-Acetyl- α -D-glucosamine 1-phosphate and *N*-Acetyl- α -D-mannosamine 1-phosphate" *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 3428-3432.
- ¹⁹ Cipolla, L.; Lay, L.; Nicotra, F.; Panza, L. and Russo, G. "First synthesis of the phosphono analogue of *N*-acetyl- α -D-mannosamine 1-phosphate" *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 1993-1994.
- ²⁰ Hanessian, S.; Galéotti, N.; Rosen, P.; Oliva, G.; Babu, S. "Synthesis of carbohydrate phosphonates as potential glycomimetics" *Bioorg. Med. Chem. Letters* **1994**, *4*, 2763-2768.
- ²¹ Bonaccorsi, F. and Giorgi, R. "A convenient large scale synthesis of *O*-benzylhydroxylamine" *Synthesis* **1997**, 1143-1145.
- ²² Greven, R.; Jütten, P.; Scharf, H-D. "A new stereoselective route to branched-chain nitro and amino sugars: synthesis of both enantiomers of decilonitrose and avidinosamine" *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3742-3747.
- ²³ Abramov, V.S. "Reaction of dialkyl esters of phosphorous acids with aldehydes and ketones" *Zh. Obshch. Khim.* **1957**, *22*, 647-649.
- ²⁴ Nikam, S.S.; Komberg, B.E.; Johnson, D.R.; Doherty, A.N. "Synthesis of hydroxamic acids : Pd/BaSO₄ as a new catalyst for the deprotection of *O*-benzyl hydroxamates" *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 197-200. Merino, P.; Lanaspá, A.; Merchan, F.L.; Tejero, T. "Totally stereocontrolled synthesis of α,β -diamino acids by addition of Grignard reagents to nitrones derived from L-serine" *Tetrahedron Asymmetry* **1998**, *9*, 629-646.
- ²⁵ George, J. and Chandrasekaran, S. "Selective reduction of nitro compounds with titanium (II) reagents" *Synthetic Commun.* **1983**, *13*, 495-499.

-
- ²⁶ Burkholder, T.P.; Fuchs, P.L. "Total synthesis of dl-cephalotaxine. The first example of an intramolecular 4+2 cycloaddition where the dienophile has been delivered from the opposite to the tethering moiety" *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2341-2342.
- ²⁷ Cicchi, S.; Goti, A.; Brandi, A.; Guarna, A.; De Sarlo, F. "1,3-Aminoalcohols by reductive cleavage of isoxazolidines with molybdenum hexacarbonyl" *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 3351-3354.
- ²⁸ Enders, D. and Kempen, H. "Enantioselective synthesis of allylic alcohols via asymmetric [2,3]-sigmatropic Meisenheimer rearrangement" *Synlett* **1994**, 969-971.
- ²⁹ Mattingly, P.G. and Miller, M.J. "Titanium tetrachloride reduction of substituted *N*-hydroxy-2-azetidinones and other hydroxamic acids" *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 410-415.
- ³⁰ Oppolzer, W. and Petrzilka, M. "A total synthesis of d,l-luciduline by a regioselective intramolecular addition of an *N*-alkenylnitron" *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 6722-6723. Tufariello, J. J. "Alkaloids from nitrones" *Acc. Chem. Res.* **1979**, *12*, 396-399.
- ³¹ McKenna, C.E.; Higa, M.T.; Cheung, N.H.; McKenna, M.C. "The facile dealkylation of phosphonic acid dialkyl esters by bromotrimethylsilane" *Tetrahedron Lett.* **1977**, *2*, 155-157.
- ³² Rogel, O "Synthèse des carbohydrates phosphonés", Université de Montréal, Mai 1996.

³³ Merino, P.; Lanaspa, A.; Merchan, F.L.; Tejero, T. "Totally stereocontrolled synthesis of α,β -diamino acids by addition of Grignard reagents to nitrones derived from L-serine" *Tetrahedron Asymmetry* **1998**, *9*, 629-646.

³⁴ Rogel, O.; Hanessian, S. "Synthesis of Glycophostones : Cyclic Phosphonate Analogues of Biologically Relevant Sugars" *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2667-2674.

4. SYNTHÈSE D'UN ANALOGUE EN PHOSTONE DU PHOSPHORAMIDON

4.1 Introduction

Situé à l'interface du sang et des tissus, l'endothélium vasculaire capte et décode les différents messages sanguins, hémodynamiques, chimiques et biochimiques, puis les traduit et les transmet à la paroi vasculaire où il exerce des effets à court et à long terme.¹ Parmi les peptides jouant un rôle important au niveau des cellules endothéliales, nous nous sommes intéressés à l'enzyme de conversion de l'endothéline, l'ECE, une métalloprotéase à zinc, dont un des principaux inhibiteurs est le phosphoramidon **4.1** (Figure 4.1).²

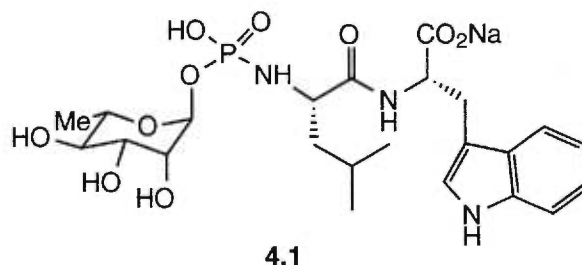


Figure 4.1. Structure du phosphoramidon

Nous nous proposons de synthétiser un inhibiteur de l'ECE en nous basant sur la structure du phosphoramidon et en y incorporant une fonction phostone (Schéma 4.1). Nous supprimerons en outre la fonction acide située sur l'atome de phosphore.

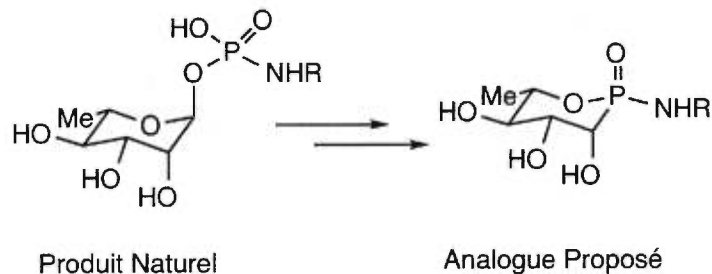


Schéma 4.1. Incorporation de la fonction phosphonate

4.2 Partie biologique

4.2.1 Introduction

Les peptides vasoactifs font partie des peptides jouant un rôle important au niveau des cellules endothéliales. Trois enzymes interviennent dans le métabolisme de cette classe de molécules : l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (angiotensin converting enzyme, ACE), l'endopeptidase neutre (neutral endopeptidase, NEP) et l'enzyme de conversion de l'endothéline (endothelin converting enzyme, ECE) (Schéma 4.2). On peut résumer certaines de leurs actions en précisant que l'ACE est impliquée dans l'activation et l'inactivation de peptides vasoactifs en transformant l'angiotensine I en angiotensine II et en dégradant la bradykinine et que la NEP modifie la concentration de certaines substances vasoactives circulantes dans le flux sanguin ou produites localement en inactivant par exemple la bradykinine. Quant à l'ECE, nous en évoquerons les effets plus loin dans la discussion.

4.2.2.2 Identification et caractérisation

C'est en 1988, que le professeur Yanagisawa découvrit, dans des cultures de cellules endothéliales aortiques porcines, un puissant vasoconstricteur à action locale, l'endothéline.⁴ Intéressé par ces puissantes propriétés vasoconstrictrices, il poursuivit l'analyse biochimique moléculaire et génétique de ce peptide alors appelé endothéline-1 (ET-1). Par la suite 2 isoformes de l'ET-1 furent identifiées, l'ET-2 et l'ET-3.⁵ Ces 3 endothélines sont codées par 3 gènes distincts mais sont engendrées par un même processus enzymatique.

L'endothéline-1 est un polypeptide contenant 21 acides aminés avec un résidu tryptophane terminal (sans ce résidu, l'ET-1 perd l'essentiel de son activité) et 2 chaînes intras présentes sous la forme de 2 liaisons disulfures. Les 4 cystéines présentes dans ce polypeptide sont couplées 2 à 2 par des ponts disulfures entre les positions 1 et 15 d'une part et 3 et 11 d'autre part. Il y a un groupe de résidus chargés entre les positions 8 et 11 et une queue hydrophobique hexapeptidique à partir de la position 16 (Figure 4.2).⁶

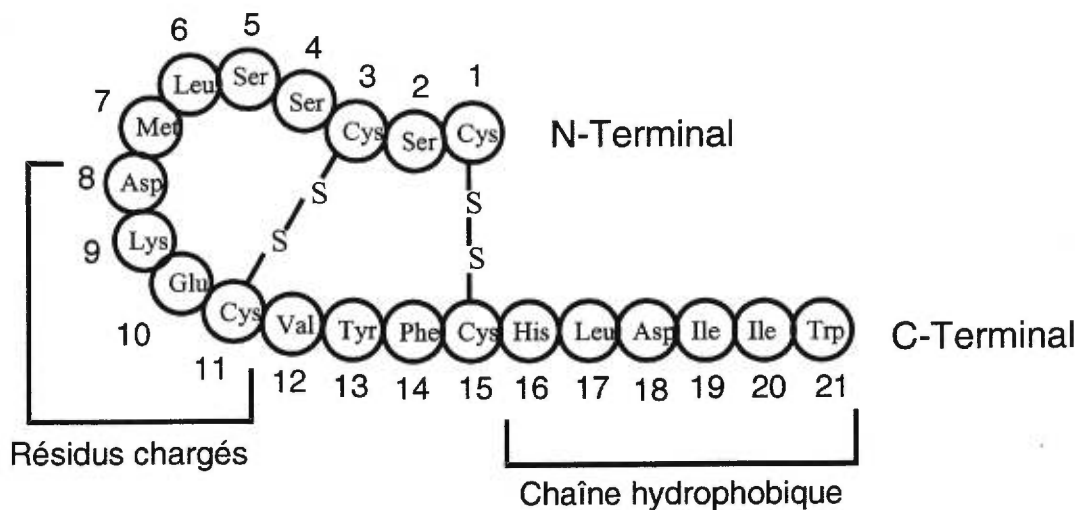


Figure 4.2. Structure chimique de l'endothéline-1.

Les structures des 2 isoformes de l'ET-1 sont très similaires : une structure constituée de 21 acides aminés, 2 ponts disulfures entre les cystéines, le tryptophane en position C-terminal et une chaîne hydrophobique faite d'un hexapeptide identique. Pour l'endothéline-2 (Figure 4.3), il y a 2 substitutions d'acides aminés aux positions 6 et 7, ainsi la position 6 est occupée par le tryptophane au lieu de la leucine et la position 7 par la leucine au lieu de la méthionine. L'endothéline-2 est souvent décrit comme le $\text{Trp}^6 \text{Leu}^7 \text{ET-1}$.

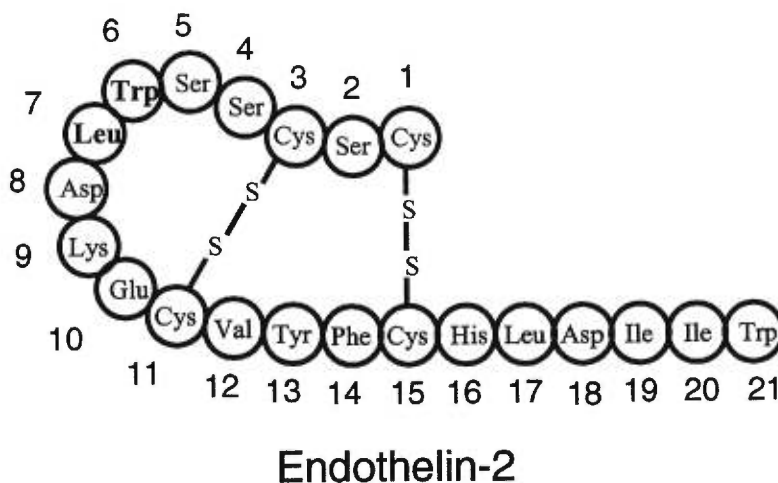
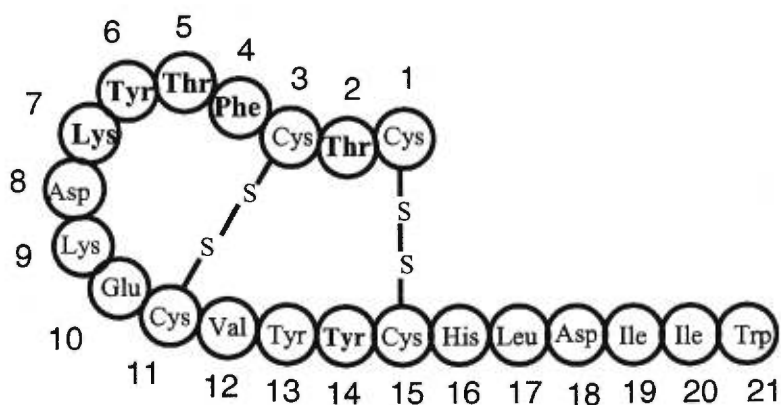


Figure 4.3. Structure chimique de l'endothéline-2.

Pour ce qui est de l'endothéline-3 (Figure 4.4), il y a 6 substitutions aux positions 2, 4, 5, 6, 7 et 14 : à la position 2, on retrouve la thréonine (à la place de la sérine), à la position 4 la phénylalanine (à la place de la sérine), à la position 5 la thréonine (à la place de la sérine), à la position 6 la tyrosine (à la place de la leucine), à la position 7 la lysine (à la place de la méthionine) et à la position 14 la tyrosine (à la place de la phénylalanine).



Endothelin-3

Figure 4.4. Structure chimique de l'endothéline-3.

4.2.2.3 Biosynthèses

L'ET-1 est obtenu à partir d'un précurseur de 203 acides aminés connu comme la préproendothéline-1 (hET-1)⁷ qui est coupée par des endopeptidases spécifiques en un résidu de 38 acides aminés, la proendothéline ou big ET-1 (Schéma 4.3). Les mécanismes de la biosynthèse du big ET-1 sont à ce jour mal connus. Le big-ET-1 est converti en ET-1 par une métalloprotéase à zinc, l'enzyme de conversion de l'endothéline ou ECE (endothelin converting enzyme).⁸ Cette enzyme synthétise l'ET-1 en effectuant l'hydrolyse entre le tryptophane et la valine du big ET-1.

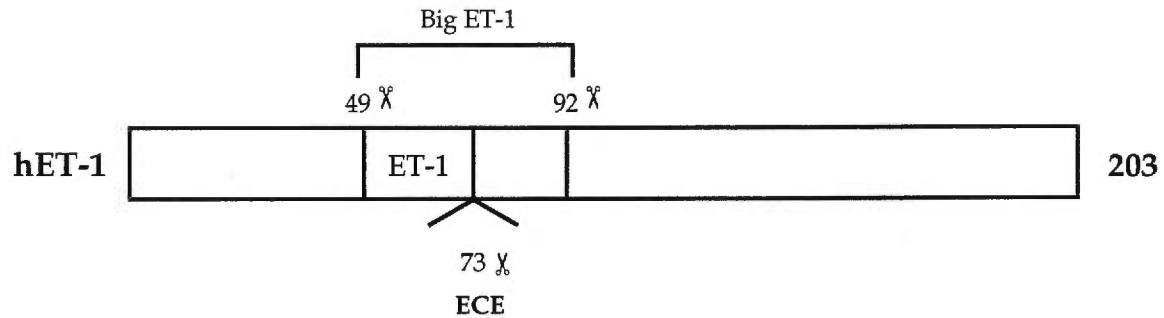


Schéma 4.3. Représentation du précurseur de l'endothéline-1.

En ce qui concerne les 2 autres endothélines, la biosynthèse se fait de la même façon (Schéma 4.4) ce qui donne les big ET-2 (résidu de 38 acides aminés) et big ET-3 (résidu de 41 acides aminés).

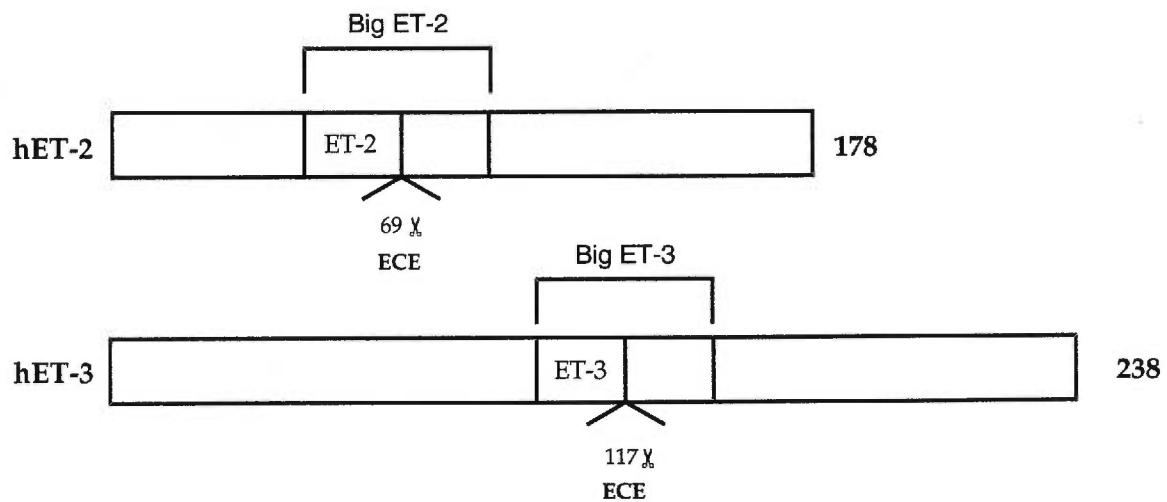


Schéma 4.4. Représentation des précurseurs des endothéline-2 et 3.

4.2.2.4 Effets biologiques des endothélines

Après cette découverte majeure, le professeur Yanagisawa a rapidement remarqué que les endothélines avaient pour propriété d'induire une vasoconstriction très importante de l'artère coronaire porcine. De nombreuses

études⁹ ont par la suite confirmé ces résultats. Les endothélines sont les plus puissants vasoconstricteurs actuellement connus, produits par le corps humain (Tableau 4.1).

Activités vasoconstrictives	EC ₅₀
ET-1	10 ⁻¹⁰ M
Angiotensine II	10 ⁻⁹ M
Vasopressine	10 ⁻⁸ M
Neuropeptide Y	10 ⁻⁸ M

Tableau 4.1. Activités vasoconstrictives

Les ET ont un rôle important dans le développement ou le maintien des dysfonctionnements de l'hypertension car ces peptides possèdent un pouvoir vasoconstricteur à effet prolongé sur le flux sanguin.¹⁰ Cette action vasoconstrictive a été démontrée dans la plupart des artères et des veines du corps humain, aussi bien de façon *in vitro* qu'*in vivo*.¹¹ La surproduction de l'ET a pour effet d'engendrer à long terme une hypertension soutenue que le corps ne peut supporter. Le sang véhiculant l'ET passe par de nombreux organes sensibles à ses pouvoirs vasoconstricteurs dont le coeur ce qui peut engendrer des troubles cardiaques (hypertension,¹² arythmie,¹³ crises cardiaques,...). Le coeur n'est pas le seul organe atteint : la surproduction de l'ET a pu être associée à d'autres maladies concernant notamment les anévrismes¹⁴, les dysfonctionnements des reins,¹⁵ le diabète,¹⁶ les ulcères...

4.2.2.5 Conclusion

Le rôle de l'enzyme de conversion de l'endothéline est primordial dans la biosynthèse des 3 endothélines car il transforme la *big* endothéline, précurseur inactif de l'endothéline, en endothéline. L'inhibition de cette biosynthèse stopperait les effets particulièrement puissants de ces polypeptides dont le dysfonctionnement est le responsable principal des nombreuses maladies citées précédemment.

4.2.3 Les Inhibiteurs

4.2.3.1 Introduction

La surproduction de l'ET étant un des facteurs intervenants dans de nombreuses maladies, le contrôle de cette production d'ET pourrait amener des effets thérapeutiques intéressants. Pour cela, 2 stratégies sont envisageables : agir sur les différents récepteurs d'endothélines ou agir sur la biosynthèse des endothélines. C'est à ce deuxième aspect que nous avons décidé de nous intéresser. L'ECE étant l'enzyme impliquée dans cette production, c'est donc à son inhibition que nous nous intéresserons.

4.2.3.2 Design des inhibiteurs de l'ECE

Pour obtenir des inhibiteurs d'ECE, plusieurs approches peuvent être envisagées. On peut faire une recherche systématique (screening) sur des librairies de molécules. L'ECE étant une métalloprotéase, on peut aussi tester d'autres inhibiteurs connus de métalloprotéases. Enfin, on peut se baser sur la structure d'un inhibiteur connu comme le phosphoramidon et la modifier.

4.2.3.2.1 En se basant sur les inhibiteurs de NEP et ACE

L'ECE n'est pas la seule métalloprotéase à zinc agissant au niveau de l'endothélium, la NEP (Neutral EndoPeptidase) fait partie aussi de cette famille de métalloprotéases.¹⁷ De plus, la NEP a une structure très similaire à celle de l'ECE.¹⁸ Il était donc normal de tester des inhibiteurs connus de la NEP sur l'ECE. Quelques composés aux valeurs d'inhibition intéressantes (Figure 4.5) ont été ainsi découverts dont le CGS 31447,¹⁹ qui se distingue par son effet inhibiteur de l'ordre de la nanomole (IC_{50} 17 nM) et le thiorphan (IC_{50} 10 μ M).²⁰

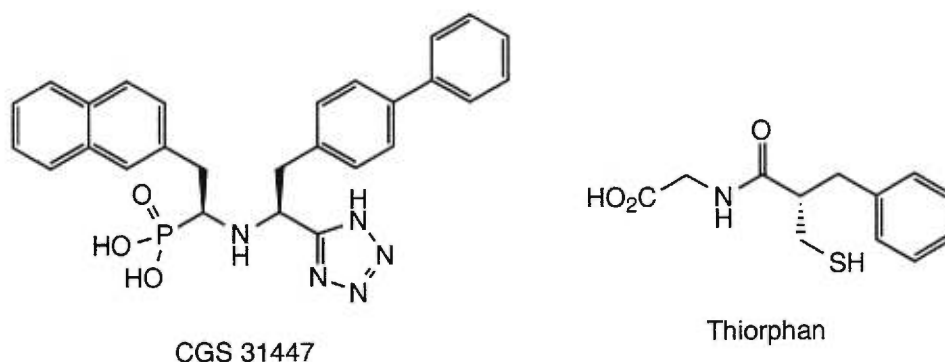


Figure 4.5. Quelques inhibiteurs d'ECE et de NEP

Une autre famille importante d'inhibiteurs de métalloprotéases, connue pour son efficacité envers la NEP ou l'ACE, a donné de bons résultats avec l'ECE : ce sont les acides hydroxamiques.²¹ Ces acides sont obtenus de façon naturelle ou synthétique et certains ont des valeurs d'inhibition de l'ordre de la nanomole comme le composé **2** (IC_{50} 0.01 nM) (Figure 4.6).²²

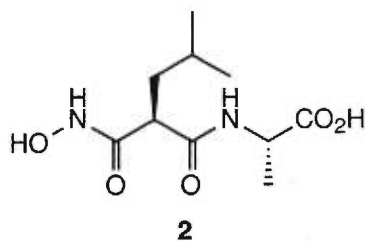


Figure 4.6. Structure d'un acide hydroxamique inhibiteur d'ECE

4.2.3.2.2 Par recherche systématique

Les grandes compagnies pharmaceutiques comprenant l'énorme intérêt thérapeutique de ce genre d'inhibiteurs ont utilisé leurs grandes librairies de molécules pour effectuer une recherche systématique. Les molécules représentées ci-dessous ont été reconnues comme inhibiteurs potentiels d'ECE (Figure 4.7).

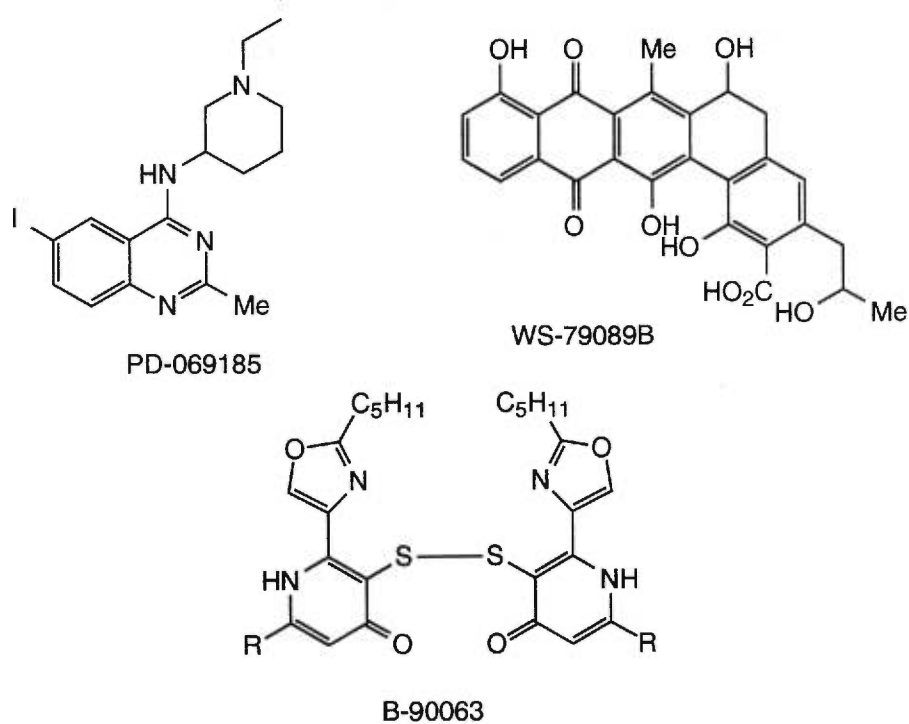


Figure 4.7. Molécules obtenues par screening

Ainsi la quinazoline trisubstituée PD-069185 propose une nouvelle structure d'inhibiteur d'ECE mais son activité inhibitrice reste faible (IC_{50} 0.1 μ M).²³ Quant au composé WS-79089B, il est issu de la fermentation du *Streptosporangium roseum* et est spécifique à l'inhibition d'ECE (IC_{50} 0.1 μ M).²⁴ Le composé B-90063 est obtenu à partir de la bactérie marine *Blastobacter* (IC_{50} 1.0 μ M).²⁵ On peut remarquer que tous ces inhibiteurs ont des structures non peptidiques, ils ont ainsi plus de chances de se rendre jusqu'à leur cible sans être métabolisés par le corps humain au cours de leur transit.

4.2.3.2.3 En se basant sur la structure du phosphoramidon

Le phosphoramidon **4.1** (IC_{50} 0.5 μ M)²⁶ est connu pour supprimer la production de l'ET-1 des cellules endothéliales en bloquant l'action de l'ECE sur le big ET-1. De nombreux groupes de recherches ont choisi sa structure comme point de départ pour de nouveaux composés (Figure 8). Une des premières modifications fut effectuée sur le L-rhamnose avec des résultats discutables car certains groupes le considèrent inutile²⁷ à l'inhibition alors que d'autres le trouvent essentiel comme le démontre le composé **4.3** (IC_{50} cent fois plus actif que le phosphoramidon **4.1**).²⁸

Le groupe phosphonyle est quant à lui indispensable à l'inhibition, les chercheurs supposent qu'il est requis pour se lier à l'atome de zinc du site actif. La substitution de la L-leucine pour d'autres groupements alkyles est efficace ainsi le composé **4.4**, où le groupement isopropyle est remplacé par le 4-biphényle, a un IC_{50} de l'ordre de la micromole. La modification du tryptophane entraîne par contre une absence totale d'inhibition, ce qui suggère que le groupement aromatique du tryptophane soit indispensable à l'inhibition.

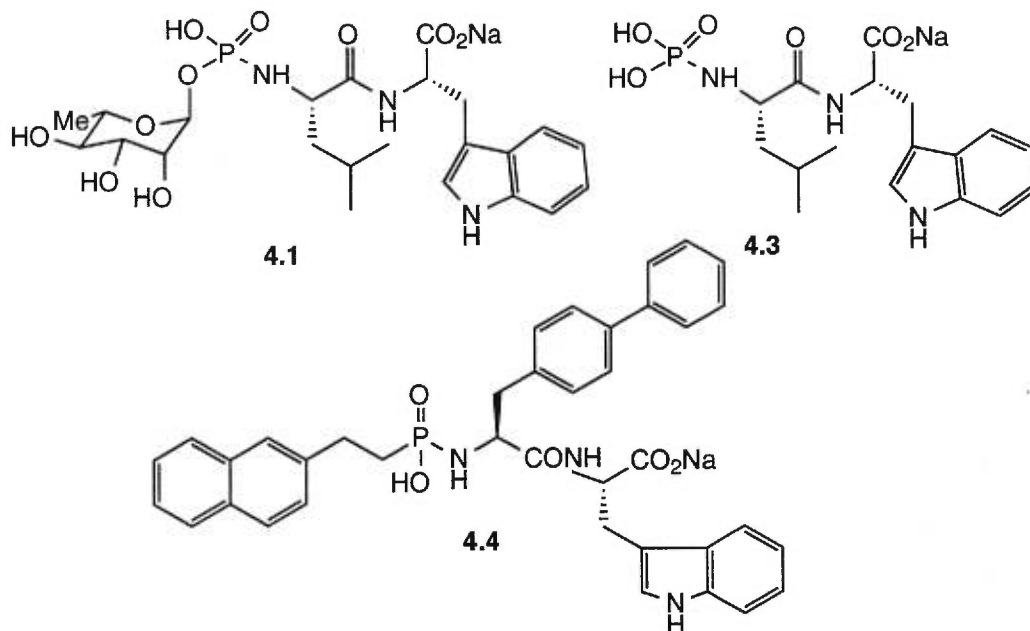


Figure 4.8. Quelques inhibiteurs basés sur la structure du phosphoramidon

4.2.4 Conclusion

Les endothélines sont des composés aux activités biologiques importantes mais le dérèglement de leur biosynthèse entraîne de graves problèmes de santé. La recherche de composés capables d'inhiber l'ECE, enzyme impliquée dans ces biosynthèses, a donné de nombreux inhibiteurs aux structures variables.

4.3 Travaux réalisés

4.3.1 Introduction

En nous basant sur la structure du phosphoramidon **4.1**, inhibiteur connu de métalloprotéases à zinc, nous proposons un nouvel inhibiteur d'ECE, enzyme impliquée dans la biosynthèse de l'ET-1 à partir du big ET-1 (Figure 4.9). Notre modification se fera au niveau du phosphore, nous incorporerons la phosphonamide dans le cycle hémiacétallique du L-rhamnose pour nous donner le composé **4.5**. La fonction phostone ainsi créée ne permet pas de garder la fonction acide initialement présente sur le phosphoramidon, son absence pourra donc être évaluée.

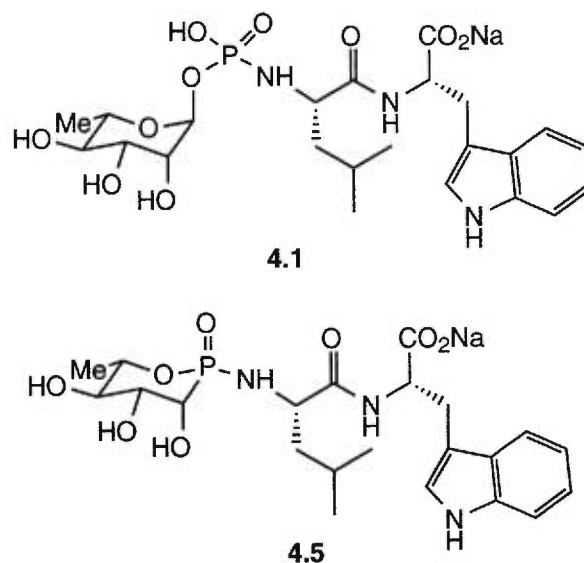


Figure 4.9. Structure du phosphoramidon et de son analogue phostone

4.3.2 Retrosynthèse

Le composé **4.5** est constitué de la L-rhamnophostone et du dipeptide L-Leu-L-Trp (Schéma 4.5). La synthèse de la L-rhamnophostone aura comme produit de départ le L-rhamnose et le dipeptide sera synthétisé à partir de la L-leucine et du L-tryptophane.

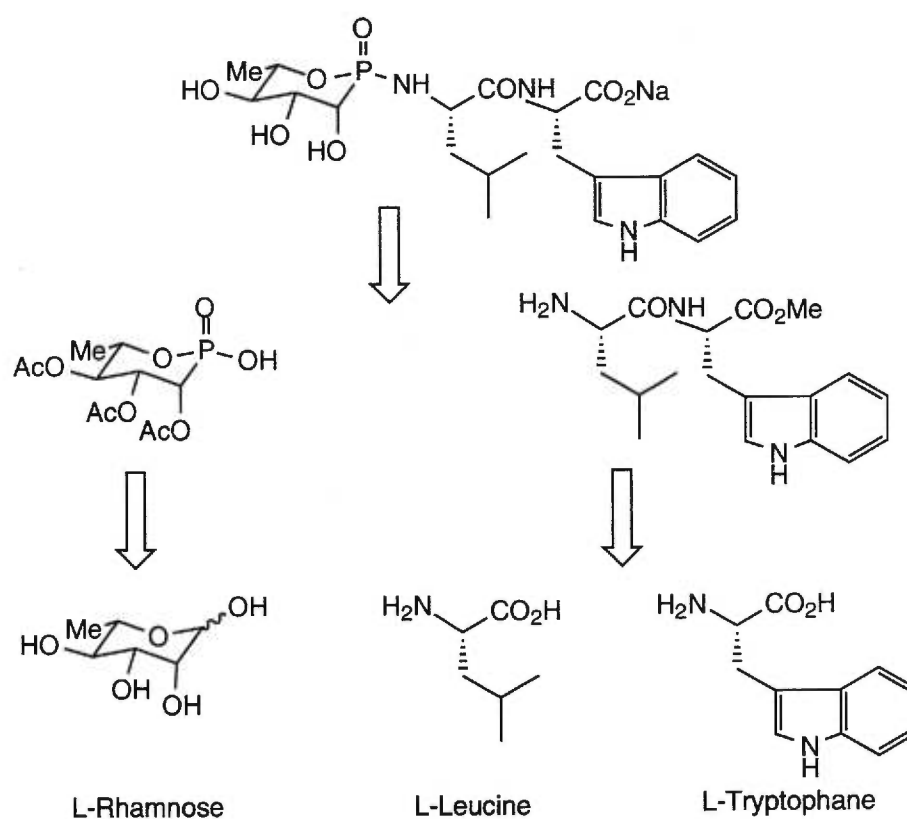


Schéma 4.5. Retrosynthèse

4.3.3 Synthèse

Nous avons divisé cette synthèse en trois étapes importantes : la synthèse de la L-rhamnophostone à partir du L-rhamnose, la synthèse du dipeptide H-Leu-Trp-OMe et le couplage de ces deux composés.

4.3.3.1 Synthèse de la L-rhamnophostone

Le premier intermédiaire important de notre synthèse de la L-rhamnophostone est le L-rhamnal **4.9** (Schéma 4.6). L'acétylation du L-rhamnose **4.6** par la méthode classique (anhydride acétique dans la pyridine en présence d'une quantité catalytique de DMAP) nous donne le L-rhamnose polyacétylé **4.7**. Une fois l'acétylation effectuée, on synthétise le dérivé bromé **4.8** avant d'utiliser de la poudre de zinc en lieu d'acide pour donner le L-rhamnal **4.9**²⁹ (57% sur 3 étapes).

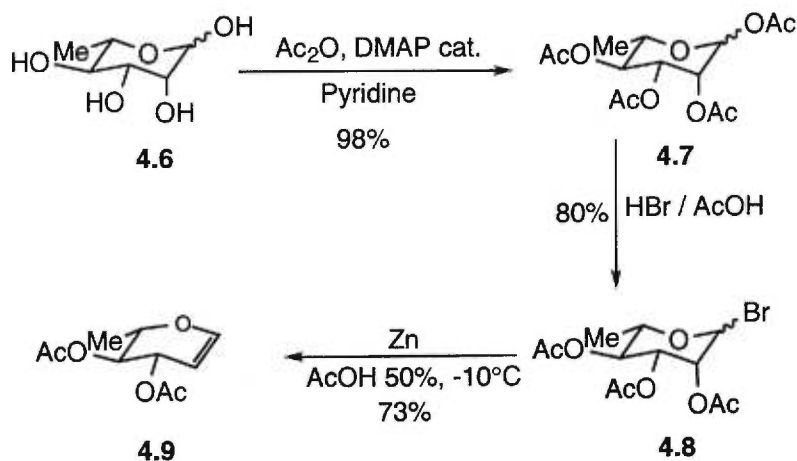


Schéma 4.6. Synthèse du L-rhamnal **4.9**

La coupure oxydante du lien situé entre les carbones 1 et 2 est nécessaire pour incorporer le phosphonate. Pour briser ce lien, nous effectuons une ozonolyse ce qui nous donne de nouvelles fonctionnalités : un groupement formyle et une fonction aldéhyde. C'est en effectuant la réaction d'Abramov³⁰ en milieu acide³¹ sur cet aldéhyde que les phosphonates **4.10** et **4.11** sont obtenus dans un rapport de 2 / 1 (déterminé par RMN ³¹P) (Schéma 4.7). Les 2 isomères sont inséparables par chromatographie sur gel de silice, même en modifiant les éluants (Acétate d'éthyle/Hexanes, Toluène/Acétone, Acétate d'éthyle/Hexanes /Dichlorométhane, ...).

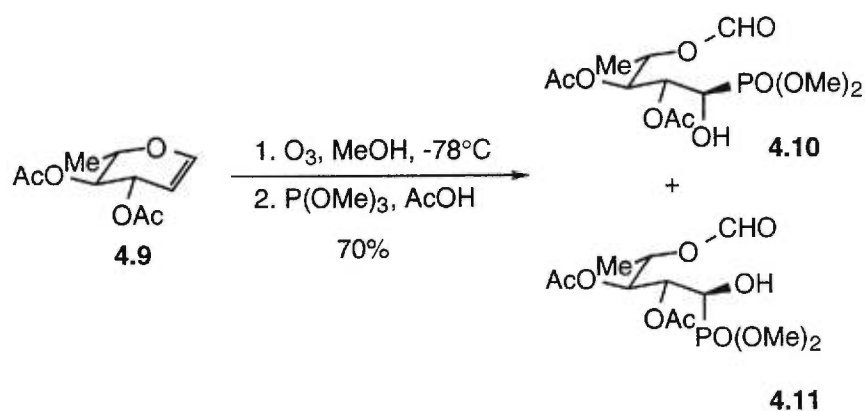


Schéma 4.7. Synthèse des phosphonates

La cyclisation intramoléculaire des phosphonates **4.10** et **4.11** se fait en utilisant une solution de méthanoate de sodium dans du méthanol. Nous substituons au carbone 1, présent sous la forme d'un groupement formyle et éliminé lors de la réaction, un phosphonate. À partir du mélange de phosphonates **4.10** et **4.11**, nous obtenons 4 phosphonates cycliques **4.12a,b** et **4.13a,b** (les phostones) soient 2 isomères pour chaque phosphonate acyclique (isomères α et β au niveau de l'atome de phosphore) (Schéma 4.8). Malheureusement, nous n'avons toujours pas réussi à résoudre le problème de la séparation chromatographique. L'accès aux acides phosphoniques **4.14** et **4.15**, en utilisant le bromure de triméthylsilyle,³² ne résout toujours pas ce problème.

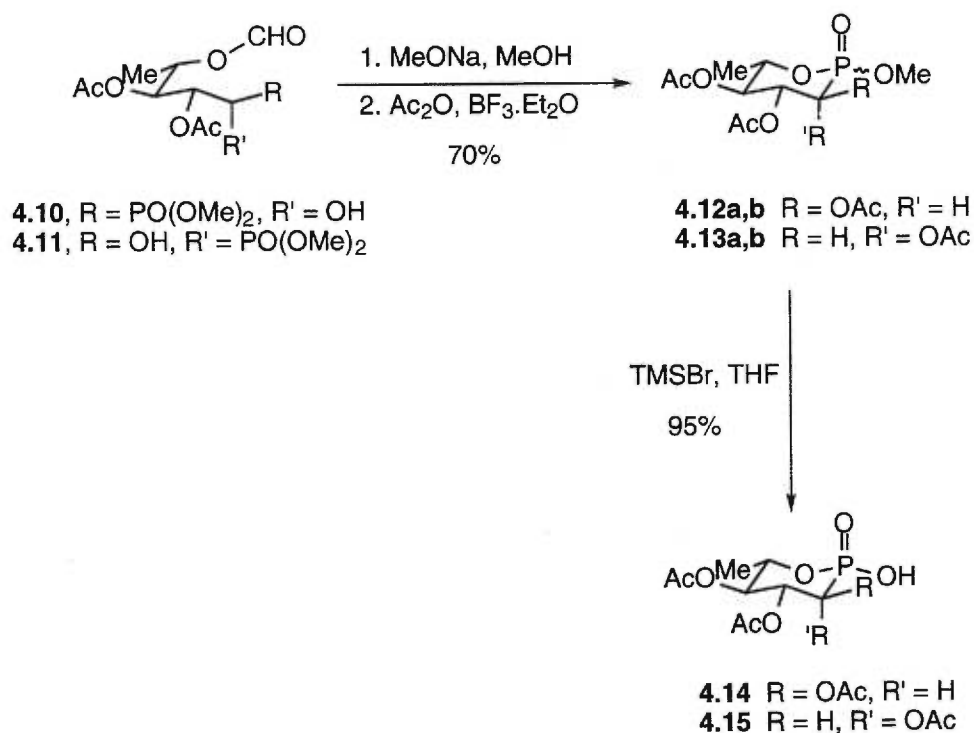


Schéma 4.8. Synthèse des acides phosphoniques

4.3.3.2 Synthèse du dipeptide

La synthèse du dipeptide commence par la préparation des deux peptides : la L-leucine a sa fonction amine protégée par un groupement Cbz³³ pour donner le composé **4.16** et le L-tryptophane est estérifié pour donner le composé **4.17** (Schéma 4.9).³⁴

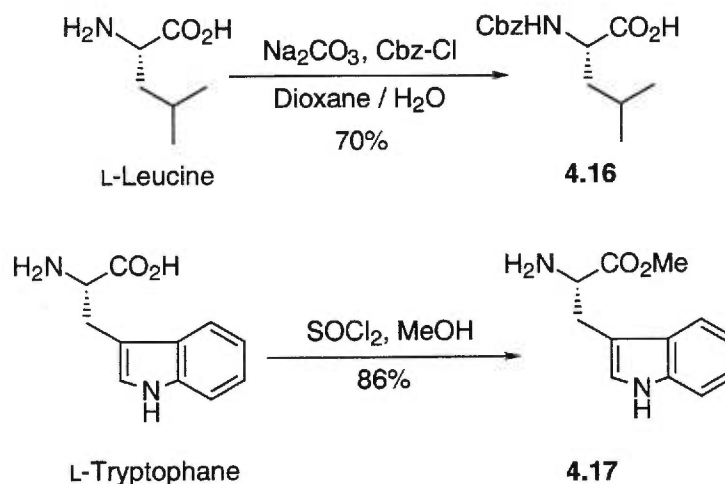


Schéma 4.9. Préparation des peptides

Pour la synthèse du dipeptide, nous avons utilisé la méthode de couplage utilisant l'EDC et le HOBT.³⁵ Une fois le dipeptide **4.18** obtenu, il nous reste à déprotéger la fonction amine de la L-leucine par une hydrogénation ce qui nous donne le dipeptide désiré **4.19** (Schéma 4.10).

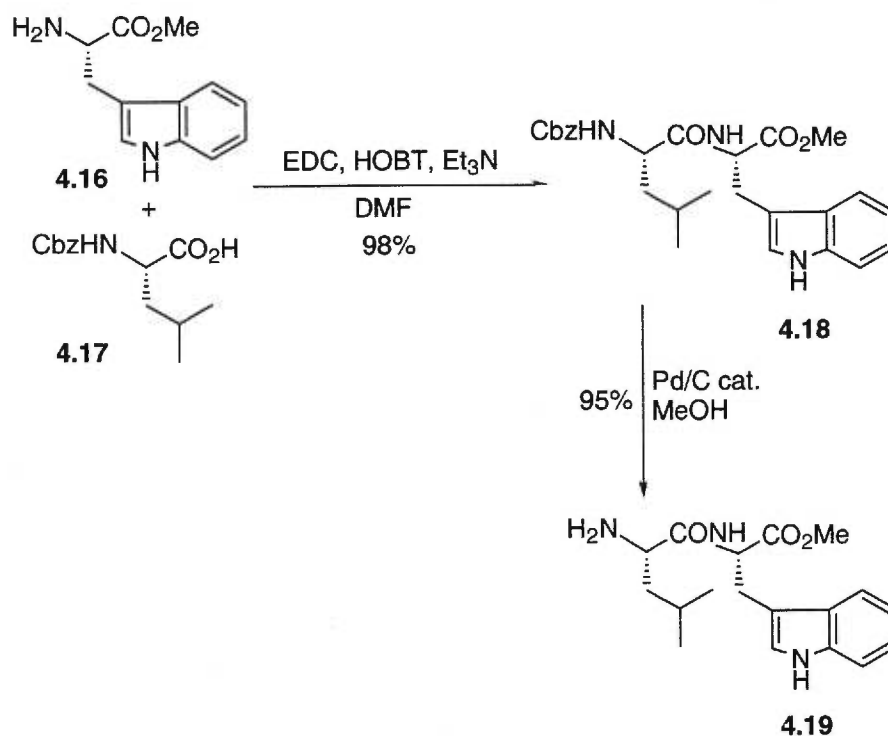


Schéma 4.10. Synthèse du dipeptide **4.19**

4.3.3.3 Couplage entre la L-rhamnophostone et le dipeptide

4.3.3.3.1 Introduction

L'étape finale de la synthèse consiste à coupler la L-rhamnophostone et le dipeptide, pour cela plusieurs méthodes sont possibles. Avant de continuer notre synthèse, nous avons répertorié la plupart de ces méthodes.³⁶

4.3.3.2 Revue des différentes méthodes disponibles

Les dérivés à base de phosphore, au degré d'oxydation V, sont des substitués d'état de transition de nombreuses réactions catalysées par des enzymes et sont utilisés dans l'étude du fonctionnement de ces enzymes et comme inhibiteurs.³⁷ D'une manière générale, les phosphonates et les phosphonamides sont préparés à partir de chlorures d'acides phosphoniques ou directement à partir d'acides phosphoniques.

4.3.3.2.1 Couplage à partir d'acides phosphoniques

L'activation des acides phosphoniques (Schéma 4.11), généralement obtenus à partir de phosphonates en employant le bromure de triméthylsilyle,³⁸ est la première méthode envisagée pour créer ce lien P-O ou P-N. Elle peut se faire de différentes manières dont en voici un bref exposé.

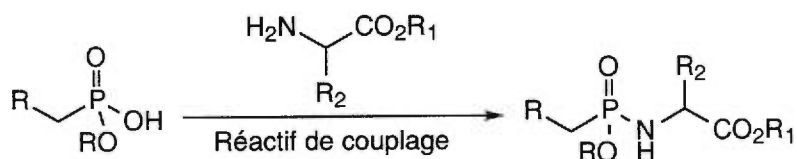


Schéma 4.11. Couplage à partir de l'acide phosphonique

4.3.3.2.1.1 Par la réaction de Mitsunobu

La réaction de Mitsunobu³⁹ a l'avantage de se faire dans des conditions neutres et permet ainsi l'emploi de différents groupes protecteurs. Son emploi dans la synthèse de phosphonates est due au professeur D.A. Campbell.⁴⁰ C'est une méthode efficace donnant de bons rendements (~75%) même avec des alcools encombrés. Cette méthode permet aussi d'avoir accès à des mono esters d'acides phosphoniques (Schéma 4.12).

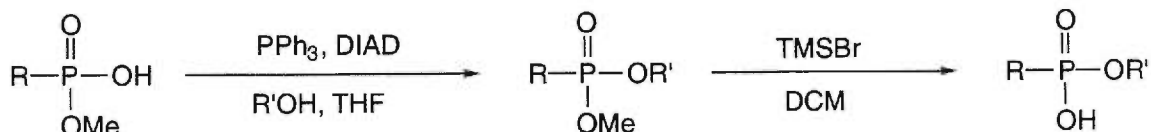


Schéma 4.12. Synthèse de phosphonates par la réaction de Mitsunobu

4.3.3.3.2.1.2 Par utilisation du BOP-Cl

Le réactif de couplage BOP-Cl (chlorure de *N,N*-bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphorodiamidique) s'est avéré très efficace dans de nombreux couplages peptidiques. Le mécanisme de son action est basé sur la catalyse intramoléculaire qui se passe entre le carbonyle du noyau oxazolidinone et l'anhydride phosphoreux mixte (Schéma 4.13).⁴¹ Ce réactif a l'avantage de réagir plus rapidement avec les anions carboxylates qu'avec les amines secondaires ce qui permet son usage dans des réactions *one-pot*.

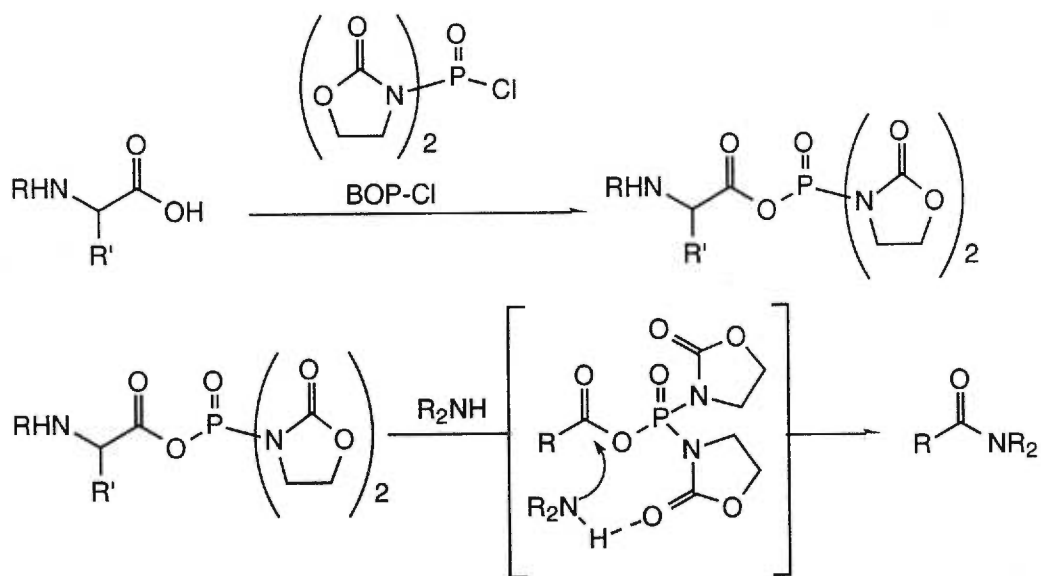


Schéma 4.13. Mécanisme du couplage avec BOP-Cl

Cependant, l'utilisation du BOP-Cl amène plusieurs désavantages car ce réactif est sensible aux encombrements stériques. La pureté du réactif varie aussi suivant les fournisseurs et il se dégrade rapidement.⁴²

4.3.3.3.2.1.3 Par utilisation du BOP ou du PyBOP

En 1975, une équipe de chercheurs français a mis au point un nouvel agent de couplage peptidique, l'hexafluorophosphate de benzotriazolyl N-oxytrisdiméthylamino phosphonium ou BOP (Figure 4.10).⁴³ Quelques années plus tard, ce réactif fut modifié en remplaçant la diméthyle amine par la pyrrolidine pour des raisons toxicologiques (Figure 4.10).⁴⁴

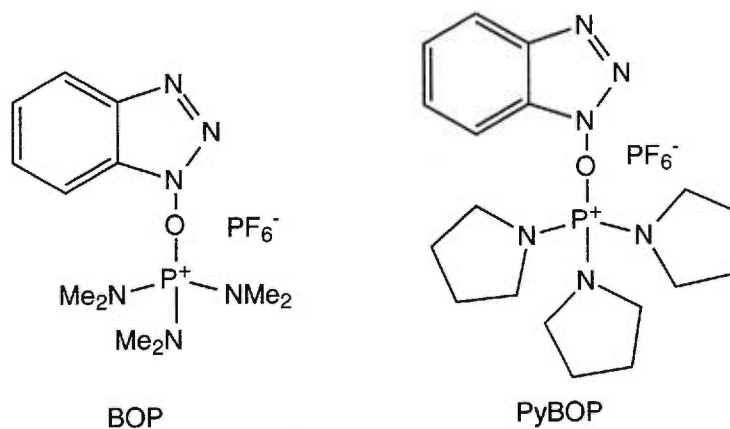


Figure 4.10. Structures du BOP et du PyBOP

Ces réactifs se révélèrent d'excellents agents de couplage pour la synthèse de phosphonates symétriques ou asymétriques (Schéma 4.14).⁴⁵ Cette réaction a l'avantage de se faire dans des conditions neutres permettant ainsi l'emploi de différents groupes protecteurs et elle donne d'excellents rendements même avec des alcools encombrés.

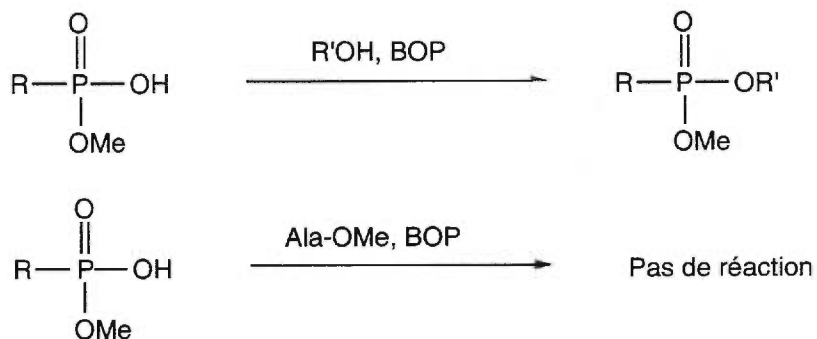


Schéma 4.14. Réactivité du BOP

Cependant lorsqu'on essaye de l'employer avec un peptide, il n'y a pas formation de la phosphonamide correspondante ce qui peut s'avérer être un avantage dans des réactions de couplage peptidique en présence d'acide phosphonique.⁴⁶

4.3.3.3.2.1.4 Couplage à partir du chlorure d'acide phosphonique

La synthèse de phosphonates ou de phosphonamides se fait généralement à partir de chlorures d'acides phosphoniques, une espèce plus réactive que l'acide phosphonique (Schéma 4.15). Il existe cependant plusieurs méthodes pour accéder aux chlorures d'acides phosphoniques, de plus la réactivité de ces chlorures peut être augmentée par l'utilisation d'additifs.

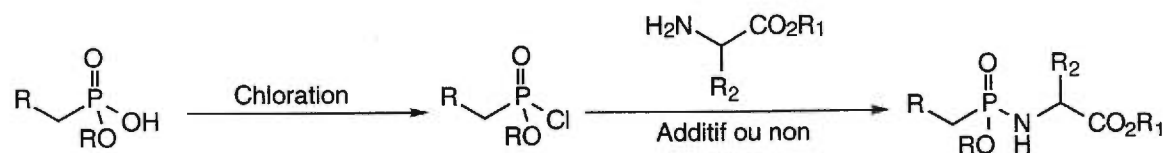


Schéma 4.15. Couplage à partir du chlorure d'acide phosphonique

4.3.3.3.2.2 Synthèse du chlorure d'acide phosphonique

4.3.3.3.2.2.1 Utilisation du pentachlorure de phosphore

Le pentachlorure de phosphore (PCl_5) est un des réactifs les plus anciens employés dans la chloration d'acide (carboxylique ou phosphonique) (Schéma 4.16). Mais il est très corrosif, très sensible à l'humidité et s'emploie généralement avec du benzène comme solvant (produit hautement cancérigène) ce qui en fait un réactif très difficile à manipuler. Cependant il a été utilisé dans la synthèse de phosphonamide dès le début des années 70 avec de bons résultats.⁴⁷ Son emploi avec des peptides en fait une méthode de choix pour notre synthèse.

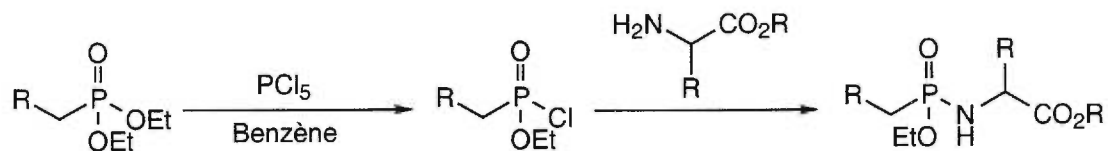


Schéma 4.16. Utilisation du PCl_5

4.3.3.3.2.2.2 Utilisation du tétrachlorure de carbone

Le tétrachlorure de carbone (CCl_4) est une des premières méthodes utilisées pour la phosphorylation des amines. Cette réaction, effectuée en présence d'une base (cyclohexylamine, morpholine, benzylamine, ...), se fait en 2 étapes (Schéma 4.17).⁴⁸

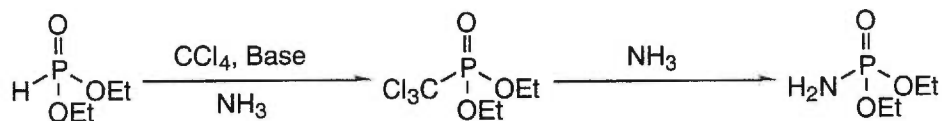


Schéma 4.17. Action du tétrachlorure de carbone

Cependant l'extrême toxicité du tétrachlorure de carbone (produit hautement cancérigène) rend cette méthode très difficile à utiliser de nos jours.

4.3.3.3.2.2.3 Utilisation du tris(2,4,6-tribromophénoxy)-dichlorophosphorane

Une autre méthode possible de chloration se fait par l'utilisation du tris(2,4,6-tribromophénoxy)-dichlorophosphorane (BDCP) (Schéma 4.18). Cette méthode fut surtout utilisée pour la synthèse d'oligonucléotides.⁴⁹

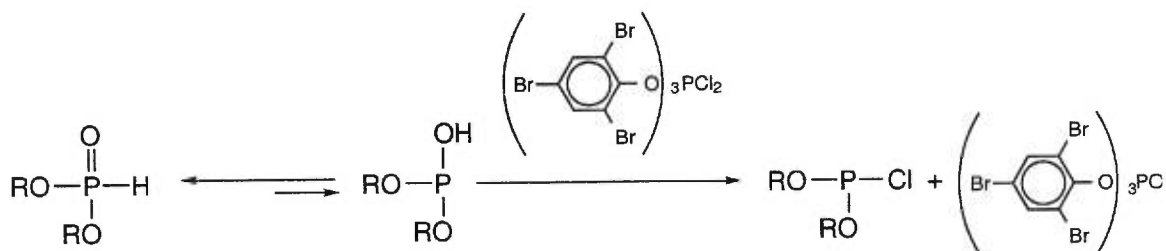


Schéma 4.18. Utilisation du BDCP

4.3.3.3.2.2.4 Utilisation du dichlorotriphénylphosphorane

Un autre réactif de chloration est le dichlorotriphénylphosphorane (Ph_3PCl_2) (Schéma 4.19). Contrairement aux autres méthodes précédemment citées, les conditions expérimentales sont plus douces (réactions effectuées à température ambiante et sous-produits inactifs) et moins toxiques (le solvant utilisé est le chloroforme).



Schéma 4.19. Action du dichlorotriphénylphosphorane.

Ce réactif réagit d'une manière similaire au pentachlorure de phosphore sauf que le sous-produit formé est l'inactif oxyde de triphénylphosphine (Schéma 4.19).⁵⁰

4.3.3.3.2.2.5 Utilisation du chlorure de thionyle

Un des réactifs les plus utilisés pour la synthèse de chlorure d'acide phosphonique est le chlorure de thionyle (SOCl_2) (Schéma 4.20). Cependant les désavantages du chlorure de thionyle sont cependant nombreux : décomposition rapide, pureté du réactif et difficulté de manipulation.

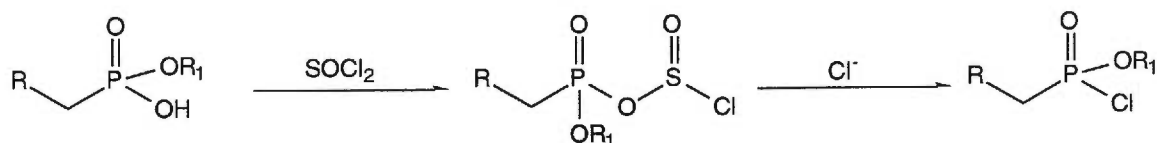


Schéma 4.20. Action du chlorure de thionyle

4.3.3.3.2.2.6 Utilisation du chlorure d'oxalyle

L'une des méthodes les plus employées actuellement est l'utilisation du chlorure d'oxalyle (COCl_2) en présence d'une quantité catalytique de DMF. Le réactif de Vilsmeier ainsi synthétisé réagit avec l'acide pour donner le chlorure correspondant (Schéma 4.21). Lorsque cet intermédiaire réagit avec l'acide, il génère de l'acide chlorhydrique comme sous-produit. Ce sous-produit très

acide pourrait poser un problème vis-à-vis des différents groupements protecteurs présents sur la molécule ainsi qu'envers la liaison P-N.⁵¹

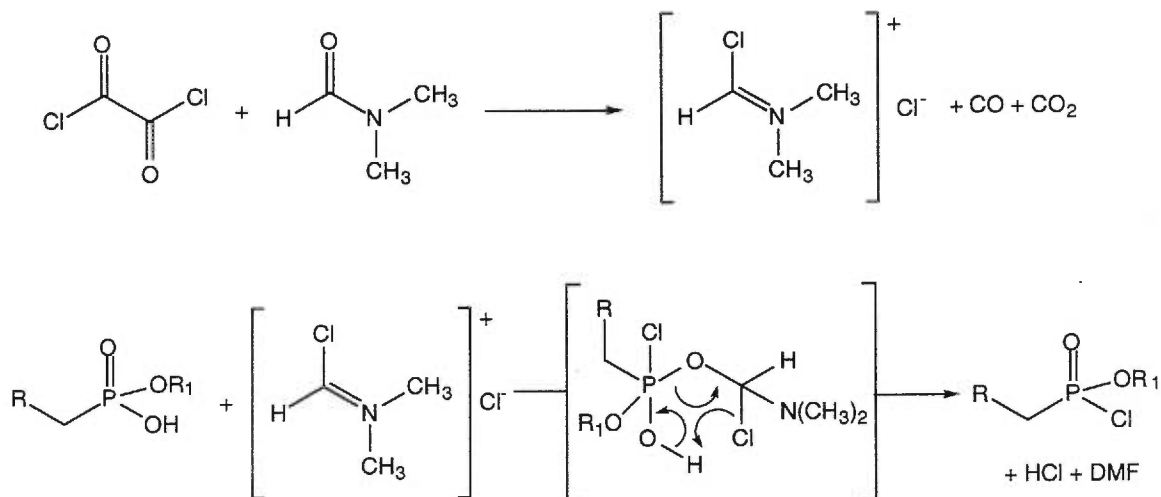


Schéma 4.21. Synthèse du chlorure d'acide phosphonique

4.3.3.3.2.2.7 Utilisation d'additifs lors de la réaction de couplage

La synthèse des phosphonates à partir des chlorures d'acides phosphoniques peut donner des résultats aléatoires. L'emploi d'additifs pour obtenir des intermédiaires plus réactifs et de meilleurs rendements est maintenant abordé.

4.3.3.3.2.2.7.1 Et₂NTMS

La liaison phosphonamide P-N est sensible au pH or la plupart des méthodes synthétisant le chlorure d'acide donnent, comme sous-produit, de l'acide chlorhydrique. Afin de contrecarrer cet effet néfaste, des chercheurs ont eut l'idée d'employer de la N,N-diéthyltriméthylsilylamine (Et₂NTMS) avant d'effectuer la synthèse des chlorures d'acides. L'ester de triméthylsilyle est l'intermédiaire qui réagira avec les agents chlorants comme le chlorure d'oxalyle (Schéma 4.22).⁵² Lors de la réaction, le chlorotriméthylsilane est

principalement libéré ce qui limite le contact du substrat avec l'acide chlorhydrique.

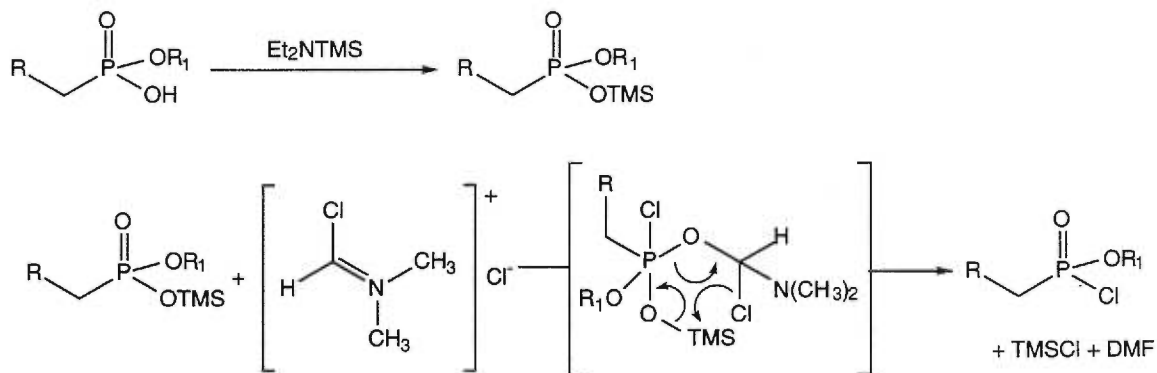


Schéma 4.22. Utilisation du Et_2NTMS

4.3.3.3.2.2.7.2 Par transestérification des *p*-nitrophényle phosphonates

La synthèse de phosphonates asymétriques peut se faire par transestérification des phosphonates de *p*-nitrophényle (PNP) avec différents alcools en présence de DBU.⁵³ Une fois le chlorure d'acide phosphonique synthétisé, sa réaction avec le *p*-nitrophénolate de sodium donne un phosphonate de *p*-nitrophényle (Schéma 4.23).

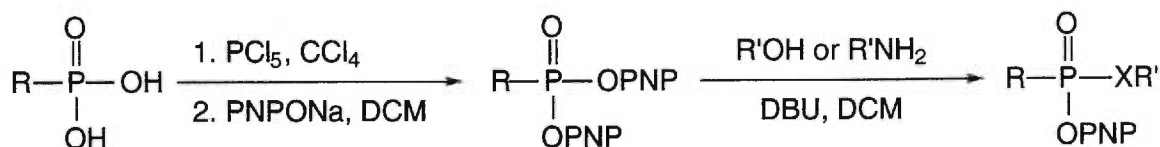


Schéma 4.23. Transestérification avec les PNP

Cette réaction est aussi efficace avec les alcools qu'avec les amines. Les auteurs rapportent de hauts rendements (~80%) et de courts temps de réactions (de 10 minutes à 3 heures selon la quantité d'alcool ou d'amine employée). Quant à la base employée, le DBU donne de meilleurs résultats que le *t*-butanoate de potassium, l'hydrure de sodium, la triéthylamine ou la *N*-éthylmorpholine. Cette méthode n'a cependant pas été décrite avec des peptides.

4.3.3.3.2.2.7.3 HOBT et HOAT

Un des additifs le plus employés dans le couplage peptidique est le 1-hydroxybenzotriazole (HOBT) (Figure 4.11). Il est utilisé avec des carbodiimides (EDC, DCC) ou d'autres agents de couplage et il peut aussi être employé seul. En 1993, le professeur Carpino améliora l'efficacité du HOBT en créant le HOAT, 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (Figure 4.11).⁵⁴

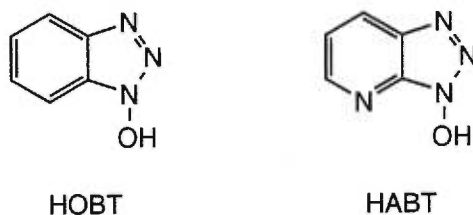


Figure 4.11. Structures du HOBT et HOAT

L'utilisation de ces additifs dans la synthèse de phosphonates a surtout été illustrée avec des nucléosides et des nucléotides (Schéma 4.24).⁵⁵

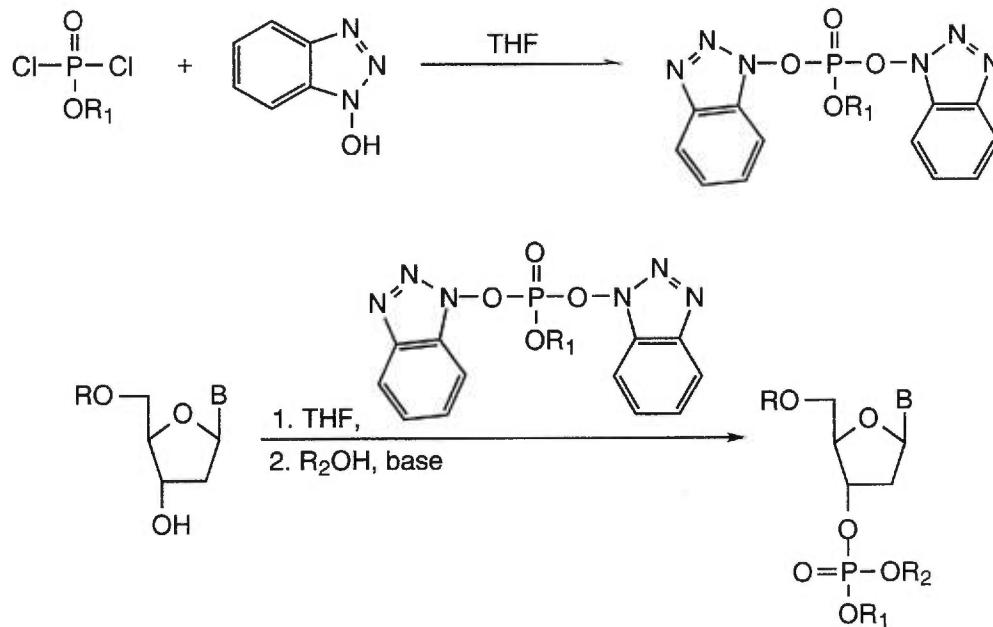


Schéma 4.24. Utilisation du HOBT

4.3.3.3.2.2.7.4 Et₃N

En 1995, le professeur A.B. Smith III proposa l'utilisation de triéthylamine après la formation du chlorure d'acide phosphonique, il en résulte la synthèse d'un sel d'ammonium (Schéma 4.25).⁵⁶ Ce sel se révéla être un excellent intermédiaire de réaction car il réagit plus rapidement vis-à-vis des alcools, amines ou même peptides que le chlorure d'acide phosphonique seul.

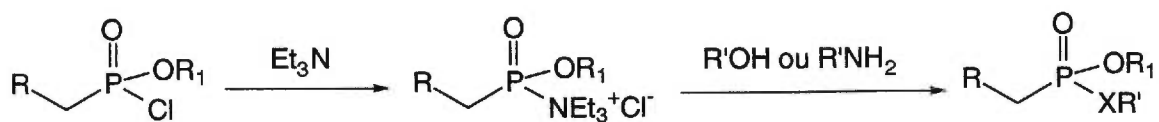


Schéma 4.25. Formation du sel d'ammonium

4.3.3.3.2.7.5 *Tetrazole*

Le 1*H*-tetrazole a l'avantage de catalyser la mono addition d'alcools sur des dichlorures d'acide phosphonique (Schéma 4.26).⁵⁷ La synthèse de phosphonates mixtes est difficile car les alcools encombrés donnent généralement de faibles rendements (<20%).

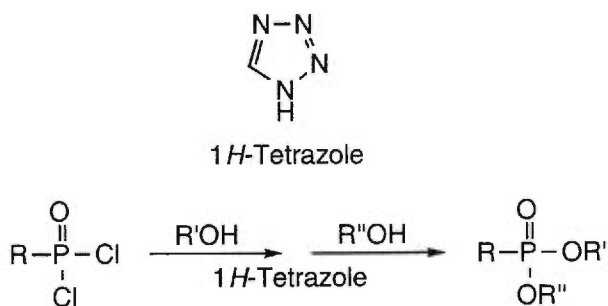


Schéma 4.26. Utilisation du 1*H*-tetrazole pour la synthèse de phosphonates mixtes

4.3.3.3.3 Couplage et déprotection finaux

Les méthodes de synthèse nous permettant de coupler les phosphones **4.14** et **4.15** avec le dipeptide **4.19** (Schéma 4.27) sont donc très nombreuses. Nous en avons essayé plusieurs dont les résultats sont résumés dans le tableau 4.2.

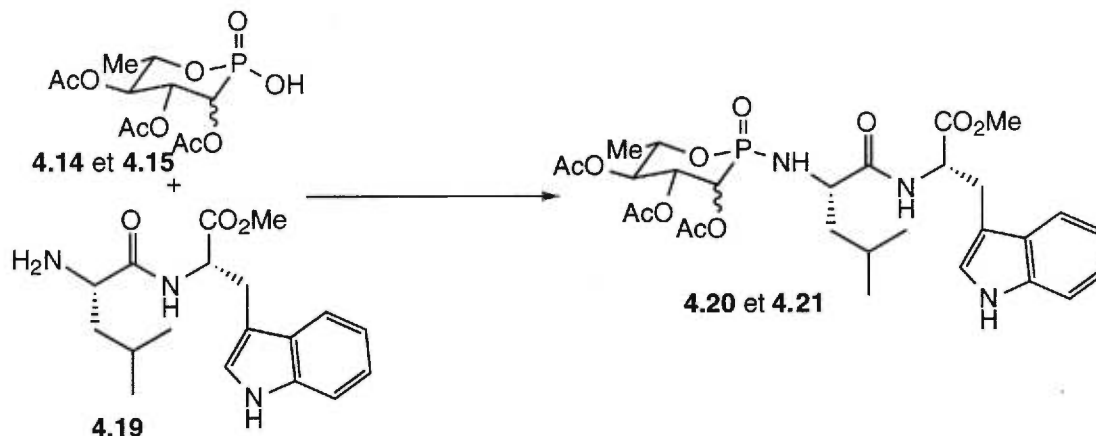


Schéma 4.27. Couplage entre les phosphonates et le dipeptide

Méthode	Rdt (%)	Commentaires
POH + Mitsunobu	0	Pas de résultats même avec des amines
POH + BOP-Cl	10	Le reste du produit de départ est récupéré
POH + BOP ou PyBOP		Non tentée
POCl + Et ₂ NTMS	5-50	Le reste du produit de départ est récupéré
POCl + pNitroPhényl		Non tentée
POCl + Et ₃ N	65	Le reste du produit de départ est récupéré
POCl + Tetrazole	Traces	Rdt non amélioré même en modifiant les conditions expérimentales
POCl + HOBT ou HOAT	Traces	Rdt non amélioré même en augmentant le nb d'équivalents deHOBT ou HOAT

Tableau 4.2. Méthodes essayées

Pour le couplage, nous pouvions utiliser l'acide phosphonique ou le chlorure d'acide phosphonique. Avec l'acide phosphonique comme produit de départ, nous avons tenté 2 méthodes (la méthode au BOP ou PyBOP étant connue pour ne pas fonctionner avec les peptides) :

- Mitsunobu : cette méthode n'a donné aucun produit désiré et s'est avérée inactive même avec des amines primaires ou secondaires.
- BOP-Cl : le rendement est très faible (10%) et même après de nombreuses tentatives d'optimisation (nb éq. de BOP-Cl ou de dipeptide, solvant, température, temps de réaction) le rendement est resté faible.

Pour le cas où nous avons utilisé le chlorure d'acide phosphonique, il nous fallait tout d'abord choisir parmi les différentes méthodes de chloration que nous avons abordées. En examinant les articles les plus récents traitant ce sujet, il apparaît que le chlorure d'oxalyle/DMF est la méthode la plus couramment utilisée; c'est donc ce moyen de chloration qui a fourni le chlorure d'acide phosphonique. Quant aux additifs à utiliser en complément de la chloration, nous en avons utilisé 4 :

- Et₂NTMS : le rendement va de 5 à 50% sans que l'on puisse le contrôler
- HOBT/HOAT : nous n'obtenons que des traces des produits désirés. Des tentatives d'optimisation n'ont pas pu améliorer le rendement.
- Et₃N : c'est la méthode que nous avons gardée, le rendement de 65% a été obtenu en optimisant les différents temps de réaction lors de la formation du chlorure d'acide phosphonique (1h à 0°C) et lors de la formation du sel d'ammonium (5 min à température ambiante).
- Tetrazole : nous n'obtenons que des traces des produits désirés. Des tentatives d'optimisation n'ont pas pu améliorer le rendement.

4.3.3.3.4 Séparation et déprotection finales

Nous avons donc retenu la méthode de couplage passant par un chlorure d'acide phosphonique avec la triéthylamine comme additif (Schéma 4.28). En partant du mélange d'isomères d'acide phosphoniques **4.14** et **4.15**, nous avons obtenu des produits **4.20** et **4.21**, séparables par chromatographie sur silice, avec un ratio de 2 pour 1 (identique à celui des produits de départ).

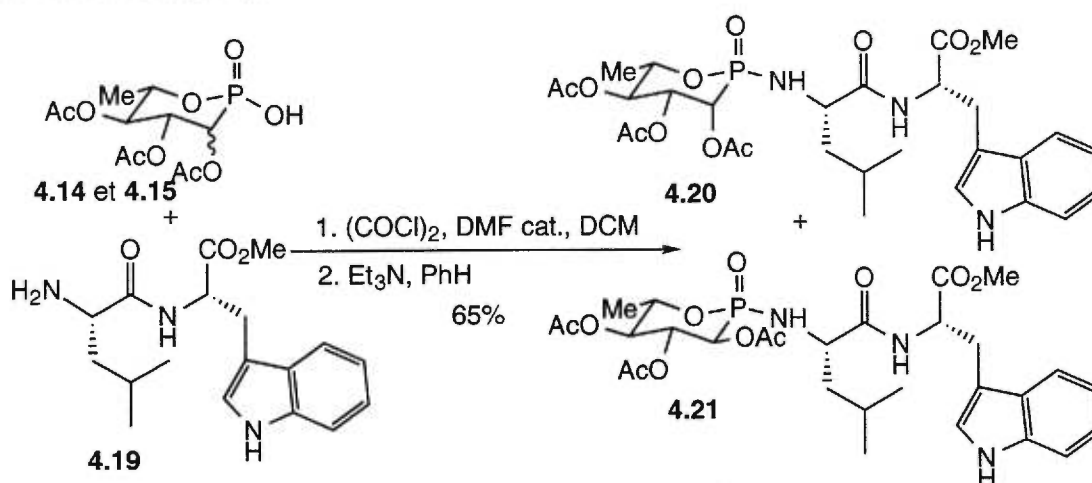


Schéma 4.28. Réaction de couplage

La stéréochimie des composés **4.20** et **4.21** est déterminée par la RMN du proton. En effet, la seule différence entre les 2 isomères se fait au niveau du proton H₃ situé en α du phosphore sur le saccharide. Ce proton est identifié par la RMN 2D (COSY : corrélation proton-proton). Dans le cas du composé **4.20**, ce proton a un déplacement chimique de 5.35 ppm et il se présente sous la forme d'un doublet dédoublé ($J = 2.8$ et 10.4 Hz). Quant au composé **4.21**, le proton H₃ a un déplacement chimique de 5.00 ppm et il se présente sous la forme d'un doublet dédoublé ($J = 6.7$ et 10.4 Hz). La valeur de la constante de couplage entre un proton situé en α d'un phosphore et l'atome de phosphore étant toujours de l'ordre de 10 Hz, les constantes de couplage de valeurs 2.8 Hz et 6.7 Hz correspondent donc aux couplages H₃-H₄. On en déduit que le

composé **4.20** ($J_{\text{H3-H4}} = 2.8 \text{ Hz}$) a ses protons *cis* l'un par rapport à l'autre ce qui correspond bien à la stéréochimie du L-rhamnose. Le composé **4.21** ($J_{\text{H3-H4}} = 6.7 \text{ Hz}$) a donc ses protons *trans* l'un par rapport à l'autre ce qui correspond bien à la stéréochimie du talose.

La déprotection finale consiste en l'hydrolyse des groupements acétyles et de l'ester de méthyle. Une solution d'hydroxyde de sodium 0.1N est utilisée pour la déprotection (Schéma 4.29). Les produits sont purifiés par HPLC (C-18, phase inverse, éluant eau/acétonitrile 98/2). On obtient ainsi les produits finaux **4.5** et **4.22**.

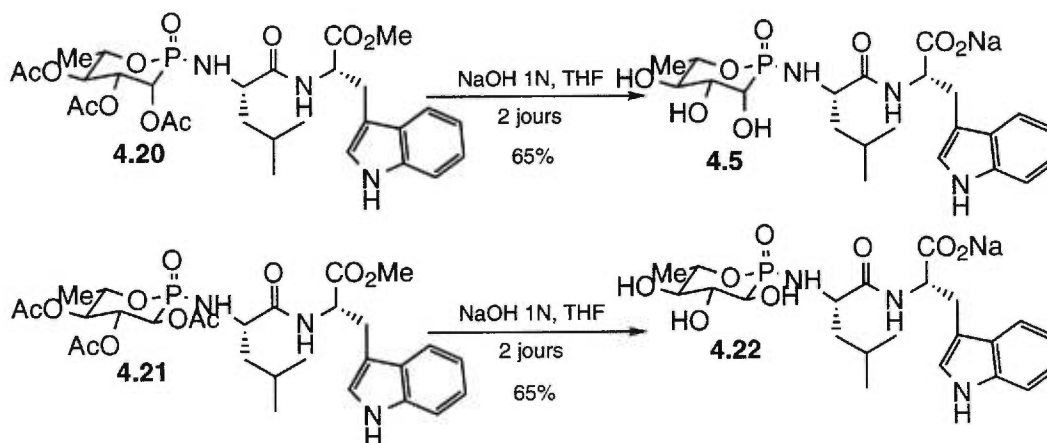


Schéma 4.29. Déprotection finale

4.3.3.4 Tests biologiques

L'analogie en phosphonate du phosphoramidon **4.5** a été testé comme inhibiteur de l'ECE (modèle utilisé : cDNA de l'isoforme ECE-1c exprimé dans les cellules COS7). Son activité inhibitrice a été évaluée à un IC_{50} de $5.05 \mu\text{M}$, (phosphoramidon **4.1**, IC_{50} de $0.5 \mu\text{M}$).²⁶ Ces tests biologiques ont été effectués dans les laboratoires de la compagnie Servier, à Suresnes, en France.

4.3.4 Conclusion

Nous avons synthétisé un analogue en phostone du phosphoramidon, un inhibiteur de l'ECE, enzyme impliquée dans de nombreuses maladies. Nous avons gardé l'essentiel de la structure du phosphoramidon en ne supprimant que la fonction acide située sur le phosphore. Cette modification n'a pas amélioré l'inhibition mais ne l'a pas non plus supprimée (IC_{50} de la phostone **4.5** est 10 fois moins important que celui du phosphoramidon). Le prix du phosphoramidon étant très important (catalogue Sigma, 0.5 mg pour 35\$) et notre synthèse utilisant des produits de départ communs, elle pourrait être une alternative économique à l'utilisation du phosphoramidon dans l'étude des endothélines. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication scientifique.⁵⁸

4.4 Références

¹ Corvol, P.; Alhenc-Gelas, F.; Soubrier, F. "L'endothélium, site de production et de métabolisme des peptides vasoactifs" *Médecine/Sciences* **1993**, *9*, 1050-1060.

² Powers, J.C.; Harper, J.W. dans *Inhibitors of metalloproteases*, Barret et Salvesen, *Proteinase Inhibitors*, **1986**, *6*, 219-262, Elsevier Science Publishers BV (Biomedical Division).

³ Doherty, A.M. "Endothelin : a new challenge" *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1393-1508.

⁴ Yanagisawa, M.; Kurihara, H.; Kimura, S.; Tomobe, Y.; Kobayashi, M.; Mitsui, Y.; Yazaki, Y.; Goto, K.; Masaki, T. "A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells" *Nature (London)* **1988**, *332*, 411-415.

⁵ Inoue, A.; Yanagisawa, M.; Kimura, S.; Kasuya, Y.; Miyauchi, T.; Goto, K.; Masaki, T. "The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 2863-2867.

⁶ Naylor, W.G. In *The endothelins*, Springer-Verlag : Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hong Kong Barcelona, **1990**.

⁷ Watanabe, T.; Itoh, Y.; Ogi, K.; Kimura, C.; Suzuki, N.; Onda, H. "Synthesis of human endothelin-1 precursors in *Escherichia coli*" *FEBS Lett.* **1989**, *251*, 257-260.

⁸ Kimura, S.; Kasuya, Y.; Sawamura, T.; Shinmi, O.; Sugita, Y.; Yanagisawa, M.; Goto, K.; Masaki, T. "Conversion of big endothelin-1 to 21-residue endothelin-1 is essential for expression of full vasoconstrictor activity" *J. Cardiovascular Pharmacol.* **1989**, *13 (Suppl. 5)*, S5-S7.

⁹ Douglas, S.A.; Ohlstein, E.H. "Signal transduction mechanisms mediating the vascular actions of endothelin" *J. Vasc. Res.* **1997**, *34*, 152-164.

D'Orléans-Juste, P.; Gratton, J-P.; Leduc, R.; Bkaily, G.; Claing, A. "L'endothéline : pharmacologie cardiovasculaire et considérations physiopathologiques" *Médecine/Sciences* **1996**, *12*, 563-574.

Rubanyi, G.M. et Polokoff, M.A. "Endothelins : molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology" *Pharmacol. Rev.* **1994**, *46*, 328-394.

¹⁰ Battistini, B.; D'Orléans-Juste, P.; Sirois, P. "Endothelins : circulating plasma levels and presence in other biologic fluids" *Lab. Invest.* **1993**, *68*, 600-628.

¹¹ Miyauchi, T.; Tomobe, Y.; Shiba, R.; Ishikawa, T.; Yanagisawa, M.; Kimura, S.; Sugishita, Y.; Ito, I.; Goto, K.; Masaki, T. "Involvement of endothelin in the regulation of human vascular tonus. Potent vasoconstrictor effect and existence in endothelial cells" *Circulation* **1990**, *81*, 1874-1880.

¹² Vemulapalli, S.; Watkins, R.W.; Brown, A.; Cook, J.; Bernardino, V.; Chiu, P.J.S. "Disparate effects of phosphoramidon on blood pressure in SHR and doca-salt hypertensive rats" *Life Sciences* **1993**, *53*, 783-793.

¹³ Grover, G.J.; Sleph, P.G.; Fox, M.; Trippodo, N.C. "Role of Endothelin-1 and Big Endothelin-1 in modulating coronary vascular tone, contractile function and severity of ischemia in rat hearts" *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1992**, *263*, 1074-1082.

¹⁴ Matsumura, Y.; Ikegawa, R.; Suzuki, Y.; Takaoka, M.; Uchida, T.; Kido, H.; Shinyama, H.; Hayashi, K.; Watanabe, M.; Morimoto, S. "Phosphoramidon prevents cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage in dogs : the relationship to endothelin-1 levels in the cerebrospinal fluid" *Life Sciences* **1991**, *49*, 841-848.

¹⁵ Vemulapalli, S.; Chiu, P.J.S.; Chintala, M.; Bernardino, V. "Attenuation of ischemic acute renal failure by phosphoramidon in rats" *Pharmacology* **1993**, *47*, 188-193.

¹⁶ Gandhi, C.R.; Stephenson, K.; Olson, M.S. "Endothelin, a potent peptide agonist in the liver" *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 17432-17435.

-
- ¹⁷ Chankalamannil, S.; Chung, S.; Stamford, A.W.; McKittrick, B.A.; Wang, Y.; Tsai, H.; Cleven, H.; Fawzi, A.; Czarniecki, M. "Highly potent and selective inhibitors of endothelin converting enzyme" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1257-1260.
- ¹⁸ Schmidt, M.; Kröger, B.; Jacob, E.; Seulberger, H.; Subkowski, T.; Otter, R.; Meyer, T.; Schmalzing, G.; Hillen, H. "Molecular characterization of human and bovine endothelin converting enzyme (ECE-1)" *FEBS Lett.* **1994**, *356*, 238-243.
- ¹⁹ De Lombaert, S.; Stamford, L.B.; Blanchard, L.; Tan, J.; Hoyer, D.; Diefenbacher, C.G.; Wei, D.; Wallace, E.M.; Moskal, M.A.; Savage, P.; Jeng, A.Y. "Potent non-peptidic dual inhibitors of endothelin-converting enzyme and neutral endopeptidase 24.11" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *8*, 1059-1064.
- ²⁰ Roques, B.P.; Noble, F.; Daugé, V.; Fournié-Zaluski, M-C.; Beaumont, A. : Neutral endopeptidase 24.11 "Structure, inhibition, and experimental and clinical pharmacology" *Pharmacol. Rev.* **1993**, *45*, 87-146.
- ²¹ Powers, J.C.; Harper, J.W. "Inhibitors of metalloproteases" dans *Proteinase Inhibitors*, Barrett,A.J.; Salvesen, G.; Eds. Elsevier : New York, **1986**, 244-253.
- ²² Bihovsky, R.; Levinson, B.L.; Loewi, R.C.; Erhardt, P.W.; Polokoff, M.A. "Hydroxamic acids as potent inhibitors of endothelin-converting enzyme from human bronchiolar smooth muscle" *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2119-2129.
- ²³ Ahn, K.; Sisneros, A.M.; Herman, S.B.; Pan, S.M.; Hupe, D.; Lee, C.; Nikam, S.; Cheng, X-M.; Doherty, A.M.; Schroeder, R.L.; Haleen, S.J.; Kaw, S.; Emoto, N.; Yanagisawa, M. "Novel selective quinazoline inhibitors of endothelin converting enzyme-1" *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *243*, 184-190.

²⁴ Tsurumi, Y.; Ohhata, N.; Iwamoto, T.; Shigematsu, N.; Sakamoto, K.; Nishikawa, M.; Kiyoto, S. " WS79089A, B and C, new endothelin converting enzyme inhibitors isolated from *Streptosporangium roseum*. MO. 79089, Taxonomy, fermentation, isolation, physico-chemical properties and biological activities" *J. Antibiotics* **1995**, *47*, 619-630.

Tsurumi, Y.; Fujie, K.; Nishikawa, M.; Kiyoto, S.; Okuhara, M. "Biological and pharmacological properties of highly selective new endothelin converting enzyme inhibitor WS79089B isolated from *Streptosporangium roseum* No. 79089" *J. Antibiotics* **1995**, *48*, 169-174.

²⁵ Takaishi, S.; Tuchiya, N.; Sato, A.; Negishi, T.; Takamatsu, Y.; Matsushita, Y.; Watanabe, T.; Iijima, Y.; Haruyama, H.; Kinoshita, T.; Tanaka, M.; Kodama, K. "B-90063, a novel endothelin converting enzyme inhibitor isolated from a new marine bacterium, *Blastobacter* sp. SANK 71894" *J. Antibiotics* **1998**, *51*, 805-815.

²⁶ De Nanteuil, G.; Benoist, A.; Rémond, G.; Descombes, J-J.; Barou, V.; Verbeuren, T.J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 1435.

²⁷ Komiyama, T.; Suda, H.; Aoyagi, T.; Takeuchi, T.; Umezawa, H. "Studies on inhibitory effect of phosphoramidon and its analogs on thermolysin" *Arch. Biochem. Biophys.* **1975**, *171*, 727-731.

²⁸ Kukkola, P.J.; Savage, P.; Sakane, Y.; Berry, J.C.; Bilci, N.A.; Ghai, R.D.; Jeng, A.Y. "Differential structure-activity relationships of phosphoramidon analogues for inhibition of three metalloproteases : endothelin-converting enzyme, neutral endopeptidase, and angiotensin-converting enzyme" *J. Cardiovascular Pharmacol.* **1995**, *26* (Suppl. 3), S65-S68.

-
- ²⁹ El Khadem, H.S.; Swartz, D.L.; Nelson, J.K.; Berry, L.A. "Synthesis of 2,6-dideoxy- α -L-*lyxo*- and 2,6-dideoxy- α -L-*arabino*-hexopyranosyl halides" *Carbohydr. Res.* **1977**, *58*, 230-234.
- ³⁰ Abramov, V.S. "Reaction of dialkyl esters of phosphorous acids with aldehydes and ketones" *Zh. Obshch. Khim.* **1957**, *22*, 647-649.
- ³¹ Darrow, J.W.; Drueckhammer, D.G. "Cyclic phosphonate analogs of hexopyranoses" *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2976-2985.
- ³² McKenna, C.E.; Higa, M.T.; Cheung, N.H.; McKenna, M.C. "The facile dealkylation of phosphonic acid dialkyl esters by bromotrimethylsilane" *Tetrahedron Lett.* **1977**, *2*, 155-157.
- ³³ Kashima, C.; Harada, K.; Fujioka, Y.; Maruyama, T.; Omote, Y. "Amino alcohols as C-terminal protecting groups in peptide synthesis" *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 535-539.
- ³⁴ Hvidt, T.; Szarek, W.A.; MacLean, D.B. "Synthesis of enantiomerically pure β -amino- α -methylene- γ -butyrolactones by way of ozonolysis of aromatic α -amino acids" *Can. J. Chem.* **1988**, *66*, 779-782.
- ³⁵ Bereznak, J.F.; Joullié, M.M. "Preparation of 2,4-bis(methylsulfonyl)-1-naphthyl active esters and their potential utility in peptide bond formation" *Synthetic Communications* **1989**, *19*, 3573-3578.
- ³⁶ Humphrey, J.M.; Chamberlin, A.R. "Chemical synthesis of natural product peptides : coupling methods for the incorporation of noncoded amino acids into peptides" *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2243-2266.

³⁷ Pauling, L.; Pressman, D. et Grossberg, A. "The serological properties of simple substances. VII. A quantitative theory of the inhibition by haptens of the precipitation of heterogeneous antisera with antigens, and comparison with experimental results for polyhaptenic simple substances and the azoproteins" *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, *66*, 784.

³⁸ McKenna, C.E.; Higa, M.T.; Cheung, N.H.; McKenna, M.C. "The facile dealkylation of phosphonic acid dialkyl esters by bromotrimethylsilane" *Tetrahedron Lett.* **1977**, *2*, 155-157.

³⁹ Mitsunobu, O. "The use of diethyl azodicarboxylate and triphenylphosphine in synthesis and transformation of natural products" *Synthesis* **1981**, 1-28.

⁴⁰ Campbell, D. A. et Bermak, J. C. "Phosphonate ester synthesis using a modified Mitsunobu condensation" *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 658-660.
Campbell, D. A. "The synthesis of phosphonate esters, an extension of the Mitsunobu reaction" *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6331-6335.

⁴¹ Bechtolsheimer, H-H.; Kunz, H. "Coupling of sterically hindered peptide bonds - a renaissance of the acid chloride method" *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 630.

Colucci, W.J.; Tung, R.D.; Petri, J.A.; Rich, D.H. "Synthesis of D-lysine-cyclosporine A. Further characterization of BOP-Cl in the 2,7 hexapeptide fragment synthesis" *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 2895-2903.

⁴² Van der Auwera, C.; Anteunis, M.J.O "Note on the preparation of very active N,N-bis (2-oxo-3-oxazolidinyl)-phosphorodiamic chloride (BOP-Cl), an

extremely effective reagent for peptide formation" *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1986**, *95*, 203-206.

⁴³ Castro, B.; Dormoy, J. R.; Evin, G. et Selve, C. "Réactifs de couplage peptidique - L'hexafluorophosphate de benzotriazolyl N-oxytrisdiméthylamino phosphonium (BOP)" *Tetrahedron Lett.* **1975**, *14*, 1219-1222.

⁴⁴ Coste, J.; Le-Nguyen, D. et Castro, B. "PyBOP : a new peptide coupling reagent devoid of toxic by-product" *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 205-208.

⁴⁵ Campagne, J-M.; Coste, J. et Jouin, P. "Synthesis of mixed diester analogues of dipeptides using BOP or PyBOP reagents" *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6743-6744.

⁴⁶ Campagne, J-M.; Coste, J.; Guillou, L.; Heitz, A. et Jouin, P. "Solid phase synthesis of phosphonic peptides" *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 4181-4184.

⁴⁷ Hariharan, M.; Chaberek, S. et Martell, A. E. "Synthesis of phosphonopeptide derivatives" *Synthetic Commun.* **1973**, *3*, 375-379.

⁴⁸ Atherton, F.R.; Openshaw, H.T.; Todd, A.R. "Studies on phosphorylation. Part II. The reaction of dialkyl phosphites with polyhalogen compounds in presence of bases. A new method for the phosphorylation of amines" *J. Chem. Soc.* **1945**, 660-663.

Bartlett, P. A. et Sampson, N. S. "Synthesis of phosphonic acid derivatives by oxidative activation of phosphinate esters" *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 4500-4503.

⁴⁹ Wada, T.; Kato, R. et Hata, T. "Nonoxidative chlorination of dialkyl phosphonates to dialkyl phosphorochloridites. A new approach to oligonucleotide synthesis" *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1243-1250.

⁵⁰ Ylagan, L.; Benjamin, A.; Gupta, A. et Engel, R. "Organophosphorus chemistry. Ester-chloride conversion under mild conditions at phosphorus" *Synthetic Commun.* **1988**, *18*, 285-289.

Wada, T.; Kato, R. et Hata, T. "Nonoxidative chlorination of dialkyl phosphonates to dialkyl phosphorochloridites. A new approach to oligonucleotide synthesis" *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 1243-1250.

⁵¹ Malachowski, W. P. et Coward, J. K. "The chemistry of phosphapeptides : investigations on the synthesis of phosphoramidate, phosphonate, and phosphinate analogues of glutamyl- γ -glutamate" *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7625-7634.

⁵² Biller, S. A. et Forster, C. "The synthesis of isoprenoid (phosphinyl methyl) phosphonates" *Tetrahedron* **1990**, *46*, 6645-6658.

Bongle, N.B, Notter, R.H.; Turcotte, J.G. "Expedient and high-yield synthesis of alkylphosphonyl dichlorides under mild, neutral conditions : reaction of bis(trimethylsilyl)alkyl phosphonates with oxalyl chloride/dimethylformamide" *Synthetic Commun.* **1987**, *17*, 1071-1076.

Wissner, A.; Grudzinskas, C.V. "Reaction of tert-butyldimethylsilyl esters with oxalyl chloride-dimethylformamide : preparation of carboxylic acid chlorides under neutral conditions" *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 3972-3974.

-
- ⁵³ Tawfik, D. S.; Eshhar, Z.; Bentolila, A. et Green, B. S. "1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undecene mediated transesterification of *p*-nitrophenyl phosphonates : a novel route to phosphono esters" *Synthesis* **1993**, 968-972.
- ⁵⁴ Carpino, L. A. "1-Hydroxy-7-azabenzotriazole. An efficient peptide coupling additive" *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4397-4398.
- ⁵⁵ Van der Marel, G.; Van Boeckel, C. A. A.; Wille, G. et Van Boom, J. H. "A new approach to the synthesis of phosphotriester intermediates of nucleosides and nucleic acids" *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 3887-3890.
- ⁵⁶ Smith III, A. B.; Hirschmann, R.; Yager, K. M.; Taylor, C. M.; Moore, W.; Sprengeler, P. A.; Witherington, J. et Phillips, B. W. "Phosphonyltriethylammonium salts : novel reactive species for the synthesis of phosphonate esters and phosphonamides" *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6370-6371.
- ⁵⁷ Zhao, K. et Landry, D. W. "Tetrazole catalyzed synthesis of phosphonate esters" *Tetrahedron* **1993**, *49*, 363-368.
- ⁵⁸ Hanessian, S.; Rogel, O. "Synthesis of a phostone glycomimetic of the endothelin converting enzyme inhibitor phosphoramidon" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2441-2446.

5. SYNTHÈSE DES SIALOPHOSTONES

5.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous décrivons la synthèse de phosphones de l'acide sialique (Neu5Ac) **5.1** où le carbone anomérique est remplacé par un atome de phosphore sous la forme d'acide phosphonique (Figure 5.1). On espère simuler l'action de l'acide carboxylique et de l'hydroxyle anomérique pour obtenir un inhibiteur **5.2** efficace de neuraminidases, enzymes impliquées dans le virus de la grippe.

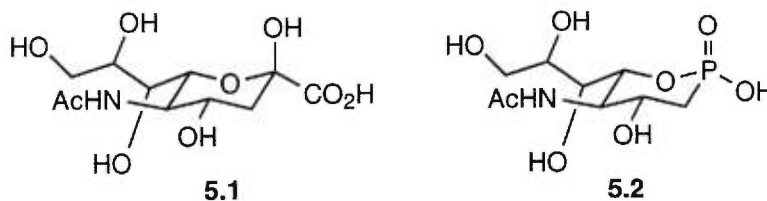


Figure 5.1. Structures de l'acide sialique et de son analogue

5.2 Partie biologique

Les pathologies liées au virus de la grippe représentent un grave problème de santé publique, ceci est principalement dû à sa capacité de se muter rapidement. Le développement de nouveaux principes actifs efficaces contre cette maladie est rendu difficile par l'émergence de nouvelles souches devenues résistantes aux médicaments actuellement disponibles. Cette résistance aux antibiotiques s'explique par le fort taux d'erreurs effectuées par la polymérase du virus entraînant ainsi la formation de nouvelles souches. Celles-ci sont résistantes à l'arsenal déployé par la médecine moderne et elles se mettent alors à devenir plus communes.

En dépit des progrès considérables faits dans la compréhension du mécanisme d'action et de la biologie du virus de la grippe, celui-ci continue d'être la plus importante cause de mortalité au niveau des maladies respiratoires. Durant l'infection, le virus très contagieux se transmet rapidement par aérosol et peut se propager rapidement, produisant les caractéristiques typiques d'une maladie épidémique.¹ Aux États-Unis seulement, de vingt à quarante millions de personnes sont infectées chaque année entraînant l'hospitalisation de trois cent mille personnes dont quinze à vingt mille perdront la vie.²

Pour ce qui est des traitements actuellement disponibles (Figure 5.2), ils souffrent de nombreuses limitations. Ainsi, l'adamantanamine et son analogue, la rimantidine,³ qui agissent en bloquant les canaux d'ions des protéines de type M_2 , sont actifs contre la souche A du virus mais sont inefficaces contre la souche B, celle-ci devenant ainsi la souche la plus dangereuse. De plus, leurs utilisations en milieu clinique sont limitées par leurs effets secondaires et l'arrivée de nouvelles souches résistantes limite le développement d'un vaccin efficace.

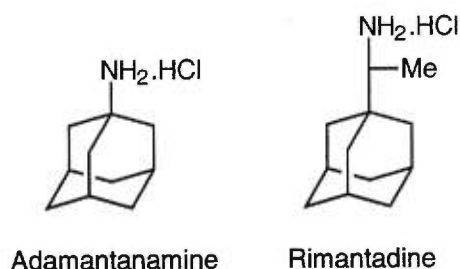


Figure 5.2. Structure de l'adamantanamine et de la rimantadine

5.2.1 Mécanisme du fonctionnement du virus

Le virus de la grippe est un virus de type enveloppé et son récepteur est un carbohydrate. Le mécanisme unique de propagation du virus de la grippe a permis aux chercheurs d'identifier un certain nombre de cibles potentielles pour la création de nouveaux médicaments. Ces cibles sont l'hémagglutinine (HA), la neuraminidase (NA), la protéine M_2 et l'endonucléase.⁴ L'hémagglutinine et la neuraminidase (acylneuraminyl hydrolase, EC 3.2.1.18) sont les deux glycoprotéines de surface les plus importantes développées par les souches A et B du virus.

5.2.1.1 L'hémagglutinine

L'hémagglutinine est connue pour créer le lien entre le virus et les cellules cibles via l'acide sialique terminal (Schéma 5.1). Ce lien est la première étape de l'infection.⁵ Les α -glucosides de l'acide sialique sont reconnus par l'hémagglutinine, cette membrane glycoprotéinique du virus qui sert de lien entre l'attachement initial du virus sur les cellules et la fusion subséquente faite entre les membranes du virus et les membranes de la cellule.⁶

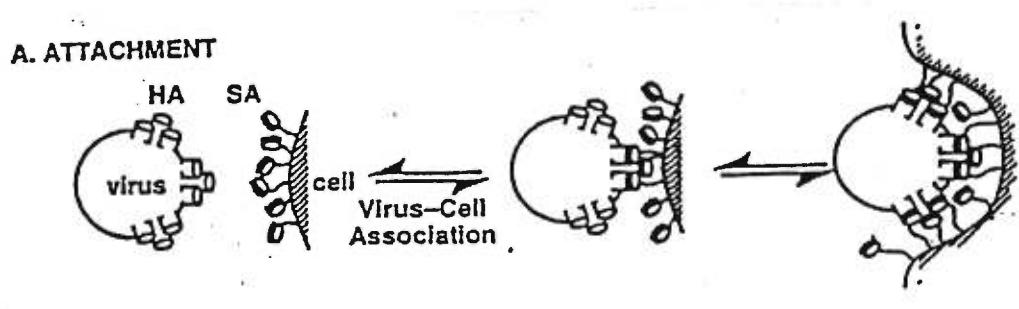


Schéma 5.1. Action de l'hémagglutinine

5.2.1.2 Les neuraminidases

Les neuraminidases catalysent la coupure de l'acide sialique terminal attaché aux glycoprotéines et aux glycolipides. Ce processus semble être nécessaire à la libération des virus nouvellement formés dans les cellules infectées et à la prolifération du virus dans les voies respiratoires.

La neuraminidase est un tétramère de polypeptides identiques et peut être libérée par la membrane virale sous l'action des protéases. Grâce à la cristallographie par rayons X de trois sous-types de virus (A/Tokyo, A/Tern et B/Beijing), il a été possible de modéliser plusieurs structures de neuraminidases. Elles existent sous la forme d'un champignon avec une tête en forme de boîte située au sommet d'une tige contenant une région hydrophobique liée à la membrane du virus (Figure 5.3).

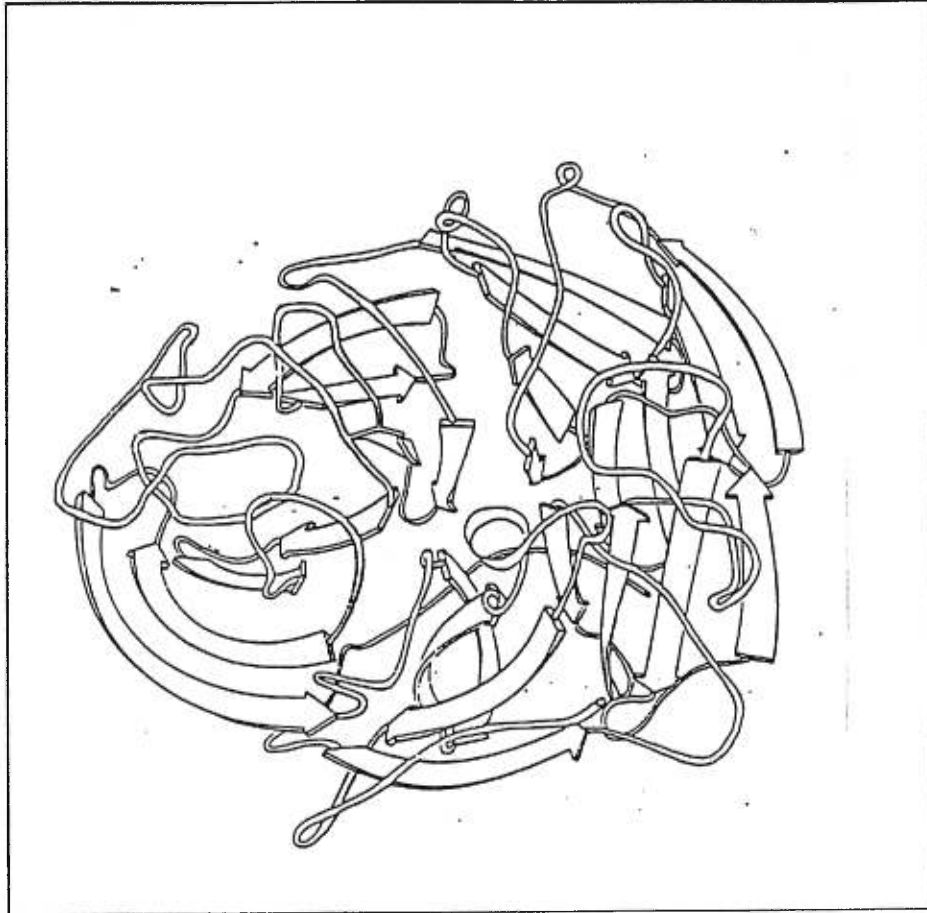


Figure 5.3. Structure de la neuraminidase⁷

Les neuraminidases ont été classées en neuf sous-types pour les souches du virus de type A, alors qu'aucun sous-type n'a été observé pour la souche B. Bien que seulement 30% des séquences d'acides aminés des neuraminidases soient communes pour les souches A et B, l'activité enzymatique des neuraminidases envers ces différentes souches reste importantes, ce qui suggère que le site actif de l'enzyme est commun aux différentes souches.

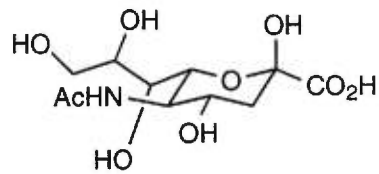


Figure 5.4. Structure de l'acide sialique

L'activité enzymatique des neuraminidases repose sur la coupure du lien $\alpha 2,3$ entre l'acide sialique (Figure 5.4) et le carbohydrate auquel il est lié, généralement le galactose (Schéma 5.2).⁸ Cette activité détruit aussi les récepteurs de l'hémagglutinine du virus qui sont présents à la surface de la cellule infectée.

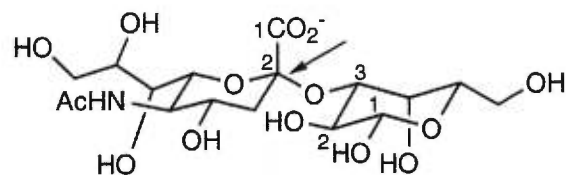


Schéma 5.2. Coupure du lien $\alpha 2,3$

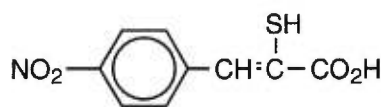
5.2.1.3 Conclusion

La neuraminidase étant un outil indispensable à la prolifération du virus de la grippe, elle est donc une cible prédominante dans la lutte contre cette pathologie. La mise à la disposition des chercheurs de la structure en 3 dimensions de la neuraminidase peut désormais aider à la conception de nouveaux inhibiteurs.

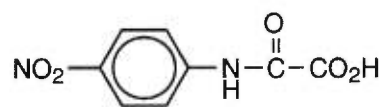
5.2.2 Les Inhibiteurs de neuraminidases

5.2.2.1 Introduction

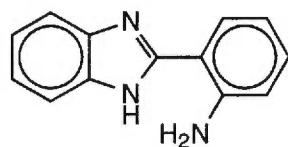
Les premiers inhibiteurs de neuraminidases ont été des molécules issues de programmes de recherche systématique sur des bibliothèques de molécules.⁹ Les composés les plus actifs sont les quatre molécules illustrées ci-dessous (Figure 5.5) mais aucune de ces molécules ne fut exploitée commercialement.¹⁰



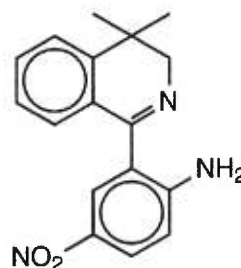
Acide Thioacrylique



Acide Phényloxamique



Aminophénylbenzimidazole



Isoquinoline

Figure 5.5. Résultats de la recherche systématique

C'est en 1969 que le premier inhibiteur basé sur le mécanisme d'action du virus fut synthétisé.¹¹ L'acide 5-acétamido-2,3,5-tridésoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-énopyranosique (Neu5Ac2en) fut proposé comme l'analogue de l'état de transition. Son K_i était de 4 μM (Figure 5.6).

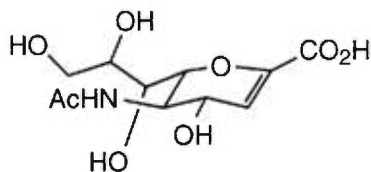


Figure 5.6. Structure du Neu5Ac2en

L'action de la neuraminidase durant la coupure du lien entre l'acide sialique et le carbohydrate passerait par un ion carbonium dont la structure rappelle celle du Neu5Ac2en (Schéma 5.3).¹² Cette molécule fut alors le point de départ pour la synthèse de nombreux inhibiteurs.

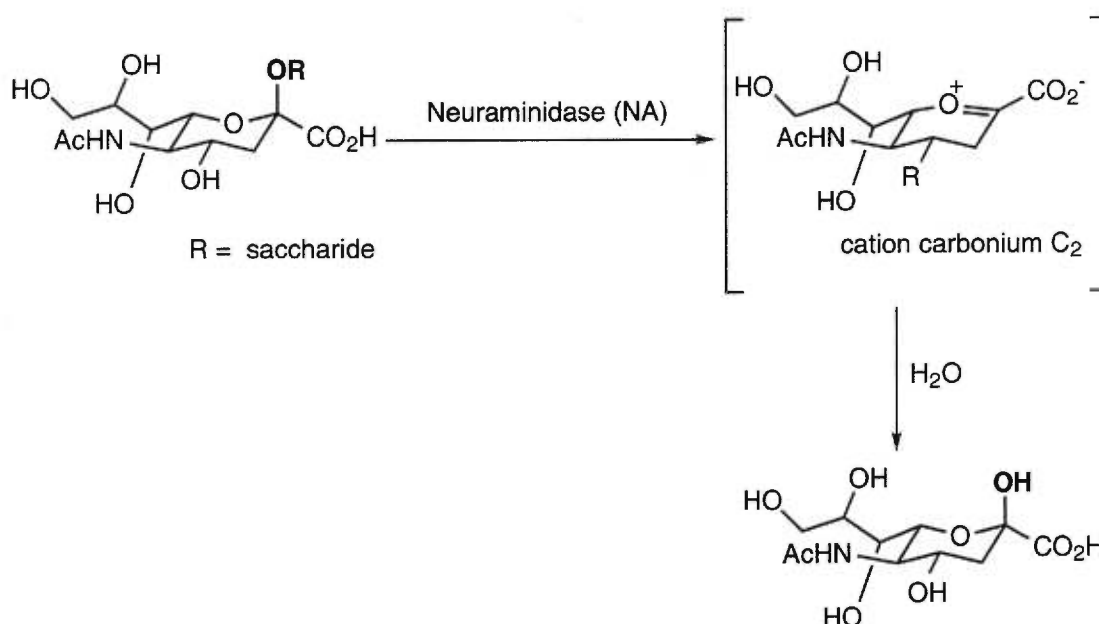


Schéma 5.3. Action de la neuraminidase

Les chercheurs ont diversement modifié la structure du Neu5Ac2en entraînant une grande diversité structurale d'inhibiteurs disponibles.¹³

5.2.2.2 Modification de l'hydroxyle situé sur le carbone 4 du Neu5Ac2en

Une des premières modifications faites sur le Neu5Ac2en a consisté à remplacer l'hydroxyle sur le carbone 4 par un groupement aminé (Schéma 5.4).¹⁴ Ce changement fut suggéré par le programme de modélisation moléculaire GRID¹⁵ qui détermine notamment l'effet des variations des groupes fonctionnels d'une molécule, en l'occurrence ici le Neu5Ac2en, envers les sites actifs d'une enzyme, comme la neuraminidase. Il prévoyait que cette substitution devait produire un accroissement significatif du lien entre la molécule et l'acide carboxylique de la glutidine 119 et ainsi renforcer l'effet inhibiteur. Les tests biologiques confirmèrent cette hypothèse ainsi le K_i est de $3.0 \cdot 10^{-4}$ pour une fonction amine en 4, soit 100 fois plus puissant qu'avec un hydroxyle.

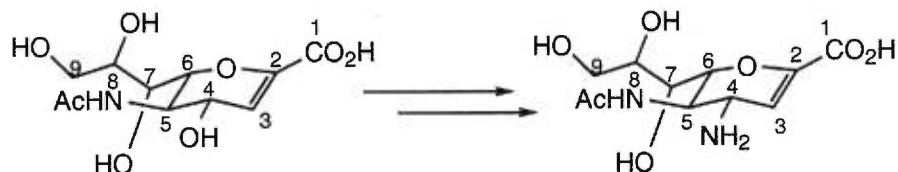


Schéma 5.4. Modification de l'hydroxyle en 4 du Neu5Ac2en

Le remplacement du même groupement par la fonction guanidine, plus basique que l'amine primaire, devait encore amplifier cette affinité entre l'inhibiteur et le site actif de l'enzyme par une meilleure interaction des atomes d'azote terminaux avec les glutidines 119 et 227 (Figure 5.7).

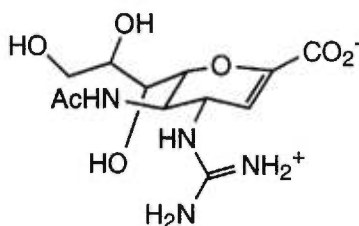


Figure 5.7. Structure du Zanamivir

Des tests biologiques furent alors effectués sur la neuraminidase A/Tokyo/3/67 avec les deux nouveaux inhibiteurs contenant soit la fonction amine soit la fonction guanidine en remplacement de l'hydroxyle en 4 et les effets sur l'activité furent notables. En effet, pour l'inhibiteur contenant la fonction guanido le K_i était de l'ordre de 10^{-10} M, ce composé devient alors le plus puissant inhibiteur connu à ce jour. La compagnie Glaxo Wellcome, initiatrice du projet, baptisa ce puissant inhibiteur de neuraminidase, le zanamivir (Figure 5.7). Ce composé vient d'être commercialisé en Europe sous le nom de Relenza®.

5.2.2.3 Modification de la chaîne du Neu5Ac2en

La compagnie Gilead Science étudia les structures cristallines de nombreux complexes inhibiteurs-neuraminidase en s'attachant à faire varier la chaîne, comprenant les carbones 7, 8 et 9, des inhibiteurs proposés.¹⁶ D'après les auteurs, cette chaîne créerait un lien avec les acides aminés Glu276, Ala246, Arg224 et Ile222 du site actif de l'enzyme. L'étude de la relation structure-activité a montré que les souches A et B du virus de la grippe réagissent différemment envers les inhibiteurs proposés. La chaîne aurait alors des interactions différentes avec les deux souches qui présentent pourtant des sites actifs semblables. En fait, la souche B du virus semble être plus sensible à l'encombrement stérique de la chaîne. Le remplacement du glycérol par une chaîne lipophile a des effets sur l'efficacité clinique de ces inhibiteurs. En effet, la lipophilicité de ces nouveaux inhibiteurs les rendrait plus efficaces par voie orale car on sait que l'équilibre entre la lipophilicité et la solubilité dans l'eau des principes actifs est aussi critique que leur taille pour l'absorption lors du transit intestinal.¹⁷

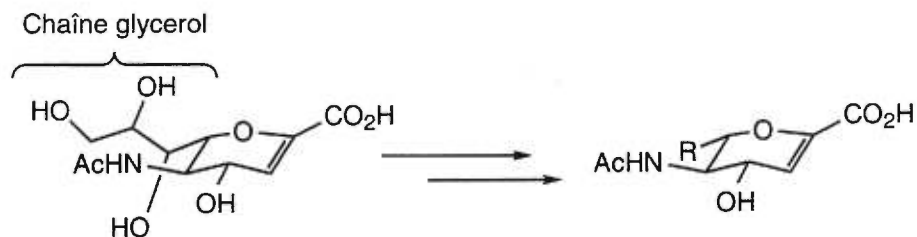


Schéma 5.5. Modification de la chaîne du Neu5Ac2en

La taille et la conformation spatiale de la chaîne lipophile des inhibiteurs ont une influence significative sur l'activité inhibitrice (Schéma 5.5). Les chercheurs de Gilead Science ont fait varier la longueur de la chaîne de méthyle à *n*-nonyle. À partir du *n*-propyle il n'y a plus d'effet significatif sur le décroissement de la valeur de l' IC_{50} . La structure rayons-X de l'inhibiteur contenant la chaîne *n*-hexyle montre que l'énergie gagnée par interaction hydrophobe est contrebalancée par l'exposition de la chaîne à l'eau en dehors du site actif de l'enzyme.

Les chercheurs ont aussi évalué l'impact de la conformation de ces groupements alkyles.¹⁶ Ils ont observé que des variations sur le carbone situé en α du début de la chaîne avait beaucoup plus d'influence comparativement aux modifications faites en β . La stéréochimie du groupement alkyle semble avoir peu d'impact, ainsi les meilleures inhibitions, l' IC_{50} de l'ordre de la nanomole, ont été obtenues avec les molécules GS 4071 et GS 4074 où la chaîne est symétrique (Figure 5.8). Les deux groupements éthyloxy se placent probablement dans deux poches hydrophobes différentes.

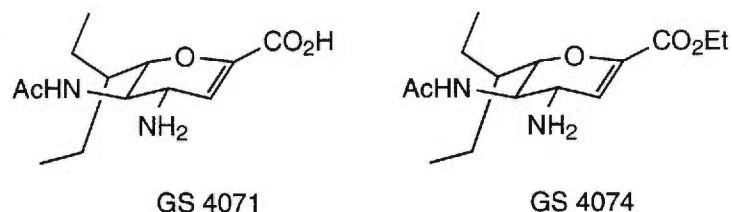


Figure 5.8. Inhibiteurs contenant une chaîne lipophile

En se basant sur ces résultats, les auteurs utilisèrent des groupements alkyles cycliques, aromatiques ou non, comme le cyclohexyle, le phényle et le benzyle. Malheureusement, les inhibitions ne furent pas améliorées, même en substituant les cycles. Cependant les bons résultats obtenus avec les composés GS 4071 et GS 4074 permirent la mise au point d'un médicament, en coopération avec la compagnie Roche, disponible sur le marché cet automne.

5.2.2.4 Modification de la double liaison du Neu5Ac2en

Dans un premier temps, la plupart des groupes de recherche avaient conservé la même position de la double liaison dans le cycle. Cependant par souci d'économie, le produit de départ des synthèses de ces inhibiteurs étant l'acide sialique, produit coûteux (1g coute 450\$), les chercheurs de Gilead Science envisagèrent d'exploiter d'autres produits de départs comme l'acide shikimique ou l'acide quinique (Figure 5.9). Ces 2 produits ont une structure très proche de celle de l'acide sialique et sont beaucoup moins coûteux (1g de d'acide quinique coute 2\$).

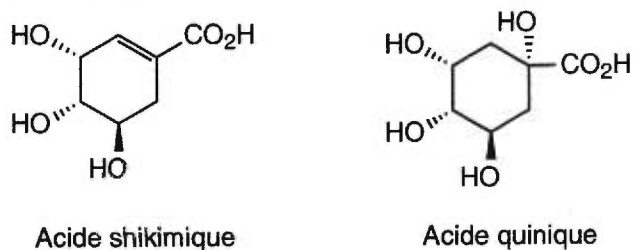


Figure 5.9. Produits de départ pouvant mimer l'acide sialique

L'absence d'atome d'oxygène dans le cycle ouvrait la porte à de nouvelles classes d'inhibiteurs¹⁸ où la double liaison pourrait avoir un positionnement autre que celui présent dans le Neu5Ac2en (Schéma 5.6). L'influence sur l'inhibition des neuraminidases de la position de la double liaison se devait d'être mesurée, la modélisation moléculaire des deux cibles proposées donnant des résultats similaires. C'est la compagnie Gilead Sciences qui synthétisa ces composés.¹⁸

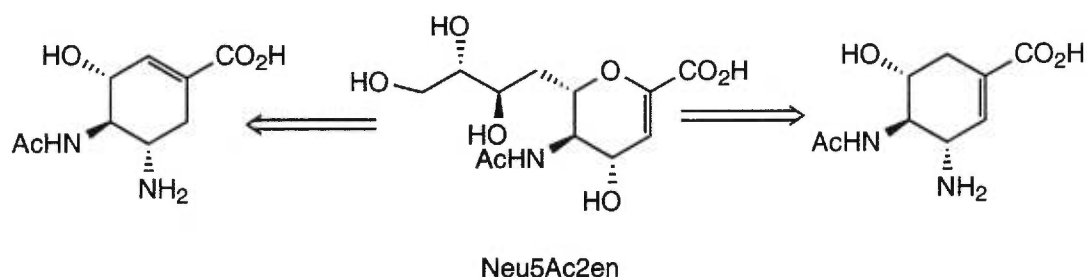


Schéma 5.6. Variation de la position de la double liaison

Les tests biologiques ont montré que la molécule ayant la double liaison positionnée de la même façon que le Neu5Ac2en donne de meilleurs résultats avec un IC_{50} de $6.3 \mu\text{M}$ alors que l'autre analogue n'a aucune activité inhibitrice mesurée en dessous de $200 \mu\text{M}$. Ces résultats démontrent que la position de la double liaison doit être prise en compte dans le design d'inhibiteurs de neuraminidases.

5.2.2.5 Modification de l'acide carboxylique du Neu5Ac2en

Une des dernières modifications effectuées sur le Neu5Ac2en, afin d'améliorer l'activité inhibitrice, est la substitution de la fonction acide carboxylique par un acide phosphonique. Deux inhibiteurs sont alors possibles (Figure 5.10), ePANA et aPANA, dépendamment de l'orientation de l'acide phosphonique, équatoriale ou axiale.¹⁹

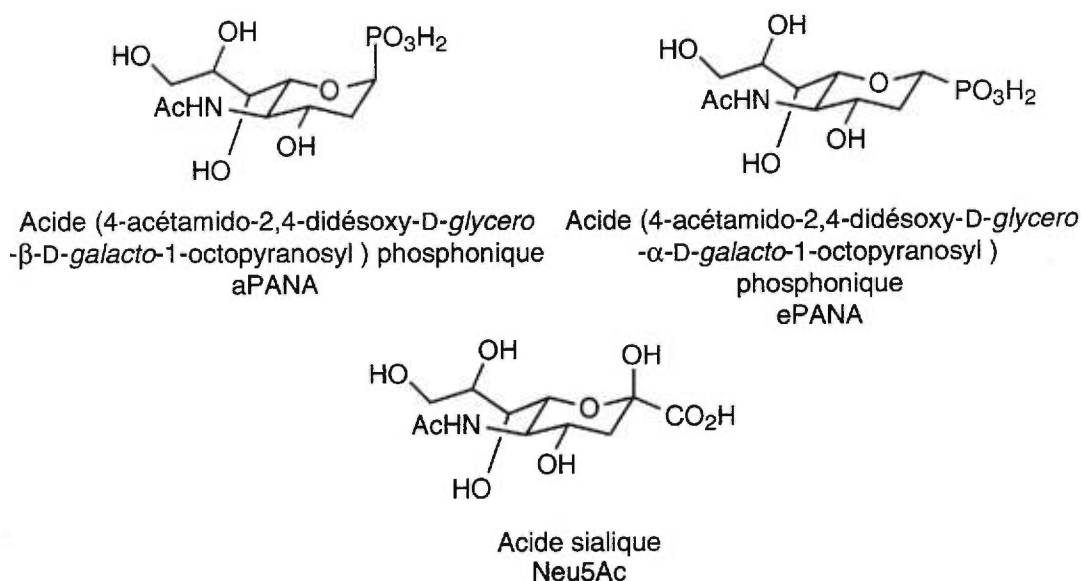


Figure 5.10. Structures du Neu5Ac, ePANA et aPANA

Après modélisation de ces nouveaux inhibiteurs dans la neuraminidase, les chercheurs ont noté que l'interaction ionique entre le dianion de l'inhibiteur et la poche du site actif de l'enzyme possédant trois arginines (Arg116, Arg292 et Arg374), chargées positivement, est énergétiquement très favorable. Les tests biologiques ont alors confirmé que les deux inhibiteurs démontraient des activités accrues par rapport à l'analogue présentant une fonction acide carboxylique et que ePANA (K_i $5.5 \cdot 10^{-5}$ M) était un meilleur inhibiteur que l'aPANA (K_i $2.3 \cdot 10^{-4}$ M). La différence d'activité entre les inhibiteurs s'explique par la conformation adoptée par ces molécules. Ainsi ePANA adopte une

conformation de type chaise alors que aPANA adopte une conformation de type bateau, conformation de symétrie 2C_5 , énergétiquement plus favorable, tout ceci modifie donc l'interaction qu'ont ces molécules avec les sites actifs de neuraminidases.

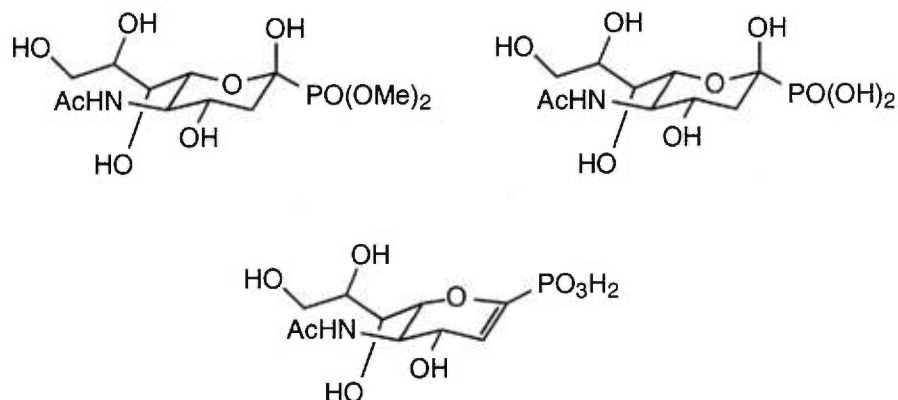


Figure 5.11. Autres exemples d'inhibiteurs

Cette modification de l'acide carboxylique associée à d'autres a permis d'engendrer de nouveaux inhibiteurs, cependant moins puissants que l'ePANA (Figure 5.10).²⁰ On peut remarquer que l'inhibition est meilleure avec un acide phosphonique qu'avec un phosphonate²¹ (K_i de $5.0 \cdot 10^{-4}$ contre $10.0 \cdot 10^{-4}$) et que si on se base sur la structure du Neu5Ac2en (présence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3), on améliore l'inhibition (K_i de $0.72 \cdot 10^{-4}$) (Figure 5.11).²²

5.2.2.6 Proposition d'un nouvel inhibiteur de neuraminidase

Nous nous proposons d'exploiter la substitution de l'acide carboxylique par un acide phosphonique en l'appliquant à la préparation des phosphones dont nous avons effectué de nombreuses synthèses dans nos laboratoires. Il pourrait être intéressant de savoir si l'augmentation de l'activité inhibitrice due à

la présence de l'acide phosphonique serait amplifiée par l'incorporation de cette fonction à l'intérieur du cycle (Schéma 5.7), l'orientation équatoriale de l'acide étant en plus conservée. Il faut noter que ces analogues sont «raccourcis» par rapport à l'acide sialique.

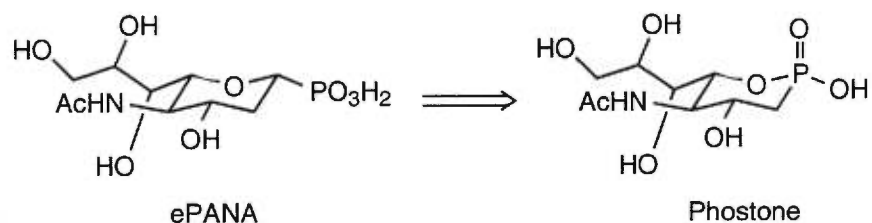


Schéma 5.7. Phostone basée sur la structure de l'ePANA

5.2.3 Conclusion

Nous avons présenté un aperçu du mécanisme d'action du virus de la grippe et des moyens de le combattre. La conception d'inhibiteurs est très variée et cette pluralité de structures combinées à la modélisation moléculaire a permis de faire d'énormes progrès dans cette voie de recherche. Le meilleur exemple de cette combinaison entre l'ordinateur et la chimie est à ce jour le zanamivir (Glaxo Wellcome) qui est l'inhibiteur de neuraminidase le plus puissant actuellement disponible.

5.3 Travaux réalisés

5.3.1 Introduction

Les sialophostones sont des analogues de l'acide sialique **5.1** (Neu5Ac) dont nous avons substitué le carbone 2 par un atome de phosphore pentacovalent conduisant à l'acide phosphonique **5.2** et aux phosphonates **5.3** et **5.4** (Figure 5.12).

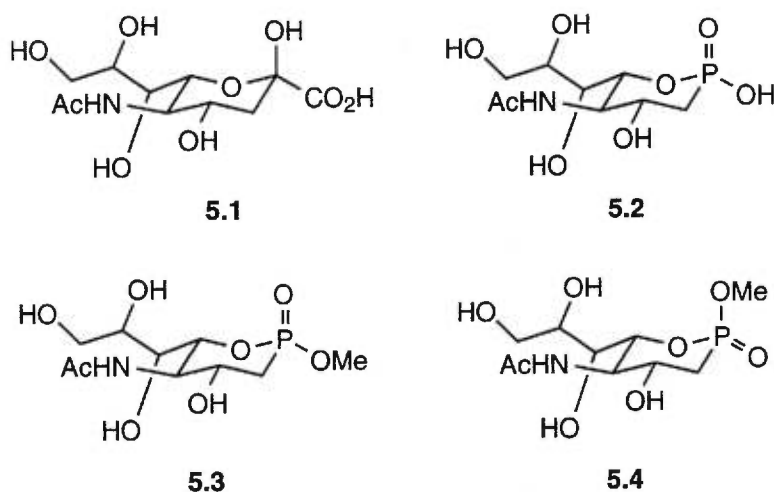


Figure 5.12. Structures de l'acide sialique et des phosphonates proposées

Comme cela a été précisé précédemment, l'incorporation de l'atome de phosphore dans cette partie de la molécule pourrait entraîner une meilleure interaction avec le site actif de l'enzyme. Il sera intéressant d'évaluer l'effet de l'introduction de l'acide phosphonique à l'intérieur du cycle car on sait déjà que le remplacement de l'acide carboxylique dans **5.1** par un acide phosphonique à l'extérieur du cycle augmente l'inhibition des neuraminidases.

5.3.2 Retrosynthèse

Les étapes clés de la synthèse sont la cyclisation intramoléculaire, l'incorporation du phosphore et la désoxygénation. Ces trois étapes sont illustrées sur le schéma 5.8. On peut noter que l'on devra passer par la création d'une double liaison entre les carbones 2 et 3, cette double liaison sera par la suite ouverte par ozonolyse. La molécule obtenue sera alors soumise à la réaction d'Abramov pour donner les phosphonates désirés. Il s'ensuivra une désoxygénation et une déprotection des groupements hydroxyles.

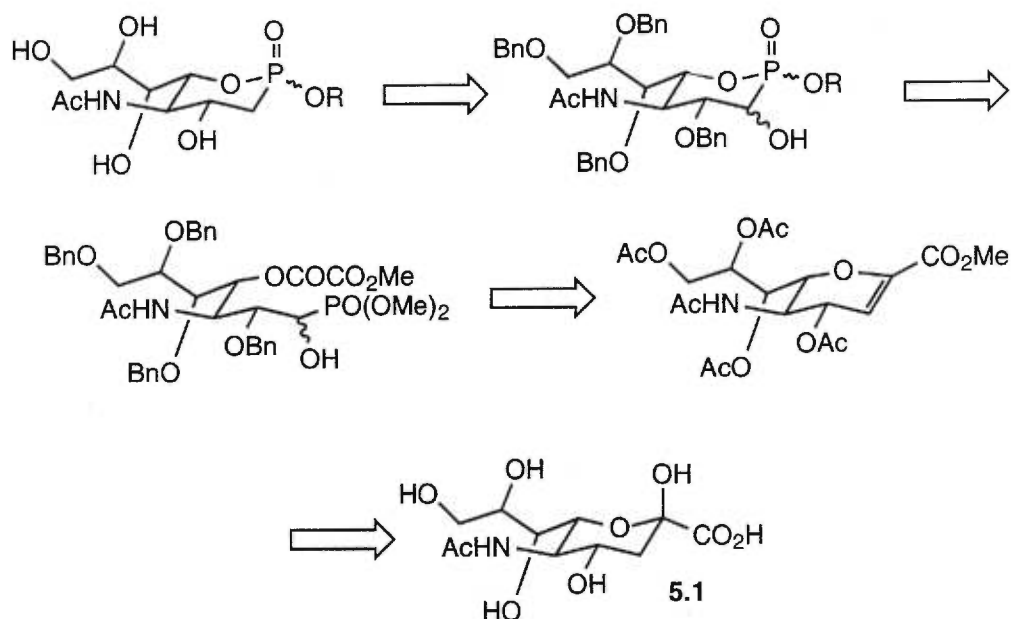


Schéma 5.8. Retrosynthèse

Comme on l'a déjà vu dans les synthèses précédentes de phosphones, le produit de départ de la synthèse est la molécule à modifier, en l'occurrence ici l'acide sialique **5.1**. La stéréochimie des carbones 4 à 9 sera ainsi gardée dans les analogues synthétisés, seul le carbone 1 sera supprimé et le carbone 2 sera remplacé par l'atome de phosphore (Schéma 5.9).

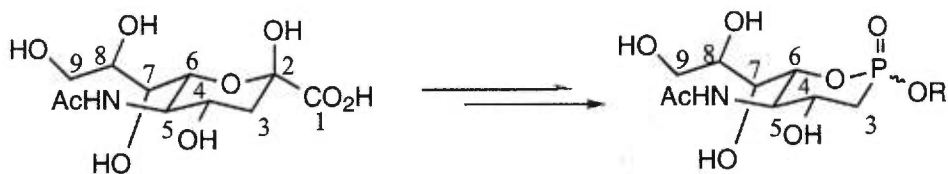


Schéma 5.9. Stéréochimie conservée au maximum

5.3.3 Synthèse

5.3.3.1 Synthèse du 5-acétamido-4,7,8,9-tetra-O-acétyl-2,3,5-tridésoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-énopyranosate de méthyle

Pour introduire la double liaison entre les carbones 2 et 3, nous commençons par protéger les groupements hydroxyles de l'acide sialique par acétylation dans un mélange d'anhydride acétique et de pyridine en présence d'une quantité catalytique de DMAP. Une fois les fonctions alcools acétylées, il nous reste à protéger la fonction acide par estérification par l'action d'une solution étherée de diazométhane.²³

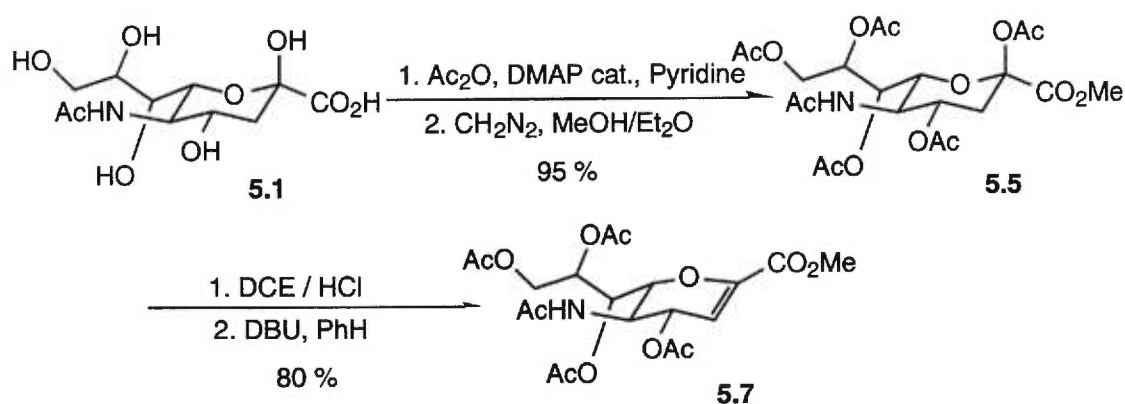


Schéma 5.10. Synthèse du Neu5Ac2en

Le survol des données de la littérature nous apprend que la formation de la double liaison située entre les carbones 2 et 3 était une réaction secondaire des réactions de glycosylation de l'acide sialique. Ce produit peut devenir majoritaire lorsque l'élimination du chlorure d'hydrogène entre en compétition avec la réaction de glycosylation quand l'activité de l'accepteur est trop faible. Pour résoudre ce problème quelques groupes ont fonctionnalisés ce sous-produit pour ainsi éviter une trop grande baisse de rendement. Il en résulte différents moyens développés pour que ce sous-produit soit obtenu exclusivement.

La synthèse du 5-acétamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acétyl-2,3,5-tridésoxy-D-glycéro-D-galacto-non-2-énopyranosate de méthyle passe par la formation du dérivé chloré sur le carbone 2 par la méthode de Kuhn,²⁴ c'est-à-dire l'agitation de l'ester de méthyle peracétylé dans une solution de dichloroéthane contenant de l'acide chlorhydrique sec. Sans purification, le produit obtenu **5.6** est alors traité avec de la DBU dans du benzène sec,²⁵ pour donner le produit désiré **5.7**, Neu5Ac2en, avec un rendement de 80% pour les deux étapes (Schéma 5.10).

5.3.3.2 Incorporation du phosphore

Une fois cette double liaison créée, on se prépare à incorporer l'atome de phosphore dans la molécule. Cependant souhaitant effectuer une cyclisation intramoléculaire en milieu basique ultérieurement dans la synthèse, il faut considérer que ces conditions seront incompatibles avec les groupements protecteurs *O*-acétyles actuellement en fonction. C'est la raison pour laquelle il nous faut les changer pour un type de groupement protecteur compatible avec les conditions utilisées ultérieurement. Nous avons alors choisi le benzyle comme nouveau groupement protecteur.

Une fois résolu le problème du groupement protecteur, nous pouvons entreprendre la coupure oxydante de la double liaison. Elle peut se faire par deux moyens : traitement à l'oxyde d'osmium et au periodate de sodium ou par ozonolyse. Pour des raisons pratiques et des considérations de sécurité (l'oxyde d'osmium étant hautement toxique), nous avons choisi l'ozonolyse comme traitement préférentiel.

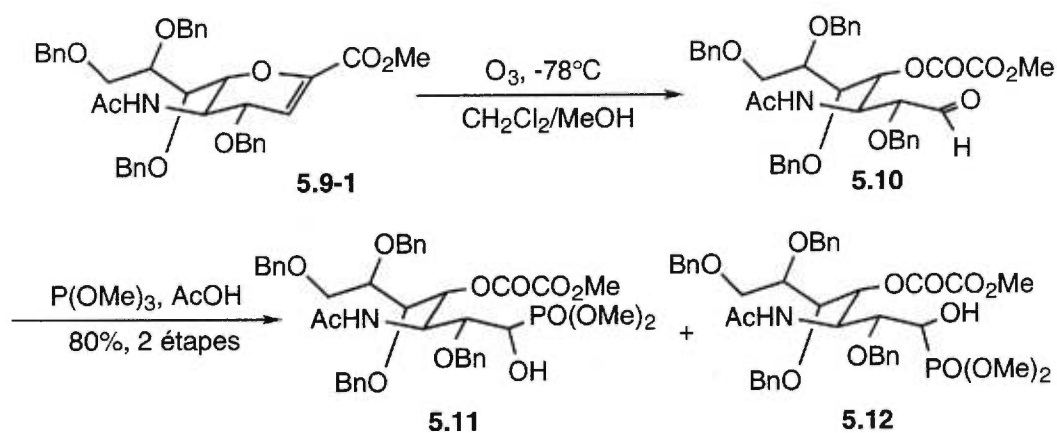


Schéma 5.12. Synthèse des phosphonates acycliques

L'ozonolyse de **5.9-1** nous donne deux nouvelles fonctions sur **5.10** : un aldéhyde sur le carbone 1 et un dérivé d'oxalate de méthyle sur le carbone 4 (Schéma 5.12). La réaction d'Abramov, en milieu acide,³⁰ effectuée sur **5.10** nous donne deux phosphonates **5.11** et **5.12** (deux isomères *R* et *S*).

5.3.3.3 Cyclisation intramoléculaire

Une fois les phosphonates **5.11** et **5.12** obtenus, il nous faut effectuer la cyclisation intramoléculaire pour compléter la synthèse des phosphones proprement dites. Pour des raisons pratiques, nous avons envisagé d'effectuer la désoxygénation du carbone situé en α du phosphonate avant cette cyclisation car les deux phosphonates sont difficilement séparables (Schéma 5.13). En effet, comme on a déjà deux phosphonates (isomères au niveau du carbone situé en α du phosphore), la cyclisation nous donnerait quatre produits (isomères au niveau du phosphore et isomères au niveau du carbone situé en α du phosphore). Inversement si la désoxygénation était effectuée avant la cyclisation, nous n'obtiendrions que deux produits (isomères au niveau du phosphore).

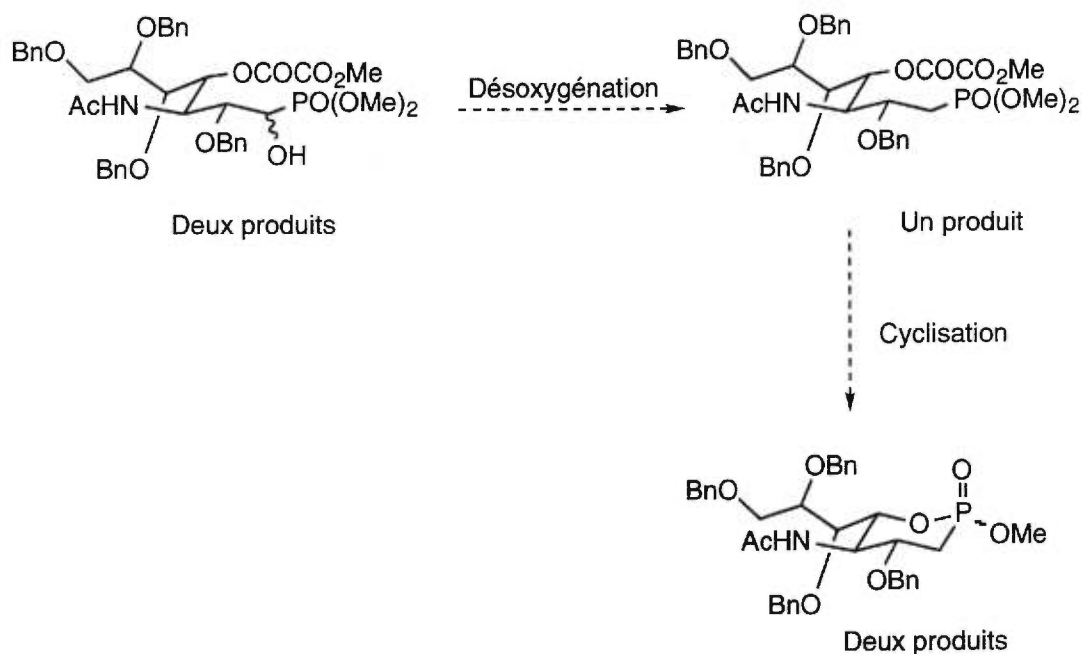


Schéma 5.13. Plan initial de fin de synthèse

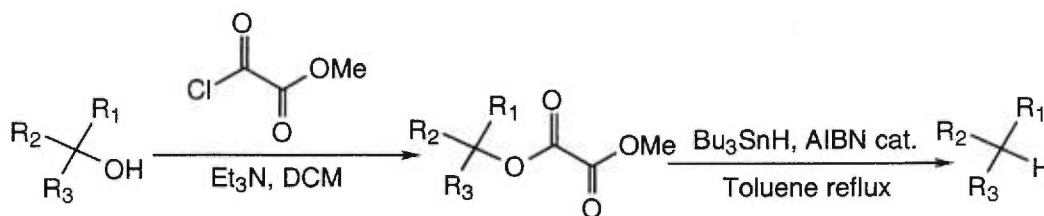


Schéma 5.14. Désoxygénation par la méthode de Dolan et MacMillan

Malheureusement, la présence du dérivé de l'oxalate de méthyle n'est pas compatible avec cette stratégie car elle amène à une double désoxygénation. En effet, la méthode de Dolan et MacMillan³¹ (Schéma 5.14) utilise un dérivé de l'oxalate de méthyle pour la désoxygénation d'alcool encombré. On obtient un sous-produit (Schéma 5.15) en plus du produit désiré, de plus ces deux produits sont inséparables par chromatographie sur gel de silice.

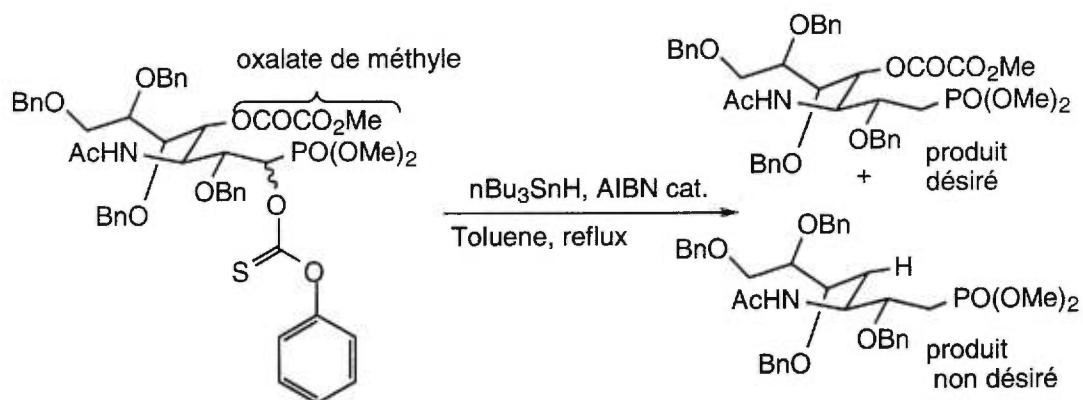


Schéma 5.15. Compétition lors de la désoxygénation

Le problème venant de la formation de l'oxalate de méthyle sur le carbone 4, obtenu après l'ozonolyse, nous avons pensé modifier l'ester de méthyle en méthyle pour obtenir après ozonolyse un groupement acétyle (Schéma 5.16) sur le carbone 4. Le groupement acétyle étant inerte vis-à-vis

des réactions de désoxygénation, notre plan initial de synthèse serait toujours valable (désoxygéner le carbone 2 avant de cycliser).

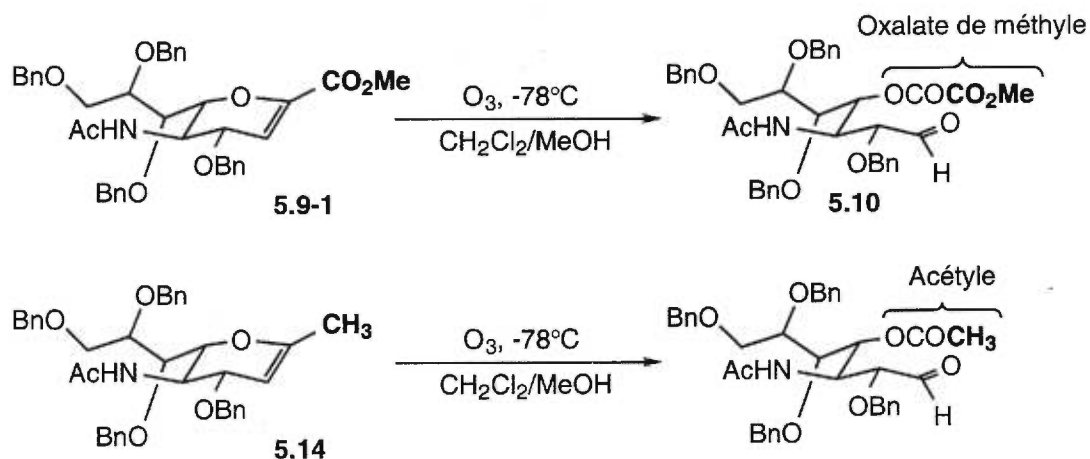


Schéma 5.16. Changement de l'oxalate de méthyle pour un groupement acétyle

La synthèse du dérivé **5.14** se fait en deux étapes. L'ester de méthyle du composé **5.9-1** est réduit avec du borohydrure de sodium en alcool **5.13** puis sa désoxygénation par la méthode de Barton et McCombie³¹ nous donne le composé désiré (Schéma 5.17).

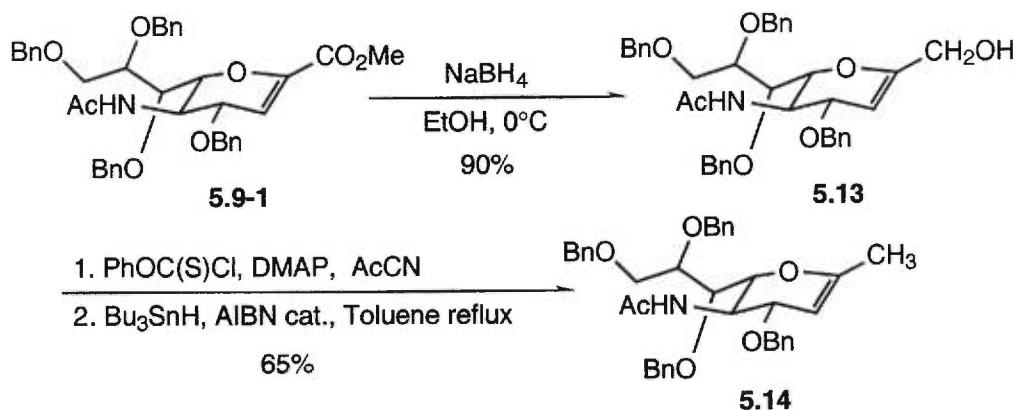


Schéma 5.17. Synthèse du composé **5.14**

Malheureusement la synthèse des phosphonates à partir du composé **5.14** ne nous a pas donné le composé **5.15** attendu (Schéma 5.18). En effet, dès l'ozonolyse nous obtenons une multitude de produits, nous ne pouvons donc pas continuer notre synthèse par cette voie et nous reprenons notre synthèse à partir du composé **5.9-1**.

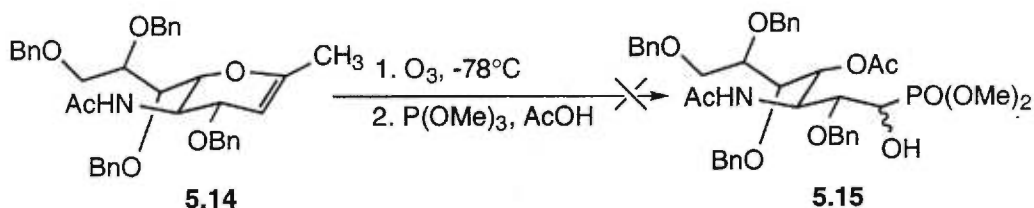


Schéma 5.18. Pas de réaction d'Abramov avec le composé **5.14**

Face à ces problèmes de désoxygénation compétitive et de purification, nous avons choisi de continuer la synthèse en effectuant d'abord la cyclisation puis la désoxygénation. Ainsi la cyclisation effectuée sur chacun des phosphonates obtenus par la réaction d'Abramov avec une solution molaire d'hydroxyde de sodium, conduit à deux phosphonates cycliques (isomères au niveau du phosphore) pour chacun des phosphonates (Schéma 5.19).

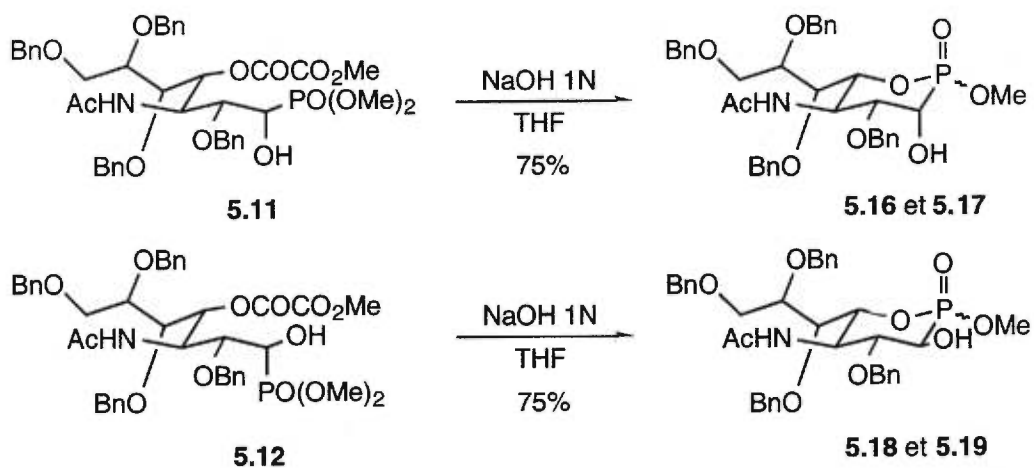


Schéma 5.19. Cyclisation intramoléculaire

5.3.3.4 Désoxygénation et déprotections

Une fois les phosphonates cycliques obtenus, on peut effectuer leur désoxygénation. Parmi les différentes méthodes à notre disposition, nous avons choisi la méthode de Barton et McCombie³² que nous avons déjà utilisée avec succès dans des synthèses antérieures de phostones. Cette désoxygénation se fait en deux étapes avec premièrement la synthèse des dérivés xanthates puis la désoxygénation radicalaire (Schéma 5.20) proprement dite avec l'utilisation d'hydruire de tributyl étain. On obtient ainsi les deux phostones **5.20** et **5.21** désirées (Schéma 5.21).

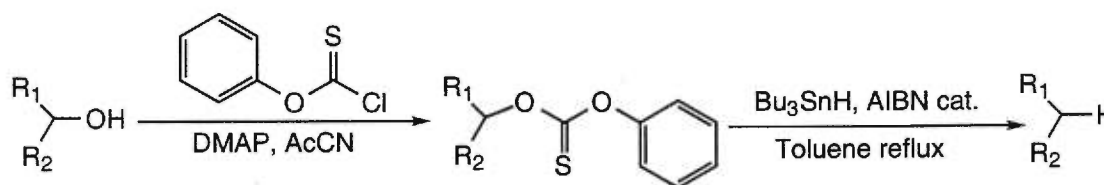


Schéma 5.20. Désoxygénation radicalaire par la méthode de Barton et McCombie

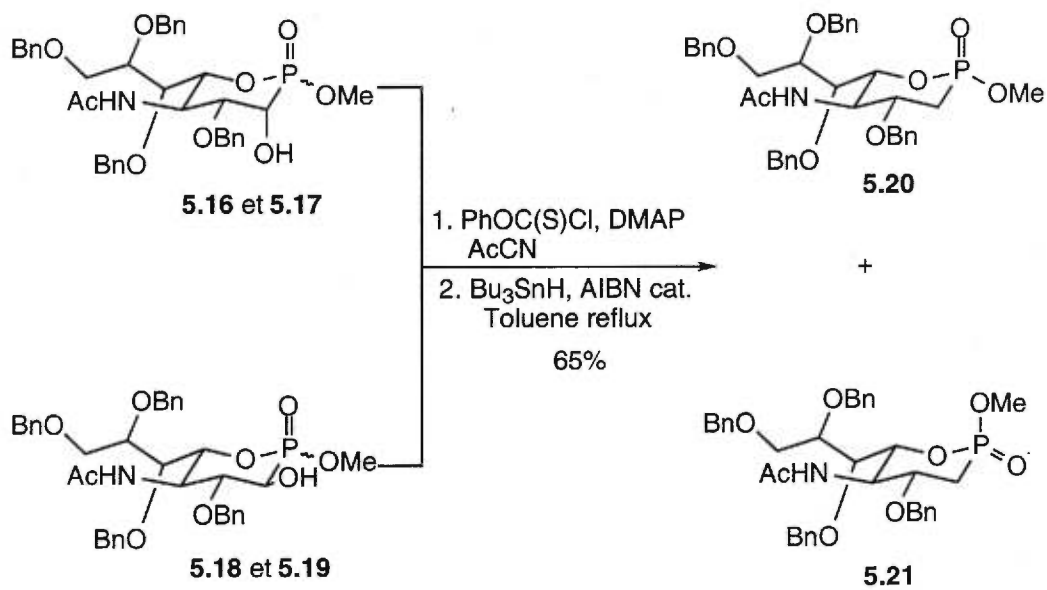


Schéma 5.21. Désoxygénation des phosphones

Les deux phosphones **5.20** et **5.21** obtenues sont ensuite soumises à une hydrogénolyse sous pression, en présence d'hydroxyde de palladium sur charbon comme catalyseur, pour donner les analogues **5.3** et **5.4** (Schéma 5.22).

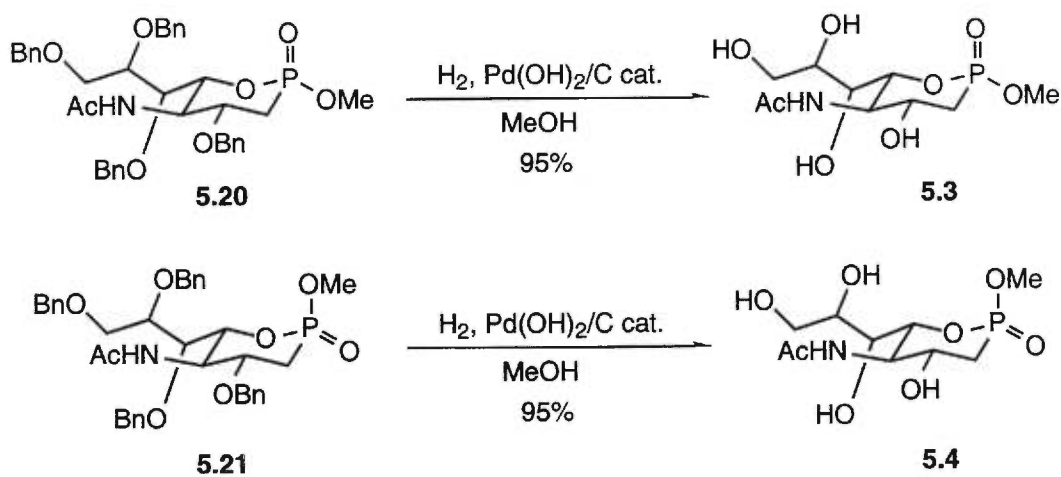
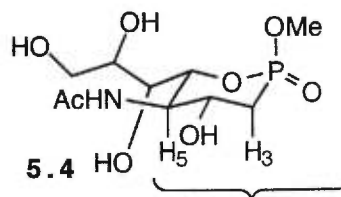
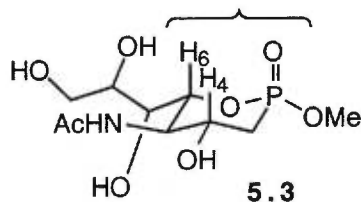


Schéma 5.22. Déprotection finale

Dès l'obtention des produits finaux **5.3** et **5.4**, nous avons été en mesure de prouver la stéréochimie sur l'atome de phosphore. Plusieurs méthodes RMN étaient possibles : effectuer une étude de l'effet NOE (Nuclear Overhauser Effect) sur le groupement méthoxy situé sur l'atome de phosphore ou étudier l'effet anisotropique dû à la liaison P=O. Lors du NOE, l'effet de l'irradiation du groupement méthoxy, situé sur l'atome de phosphore, sur les protons du cycle, ne nous a pas donné de résultats significatifs pour nous permettre de prouver la stéréochimie. Quant à l'effet anisotropique,³³ il est dû à la liaison P=O. Cet effet agit sur les protons du cycle qui sont dans le même plan que la liaison P=O (Schéma 5.23) et entraîne normalement un déblindage de ces protons.

P=O, H₄ et H₆ sont dans le même plan



P=O, H₃ et H₅ sont dans le même plan

*Schéma 5.23. Effet anisotropique sur les composés **5.3** et **5.4***

Les découplages proton-proton (COSY) et proton-carbone (HMQC) effectués sur chacun des composés **5.3** et **5.4** nous permettent d'assigner le déplacement chimique de chacun des protons du cycle. La comparaison de ces déplacements chimiques des différents protons illustre bien l'effet anisotropique (Tableau 5.1).

5.3 (P=O axiale)	5.4 (P=O équatoriale)
H ₄ 4.08 ppm	H ₄ 3.98 ppm
H ₅ 3.96 ppm	H ₅ 3.95 ppm
H ₆ 4.34 ppm	H ₆ 4.26 ppm

Tableau 5.1. Déplacements chimiques des composés 5.3 et 5.4

Si le groupement méthyle est en position équatoriale sur le phosphore alors la liaison P=O est en position axiale (composé 5.3), son effet anisotropique se répercute alors sur les protons H₄ et H₆ (Schéma 5.23). Ces protons seront plus déblindés que dans le cas d'une liaison P=O équatoriale (composé 5.4). Si on consulte le tableau 5.1, on s'aperçoit qu'effectivement les protons H₄ (4.08 ppm contre 3.98 ppm) et H₆ (4.34 ppm contre 4.26 ppm) du composé 5.3 sont plus déblindés que ceux du composé 5.4. On a ainsi la confirmation de la stéréochimie de l'atome de phosphore. Quant au proton H₅, on ne note pas de différence importante entre les 2 isomères, il doit être trop près de la liaison P=O.

Afin d'obtenir le dernier analogue, l'acide phosphonique 5.2, il nous faut transformer les phosphonates en acide phosphonique par l'utilisation du bromure de triméthyle silyle.³⁴ Comme nous l'avons précisé précédemment, quelque soit la géométrie du phosphonate utilisé, nous n'obtenons qu'un seul acide 5.22 (Schéma 5.24). Inversement l'estérification de cet acide 5.22 ne nous redonne qu'un seul phosphonate, le composé 5.20. Il reste ensuite à déprotéger les alcools des groupements benzyles par une hydrogénolyse sous pression en présence d'hydroxyde de palladium sur charbon pour obtenir le dernier analogue proposé, la phostone 5.2 (Schéma 5.24).

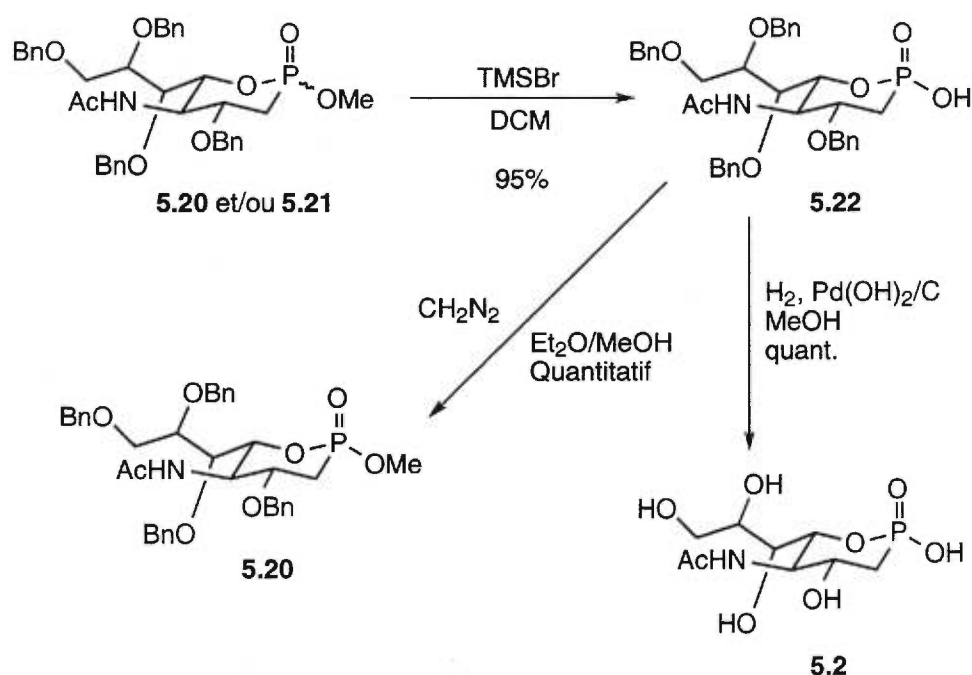


Schéma 5.24. Synthèse de l'acide phosphonique

5.3.4 Tests biologiques

Les trois phosphones **5.2**, **5.3** et **5.4** ont été utilisés dans des tests biologiques comme inhibiteurs de neuraminidase B/Memphis/3/89, les trois produits ont été dissous dans du DMSO et testés. Les résultats sont qu'il n'y a pas d'activité inhibitrice détectée (<10%) pour une concentration de 1mM. Il semble que l'éloignement de l'acide phosphonique de la poche du site actif de l'enzyme, où se situent les trois arginines (Arg116, Arg292 et Arg374), entraîne une chute considérable de l'activité inhibitrice.

5.3.5 Conclusion

Nous avons synthétisé la sialophostone et ses 2 esters méthyliques dans le but d'inhiber les neuraminidases, des enzymes impliquées dans le virus de la grippe. Malheureusement, les modifications effectuées ne conduisent pas à des produits actifs. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication scientifique.³⁵

5.3.6 Références

¹ Glezen, W.P. "Serious morbidity and mortality associated with influenza epidemics" *Epidemiol. Rev.* **1982**, *4*, 25-44.

² Nicholson, K.G. "Impact of influenza and respiratory syncytial virus on mortality in England and Wales from January 1975 to December 1990" *Epidemiol. Infect.* **1996**, *116*, 51-63.

³ Hay, A.J. "The action of adamantanamines against influenza A viruses : inhibition of the M2 ion channel protein" *Semin. Virol.* **1992**, *3*, 21-30.

⁴ Paulson, J.C. in *The Receptors*, Conn, M. Ed.; Academic Press : NewYork, **1985**, Vol.2, 131-219.

⁵ Sauter, N.K.; Hanson, J.E.; Glick, G.D.; Brown, J.H.; Crowther, R.L.; Park, S-J.; Skehel, J.J.; Wiley, D.C. "Binding of influenza virus hemagglutinin to analogs of its cell-surface receptor, sialic acid: analysis by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy and X-ray crystallography" *Biochemistry* **1992**, *31*, 9609-9621.

⁶ Mammen, M.; Dahmann, G.; Whitesides, G.M. "Effective inhibitors of hemagglutination by influenza virus synthesized from polymers having active

esters groups. Insight into mechanism of inhibition" *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4179-4190.

⁷ Colman, P.M. " Design and antiviral properties of influenza virus neuramidase inhibitors" *Pure & Appl. Chem.* **1995**, *67*, 1683-1688.

⁸ Colman, P.M. " Design and antiviral properties of influenza virus neuraminidase inhibitors" *Pure & Appl. Chem.* **1995**, *67*, 1683-1688.

⁹ Edmond, J.D.; Johnstone, R.G.; Kidd, D.; Rylance, H.J.; Sommerville, R.G. "The inhibition of neuraminidase and inhibition action" *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **1966**, *27*, 415-426.

¹⁰ Flashner, M.; Kessler, J.; Tanenbaum, S.W. in *Drug action and design : mechanism-based enzyme inhibitors* Kalman, T.I. Ed.; Elsevier : NewYork Amsterdam Oxford, **1979**, 27-40.

¹¹ Meindl, P.; Tuppy, H. "Über 2-deoxy-2,3-dehydro-sialinsäuren, 1. Mitt.: synthese und eigenschaften von 2-deoxy-2,3-dehydro-N-acylneuraminsäuren und deren methylestern" *Monatsh. Chem.* **1969**, *100*, 1295-1306.

¹² Janakiraman, M.N.; White, C.L.; Laver, W.G.; Air, G.M.; Luo, M. "Structure of influenza virus neuraminidase B/Lee/40 complexed with sialic acid and a dehydro analogue at 1.8-Å resolution : implication for the catalytic mechanism" *Biochemistry* **1994**, *33*, 335-343.

Chong, A.K.J.; Pegg, M.S.; Taylor, N.R.; Von Itzstein, M. "Evidence for a sialosyl cation transition-state complex in the reaction of sialidase from influenza virus" *Eur. J. Biochem.* **1992**, *207*, 335-343.

Taylor, N.R.; Von Itzstein, M. "Molecular modeling studies on ligand binding to sialidase from influenza virus and the mechanism of catalysis" *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 616-624.

¹³ Pour quelques exemples d'inhibiteurs, voir :

Taylor, N.R.; Cleasby, A.; Singh, O.; Skarzynski, T.; Wonacott, A.J.; Smith, P.W.; Sollis, S.L.; Howes, P.D.; Cherry, P.C.; Bethell, R.; Colman, P.; Varghese, J. "Dihydropyrancarboxamides related to zanamivir, a new series of inhibitors of influenza virus sialidases. 2. Crystallographic and molecular modeling study of complexes of 4-amino-4*H*-pyran-6-carboxamides and sialidase from influenza virus types A and B" *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 798-807.

Smith, P.W.; Sollis, S.L.; Howes, P.D.; Cherry, P.C.; Starkey, I.D.; Copley, K.N.; Weston, H.; Scicinski, J.; Merritt, A.; Whittington, A.; Wyatt, P.; Taylor, N.; Green, D.; Bethell, R.; Madar, S.; Fenton, R.J.; Morley, P.J.; Pateman, T.; Beresford, A. "Dihydropyrancarboxamides related to zanamivir " a new series of inhibitors of influenza virus sialidases. 1. Discovery, synthesis, biological activity, and structure-activity relationships of 4-guanidino- and 4-amino-4*H*-pyran-6-carboxamides" *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 787-797.

Chand, P.; Babu, Y.S.; Bantia, S.; Chu, N.; Cole, L.B.; Kotian, P.L.; Laver, W.G.; Montgomery J.A.; Pathak, V.P.; Petty, S.L.; Shrout, D.P.; Walsh, D.A.; Walsh, G.M. " Design and synthesis of benzoic acid derivatives as influenza neuraminidases inhibitor using structure-based drug design" *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 4030-4052.

Sollis, S.L.; Smith, P.W.; Howes, P.D.; Cherry, P.C.; Bethell, R.C. "Novel inhibitors of influenza sialidase related to GG167" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1805-1808. Kong, D.C.M.; Von Itzstein, M. " The first synthesis of a C-7

nitrogen-containing sialic acid analogue, 5-acetamido-7-azido-3,5,7-trideoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosic acid (7-azido-7-deoxy-Neu5Ac)" *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 957-960.

Bamford, M.J.; Pichel, J.C.; Husman, W.; Patel, B.; Storer, R.; Weir, N.G. "Synthesis of 6-, 7- and 8-carbon sugar analogues of potent anti-influenza 2,3-didehydro-2,3-dideoxy-N-acetylneuraminic acid derivatives" *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1995**, 1181-1187.

Wu, W.Y.; von Itzstein, M. "The synthesis of 2,3-didehydro-2,4-dideoxy-4-guanidiny-N-acetylneuraminic acid : a potent influenza virus sialidase inhibitor" *Carbohydr. Res.* **1994**, *259*, 301-305.

Hartmann, M.; Zbiral, E. "Synthesis of 2-Deoxy-2Heq-sialic acid analogues structurally varied at C-4" *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 795-801.

Mack, H.; Broosmer, R. "Synthesis of 6-thiosialic acids and 6-thio-N-acetyl-D-neuraminic acid" *Tetrahedron Lett.* **1987**, *28*, 191-194.

Kumar, V.; Kessler, K.; Scott, M.E.; Patwardhan, B.H.; Tanenbaum, S.W.; Flashner, M. "2,3-dehydro-4-epi-N-acetylneuraminic acid; a neuraminidase inhibitor" *Carbohydr. Res.* **1981**, *94*, 123-130.

Aoyagi, T.; Yagisawa, M.; Kumagai, M.; Hamada, M.; Okami, Y.; Takeuchi, T.; Umezawa, H. "An enzyme inhibitor, panosialin, produced by *Streptomyces* I. biological activity, isolation and characterization of Panosialin" *J. Antibiot.* **1971**, *24*, 860-869.

¹⁴ von Itzstein, M.; Wu, W-Y.; Kok, G.B.; Pegg, M.S.; Dyason, J.C.; Jin, B.; Phan, T.V.; Smythe, M.L.; White, H.F.; Oliver, S.W.; Colman, P.M.; Varghese, J.N.;

Ryan, D.M.; Woods, J.M.; Bethell, R.C.; Hotham, V.J.; Cameron, J.M.; Penn, C.R. "Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication" *Nature* **1993**, *363*, 418-423.

¹⁵ Goodford, P.J. "A computational procedure for determining energetically favorable binding sites on biologically important macromolecules" *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 849-857.

Wade, R.C.; Goodford, P.J. "Further development of hydrogen-bond functions for use in determining energetically favourable binding sites on molecules of known structure. 2. Ligand probe groups with the ability to form more than two hydrogen bonds" *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 148-156.

¹⁶ Kim, C.U.; Lew, W.; Williams, M.A.; Wu, H.; Zhang, L.; Chen, X.; Escarpe, P.A.; Mendel, D.B.; Laver, W.G.; Stevens, R.C. "Structure-Activity Relationship studies of novel carbocyclic influenza neuraminidase inhibitors" *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2451-2460.

¹⁷ Wade, R.C. "Flu and structure-based drug design" *Structure* **1997**, *9*, 1139-1145.

¹⁸ Kim, C.U.; Lew, W.; Williams, M.A.; Liu, H.; Zhang, L.; Swaminathan, S.; Bischofberger, N.; Chen, M.S.; Mendel, D.B.; Tai, C.Y.; Laver, W.G.; Stevens, R.C. "Influenza neuraminidase inhibitors possessing a novel hydrophobic interaction in the enzyme active site : design, synthesis, and structural analysis of carbocyclic sialic acid analogues with potent anti-influenza activity" *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 681

¹⁹ Wallimann, K.; Vasella, A. "Phosphonic-acid analogues of the N-Acetyl-2-deoxyneuraminic acids, synthesis and inhibition of *Vibrio cholerae* sialidase" *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1359-1372.

-
- ²⁰ White, C.L.; Janakiramon, M.M.; Laver, W.G.; Philippon, C.; Vasella, A.; Air, G.M.; Luo, M. "A sialic acid-derived phosphonate analog inhibits different strains of influenza virus neuraminidase with different efficiencies" *J. Mol. Biol.* **1995**, *245*, 623-634.
- ²¹ Chan, T-H.; Xin, Y-C. "Synthesis of phosphonic acid analogues of sialic acids (Neu5Ac and KDN) as potential sialidase inhibitors" *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 3500-3504.
- ²² Vasella, A.; Wyler, R. "Synthesis of a phosphonic acid analogue of *N*-acetyl-2,3-didehydro-2-deoxyneuraminic acid, an inhibitor of *Vibrio cholerae* sialidase" *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 451-463.
- ²³ Marra, A.; Sinay, P. "Acetylation of *N*-acetylneuraminic acid and its methyl ester" *Carbohydr. Res.* **1989**, *190*, 317-322.
- ²⁴ Kuhn R.; Lutz, P.; MacDonald, D.L. "Synthese anomerer sialinsäuremethylketoside" *Liebigs Ann. Chem.* **1966**, 611-617.
- ²⁵ Okamoto, K.; Kondo, T.; Goto, T. "Functionalisation of 2-deoxy-2,3-dehydro-*N*-acetylneuraminic acid methyl ester" *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 631-636.
- ²⁶ Kumar, V.; Kessler, J.; Scott, M.E.; Patwardhan, B.H.; Tanenbaum, S.W.; Flashner, M. "2,3-Dehydro-4-epi-*N*-acetylneuraminic acid; a neuraminidase inhibitor" *Carbohydr. Res.* **1981**, *94*, 123-130.
- ²⁷ Ito, Y.; Ogawa, T. "Highly stereoselective glycosylation of sialic acid aided by stereocontrolling auxiliaries" *Tetrahedron* **1990**, *46*, 89-102.

²⁸ Sharma, M.; Petrie, C.R.; Korytnyk, E. "General modification of sialic acid at C-9 synthesis of N-acetyl-9-deoxy-9-fluoroneuraminic acid" *Carbohydr. Res.* **1988**, *175*, 25-34.

²⁹ Czollner, L.; Kuszmann, J.; Vasella, A. "Synthesis of pyrrolidine analogues of N-acetylneuraminic acid as potential sialidase inhibitors" *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1338-1358.

³⁰ Darrow, J.W. and Drueckhammer, D.G. "Cyclic phosphonate analogs of hexopyranoses" *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 2976-2985.

³¹ Dolan, S.C.; Mac Millan, J. "A new method for the deoxygenation of tertiary and secondary alcohols" *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1588-1589.

Corey, E.J.; Su, W-G. "Total synthesis of a C₁₅ Ginkgolide, (±)-Bilobalide" *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 7534-7536.

³² Robins, M.J.; Wilson, J.S.; Hansske, F. "Nucleic acid related compounds. 42. A general procedure for the efficient deoxygenation of secondary alcohols. Regiospecific and stereoselective conversion of ribonucleosides to 2'-deoxynucleosides" *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 4059-4065.

³³ Abraham, R.J.; Fisher, J.; Loftus, P. dans *Introduction to NMR Spectroscopy*, édité par John Wiley & Sons. Sturtz, G.; Pondaven-Raphalen, A. *Phosphorus and Sulfur* **1988**, *36*, 39. Cooper, D.B.; Harrison, J.M.; Inch, T.D. *Tetrahedron Lett.* **1974**, 2697.

³⁴ McKenna, C.E.; Higa, M.T.; Cheung, N.H.; McKenna, M.C. "The facile dealkylation of phosphonic acid dialkyl esters by bromotrimethylsilane" *Tetrahedron Lett.* **1977**, *2*, 155-157.

³⁵ Rogel, O.; Hanessian, S. "Synthesis of Glycophostones : Cyclic Phosphonate Analogues of Biologically Relevant Sugars" *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 2667-2674.

6. NOTES GÉNÉRALES SUR LA PARTIE EXPÉRIMENTALE

6.1 Instrumentation

Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (RMN ^1H), du carbone 13 (RMN ^{13}C) et du phosphore (RMN ^{31}P) furent enregistrés à l'aide d'un spectromètre multinoyaux à 400 MHz pour le proton, 100.3 MHz pour le carbone et 162 MHz pour le phosphore. Les échantillons sont analysés dans les tubes de Pyrex de 5 mm de diamètre et mis en solution.

Les spectres sont exprimés en parties par millions (ppm) selon l'échelle δ par rapport au tétraméthylsilane (TMS) utilisé comme référence interne (0 ppm). Seules les portions bien résolues des spectres ont été analysées, en première approximation comme des systèmes du premier ordre. Les valeurs de constantes de couplage (J) sont exprimées en Hertz (Hz).

Le symbolisme utilisé pour décrire l'allure des signaux est le suivant:
s : singulet, d : doublet, t : triplet, q : quadruplet, m : multiplet, dd : doublet de doublet, l : large.

Les spectres de masse furent enregistrés sur des spectromètres Kratos MS-50 TCTA ainsi que VG-Autospec-C1 par les techniques d'ionisation chimique (I.C., basse et haute résolution). Seuls certains fragments caractéristiques de haute masse et de haute intensité ont été attribués. Tous les spectres originaux sont disponibles au laboratoire du professeur Stephen Hanessian à l'Université de Montréal. Une copie réduite de certains spectres est fournie en annexe de cet ouvrage.

6.2 Chromatographie

6.2.1 Chromatographie sur colonne

Les chromatographies flash furent effectuées en employant le gel de silice Merck no.9385.

6.2.2 Chromatographie sur couche mince

Les chromatographies sur couche mince (ccm) furent effectuées sur des plaques de verre commerciales préenduites de gel de silice (Merck, 0.25 mm d'épaisseur, Kieselgel 60F₂₅₄). Ces dernières permettent de suivre le déroulement des réactions en cours et servent aussi à évaluer la pureté.

6.3 Les révélateurs

Les révélateurs chimiques utilisés en chromatographie permettent de marquer les produits sur les plaques en rendant ces derniers visibles selon leurs divers groupements fonctionnels. Voici une liste des révélateurs employés:

6.3.1 Lumière ultraviolette

En plaçant simplement la plaque ccm sous une source d'ultraviolet, les composés contenant des groupements chromophores apparaissent sous formes de taches violettes sur fond vert.

6.3.2 Molybdate d'ammonium en solution aqueuse

Les plaques peuvent aussi être plongées dans une solution aqueuse (900 mL d'eau) d'acide (100 mL d'acide sulfurique concentré), de molybdate d'ammonium (25 g), et de sulfate cérique (10 g) pour être ensuite chauffées à 110°C; on obtient alors un révélateur quasi universel donnant des taches bleues sur fond blanc.

6.4 Purification des solvants

Sous des conditions de travail non anhydres, les solvants de qualité "Reagent Grade" sont considérés comme acceptables lorsqu'ils sont distillés (pour éliminer toute trace de contamination éventuelle principalement lors de l'usage de petites quantités) tandis que les solvants de qualité spectroscopique sont utilisés tels quels.

Pour des conditions anhydres, les solvants sont distillés sous atmosphère d'argon sec et sur agents desséchants. Ils sont ensuite utilisés sans délai ou conservés sous atmosphère inerte dans des bouteilles brunes munies de bouchons caoutchoutés et recouverts de Parafilm. Le tableau 6.1 donne les différentes propriétés des solvants les plus fréquemment employés dans la partie expérimentale ainsi que les agents desséchants utilisés.

Solvant	Agent desséchant	Point d'ébullition (°C)
Acétate d'éthyle	P ₂ O ₅	77
Dichlorométhane	P ₂ O ₅	40
N,N-Diméthylformamide	BaO	30 (1mmHg)
Pyridine	CaH ₂	115
Tétrahydrofurane	K	66
Toluène	CaH ₂	111

Tableau 6.1. Purification des solvants

6.5 Nomenclature

La nomenclature des composés fut déterminée à l'aide du programme Autonom© et selon : Favre, H. *La nomenclature pour la chimie organique*; l'Ordre des chimistes du Québec: Montréal, 1992.

Quant à la nomenclature des phosphones proprement dite, elle a pour base un phosphonate cyclique (Figure 6.1) 2'-alkoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one. Pour des raisons de compréhension, nous avons incorporé à ce nom la nomenclature utilisée dans la chimie des carbohydrates afin de définir la stéréochimie des carbones 3 à 6.

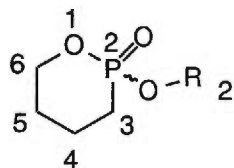


Figure 6.1. Nomenclature du phosphonate de base

6.6 Généralités

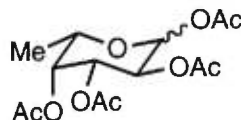
Le traitement habituel mentionné dans le protocole expérimental signifie que la solution organique est séchée avec du sulfate de magnésium ou du sulfate de sodium anhydre puis elle est filtrée et le solvant est évaporé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur de type Büchi.

Lorsqu'on fait mention dans ce protocole expérimental qu'un résidu est chromatographié, ceci signifie alors qu'une chromatographie éclair est effectuée, que les solvants sont évaporés sous pression réduite et que le résidu obtenu est gardé sous vide (0.02-0.05 mm Hg) pendant plusieurs heures jusqu'à masse constante.

Dans le cas des réactions nécessitant des conditions anhydres, celles-ci sont effectuées sous atmosphère d'argon dans de la verrerie séchée à la flamme ou bien à l'étuve (130°C) et purgée à l'argon alors qu'elle est encore chaude. Les additions de solvants ou de réactifs à l'intérieur des ballons munis de bouchons caoutchoutés (septa) sont faites à l'aide de seringues ou de canules doubles pointes séchées préalablement.

7. PARTIE EXPÉRIMENTALE DU CHAPITRE 2

Les L-Fucophostones

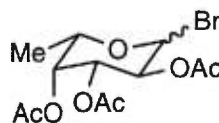
1,2,3,4-Tetra-*O*-acétyl-L-fucose : **2.16**¹

A du L-fucose **2.1** (2 g, 12.5 mmoles) en suspension dans de la pyridine (75 mL) est ajouté de l'anhydride acétique (50 mL) puis une quantité catalytique de diméthylamino pyridine. Le mélange est agité à température ambiante pendant 2 jours. Après concentration, le résidu est versé dans un mélange eau-glace (200 mL) puis extrait au chloroforme (2 x 150 mL) et lavé avec une solution aqueuse saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (100 mL). Après séchage (sulfate de sodium), la solution est concentrée sous pression réduite pour obtenir **2.16** sous la forme d'un sirop de couleur jaune (3,89 g, 98 %, α/β 44/56). Afin d'enlever la pyridine résiduelle, le produit est codistillé plusieurs fois avec du toluène.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 6.27 (d, 1H, $J_{1,2} = 2.5$ Hz, $H1\alpha$), 5.62 (d, 1H, $J_{1,2} = 8.3$ Hz, $H1\beta$), 5.20 (dd, 1H, $J = 8.3$ et 11.2 Hz), 5.00 (dd, 1H, $J = 3.4$ et 10.4 Hz), 4.21 (dd, 1H, $J = 6.4$ Hz), 3.89 (dd, 1H, $J = 6.5$ Hz), 2.12 2.05 1.97 1.93 (4s, 12H, 4 OAc α), 2.11 2.08 1.95 1.94 (4s, 12H, 4 OAc β), 1.16 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz, $H6\alpha$), 1.09 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz, $H6\beta$).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 170.3 168.9 169.7 169.2 168.9 (CO des 3 OAc+OAc α +OAc β), 91.9 ($C1\alpha$), 89.7 ($C1\beta$), 70.3 ($C4$), 67.6 ($C3$), 67.0 ($C5$), 66.2 ($C2$), 20.7 20.6 20.5 20.4 20.3 (CH₃ des 3 OAc+OAc α +OAc β), 15.7 ($C6$).

¹ Prihar, H.S.; Tsai, J-H.; Wanamaker, S.R.; Duber, S.J.; Behrman, E.J. "Synthesis of β -L-fucopyranosyl phosphate and L-fucofuranosyl phosphates by the McDonald procedure" *Carbohydr, Res*, **1977**, 56, 315-324.

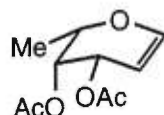
Bromure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl-L-fucopyranosyle : **2.17**²

A une solution d'acide bromhydrique dans de l'acide acétique (30-32% m/v, 2 mL), on ajoute **2.16** (530 mg, 1.59 mmoles). La solution est agitée à température ambiante pendant 90 minutes sous atmosphère inerte. La solution rouge obtenue est versée dans d'un mélange eau-glace (5 mL) et extraite avec du tétrachlorure de carbone (10 mL). Cet extrait est alors lavé successivement avec un mélange eau-glace (5 mL), une solution froide saturée d'hydrogénocarbonate de sodium (5 mL) et finalement avec un mélange eau-glace (2 x 5 mL). La phase organique est séchée (sulfate de sodium), filtrée et concentrée pour donner **2.17** sous la forme d'un sirop de couleur jaune (393 mg, 80 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 6.24 (d, 1H, *J* = 3.8 Hz, *H1*), 5.45-5.03 (m, 3H, *H2 H3 H4*), 4.13 (dd, 1H, *J* = 3.8 et 10.4 Hz, *H5*), 2.08 2.05 1.98 (3s, 9H, OAc), 1.12 (d, 3H, *J* = 6.5 Hz, *H6*).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 170.3 169.9 169.8 (CO des OAc), 91.5 (*C1*), 70.1 (*C4*), 66.5 (*C3*), 65.2 (*C5*), 63.6 (*C2*), 20.1 20.0 19.9 (CH₃ des OAc), 15.2 (*C6*).

² Tsai, J-H.; Behrman, E.J. "Synthesis of β-L-fucopyranosyl phosphate from L-fucose orthoacetate" *Carbohydr. Res.* **1978**, 64, 297-301.

3,4-Di-*O*-acétyl-L-fucal : **2.18**³

Le dérivé bromé **2.17** (393 mg, 1.27 mmoles) est traité avec de la poudre de zinc (1 g) en suspension dans une solution d'acide acétique à 50% (10 mL) contenant de l'acétate de sodium (1.8 g). La température est gardée à -10°C pendant 3 heures. La solution froide est filtrée sur célite, le filtrat extrait au chloroforme (10 mL) et l'extrait lavé avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de potassium (10 mL), séché (sulfate de sodium), et concentré pour donner **2.18** sous la forme d'un sirop translucide (200 mg, 73%).

$[\alpha]_D +10.5$ (*c* 1.0, CHCl₃) ; litt.³ $[\alpha]_D +11.0$ (*c* 1.0, CHCl₃)

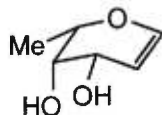
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 6.40 (dd, 1H, *J* = 1.8 et 6.2 Hz), 5.52-5.50 (m, 1H, *H*3), 5.22 (dd, 1H, *J* = 4.3 Hz, *H*4), 4.57 (dd, 1H, *J* = 1.9 et 6.3 Hz, *H*2), 4.16 (dd, 1H, *J* = 2.2 et 6.5 Hz, *H*5), 2.14 2.00 (2s, 6H, 2 OAc), 1.26 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz, *H*6).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 170.3 170.0 (CO des OAc), 145.8 (*C*2), 97.9 (*C*1), 71.2 65.9 64.7 (*C*3, *C*4, *C*5), 20.5 20.4 (CH₃ des OAc), 16.2 (*C*6).

MS (FAB) *m/e* 215 (M⁺)

HMRS calculée pour C₁₀H₁₅O₅ (M⁺) : 215.18225, trouvée 215.18430 avec une erreur $\sigma < 3.8$ ppm.

³ El Khadem, H.S.; Swartz, D.L.; Nelson, J.K.; Berry, L.A. "Synthesis of 2,6-dideoxy- α -L-lyxo- and 2,6-dideoxy- α -L-arabino-hexapyranosyl halides" *Carbohydr. Res.* **1977**, 58, 230-234.

L-fucal : **2.19**

Un mélange de **2.18** (200 mg, 0.93 mmoles) et de méthanoate de sodium 0.1M (0.5 mL) dans du méthanol (5 mL) est agité pendant 16 heures à température ambiante sous atmosphère inerte. La solution est neutralisée avec du dioxyde de carbone et concentrée pour conduire à **2.19** sous la forme d'un sirop (130 mg, 92%).

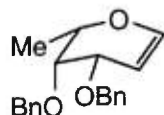
$[\alpha]_D +3.0$ (*c* 1.0, MeOH)

RMN ^1H (400 MHz, D_2O) δ (ppm) : 6.37 (dd, 1H, $J = 4.4$ et 1.8 Hz, *H1*), 4.70 (dd, 1H, $J = 2.0$ et 4.6 Hz, *H2*), 4.48 (s, 1H, *H3*), 4.13 (d, 1H, $J = 7.1$ Hz, *H4*), 3.77 (s, 1H, *H5*), 1.30 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz, *H6*).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ (ppm) : 141.9 (*C2*), 100.2 (*C1*), 71.2 (*C4*), 65.8 (*C3*), 62.1 (*C5*), 14.0 (*C6*).

MS (FAB) *m/e* 131 (M^+)

HMRS calculée pour $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_3$ (M^+) : 131.16116 , trouvée 131.16040 avec une erreur $\sigma < 1.6$ ppm.

3,4-Di-*O*-benzyl-L-fucal : **2.20**

De l'hydrure de sodium (60% en dispersion dans de l'huile minérale, 120 mg, 3 éq) est ajouté à une solution de **2.19** (130 mg, 1 mmole) dans de la diméthylformamide (5 mL) contenant une quantité catalytique de Bu₄Ni, et le mélange est agité à température ambiante pendant 1 heure. On refroidit avec un bain de glace le mélange auquel est ajouté graduellement du bromure de benzyle (360 µL, 3 éq). Quand le dégagement d'hydrogène cesse, la solution est agitée à température ambiante pendant 1 heure puis est versée dans un mélange eau-glace (20 mL), d'acide sulfurique 1M (1 mL) et de chloroforme (20 mL). La phase organique est extraite, séchée (sulfate de sodium) et concentrée pour donner **2.20** sous la forme d'un sirop après purification par chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 1/9) (305 mg, 90 %).

$[\alpha]_D^{25} +76.6$ (c 0.5, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.45-7.22 (m, 10H, arom.), 6.40 (dd, 1H, *J* = 4.5 et 6.2 Hz), 5.01 (d, 1H, *J* = 11.9 Hz), 4.90-4.87 (m, 1H), 4.78-4.65 (m, 3H), 4.30-4.28 (m, 1H), 4.09 (q, 1H, *J* = 6.6 Hz), 3.75-3.73 (m, 1H), 1.33 (d, 3H, *J* = 6.5 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 144.3, 138.1, 138.0, 128.2-127.3, 99.4, 73.6, 73.1, 72.8, 72.1, 70.7, 16.5.

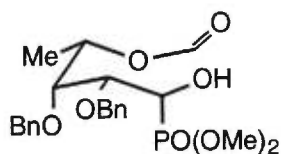
HMRS calculée pour C₂₀H₂₃O₃ (M⁺) : 311.30670, trouvée 311.30790 avec une erreur σ < 1.8 ppm.

2,3-Di-*O*-benzyl-5-désoxy-1-diméthylphosphonyl-4-*O*-formyl-L-fucose **2.21**
 et 2,3-di-*O*-benzyl-5-désoxy-1-diméthylphosphonyl-4-*O*-formyl-L-talose **2.22**



Un mélange gazeux d'O₃/O₂ est introduit dans une solution froide (-78°C) de **2.20** (200 mg, 0.64 mmoles) dans du dichlorométhane (10 mL) jusqu'à l'obtention d'une couleur bleue persistante (15 minutes). Du diméthylesulfure (10 µL) est ajouté et la solution est purgée à l'azote (10 minutes). Après concentration, le résidu est dissous dans de l'acide acétique glacial (10 mL) et du phosphite de triméthyle (140 µL, 2 éq) est graduellement ajouté. La réaction est agitée pendant 16 heures à température ambiante. Les deux isomères sont obtenus sous la forme de sirops translucides après chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 1/1) (**2.21** 102 mg et **2.22** 155 mg) pour un rendement global de 75%.

Données pour **2.21** :



$[\alpha]_D -2.35$ (*c* 0.85, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 8.35 (s, 1H), 7.68-7.53 (m, 10H), 5.64-5.62 (m, 1H), 5.14 (d, 1H, *J* = 9.9 Hz), 5.05 (d, 1H, *J* = 11.2 Hz), 4.96 (d, 1H, *J* = 11.2 Hz), 4.68 (d, 1H, *J* = 9.9 Hz), 4.53 (t, 1H, *J* = 10.7 Hz), 4.25 (dd,

1H, $J = 5.3$ et 8.5 Hz), 4.09 et 4.07 (2d, 6H, $J = 10.7$ et 10.1 Hz), 3.94 (dd, 1H, $J = 1.2$ et 8.3 Hz), 3.56 (dd, 1H, $J = 3.2$ et 10.3 Hz), 1.62 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz).

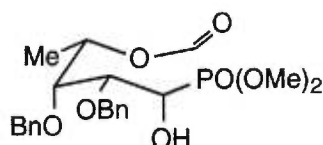
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.5, 137.3, 137.0, 128.5-127.98, 79.3 (d, $J = 11.9$ Hz), 77.3, 75.4, 74.0, 69.4, 66.2 (d, $J = 162.9$ Hz), 53.5 (d, POME, $J = 7.2$ Hz), 52.89 (d, $J = 7.2$ Hz, POME), 16.9.

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 25.5 ppm

MS (FAB) m/e 453 (M^+), 345, 255, 181, 91, 77.

HMRS calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_8\text{P}$ (M^+) : 453.30670 , trouvée 453.30790 avec une erreur $\sigma < 1.8$ ppm.

Données pour **2.22** :



$[\alpha]_{\text{D}} -6.1$ (c 1.1, CHCl_3)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.97, 7.37-7.25 (m, 10H, arom.), 5.40 (t, 1H, $J = 6.4$ Hz), 4.82-4.65 (m, 4H), 4.39 (dd, 1H, $J = 5.0$ et 10.4 Hz), 4.00 (ddd, 1H, $J = 5.0$, 6.2 et 17.0 Hz), 3.71 (d, 3H, $J = 10.4$ Hz), 3.68 (d, 3H, $J = 10.4$ Hz), 1.33 (d, 3H, $J = 6.5$ Hz).

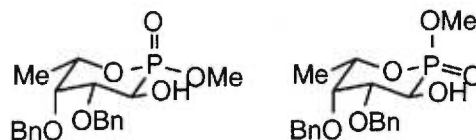
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 160.7, 137.7, 137.5, 128.3-127.7, 81.1 (d, $J = 6.9$ Hz), 79.6, 74.6, 74.0, 70.2, 68.1 (d, $J = 160.8$ Hz), 53.3 (d, $J = 6.6$ Hz), 52.9 (d, $J = 6.9$ Hz), 17.1

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 26.8 ppm

MS (FAB) m/e 453 (M^+), 345, 255, 181, 91, 77.

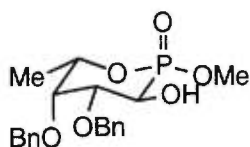
HMRS calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_8\text{P}$ (M^+) : 453.30670 , trouvée 453.30790
avec une erreur $\sigma < 1.8$ ppm.

4,5-Di-*O*-benzyl-6-méthyl-L-*galacto*-(2*R*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **2.23** et 4,5-di-*O*-benzyl-6-méthyl-L-*galacto*-(2*S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **2.24**



Le composé **2.21** (100 mg, 0.22 mmoles) est dissous dans du méthanol (10 mL) et on ajoute graduellement du méthanoate de sodium 0.01M (20 µL) fraîchement préparé. Après agitation à température ambiante pendant 2 heures, la solution est neutralisée avec de l'Amberlite IR-120 (H⁺) puis est filtrée et concentrée. Le résidu est purifié sur plaque préparative (éluant acétate d'éthyle) pour donner **2.23** (47 mg) et **2.24** (47 mg) sous la forme de sirops translucides pour un rendement global de 95%.

Données pour **2.23** :



$[\alpha]_D -36.0$ (*c* 0.7, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.40-7.26 (m, 10H, arom.), 4.97 (d, 1H, *J* = 11.5 Hz), 4.85 (d, 1H, *J* = 11.7 Hz), 4.74 (d, 1H, *J* = 11.7 Hz), 4.66 (d, 1H, *J* = 11.5 Hz), 4.60 (dd, 1H, *J* = 8.1 et 11.5 Hz), 4.21-4.19 (m, 1H), 3.89 (d, 3H, POMe *J* = 10.2 Hz), 3.82 (td, 1H, *J* = 2.3 et 10.5 Hz), 3.66-3.39 (m, 1H), 1.30 (dd, 3H, *J* = 1.5 et 6.5 Hz).

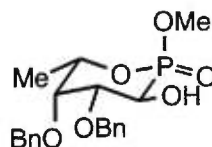
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 138.2, 137.8, 128.4-127.6, 82.9 (d, $J = 10.1$ Hz), 78.0, 74.9, 74.6 (d, $J = 5.7$ Hz), 74.2, 67.4 (d, $J = 143.0$ Hz), 53.6 (d, $J = 7.0$ Hz), 17.8 (d, $J = 10.8$ Hz).

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 19.8 ppm

MS (FAB) m/e 393 (M^+), 154, 91.

HMRS calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{P}$ (M^+) : 393.30981 , trouvée 393.31130 avec une erreur $\sigma < 1.8$ ppm.

Données pour **2.24**:



$[\alpha]_D -35.3$ (c 0.85, CHCl_3)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.39-7.26 (m, 10H, arom.), 4.97 (d, 1H, $J = 11.4$ Hz), 4.78 (q, 2H, $J = 11.7$ Hz), 4.67 (d, 1H, $J = 11.4$ Hz), 4.44-4.39 (m, 2H), 3.94 (td, 1H, $J = 3.1$ et 10.6 Hz), 3.84 (d, 3H, POMe $J = 11.0$ Hz), 3.69 (s, 1H), 1.31 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz).

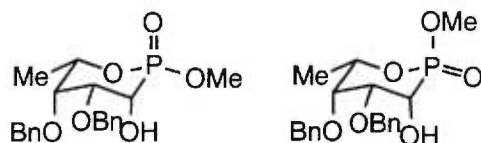
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 137.7, 137.6, 128.5-127.7, 83.1 (d, $J = 8.0$ Hz), 75.0, 73.8 (d, $J = 3.3$ Hz), 73.7, 66.1 (d, $J = 138.6$ Hz), 53.9 (d, $J = 6.5$ Hz), 17.8 (d, $J = 10.9$ Hz).

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 24.1 ppm

MS (FAB) m/e 393 (M^+), 154, 91.

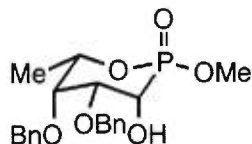
HMRS calculée pour $C_{20}H_{26}O_6P$ (M^+) : 393.30981 , trouvée 393.31130
avec une erreur $\sigma < 1.8$ ppm.

4,5-Di-*O*-benzyl-6-méthyl-L-*talo*-(2*R*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **2.25** et 4,5-di-*O*-benzyl-6-méthyl-L-*talo*-(2*S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **2.26**



Le composé **2.22** (50 mg, 0.11 mmoles) est dissous dans du méthanol (5 mL) et on ajoute graduellement du méthanoate de sodium 0.01M (20 µL) fraîchement préparé. Après agitation à température ambiante pendant 2 heures, on neutralise la solution avec de l'Amberlite IR-120 (H⁺) puis on filtre et on concentre. Le résidu est purifié sur plaque préparative (éluant acétate d'éthyle) pour donner **2.25** (16 mg) et **2.26** (27 mg) sous la forme de sirops translucides pour un rendement global de 95%.

Données pour **2.25**:



$[\alpha]_D +11.0$ (*c* 0.4, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.42-7.26 (m, 10H, arom.), 5.01 (d, 1H, *J* = 10.7 Hz), 4.86 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz), 4.66 (d, 1H, *J* = 10.7 Hz), 4.54 (d, 1H, *J* = 11.6 Hz), 4.51-4.46 (m, 2H), 4.28 (d, 1H, *J* = 9.5 Hz), 4.09 (t, 1H, *J* = 2.6 Hz), 3.93 (d, 3H, POMe, *J* = 10.5 Hz), 3.80-3.79 (m, 1H), 1.36 (dd, 3H, *J* = 1.6 et 6.5 Hz).

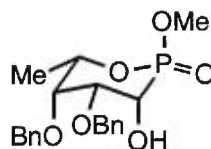
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 137.2, 136.6, 128.5-127.6, 80.1, 77.2, 76.9, 73.4, 69.9, 65.4 (d, $J = 138.2$ Hz), 54.6 (d, $J = 7.2$ Hz), 17.6 (d, $J = 9.7$ Hz).

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 22.4 ppm

MS (FAB) m/e 393 (M^+), 154, 91.

HMRS calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{P}$ (M^+) : 393.30981 , trouvée 393.31130 avec une erreur $\sigma < 1.8$ ppm.

Données pour **2.26** :



$[\alpha]_{\text{D}} +2.0$ (c 0.7, CHCl_3)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.41-7.26 (m, 10H, arom.), 5.01 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz), 4.87 (d, 1H, $J = 11.7$ Hz), 4.66 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz), 4.53 (d, 1H, $J = 11.7$ Hz), 4.37-4.30 (m, 1H), 4.17-4.13 (m, 2H), 3.82 (dd, 1H, $J = 2.3$ et 3.2 Hz), 3.79-3.67 (m, 1H), 3.74 (d, 3H, POMe , $J = 10.4$ Hz), 1.37 (dd, 3H, $J = 1.7$ et 6.5 Hz).

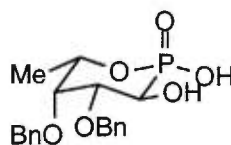
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 137., 136.5, 128.4-127.6, 79.2 (d, $J = 2.8$ Hz), 77.1, 76.9, 76.4, 74.3 (d, $J = 4.9$ Hz), 69.7, 64.1 (d, $J = 143.1$ Hz), 52.1 (d, $J = 7.0$ Hz), 17.8 (d, $J = 9.3$ Hz).

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 20.3 ppm

MS (FAB) m/e 393 (M^+), 154, 91.

HMRS calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{P}$ (M^+) : 393.30981 , trouvée 393.31130 avec une erreur $\sigma < 1.8$ ppm.

4,5-Di-*O*-benzyl-6-méthyl-L-*galacto*-(2*R*)-hydroxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **2.27**



Le composé **2.23** et/ou **2.24** (112 mg, 0.28 mmoles) est dissous dans du dichlorométhane (10 mL) et du bromure de triméthylsilyle (5 éq, 190 µL) est ajouté. La solution est agitée pendant 16 heures à température ambiante sous atmosphère inerte. De l'eau (50 µL) est ajoutée et l'agitation est maintenue pendant 15 minutes. Après concentration, le résidu est purifié par cristallisation (acétate d'éthyle/pentane) pour donner **2.27** sous la forme d'une poudre blanche (90 mg, 95 %).

$[\alpha]_D -54.4$ (c 1.0, CHCl_3)

p.f. 248-250°C

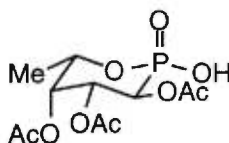
RMN ¹H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) : 7.40-7.25 (m, 10H, arom.), 4.83 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz), 4.75 (s, 2H), 4.56 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz), 4.17 (br, 1H), 3.78-3.50 (m, 2H), 3.38 (br, 1H), 1.16 (s, 3H).

RMN ¹³C (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm) : 140.3, 140.0, 129.1-128.2, 85.1 (d, $J = 9.0$ Hz), 80.4, 75.6, 73.3, 71.4, 68.6 (d, $J = 136.2$ Hz), 19.1

RMN ³¹P (162 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) (vs H_3PO_4 dans $\text{DMSO-}d_6$ réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 20.1 ppm

HMRS calculée pour $C_{19}H_{24}O_6P$ (M^+) : 379.08484, trouvée 379.08410 avec une erreur $\sigma < 2.5$ ppm.

3,4,5-Tri-*O*-acétyl-6-méthyl-L-*galacto*-(2*R*)-hydroxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **2.28**



Une solution de **2.23** et/ou **2.24** (40 mg, 0.1 mmoles) dans du méthanol (2 mL) est hydrogénée en présence de Pd(OH)₂/C 20% (10 mg) à une pression de 60 psi pendant 16 heures. La solution est filtrée sur célite et est évaporée. Le produit obtenu est dissous dans du dichlorométhane (1 mL) puis de l'anhydride acétique (4 mL) et une solution étherée de trifluoroborane (20 µL) sont ajoutés. Le mélange est agité à température ambiante pendant 16 heures puis est neutralisé avec une solution aqueuse saturée en hydrogénocarbonate de sodium (10 mL). Après extraction au chloroforme (2 x 5 mL), la phase organique est lavée avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée (sulfate de sodium), filtrée et concentrée. Le sirop obtenu est dissous dans du THF (5 mL) et du bromure de triméthylsilyle (5 éq, 90 µL) est ajouté. La solution est agitée pendant 16 heures à température ambiante sous atmosphère inerte. De l'eau (50 µL) est ajoutée et l'agitation est maintenue pendant 15 minutes. Après concentration, le résidu est purifié par cristallisation (évaporation lente du chloroforme) (20 mg, 75%).

[α]_D -43.5 (c 0.8, MeOH)

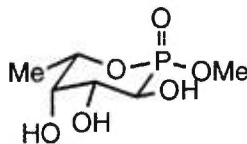
p.f. 80-82°C

RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 5.41 (t, 1H, $J = 10.9$ Hz), 5.27 (s, 1H), 5.23 (td, 1H, $J = 3.3$ et 6.5 Hz), 4.56-4.54 (m, 1H), 3.19-3.18 (m, 1H), 2.08 1.99 1.84 (3s, 9H), 1.17 (d, 3H, $J = 6.3$ Hz)

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 171.9, 171.5, 171.1 (d, $J = 4.5$ Hz), 73.9 (d, $J = 5.4$ Hz), 73.5 (d, $J = 11.5$ Hz), 73.2, 66.4 (d, $J = 147.8$ Hz), 20.6, 20.5, 20.4, 17.6 (d, $J = 10.5$ Hz)

RMN ^{31}P (162 MHz, CD_3OD) (vs H_3PO_4 dans CD_3OD réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 12.9 ppm

L-Fuco-(2*R*)-méthoxy-1,2 λ^5 -oxaphosphorinan-2-one **2.3**



Une solution de **2.23** (14 mg, 0.036 mmoles) dans du méthanol (3 mL) est hydrogénée en présence de $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ 20% (10 mg) à une pression de 60 psi pendant 16 heures. La solution est filtrée sur célite et est évaporée pour donner **2.3** sous la forme d'un sirop translucide (7 mg, quantitatif).

$[\alpha]_D -45.8$ (c 0.9, MeOH)

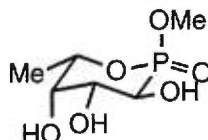
RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 4.48 (qdd, 1H, $J_{5,P} = 0.9$ Hz, $J_{5,4} = 2.8$ Hz et $J_{5,6} = 6.4$ Hz, *H5*), 4.13 (dd, 1H, $J_{2,3} = 8.0$ Hz et $J_{2,P} = 10.2$ Hz, *H2*), 3.92 (td, 1H, $J_{3,4} = 2.7$ Hz, *H3*), 3.83 (d, 3H, $J = 10.9$ Hz, POME), 3.79-3.78 (m, 1H, *H4*), 1.37 (dd, 3H, $J_{6,P} = 1.5$ Hz, *H6*).

RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) δ (ppm) : 75.7 (d, $J = 3.0$ Hz, C5), 75.0 (d, $J = 13.0$ Hz, C3), 74.8 (C4), 65.9 (d, $J = 142.6$ Hz, C2), 54.4 (d, $J = 6.7$ Hz, POME), 17.9 (d, $J = 10.9$ Hz, C6).

RMN ^{31}P (162 MHz, CD_3OD) (vs H_3PO_4 dans CD_3OD réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 26.3 ppm

MS (FAB) m/e 213 (M^+), 154, 136, 91.

HMRS calculée pour $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6\text{P}$ (M^+) : 213.28480 , trouvée 213.28320 avec une erreur $\sigma < 2.3$ ppm.

L-Fuco-(2*S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **2.4**

Une solution de **2.24** (17 mg, 0.04 mmoles) dans du méthanol (3 mL) est hydrogénée en présence de Pd(OH)₂/C 20% (10 mg) à une pression de 60 psi pendant 16 heures. La solution est filtrée sur célite et est évaporée pour donner **2.4** sous la forme d'un sirop translucide (9 mg, quantitatif).

[α]_D -77.4 (c 0.7, MeOH)

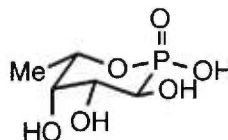
RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 4.35 (qdd, 1H, *J*_{5,P} = 1.1 Hz, *J*_{5,6} = 6.5 Hz et *J*_{5,4} = 2.3 Hz, *H*5), 4.11 (dd, 1H, *J*_{2,3} = 9.8 Hz et *J*_{2,P} = 9.3 Hz, *H*2), 3.86 (d, 3H, *J* = 10.2 Hz, POME), 3.83 (td, 1H, *J*_{3,4} = 2.6 Hz, *H*3), 3.74 (dd, 1H, *H*4), 1.37 (dd, 3H, *J*_{6,P} = 1.6 Hz, *H*6).

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 79.1 (d, *J* = 5.5 Hz, *C*5), 78.1 (d, *J* = 10.4 Hz, *C*3), 77.1 (*C*4), 70.3 (d, *J* = 144.8 Hz, *C*2), 56.3 (d, *J* = 7.8 Hz, POME), 20.4 (d, *J* = 10.8 Hz, *C*6).

RMN ³¹P (162 MHz, CD₃OD) (vs H₃PO₄ dans CD₃OD réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 22.5 ppm

MS (FAB) *m/e* 213 (M⁺), 154, 136, 91.

HMRS calculée pour C₆H₁₄O₆P (M⁺) : 213.28480 , trouvée 213.28320 avec une erreur σ < 2.3 ppm.

L-Fuco-(2*R*)-hydroxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **2.2**

Une solution de **2.27** (30 mg, 0.08 mmoles) dans du méthanol (3 mL) est hydrogénée en présence de Pd(OH)₂/C 20% (10 mg) à une pression de 60 psi pendant 16 heures. La solution est filtrée sur célite et est évaporée pour donner **2.2** sous la forme d'un sirop translucide (15 mg, quantitatif).

[α]_D -64.4 (c 0.7, MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 4.38 (l, 1H), 4.04 (l, 1H), 3.86 (l, 1H), 3.76 (l, 1H), 1.36 (d, 3H, *J* = 5.0 Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 74.7 (d, *J* = 8.9 Hz), 74.4, 74.0, 66.9 (d, *J* = 146.9 Hz), 17.1 (d, *J* = 10.6 Hz).

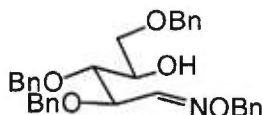
RMN ³¹P (162 MHz, CD₃OD) (vs H₃PO₄ dans CD₃OD réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 20.1 ppm

MS (FAB) *m/e* 199 (M⁺).

HMRS calculée pour C₅H₁₂O₆P (M⁺) : 199.01154, trouvée 199.01230 avec une erreur σ < 3.1 ppm.

8. PARTIE EXPÉRIMENTALE DU CHAPITRE 3

Synthèse des acides phosphoniques de la *N*-acétyl-D-glucosaminophostone et de la *N*-acétyl-D-mannosaminophostone

2,3,5-Tri-*O*-benzyl-D-arabinose-*O*-benzyloxime **3.21**

A une suspension de 2,3,5-tri-*O*-benzyl-D-arabinose¹ **3.20** (3 g, 7.14 mmoles) dans du méthanol (50 mL), est ajouté de l'hydrochlorure d'*O*-benzylhydroxylamine (2.5 g, 2 éq) et de la pyridine (2.5 mL). Après agitation toute la nuit, la solution est concentrée et on y ajoute du dichlorométhane (20 mL). On filtre, on concentre et le résidu est purifié par chromatographie flash sur silice (éluants acétate d'éthyle/hexanes 1/4) pour donner le composé **3.21** sous la forme d'un sirop translucide (3.81 g, quantitatif).

$[\alpha]_D -34.36$ (*c* 1.1, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.73-7.14 (m, 20H, arom.), 5.27-5.19 (m, 2H), 4.76-4.44 (m, 5H), 4.21-4.04 (m, 1H), 3.85-3.72 (m, 2H)

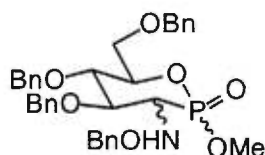
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 152.1, 149.1, 138.0-127.6 (arom.), 80.2, 79.1, 76.5, 76.4, 76.0, 74.2, 74.1, 74.5, 73.4, 72.4, 72.3, 71.2, 71.0, 70.8, 70.0, 69.9

MS(FAB) *m/e* 526 (M⁺), 418, 267, 181

HRMS calculée pour C₃₃H₃₆NO₅ (M⁺) : 526.25934, trouvée 526.26040 avec une erreur $\sigma < 2.0$ ppm.

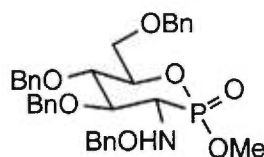
¹ Finch, Paul; Iskander, George M.; Siriwardena, Aloysius H. " Convenient syntheses of 2,3,5-tri-*O*-benzyl-arabino- and -ribofuranoses via their allyl glycosides" *Carbohydr.Res.* **1991**, *210*, 319-325

4,5-Di-*O*-benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6-benzyloxyméthyl-D-*gluco*-
(2*R/S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one (**3.22** et **3.23**) et 4,5-di-*O*-
benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6-benzyloxyméthyl-D-*manno*-(2*R/S*)-
méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one (**3.24** et **3.25**)



A une solution de **3.21** (2 g, 3.8 mmoles) dans de l'acide acétique glacial (20 mL), du phosphite de triméthyle (1.34 mL, 3 éq) est ajouté sous atmosphère inerte et on agite à température ambiante pendant 36 heures. Après concentration, le résidu est purifié par chromatographie flash sur silice (éluants acétate d'éthyle/hexanes 3/1) pour donner l' α -glucophostone **3.22** sous la forme d'une huile jaune (300 mg) et les 3 autres isomères inséparables **3.23**, **3.24** et **3.25** sous la forme d'une huile jaune (1.45 g) pour un rendement global de 77 %.

Données pour **3.22** :



$[\alpha]_D +55.2$ (*c* 0.5, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, C₆D₆) δ (ppm) : 7.31-7.00 (m, 20H, arom.), 6.45 (dd, 1H, *J* = 7.0 et 10.1 Hz), 4.79 (d, 1H, *J* = 11.4 Hz), 4.73 (d, 1H, *J* = 11.1 Hz), 4.70 (d, 1H, *J* = 15.7 Hz), 4.68 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz), 4.59 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz), 4.47 (d, 1H, *J* = 11.1 Hz), 4.34 (d, 1H, *J* = 9.5 Hz), 4.20 (dd, 2H, *J* = 12.0 et 50.3 Hz), 3.97 (t, 1H, *J* = 10.3 Hz), 3.81 (t, 1H, *J* = 19.2 Hz), 3.57 (td, 1H, *J*

= 2.6 et 11.5 Hz), 3.49 (d, 3H, POME, $J = 11.2$ Hz), 3.43 (dd, 1H, $J = 1.4$ et 10.9 Hz), 2.05 (s, 3H, NHAc)

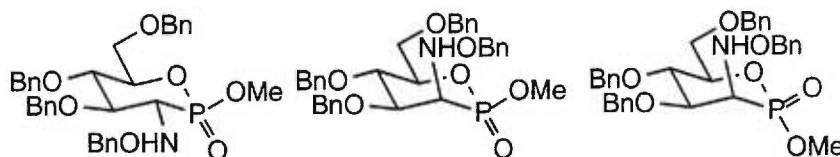
RMN ^{13}C (100 MHz, C_6D_6) δ (ppm) : 139.2, 138.8, 138.6, 135.5, 129.3-128.1 (arom.), 81.3 (d, C3, $J = 10.0$ Hz), 79.0 (C4), 75.5 (C5), 77.0, 76.3, 75.6, 73.9, 69.3 (d, C6, $J = 9.7$ Hz), 62.2 (d, C2, $J = 130.0$ Hz), 53.3 (d, POME, $J = 5.3$ Hz)

RMN ^{31}P (162 MHz, C_6D_6) (vs H_3PO_4 dans C_6D_6 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 25.4 ppm

MS(FAB) m/e 604.2 (M^+), 508.1, 418.2, 181.1

HRMS calculated $\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{NO}_7\text{P}$ (M^+) : 604.24640, trouvée 604.24810 avec une erreur $\sigma < 2.8$ ppm.

Données pour **3.23**, **3.24** et **3.25** :



RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.43-7.22 (m, 20H, arom.), 6.45-6.10 (m, total 1H), 4.90-4.55 (m, 9H), 4.35-4.00 (m, 3H), 3.92 3.90 3.78 (3d, total 3H, $J = 11.0$, 10.7 et 10.8 Hz)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 138.0-137.2, 128.8-127.6, 79.5, 79.4, 78.9, 78.7, 78.4, 76.6, 76.5, 76.4, 76.3, 75.7, 75.2, 74.4, 74.0, 73.9, 73.7, 73.6, 73.5, 73.4, 73.3, 72.7, 69.4 (d, $J = 6.9$ Hz), 68.9 (d, $J = 8.2$ Hz),

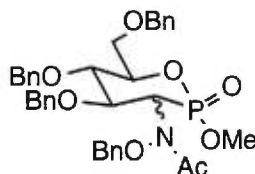
68.7 (d, $J = 9.7$ Hz), 61.2 (d, $J = 142.3$ Hz), 57.1 (d, $J = 140.5$ Hz), 56.5 (d, $J = 139.1$ Hz), 53.4 (d, $J = 5.4$ Hz), 52.7 (d, $J = 7.0$ Hz), 52.3 (d, $J = 6.4$ Hz)

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 22.0, 20.5 et 19.6 ppm (ratio 1 / 2 / 3.3)

MS(FAB) m/e 604.2 (M^+), 508.1, 418.2, 181.1

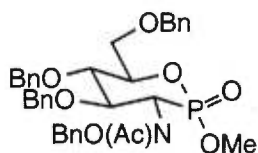
HRMS calculated $\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{NO}_7\text{P}$ (M^+) : 604.24640, trouvée 604.24810 avec une erreur $\sigma < 2.8$ ppm.

3-*N*-Acétyl-4,5-di-*O*-benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6-benzyloxyméthyl-D-*gluco*-(2*R/S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one (**3.26** et **3.27**) et 3-*N*-acétyl-4,5-di-*O*-benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6-benzyloxyméthyl-D-*manno*-(2*R/S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one (**3.28** et **3.29**)



A une solution du composé **3.22** (200 mg, 0.33 mmoles) dans du dichlorométhane (10 mL), refroidie à 0°C, sont ajoutés une quantité catalytique de diméthylaminopyridine, de la triéthylamine (92 µL, 2 éq) puis graduellement du chlorure d'acétyle (50 µL, 3 éq) sous atmosphère inerte. La solution est agitée toute la nuit à température ambiante puis est versée dans une ampoule à décanter contenant de l'eau glacée (20 mL). La phase organique est extraite, lavée avec une solution aqueuse saturée en hydrogène carbonate de sodium (20 mL), en chlorure de sodium (20 mL), puis est séchée (sulfate de sodium) et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur silice (éluants acétate d'éthyle/hexanes 1/1) pour donner **3.26** (160 mg, 75%) sous la forme d'une huile. La même procédure est utilisée avec les composés **3.23**, **3.24** et **3.25** pour l'obtention des composés **3.27**, **3.28** et **3.29**.

Données pour **3.26** :



$[\alpha]_D -6.5$ (c 1.0, CHCl_3)

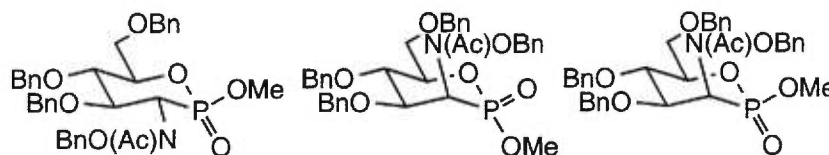
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.48-7.11 (m, 20H, arom.), 5.7 (br, 1H), 5.15 (t, 1H, $J = 10.5$ Hz), 4.90 (d, 1H, $J = 9.3$ Hz), 4.78 (d, 2H, $J = 10.8$ Hz), 4.67-4.60 (m, 4H), 4.55 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz), 4.41-4.36 (m, 2H), 4.02 (t, 1H, $J = 9.6$ Hz), 3.94-3.90 (m, 4H), 3.78 (dd, 1H, $J = 2.0$ et 11.2 Hz), 2.09 (s, 3H)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 176.2, 138.2, 137.6, 137.5, 134.6, 129.8-126.9, 79.4, 79.0 (d, $J = 13.5$ Hz), 78.7, 75.4 (d, $J = 2.0$ Hz), 75.3, 74.6, 73.4, 68.2 (d, $J = 9.9$ Hz), 54.8 (d, $J = 132.2$ Hz), 54.2 (d, $J = 6.8$ Hz), 20.3

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 20.5 ppm

HRMS calculée pour $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{NO}_8\text{P}$ (M^+) : 646.25696 , trouvée 646.25850 avec une erreur $\sigma < 2.4$ ppm.

Données pour **3.27**, **3.28** et **3.29** :



RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.43-7.22 (m, 20H, arom.), 6.45-6.10 (m, total 1H), 4.90-4.55 (m, 9H), 4.35-4.00 (m, 3H), 3.92 3.90 3.78 (3d, total 3H, $J = 11.0, 10.7$ et 10.8 Hz), 2.26-2.05 (m, 3H)

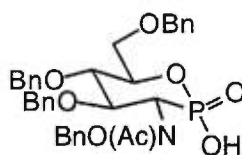
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 176.4, 138.0-137.2, 128.8-127.6, 79.5, 79.4, 78.9, 78.7, 78.4, 76.6, 76.5, 76.4, 76.3, 75.7, 75.2, 74.4, 74.0, 73.9, 73.7, 73.6, 73.5, 73.4, 73.3, 72.7, 69.4 (d, $J = 6.9$ Hz), 68.9 (d, $J = 8.2$ Hz), 68.7 (d, $J = 9.7$ Hz), 61.2 (d, $J = 142.3$ Hz), 57.1 (d, $J = 140.5$ Hz), 56.5 (d, $J = 139.1$ Hz), 53.4 (d, $J = 5.4$ Hz), 52.7 (d, $J = 7.0$ Hz), 52.3 (d, $J = 6.4$ Hz), 20.7, 20.5, 20.4

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 22.0, 20.5 et 19.6 ppm (ratio 1 / 2 / 3.3)

3-*N*-Acétyl-4,5-di-*O*-benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6-benzyloxyméthyl-D-*gluco*-(2*R*)-hydroxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **3.30** et 3-*N*-acétyl-4,5-di-*O*-benzyl-3-benzyloxyamino-3-désoxy-6-benzyloxyméthyl-D-*manno*-(2*R*)-hydroxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **3.31**

Le mélange d'isomères inséparables **3.27**, **3.28** et **3.29** (100 mg, 0.16 mmoles) est dissous dans du dichlorométhane (10 mL) et du bromure de triméthylsilyle (5 éq, 100 μL) est ajouté. La solution est agitée toute la nuit à température ambiante sous atmosphère inerte. De l'eau (20 μL) est ajoutée et l'agitation est maintenue pendant 30 minutes. Après concentration, le résidu est purifié par chromatographie flash sur silice (éluants chloroforme/méthanol 95/5) pour donner **3.30** (35 mg) et **3.31** (55 mg) sous la forme de poudres blanches, obtenues après cristallisation (chloroforme/pentane) pour un rendement global de 90 %. L'acide **3.30** peut aussi être obtenu à partir du composé **3.26** avec le même rendement.

Données pour **3.30** :



$[\alpha]_D +33.5$ (*c* 1.0, CHCl₃)

p.f. 116-118°C

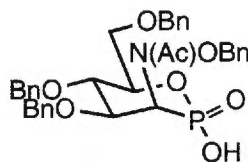
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) : 7.73-7.06 (m, 20H, arom.), 5.84 (d, 1H, *J* = 9.7 Hz), 5.20 (t, 1H, *J* = 10.4 Hz), 4.87 (d, 1H, *J* = 9.7 Hz), 4.77-4.62 (m, 2H), 4.56-4.36 (m, 5H), 4.11-4.02 (m, 2H), 3.73-3.54 (m, 3H), 1.98 (s, 3H)

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) : 174.6, 139.6-127.9 (arom.), 82.0, 81.5, 77.9, 75.0, 74.7, 74.3, 73.8, 73.2, 70.6, 56.9 (d, $J = 121.5$ Hz), 21.1

RMN ^{31}P (162 MHz, DMSO) (vs H_3PO_4 dans DMSO réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 7.8 ppm

HRMS calculée pour $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{NO}_8\text{P}$ (M^+) : 632.24133, trouvée 632.23930 avec une erreur $\sigma < 3.2$ ppm.

Données pour **3.31** :



$[\alpha]_{\text{D}} +27.0$ (c 1.0, CHCl_3)

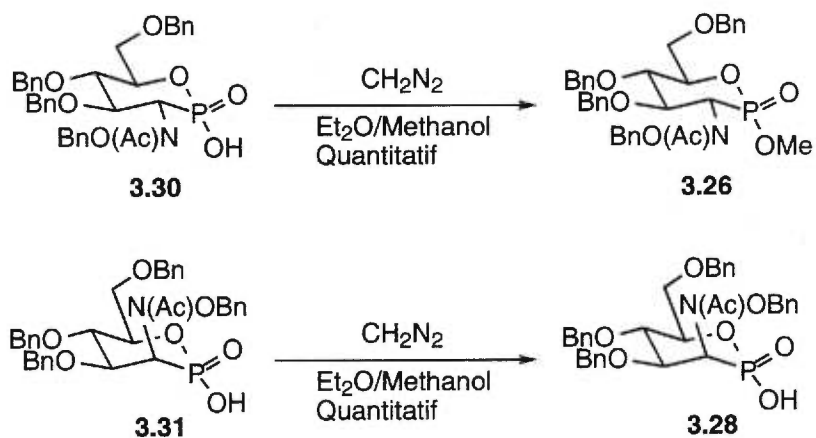
p.f. 120-122°C

RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ (ppm) : 7.5-7.0 (m, 20H, arom.), 5.69 (d, 1H, $J = 9.4$ Hz), 5.30 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz), 4.76 (d, 1H, $J = 9.5$ Hz), 4.66 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz), 4.57 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz), 4.50 (s, 2H), 4.30 (dd, 2H, $J = 11.0$ et 16.9 Hz), 4.16 (s, 1H), 3.89 (t, 1H, $J = 9.4$ Hz), 3.59-3.39 (m, 2H), 2.07 (s, 3H)

RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO) δ (ppm) : 174.8 (CO du NAc), 139.3-128.1 (arom.), 82.6, 78.1, 77.5, 75.0, 73.4, 72.4, 71.5 (d, $J = 8.9$ Hz), 53.1 (d, $J = 136.5$ Hz), 21.2 (CH_3 du NAc)

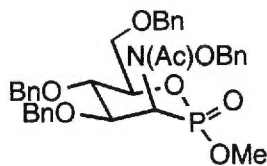
RMN ^{31}P (162 MHz, DMSO) (vs H_3PO_4 dans DMSO réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 5.9 ppm

HRMS calculée pour $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{NO}_8\text{P}$ (M^+) : 632.24133, trouvée 632.23930 avec une erreur $\sigma < 3.2$ ppm.

Procédure générale d'estérification des acides **3.30** et **3.31**

L'acide **3.31** (63 mg, 0.1 mmoles) est dissout dans du méthanol (5 mL) puis est refroidi au bain de glace (5°C). Une solution étherée de diazométhane est ajoutée petit-à-petit jusqu'à persistance d'une coloration jaune. L'excès de diazométhane est détruit par l'ajout d'acide acétique glacial. Le composé **3.28** est le seul produit obtenu (65 mg, quantitatif). Cette procédure est répétée avec l'acide **3.30** pour obtenir de façon exclusive le composé **3.26**.

Données pour **3.28** :



$[\alpha]_D +14.9$ (*c* 1.3, CHCl_3)

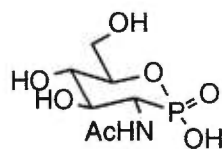
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.46-7.09 (m, 20H, arom.), 5.68 (dd, 1H, $J = 3.5$ et 21.1 Hz), 5.30 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz), 5.49 (l, 1H), 4.98 (l, 1H), 4.86 (d, 1H, $J = 10.9$ Hz), 4.68 (d, 1H, $J = 10.2$ Hz), 4.52-4.41 (m, 4H), 4.22 (t, 1H, $J = 9.7$ Hz), 4.11-4.06 (m, 1H), 4.02-3.98 (m, 1H), 3.86 (d, 3H, $J = 10.7$ Hz), 3.65 (d, 1H, $J = 10.6$ Hz), 3.54 (br, 1H), 2.15 (s, 3H)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 176.2, 137.7, 137.6, 137.1, 134.6, 129.6-127.7, 78.3, 77.6 (d, $J = 6.1$ Hz), 75.2, 74.4, 73.3, 68.9 (d, $J = 9.1$ Hz), 51.5 (d, $J = 126.2$ Hz), 52.3 (d, $J = 6.7$ Hz), 20.4

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 19.7 ppm

HRMS calculée pour $\text{C}_{36}\text{H}_{41}\text{NO}_8\text{P}$ (M^+) : 646.25696, trouvée 646.25850 avec une erreur $\sigma < 2.4$ ppm.

3-*N*-Acétyl-3-désoxy-6-hydroxyméthyl-D-*gluco*-(2*R*)-hydroxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **3.3**



Une solution de **3.30** (20 mg, 0.03 mmoles) dans du méthanol (3 mL) est hydrogénée en présence de Pd(OH)₂/C 20% (10 mg) et de Pd/C 30% (10 mg) à une pression de 60 psi d'hydrogène toute la nuit. La solution est filtrée sur célite et est évaporée pour donner **3.3**, après cristallisation (acétate d'éthyle/éthanol) sous la forme d'une poudre blanche (8 mg, 95%).

[α]_D +8.5 (c 0.5, MeOH)

p.f. 120-122°C

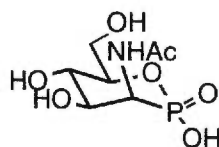
RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 4.34 (dd, 1H, *J* = 11.1 et 14.4 Hz), 4.03-3.98 (m, 1H), 3.90-3.87 (m, 1H), 3.86-3.78 (m, 1H), 3.72 (td, 1H, *J* = 1.9 et 9.1 Hz), 3.54 (t, 1H, *J* = 9.1 Hz), 2.01 (d, 3H, NAc *J* = 1.3 Hz)

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 175.1 (d, *J* = 3.5 Hz), 81.5 (d, *J* = 3.2 Hz), 76.4 (d, *J* = 11.1 Hz), 73.6, 64.2 (d, *J* = 9.9 Hz), 50.6 (d, *J* = 136.9 Hz), 24.1

RMN ³¹P (162 MHz, CD₃OD) (vs H₃PO₄ dans CD₃OD réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 15.5 ppm

HRMS calculée pour C₇H₁₅NO₇P (M⁺) : 256.05862, trouvée 256.05960 avec une erreur σ < 3.8 ppm.

3-*N*-Acétyl-3-désoxy-6-hydroxyméthyl-D-*manno*-(2*R*)-hydroxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **3.4**



Une solution de **3.31** (20 mg, 0.03 mmoles) dans du méthanol (3 mL) est hydrogénée en présence de Pd(OH)₂/C 20% (10 mg) et de Pd/C 30% (10 mg) à une pression de 60 psi d'hydrogène toute la nuit. La solution est filtrée sur célite et est évaporée pour donner **3.4**, après cristallisation (acétate d'éthyle/éthanol) sous la forme d'une poudre blanche (8 mg, 95%).

$[\alpha]_D +7.7$ (*c* 0.5, MeOH)

p.f. 130-132°C

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 4.40 (dd, 1H, *J* = 10.7 et 16.9 Hz), 3.91-3.73 (m, 3H), 3.59-3.56 (m, 1H), 3.50 (t, 1H, *J* = 9.4 Hz), 2.00 (d, 3H, NAc *J* = 1.2 Hz)

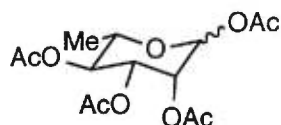
RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 175.2 (d, *J* = 3.1 Hz), 82.6 (d, *J* = 5.4 Hz), 77.1 (d, *J* = 9.2 Hz), 73.4, 64.4 (d, *J* = 6.6 Hz), 51.9 (d, *J* = 140.2 Hz), 24.2

RMN ³¹P (162 MHz, CD₃OD) (vs H₃PO₄ dans CD₃OD réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 15.3 ppm

HRMS calculée pour C₇H₁₅NO₇P (M⁺) : 256.05862, trouvée 256.05960 avec une erreur σ < 3.8 ppm.

9. PARTIE EXPÉRIMENTALE DU CHAPITRE 4

**Synthèse d'un analogue en phostone du
phosphoramidon**

1,2,3,4-Tetra-O-acétyl-L-rhamnose : **4.7**

A une suspension de L-rhamnose **4.6** (2 g, 12.5 mmoles) dans de la pyridine (75 mL) est ajouté lentement de l'anhydride acétique (75 mL) avec une quantité catalytique de la diméthylamino pyridine. Le mélange est agité toute la nuit à température ambiante puis on le verse dans une ampoule à décanter contenant de la glace. Après 15 minutes on extrait au chloroforme (2 x 150 mL), puis la phase organique est lavée avec une solution aqueuse de carbonate de sodium à 5% (100 mL), séchée (sulfate de sodium), et concentrée pour donner l'acétate **4.7** sous la forme d'un sirop de couleur jaunâtre (3.89 g, 98 %, α/β 10/1).

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 5.94 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz), 5.25-5.17 (m, 2H), 5.04 (t, 1H, $J = 9.9$ Hz), 3.89-3.85 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.93 (s, 3H), 1.16 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 170.0, 168.8, 168.5, 168.4, 90.7, 70.5, 68.9, 68.8, 68.7, 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 17.5

MS(FAB) m/e 331 (M^+), 289, 273, 171, 153, 137, 111, 83

HMRS calculée pour $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_9$ (M^+) : 331.10291, trouvée 331.10110 avec une erreur $\sigma < 5.5$ ppm.

3,4-Di-*O*-acétyl-L-rhamnane : 4.9

A une solution de bromure d'hydrogène dans de l'acide acétique (30-32% m/v, 50 mL) est ajouté l'acétate **4.7** (18 g, 53.9 mmoles). La solution de couleur jaune est agitée pendant 90 minutes à température ambiante sous atmosphère inerte. Il en résulte le composé **4.8** que l'on traite avec de la poudre de zinc (25 g) suspendue dans de l'acide acétique à 50% (160 mL) contenant de l'acétate de sodium (50 g). La température du mélange est gardée à -10°C pendant 3 heures. La solution froide est filtrée sur célite, le filtrat est traité avec du chloroforme (2 x 200 mL), et la phase organique est lavée avec une solution aqueuse saturée en hydrogénocarbonate de potassium (100 mL), séchée (sulfate de sodium), et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur silice (éluants acétate d'éthyle/hexanes 1/9) pour donner le rhamnane **4.9** sous la forme d'un sirop translucide (6 g, 55%).

$[\alpha]_D +45.1$ (c 1.0, CHCl_3)

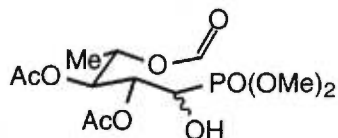
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 6.33 (dd, 1H, $J = 1.0$ et 6.1 Hz), 5.27-5.21 (m, 1H), 4.90 (dd, 1H, $J = 6.2$ et 8.2 Hz), 4.66 (dd, 1H, $J = 3.0$ et 6.1 Hz), 4.02-3.98 (m, 1H), 1.97 (s, 3H), 1.92 (s, 3H), 1.20 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 170.5, 169.7, 145.9, 98.8, 72.5, 71.8, 68.3, 20.9, 20.8, 16.5

MS(FAB) m/e 214 (M^+), 154, 136, 95, 77

HMRS calculée pour $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_5$ (M^+) : 215.09195, trouvée 215.09130 avec une erreur $\sigma < 3.0$ ppm.

2,3-Di-*O*-acétyl-5-désoxy-1-diméthylphosphonyl-4-*O*-formyl-L-lyxose **4.10**
 et 2,3-di-*O*-acétyl-5-désoxy-1-diméthylphosphonyl-4-*O*-formyl-L-xylose **4.11**



Un mélange gazeux d'O₃/O₂ est introduit dans une solution froide (-78°C) de rhamnol **4.9** (2 g, 9.34 mmoles) dissous dans du dichlorométhane (20 mL) jusqu'à l'obtention d'une couleur bleue persistante (15 minutes). La solution est purgée à l'azote (10 minutes) puis est concentrée pour donner une mousse. Le produit est dissous dans de l'acide acétique glacial (20 mL) et on ajoute du phosphite de triméthyle (3 éq, 3.3 mL). La solution est agitée à température ambiante toute la nuit puis est concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur silice (éluants acétate d'éthyle/hexanes 4/1) pour donner un mélange d'isomères inséparables de phosphonates **4.10** et **4.11** sous la forme d'un sirop translucide (2.3 g, 70%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.78-7.70 (m, 1H, CHO), 5.48-4.88 (m, 5H), 3.65-3.45 (m, 12H, 2xOAc+PO(OMe)₂), 2.00-1.80 (m, 3H)

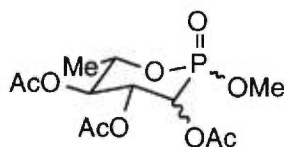
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 169.9-168.9 (CO du OAc), 159.9-159.7 (CHO), 73.0-64.0, 54.0-51.8, 20.6-20.1, 18.4-15.8

RMN ³¹P (162 MHz, CDCl₃) (vs H₃PO₄ dans CDCl₃ réf externe δ 0.0 ppm) δ (ppm) : 24.8 et 22.3 (ratio 2/1)

MS(FAB) *m/e* 357 (M⁺), 297, 154, 137, 107

HMRS calculée pour C₁₂H₂₂O₁₀P (M⁺) : 357.09506, trouvée 357.09610 avec une erreur σ < 2.9 ppm.

2,3,4-Tri-*O*-acétyl-L-*rhamno*-(2*R/S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one
4.12a,b et 2,3,4-tri-*O*-acétyl-L-*talo*-(2*R/S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **4.13a,b**



Le mélange d'isomères **4.10** et **4.11** (500 mg, 1.4 mmoles) est dissous dans du méthanol (10 mL) et quelques gouttes de méthanoate de sodium (25% p/v dans du méthanol) sont ajoutées sous agitation. Après 2 heures, le pH de la solution est rendu neutre par l'addition d'Amberlite IR-120 (H⁺). La solution est filtrée puis évaporée pour donner une mousse blanche. Le résidu est mis en suspension dans de l'anhydride acétique (20 mL) puis est refroidi avec un bain de glace, on ajoute graduellement le BF₃.Et₂O (100 μL). Le mélange est agité toute la nuit. Après concentration, le résidu est dissous dans l'acétate d'éthyle (50 mL) et est lavé avec une solution aqueuse de carbonate de sodium à 5% (20 mL), d'acide chlorhydrique 1N (20 mL) et une solution aqueuse saturée en chlorure de sodium (20 mL). Après extraction, la phase organique est séchée (sulfate de sodium), filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur silice (éluants acétate d'éthyle/hexanes 1/1) pour donner un mélange d'isomères inséparables **4.12a,b** et **4.13a,b** sous la forme d'un sirop translucide (330 mg, 70 %).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 5.57-5.10 (m, 2H), 4.92-4.87 (m, 1H), 4.40-4.10 (m, 1H), 3.83-3.68 (m, 3H), 2.07-1.85 (m, 9H), 1.26-1.04 (m, 3H)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 169.5-168.4, 73.4-63.0, 54.4-53.0, 20.4-20.0, 18.4-17.9

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf externe δ 0.0 ppm) δ (ppm) : 16.2, 15.0, 12.7, 12.6 (ratio 1 / 1.3 / 1.6 / 1.6)

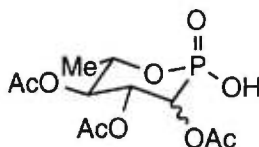
MS(FAB) m/e 339 (M^+), 296, 237, 177, 137, 55

HMRS calculée pour $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_9\text{P}$ (M^+) : 339.08450, trouvée 339.08430 avec une erreur $\sigma < 0.6$ ppm.

2,3,4-Tri-*O*-acétyl-L-*rhamno*-(2*S*)-hydroxy-1,2 λ^5 -oxaphosphorinan-2-one

4.14 et 2,3,4-tri-*O*-acétyl-L-*talo*-(2*S*)-hydroxy-1,2 λ^5 -oxaphosphorinan-2-one

4.15



Le mélange d'isomères **4.12a,b** et **4.13a,b** (220 mg, 0.65 mmoles) est dissous dans du THF (10 mL) et du bromure de triméthylsilyle (5 éq, 430 μL) est ajouté. La solution est agitée toute la nuit à température ambiante sous atmosphère inerte. De l'eau (200 μL) est ajoutée et la solution est agitée pendant 15 minutes. Après concentration, le résidu est purifié par cristallisation (acétate d'éthyle/pentane) pour donner un mélange d'isomères inséparables **4.14** et **4.15** sous la forme d'une poudre blanche (200 mg, 95 %).

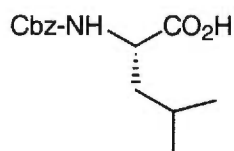
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 5.33-4.90 (m, 3H), 4.19 (br, 1H), 2.11-1.93 (m, 9H), 1.19 (s, 3H)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 169.5-168.4, 73.4-63.0, 20.4-20.0, 18.4-17.9

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf externe δ 0.0 ppm) δ (ppm) : 12.5 et 11.9 (ratio 1/2)

MS(FAB) m/e 325 (M^+), 307, 154, 89, 77

HMRS calculée pour $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_9\text{P}$ (M^+) : 325.06885, trouvée 325.06970 avec une erreur $\sigma < 2.6$ ppm.

N-[(Phénylméthoxy)carbonyl]-L-leucine : **4.16**

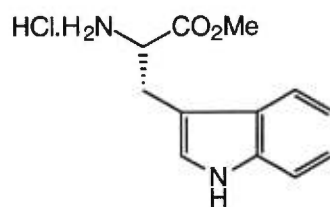
Une suspension de L-Leucine (3 g, 20 mmoles) dans une solution aqueuse de carbonate de sodium à 10% (50 mL) est agitée et refroidie au bain de glace. Du dioxane (25 mL) est ajouté, suivi d'une solution de chloroformate de benzyle (1.1 éq, 3.5 mL) dans du dioxane (10 mL). Le mélange est agité pendant 1 heure à 0°C puis toute la nuit à la température de la pièce. La solution obtenue est versée dans un mélange eau-glace (500 mL) et lavée à l'éther éthylique (2 x 100 mL). La solution aqueuse est refroidie avec de la glace puis acidifiée avec de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à pH 2 (papier pH). On extrait à l'éther éthylique (3 x 200 mL) puis on concentre pour obtenir **4.16** sous la forme d'un sirop translucide (4 g, 70 %).

$[\alpha]_D +5.5$ (c 2.0, MeOH) ; lit¹ $[\alpha]_D +5.1$ (c 2.0, MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.35-7.26 (m, 5H, arom.), 5.29 (d, 1H, *J* = 8.6 Hz), 5.16-5.10 (m, 2H), 4.44-4.42 (m, 1H), 1.77-1.53 (m, 3H), 0.97-0.90 (m, 6H)

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 177.8, 156.1, 136.1-127.9 (arom.), 67.1, 52.3, 41.4, 24.7, 22.7, 21.7

¹ Kashima, C.; Harada, K.; Fujioka, Y.; Maruyama, T.; Omote, Y. "Amino alcohols as C-terminal protecting groups in peptide synthesis" *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1988**, 535-539.

Monochlorhydrate de L-tryptophanoate de méthyle : **4.17**

Dans du méthanol (30 mL) à -10°C , on ajoute du chlorure de thionyle (1.7 éq, 3 mL) puis du L-tryptophane (5 g, 2.4 mmoles) sur une période d'une minute. La solution est agitée à la température de la pièce toute la nuit puis est concentrée pour donner des cristaux. La recristallisation avec un mélange méthanol-éther donne **4.17** sous la forme de cristaux translucides (5.5 g, 86 %).

$[\alpha]_{\text{D}} -20.0$ (c 1.5, MeOH) ; lit² $[\alpha]_{\text{D}} -16.7$ (c 1.5, MeOH)

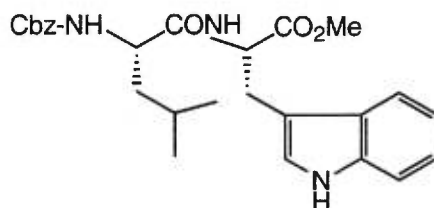
RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 7.52-7.50 (m, 1H), 7.38-7.36 (m, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.13-7.06 (m, 1H), 7.04-7.02 (m, 1H), 4.31-4.28 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.46-3.41 (m, 1H), 3.37-3.32 (m, 1H), 3.29-3.28 (m, 1H)

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 172.5, 140.1, 130.2, 127.3, 124.6, 122.0, 120.5, 114.4, 109.6, 56.4, 55.4, 29.3

² Hvidt, T.; Szarek, W.A.; MacLean, D.B. "Synthesis of enantiomerically pure β -amino- α -methylene- γ -butyrolactones by way of ozonolysis of aromatic α -amino acids" *Can. J. Chem.* **1988**, *66*, 779-782.

N-[N-[(Phénylméthoxy)carbonyl]-L-leucyl]-L-tryptophanoate de méthyle :

4.18



Le composé **4.16** (2 g, 5.8 mmoles) est dissous dans de la diméthylformamide (100 mL) et la solution est refroidie dans un bain de glace et est agité sous atmosphère inerte. Du HOBt (1.2 éq, 930 mg) suivi par de l'EDC (1.2 éq, 1.3 g) sont ajoutés au mélange. On agite 30 minutes à 0°C et 1 heure à la température de la pièce puis on refroidit de nouveau à 0°C et on ajoute le composé **4.17** (1.5g, 5.8 mmoles) puis graduellement la triéthylamine (7.2 éq, 5.8 mL). Le mélange est agité à la température de la pièce toute la nuit. Après concentration, le résidu est dissous dans de l'acétate d'éthyle (100 mL), lavé avec des solutions aqueuses d'acide chlorhydrique 1N (100 mL), de carbonate de sodium 0.1N (100 mL) et saturée en chlorure de sodium (100 mL). Après séchage (sulfate de sodium) et concentration de la solution organique, le résidu est purifié par chromatographie flash sur silice (éluants acétate d'éthyle/hexanes 1/1) pour donner **4.18** sous la forme d'une mousse jaune (2.9 g, 98 %).

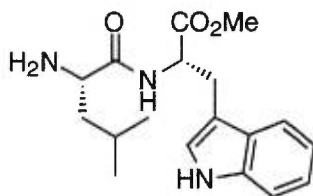
$[\alpha]_D +45.0$ (c 1.5, CHCl₃) ; lit³ $[\alpha]_D +44.6$ (c 1.4, CHCl₃)

³ Bereznak, J.F.; Joullié, M.M. "Preparation of 2,4-bis(methylsulfonyl)-1-naphthyl active esters and their potential utility in peptide bond formation" *Synthetic Communications* **1989**, *19*, 3573-3578.

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 8.5 (s, 1H), 7.52-6.92 (m, 10H, arom.), 5.58 (d, 1H, $J = 7.7\text{Hz}$), 5.06-4.88 (m, 3H), 4.41-4.40 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.33-3.23 (m, 2H), 1.68-1.48 (m, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.87 (s, 3H)

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 172.5, 172.1, 156.2, 136.2-127.3 (arom.), 123.4, 121.9, 119.3, 118.3, 111.4, 109.1, 66.9, 53.4, 52.9, 52.3, 41.5, 27.4, 24.6, 22.9, 21.8

N-[N-[(Phénylméthoxy)carbonyl]-L-leucyl]-L-tryptophane : **4.19**



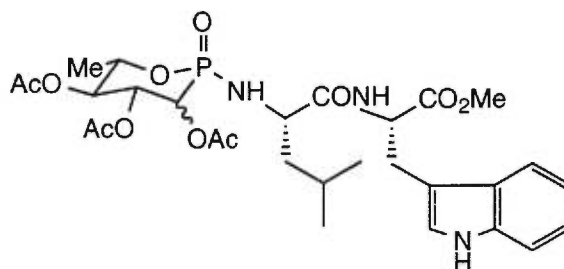
Une solution de **4.18** (330 mg, 0.65 mmoles) dans du méthanol (5 mL) est hydrogénée en présence de Pd/C à 10% (20 mg) à une pression de 60 psi d'hydrogène toute la nuit. La solution est filtrée sur célite et est évaporée pour donner **4.19** sous la forme d'un sirop translucide (200 mg, 95 %).

$[\alpha]_{\text{D}} +1.0$ (c 2.3, MeOH)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 8.60 (s, 1H), 7.75 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.55 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.32 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 7.16 (t, 1H, $J = 7.1$ Hz), 7.09 (t, 1H, $J = 7.1$ Hz), 6.96 (d, 1H, $J = 1.0$ Hz), 4.93-4.91 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.67-3.30 (m, 3H), 1.64-1.50 (m, 3H), 0.90 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz), 0.86 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz)

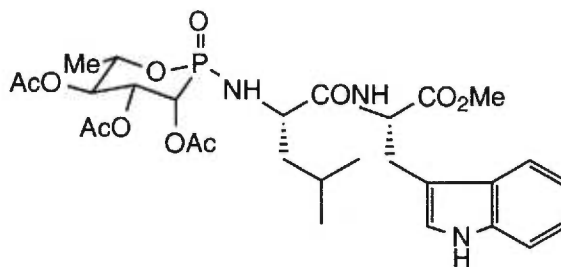
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 175.4, 172.5, 136.1, 127.6, 122.7, 121.0, 119.3, 118.5, 111.2, 110.0, 53.2, 52.6, 52.2, 43.8, 27.7, 24.7, 23.3, 21.2

2,3,4-Tri-*O*-acétyl-L-*talo*-(2*S*)-(Leu-Trp-OMe)-1,2λ⁵-oxaphosphinan-2-one
4.20 et 2,3,4-tri-*O*-acétyl-L-*talo*-(2*S*)-(Leu-Trp-OMe)-1,2λ⁵-oxaphosphinan-
 2-one **4.21**



A une solution de **4.14** et **4.15** (100 mg, 0.31 mmoles) dans du dichlorométhane (10 mL) refroidie à 0°C, on ajoute de la diméthylformamide (0.1 éq, 10 µL) et du chlorure d'oxalyle (3 éq, 100 µL) sous atmosphère inerte. Le mélange est agité 1 heure à 0°C et du benzène distillé est ajouté (2 mL). Après concentration, le résidu est dissous dans du dichlorométhane (10 mL) et traité avec de la triéthylamine (5 éq, 220 µL). Après 5 minutes à température ambiante, **4.19** (3 éq, 300 mg) est ajouté et le mélange est agité pendant 2 heures. Après concentration, le résidu est purifié par chromatographie flash sur silice (éluants acétate d'éthyle/hexanes 1/1) pour donner **4.20** (60 mg) et **4.21** (30 mg) pour un rendement global de 65%.

Données pour **4.20** :



$[\alpha]_D +0.2$ (c 1.9, CHCl_3)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 8.99 (s, 1H), 7.51-7.05 (m, 6H), 5.70 (dd, 1H, $J = 2.8$ et 11.4 Hz), 5.35 (dd, 1H, $J = 2.8$ et 10.4 Hz), 5.16 (t, 2H, $J = 10.1$ Hz), 4.92-4.81 (m, 1H), 4.41-4.30 (m, 1H), 3.95-3.82 (m, 1H), 3.56 (s, 3H, CO_2Me), 3.37 (dd, 1H, $J = 5.2$ et 14.9 Hz), 3.21 (dd, 1H, $J = 4.9$ et 15.0 Hz), 2.08 (s, 3H, OAc), 2.05 (s, 3H, OAc), 1.99 (s, 3H, OAc), 1.92-1.37 (m, 3H), 1.28 (d, 3H, $J = 6.0$ Hz), 0.89 (dd, 6H, $J = 6.4$ et 13.8 Hz).

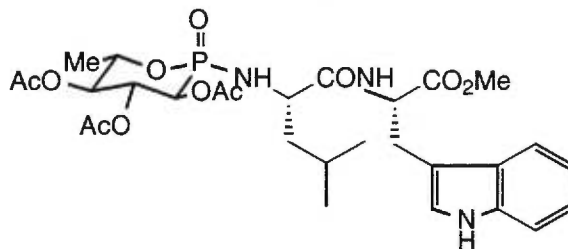
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 172.7-169.2, 136.0, 127.4, 123.1, 121.6, 119.0, 118.3, 111.3, 108.7, 71.6 (d, $J = 9.0$ Hz), 71.2 (d, $J = 4.3$ Hz), 69.3, 66.9 (d, $J = 137.5$ Hz), 54.6, 52.6, 52.3, 43.7 (d, $J = 3.4$ Hz), 27.5, 24.2, 23.2, 20.9, 20.6, 20.5, 20.2, 18.3 (d, $J = 9.4$ Hz)

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf externe δ 0.0 ppm) δ (ppm) : 18.5

MS(FAB) m/e 638 (M^+), 265, 201, 154, 130, 86

HRMS calculée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{P}$ (M^+) : 638.24786, trouvée 638.25000 avec une erreur $\sigma < 3.3$ ppm.

Données pour **4.21** :



$[\alpha]_D +30.2$ (*c* 1.0, CHCl_3)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 8.59 (s, 1H), 7.57-7.04 (m, 6H), 5.54 (td, 1H, $J = 2.3$ et 10.2 Hz), 5.00 (dd, 1H, $J = 6.7$ et 10.4 Hz), 4.92 (q, 1H, $J = 5.6$ Hz), 4.85 (t, 1H, $J = 9.9$ Hz), 4.42-4.37 (m, 1H), 3.79-3.62 (m, 2H), 3.68 (s, 3H, CO_2Me), 3.34 (d, 2H, $J = 5.5$ Hz), 2.07 (s, 3H, OAc), 2.03 (s, 3H, OAc), 2.02 (s, 3H, OAc), 1.97-1.24 (m, 3H), 1.18 (d, 3H, $J = 6.2$ Hz), 0.86 (s, 3H), 0.84 (s, 3H).

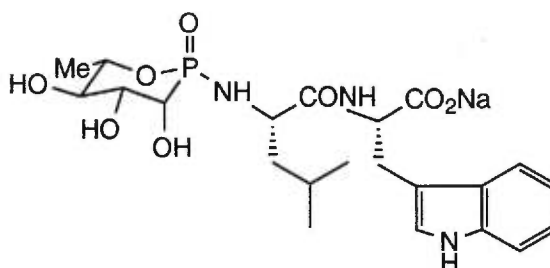
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 172.1-169.3, 136.0, 127.7, 123.2, 122.0, 119.5, 118.4, 111.5, 109.8, 72.5, 71.8 (d, $J = 10.5$ Hz), 70.4 (d, $J = 4.0$ Hz), 68.5 (d, $J = 133.1$ Hz), 53.3, 52.8, 52.2, 42.9 (d, $J = 5.6$ Hz), 27.0, 24.1, 23.0, 21.0, 20.5, 20.4, 20.2, 17.9 (d, $J = 9.7$ Hz).

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 réf externe δ 0.0 ppm) δ (ppm) : 18.9

MS(FAB) *m/e* 638 (M^+), 265, 201, 154, 130, 86

HRMS calculée pour $\text{C}_{29}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{11}\text{P}$ (M^+) : 638.24786, trouvée 638.25000 avec une erreur $\sigma < 3.3$ ppm.

L-rhamno-(2*S*)-(Leu-Trp-ONa)-1,2λ⁵-oxaphosphinan-2-one : **4.5**



A une solution froide de **4.20** (20 mg, 0.031 mmoles) dans du THF (5 mL), de la soude 1N (5 éq, 160 μ L) est ajoutée. Le mélange est agité à température ambiante pendant 2 jours. Après concentration, le résidu est purifié par HPLC (phase inverse C-18, éluant H₂O/MeCN 98/2) et lyophilisé pour donner **4.5** (10 mg, 65%).

p.f. 144-146°C $[\alpha]_D -22.4$ (c 0.5, H₂O)

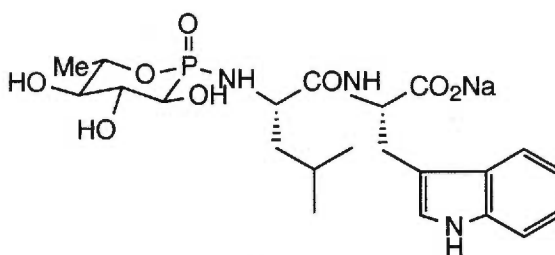
RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ (ppm) : 7.72 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.50 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 7.26-7.16 (m, 4H), 4.56 (dd, 1H, $J = 4.9$ et 8.0 Hz), 3.96 (t, 1H, $J = 8.4$ Hz), 3.83 (t, 1H, $J = 7.3$ Hz), 3.65-3.58 (m, 2H), 3.42 (dd, 1H, $J = 5.0$ et 14.7 Hz), 3.20 (dd, 1H, $J = 8.2$ et 14.6 Hz), 1.56-1.47 (m, 1H), 1.40-1.08 (m, 2H), 1.26 (d, 3H, $J = 6.4$ Hz), 0.99-0.92 (m, 1H), 0.81 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz), 0.76 (d, 3H, $J = 6.6$ Hz).

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) δ (ppm) : 180.2, 178.3, 136.7, 124.9, 122.4, 119.8, 119.4, 112.4, 110.9, 74.19 (d, $J = 7.5$ Hz), 70.5, 70.2 (d, $J = 144.7$ Hz), 67.8, 43.8 (d, $J = 2.7$ Hz), 28.2, 24.4, 23.1, 21.6, 19.65 (d, $J = 8.6$ Hz).

RMN ³¹P (162 MHz, D₂O) (vs H₃PO₄ dans D₂O réf externe δ 0.0 ppm)
 δ (ppm) : 21.1

HRMS calculée pour C₂₂H₃₁N₃O₈P (M⁺) : 519.17482, trouvée 519.18055 avec une erreur $\sigma < 1.3$ ppm.

L-talo-(2*S*)-(Leu-Trp-ONa)-1,2λ⁵-oxaphosphinan-2-one : **4.22**



A une solution froide de **4.21** (20 mg, 0.031 mmoles) dans du THF (5 mL), de la soude 1N (5 éq, 160 µL) est ajoutée. Le mélange est agité à température ambiante pendant 2 jours. Après concentration, le résidu est purifié par HPLC (phase inverse C-18, éluant H₂O/MeCN 98/2) et lyophilisé pour donner **4.22** (10 mg, 65 %).

p.f. 120-122°C [α]_D -5.8 (c 1.4, H₂O)

RMN ¹H (400 MHz, D₂O) δ (ppm) : 7.71 (d, 1H, *J* = 7.8 Hz), 7.48 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz), 7.24-7.14 (m, 3H), 4.59 (dd, 1H, *J* = 4.6 et 9.0 Hz), 3.94 (q, 1H, *J* = 4.2 Hz), 3.87 (q, 1H, *J* = 6.3 Hz), 3.72-3.70 (m, 1H), 3.62-3.55 (m, 2H), 3.40 (dd, 1H, *J* = 4.8 et 14.7 Hz), 3.14 (dd, 1H, *J* = 9.1 et 14.6 Hz), 1.50-1.41 (m, 1H), 1.19 (d, 3H, *J* = 6.4 Hz), 1.11-1.06 (m, 1H), 0.86-0.80 (m, 1H), 0.77 (d, 3H, *J* = 6.5 Hz), 0.73 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz)

RMN ¹³C (100 MHz, D₂O) δ (ppm) : 182.3, 178.3, 136.9, 128.1, 125.0, 122.6, 119.9, 119.5, 112.6, 111.1, 76.3 (d, *J* = 8.3 Hz), 71.2, 70.6 (d, *J* = 145.8 Hz), 69.9, 67.8, 56.3, 55.1, 43.8, 28.7, 24.6, 23.2, 21.6, 18.1

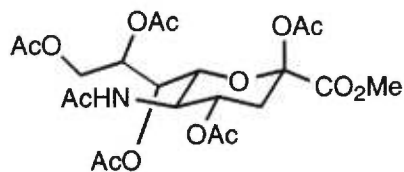
RMN ³¹P (162 MHz, D₂O) (vs H₃PO₄ dans D₂O réf externe δ 0.0 ppm)
δ (ppm) : 19.7

HRMS calculée pour C₂₂H₃₁N₃O₈P (M⁺) : 519.18845, trouvée 519.18335 avec une erreur σ < 1.6 ppm.

10. PARTIE EXPÉRIMENTALE DU CHAPITRE 5

Synthèse des sialophostones

5-Acétamido-2,4,7,8,9-penta-*O*-acétyl-3,5-didésoxy-D-*glycéro*-D-*galacto*-2-nonulopyranosate de méthyle **5.5**



À une suspension froide (0°C) d'acide 5-acétamido-3,5-didésoxy-D-*glycéro*-D-*galacto*-2-nonulopyranosonique **5.1** (500 mg, 1.61 mmoles) dans de la pyridine (12 mL) sont ajoutés de l'anhydride acétique (18 mL) et une quantité catalytique de diméthylamino pyridine. Le mélange est agité pendant 16 heures à température ambiante puis est concentré et codistillé avec du toluène pour donner l'acide 5-acétamido-2,4,7,8,9-penta-*O*-acétyl-3,5-didésoxy-D-*glycéro*-D-*galacto*-2-nonulopyranosonique. Après dissolution de l'acide obtenu dans un mélange 2:1 de méthanol-éther (6 mL), on ajoute une solution étherée de diazométhane à 0°C. Après disparition du produit de départ (ccm. acétate d'éthyle-acide acétique-eau, 5-2-2), la solution est concentrée et le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant chloroforme/méthanol 60/1) pour donner **5.5** sous la forme d'une mousse blanche (816 mg, 95 %).

$[\alpha]_D -27.0$ (*c* 1.0, CHCl₃) ; lit.¹ $[\alpha]_D -32.0$ (*c* 1.0, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 5.51-5.49 (m, 1H, NH), 5.36 (dd, 1H, *J* = 1.8 et 5.0 Hz), 5.25-5.51 (m, 1H), 5.07-5.03 (m, 1H), 4.48 (dd, 1H, *J* = 2.6 et 12.4 Hz), 4.14-4.08 (m, 4H), 3.77 (s, 3H, CO₂Me), 2.53 (dd, 1H, *J* = 5.0 et 13.5 Hz), 2.13 2.12 2.04 2.02 2.01 (5s, 15H, 5Ac), 1.87 (s, 3H, NAc).

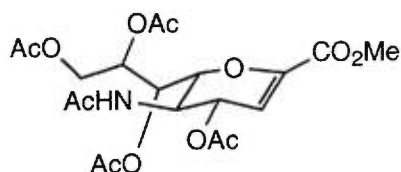
¹Marra, A.; Sinay, P. "Acetylation of *N*-acetylneuraminic acid and its methyl ester" *Carbohydr. Res.* **1989**, *190*, 317-322.

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 171.1 170.7 170.5 170.4 168.4 166.5 (CO_2CH_3), 97.7 ,73.0, 71.5, 68.5, 68.0, 62.3, 52.5 (CO_2Me), 49.4, 36.1, 23.3-20.9 ($7^*\text{CO}_2\text{CH}_3$).

MS (FAB) m/e 534 (M^+), 474, 414, 154, 136, 108.

HMRS calculée pour $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{NO}_{14}$ (M^+) : 534.18225, trouvée 534.18430 avec une erreur $\sigma < 3.8$ ppm.

5-Acétamido-4,7,8,9-tetra-*O*-acétyl-2,3,5-tridésoxy-D-*glycéro*-D-*galacto*-non-2-énopyranosate de méthyle **5.7**



À une solution froide (0°C) de **5.5** (950 mg, 1.79 mmoles) dans du chlorure d'acétyle (40 mL), est ajoutée une solution froide de chlorure d'acétyle saturée en chlorure d'hydrogène (20 mL). Le mélange est agité pendant 16 heures à température ambiante puis est concentré et codistillé avec du toluène pour donner le dérivé chloré. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant toluène/acétate d'éthyle 1/1) pour donner le 5-acétamido-2-chloro-4,7,8,9-tétra-*O*-acétyl-3,5-didésoxy-D-*glycéro*-D-*galacto*-2-nonulopyranosate de méthyle **5.6**. Le produit obtenu (608 mg, 1.19 mmoles) est dissous dans du benzène (20 mL). Après addition de la DBU (200 μL), le mélange est agité pendant 1 heure à température ambiante sous azote puis est concentré. Le résidu est repris avec de l'acétate d'éthyle (10 mL), lavé avec de l'eau (10 mL) et une solution saturée en chlorure de sodium (10 mL), séché (sulfate de sodium) et concentré. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant benzène/acétone 3/2) pour donner **5.7** sous la forme d'un sirop translucide (558 mg, 80%).

$[\alpha]_D +72.7$ (c 1.0, CHCl_3) ; lit.² $[\alpha]_D +79.9$ (c 1.3, CHCl_3)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 6.73 ppm (d, 1H, NH, $J = 8.1\text{Hz}$), 5.82 (d, 1H, $J = 2.9\text{ Hz}$), 5.39-5.37 (m, 2H), 5.23-5.20 (m, 1H), 4.55 (dd, 1H, $J = 2.8$ et 12.3 Hz), 4.30-4.27 (m, 2H), 4.07 (dd, 1H, $J = 7.4\text{ Hz}$), 3.65 (s, 3H, CO_2Me), 1.98 1.92 1.91 1.90 (4s, 12H, 4 OAc), 1.78 (s, 3H, NAc).

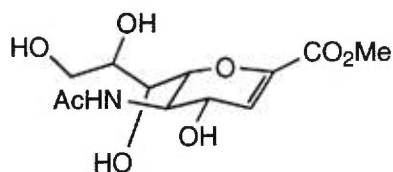
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 170.5 170.4 170.3 169.9 161.4 (CO_2CH_3), 144.97 , 108.08 , 76.52 , 70.76 , 68.39 , 67.49 , 61.92 , 52.30 , 46.09 , 22.79 , 21.19-20.50 (4 OAc).

MS (FAB) m/e 474 (M^+), 414, 306, 196, 154, 136.

HMRS calculée pour $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{NO}_{12}$ (M^+) : 474.16116 , trouvée 474.16040 avec une erreur $\sigma < 1.6\text{ ppm}$.

² Kuhn R.; Lutz, P.; MacDonald, D.L. "Synthese anomerer sialinsäure-methylketoside" *Liebigs Ann. Chem.* **1966**, 611-617.

5-Acétamido-2,6-anhydro-2,3,5-tridésoxy-D-glycéro-D-galacto-non-2-
énonate de méthyle **5.8**



À une solution de **5.7** (500 mg, 1.06 mmoles) dans du méthanol (25 mL) est ajouté du méthanoate de sodium fraîchement préparé (100 μ L, 25% p/v dans du méthanol). Le mélange est agité pendant 5 heures à température ambiante puis est neutralisé par addition d'Amberlite IR-120 (H^+). Après filtration et évaporation, on obtient **5.8** sous la forme d'une mousse blanche (320 mg, 98 %).

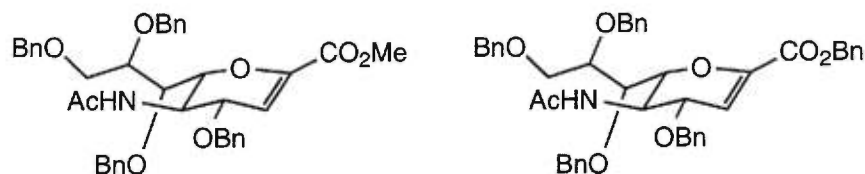
$[\alpha]_D +8.0$ (c 1.0, H_2O) ; lit.³ $[\alpha]_D +42.3$ (c 5.5, H_2O)

RMN 1H (400 MHz, D_2O) δ (ppm) : 6.11 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz), 4.58 (dd, 1H, $J = 1.2$ et 8.2 Hz), 4.34 (d, 1H, $J = 10.7$ Hz), 4.18-4.13 (m, 1H), 4.07-3.92 (m, 2H), 3.88 (s, 3H, CO_2Me), 3.74-3.70 (m, 2H), 2.13 (s, 3H, NAc).

RMN ^{13}C (100 MHz, D_2O) δ (ppm) : 175.5 ppm, 165.0, 144.1, 113.2, 76.8, 70.5, 68.6, 67.7, 63.7, 53.6, 50.2, 22.7.

³ Kumar, V.; Kessler, J.; Scott, M.E.; Patwardhan, B.H.; Tanenbaum, S.W.; Flashner, M. "2,3-Dehydro-4-epi-N-acetylneuraminic acid; a neuramidase inhibitor" *Carbohydr. Res.* **1981**, *94*, 123-130.

5-Acétamido-4,7,8,9-tetra-*O*-benzyl-3,5-didésoxy-D-*glycéro*-D-*galacto*-non-2-énonate de méthyle **5.9-1** et 5-acétamido-4,7,8,9-tetra-*O*-benzyl-3,5-didésoxy-D-*glycéro*-D-*galacto*-non-2-énonate de benzyle **5.9-2**



Le composé **5.8** (400 mg, 1.31 mmoles) est dissous dans de la diméthylformamide (50 mL) et de l'hydrure de sodium (60% en dispersion dans l'huile minérale, 8 éq, 420 mg) et une quantité catalytique de $n\text{Bu}_4\text{NI}$ sont ajoutés à la solution et on agite 1 heure à température ambiante. Le mélange est refroidi avec un bain de glace et on y ajoute graduellement du bromure de benzyle (10 éq, 1.6 mL). La solution est agitée 3 heures à température ambiante puis est versée dans une ampoule à décanter contenant un mélange d'eau et de glace (100 mL), d'acide chlorhydrique 2N (5 mL) et de chloroforme (100 mL). La phase organique est séchée (sulfate de sodium), filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 1/1) pour donner un mélange de **5.9-1** et **5.9-2**. A une solution du mélange dissous dans du méthanol (10 mL) est ajouté du méthanoate de sodium fraîchement préparé (100 μL , 25% p/v dans du méthanol). Le mélange est agité pendant 1 heure à température ambiante puis est neutralisé par addition d'Amberlite IR-120 (H^+). Après filtration et évaporation, on obtient seulement **5.9-1** sous la forme d'une huile de couleur jaune (400 mg, 48 % pour les 2 étapes).

Données pour **5.9-1** :

$[\alpha]_D -1.2$ (*c* 4.0, CHCl₃) ; lit.⁴ $[\alpha]_D -1.0$ (*c* 4, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.31-7.15 (m, 20H, 4*C₆H₅), 6.08 (d, 1H, *J* = 4.4 Hz, *H*3), 5.11 (d, 1H, *J* = 7.12 Hz, *NH*), 4.65-4.40 (m, 9H, 4*CH₂ de OBn et *H*6), 4.17-4.08 (m, 2H, *H*5 et *H*4), 3.92 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz et 9.3 Hz, *H*7), 3.86 (dd, 1H, *J* = 5.3 et 9.8 Hz, *H*8), 3.72 (s, 3H, CO₂Me), 3.65 (dd, 1H, *J* = 4.3 et 9.8 Hz, *H*9a), 3.43 (dd, 1H, *J* = 7.0 et 14.1 Hz, *H*9b), 1,69 (s, 3H, NAc).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 169.3 (CO du NAc), 162.3 (*C*1), 143.3 (*C*2), 138.4-135.0 et 128.4-127.1 (C₆H₅), 109.2 (*C*3), 78.1 (*C*6), 77.8 (*C*4), 74.9 (*C*8), 74.4 et 73.3 (2*CH₂ de OBn), 71.0 (*C*7), 70.8 (*C*9), 68.8 et 67.1 (2*CH₂ des OBn), 52.3 (OMe), 48.1 (*C*5), 23.3 (Me du NAc).

MS (FAB) *m/e* 666 (M⁺), 558, 154, 136, 91.

HMRS calculée pour C₄₀H₄₄NO₈ (M⁺) : 666.30670 , trouvée 666.30790 avec une erreur σ < 1.8 ppm.

Données pour **5.9-2** :

$[\alpha]_D -5.0$ (*c* 1.0, CHCl₃) ; lit.⁴ $[\alpha]_D -1.0$ (*c* 4, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.38-7.19 (m, 25H, 5*C₆H₅), 6.17 (dd, 1H, *J* = 0.5 et 3.92 Hz), 5.35 (d, 1H, *J* = 7.75 Hz), 5.23 (s, 2H), 4.70-4.48 (m, 7H), 4.43 (d, 2H, *J* = 1.52 Hz), 4.27 (q, 1H, *J* = 5.66 Hz), 4.18-4.15 (m, 2H), 3.98 (q, 1H, *J* = 5.05 Hz), 3.89 (dd, 1H, *J* = 5.33 et 9.99 Hz), 3.70 (dd, 1H, *J* = 4.47 et 9.96 Hz), 1.77 (s, 3H).

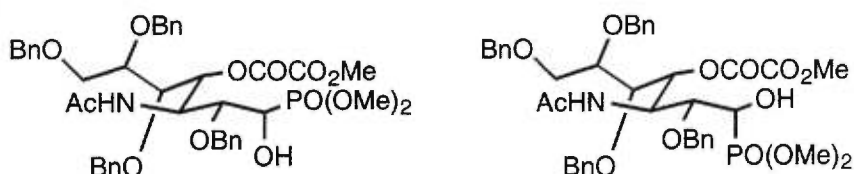
⁴ Czollner, L.; Kuszmann, J.; Vasella, A "Synthesis of pyrrolidine analogues of *N*-acetylneuraminic acid as potential sialidase inhibitors" *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1338-1358.

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 169.7 (CO du NAc), 162.1 (C1), 143.7 (C2), 138.7-135.4 et 128.8-127.5 (C_6H_5), 109.5 (C3), 78.3 (C6), 78.1 (C4), 75.1 (C8), 74.6 73.5 et 72.3 (3^*CH_2 de OBn), 71.3 (C7), 71.0 (C9), 68.9 et 67.3 (2^*CH_2 des OBn), 48.2 (C5), 23.5 (Me du NAc).

MS (FAB) m/e 742 (M^+), 558, 154, 136, 91.

HMRS calculée pour $\text{C}_{46}\text{H}_{48}\text{NO}_8$ (M^+) : 742.10610 , trouvée 742.10190 avec une erreur $\sigma < 2.2$ ppm.

3-Acétamido-2,5,6,7-tetra-*O*-benzyl-2-désoxy-4-*O*-(méthyloxalate)-1-diméthylphosphonyl-D-*erythro*-L-*manno*-heptitol **5.11** et 3-acétamido-2,5,6,7-tetra-*O*-benzyl-2-désoxy-4-*O*-(méthyloxalate)-1-diméthylphosphonyl-D-*erythro*-L-*gluco*-heptitol **5.12**



Un mélange d' O_3/O_2 est passé dans une solution froide (-78°C) de **5.9** (450 mg, 0.67 mmoles) dissous dans du dichlorométhane (20 mL) jusqu'à l'obtention d'une couleur bleue persistante (15 minutes). La solution est purgée à l'azote (10 minutes) et est évaporée pour donner le produit **5.10** sous la forme d'une mousse. Le produit obtenu est dissous dans de l'acide acétique glacial (20 mL) et du phosphite de triméthyle est ajouté (5 éq, 395 μL). Le mélange est agité à température ambiante pendant 24 heures puis est concentré. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 8/2) pour donner **5.11** (275 mg) et **5.12** (183 mg) sous la forme de sirops translucides pour un rendement global de 85 %.

Données pour **5.11** :

$[\alpha]_D +1.4$ (*c* 1.9, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.41-7.06 ppm (20H, arom.), 6.44 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz), 5.47 (dd, 1H, *J* = 2.8 et 10.1 Hz), 5.38 (dd, 1H, *J* = 6.2 et 24.7 Hz), 4.96 (d, 1H, *J* = 9.9 Hz), 4.65 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz), 4.56 (d, 2H, *J* = 10.2 Hz), 4.44-4.37 (m, 4H), 4.28 (d, 1H, *J* = 9.9 Hz), 4.12-4.07 (m, 2H), 3.88 (d, 3H, *J* = 10.2 Hz, POME), 3.75 (d, 3H, *J* = 10.2 Hz, POME), 3.73 (s, 3H, CO₂Me), 3.72-3.60 (m, 2H), 3.58 (dd, 1H, *J* = 2.0 et 10.2 Hz), 1.58 (s, NAc).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 172.9, 157.3, 127.2, 137.9, 137.5, 137.1, 128.4-127.6, 79.4, 76.8 (d, *J* = 3.1 Hz), 74.5, 74.4, 73.1, 72.3, 72.0, 67.1, 66.3 (d, *J* = 170.5 Hz), 54.0 (d, *J* = 6.9 Hz), 53.4, 52.5 (d, *J* = 7.1 Hz), 52.2 (d, *J* = 12.7 Hz), 22.3

RMN ³¹P (162 MHz, CDCl₃) (vs H₃PO₄ dans CDCl₃ avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 26.8 ppm

MS (FAB) *m/e* 808 (M⁺), 154, 91.

HMRS calculée pour C₄₂H₅₁NO₁₃P (M⁺) : 808.30981 , trouvée 808.31130 avec une erreur $\sigma < 1.8$ ppm.

Données pour **5.12** :

$[\alpha]_D +9.0$ (*c* 0.8, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.39-7.17 (20H, arom.), 6.05 (d, 1H, *J* = 9.4 Hz), 5.49 (dd, 1H, *J* = 3.1 et 9.4 Hz), 4.88 (d, 1H, *J* = 10.2 Hz), 4.70-4.62 (m, 3H), 4.53-4.47 (m, 4H), 4.13-4.07 (m, 2H), 3.79 (d, 3H, *J* = 10.5 Hz, POMe), 3.77 (d, 3H, *J* = 10.5 Hz, POMe), 3.73 (s, 3H, CO₂Me), 3.63 (dd, 1H, *J* = 6.5 et 10.4 Hz), 3.28 (t, 1H, *J* = 10.2 Hz), 1.71 (s, 3H, NAc).

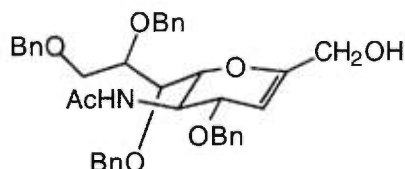
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 170.9, 157.5, 157.2, 137.8, 137.7, 137.2, 128.7-127.6, 78.6, 75.1, 74.9 (d, *J* = 4.5 Hz), 74.8, 74.1, 73.5, 73.2, 72.4, 67.9 (d, *J* = 161.8 Hz), 67.8, 53.7 (d, *J* = 7.7 Hz), 53.3, 53.0 (d, *J* = 7.2 Hz), 52.2 (d, *J* = 10.4 Hz), 23.0.

RMN ³¹P (162 MHz, CDCl₃) (vs H₃PO₄ dans CDCl₃ avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 24.8 ppm.

MS (FAB) *m/e* 808 (M⁺), 154, 91.

HMRS calculée pour C₄₂H₅₁NO₁₃P (M⁺) : 808.30981 , trouvée 808.31130 avec une erreur $\sigma < 1.8$ ppm.

5-Acétamido-4,7,8,9-tetra-*O*-benzyl-3,5-didésoxy-D-glycéro-D-galacto-non-2-éne-1-ol **5.13**



À une solution froide (0°C) de **5.9** (164 mg, 0.24 mmoles) dissous dans de l'éthanol (10 mL) est ajouté le borohydrure de sodium (3 équ., 30 mg). Le mélange est agité pendant 5 heures à température ambiante puis est neutralisé par addition d'Amberlite IR-120 (H⁺). Après filtration et évaporation, le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 2/3) pour donner **5.13** sous la forme d'un sirop translucide (150 mg, 95%).

$[\alpha]_D -13.8$ (*c* 0.8, CHCl₃)

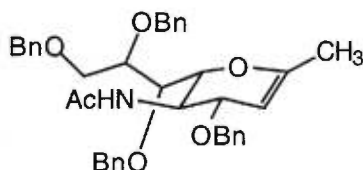
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.36-7.21 (20H, arom.), 5.31 (d, 1H, *J* = 8.1 Hz), 5.02 (d, 1H, *J* = 3.5 Hz), 4.75-4.43 (m, 11H), 4.21 (dd, 1H, *J* = 4.4 et 5.6 Hz), 4.02-3.87 (m, 5H), 3.70 (dd, 1H, *J* = 4.6 et 10.1 Hz), 1.82 (s, 3H, NAc).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 169.3, 153.6, 138.3-138.0, 128.3-127.3, 96.5, 78.1, 76.7, 75.6, 74.4, 73.3, 71.9, 71.7, 70.2, 68.7, 62.3, 48.0, 23.3.

MS (FAB) *m/e* 638 (M⁺).

HMRS calculée pour C₃₉H₄₄NO₇ (M⁺) : 638.08484, trouvée 638.08410 avec une erreur $\sigma < 2.5$ ppm.

5-Acétamido-4,7,8,9-tetra-*O*-benzyl-3,5-didésoxy-D-glycéro-D-galacto-non-2-ène **5.14**



À une solution de **5.13** (100 mg, 0.16 mmoles) et de thiochloroformiate de phényle (3 éq., 65 μ L) dans de l'acétonitrile (10 mL), on ajoute de la 4-N,N-diméthylaminopyridine (5 éq, 97 mg). Après agitation à température ambiante pendant 16 heures, de l'eau (1 mL) est ajoutée et l'agitation est maintenue pendant 15 minutes. On verse le mélange dans une ampoule à décanter contenant de l'acétate d'éthyle (20 mL) et de l'eau glacée (20 mL). On extrait la phase organique et on la lave successivement avec du carbonate de sodium 5% (2 x 10 mL) et de l'acide chlorhydrique 1N (10 mL). Elle est séchée (sulfate de sodium), filtrée et concentrée pour donner un solide de couleur jaune. On dissout ce solide dans du toluène (15 mL) et de l'AIBN (0.1 éq, 2 mg) et de l'hydrure de tributyle étain (3 éq, 129 μ L) sont ajoutés. Le mélange est agité pendant 2 heures à 110°C. On concentre et le résidu est dissous dans de l'acétonitrile (15 mL) et on le lave avec de l'hexanes (15 mL). Après concentration, le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 7/3) pour donner **5.14** sous la forme d'un sirop translucide (63 mg, 65%).

$[\alpha]_D -33.0$ (*c* 1.1, CHCl_3)

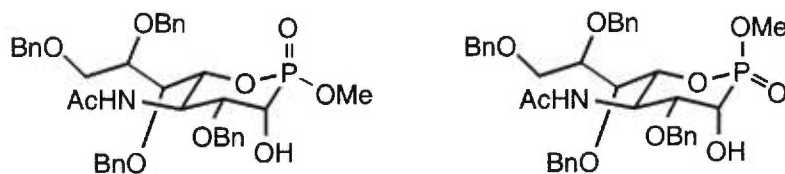
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.51-7.27 (20H, arom.), 5.49 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz), 4.81-4.44 (m, 11H), 4.31 (d, 1H, $J = 4.4$ Hz), 4.05-3.98 (m, 2H), 3.95 (t, 1H, $J = 5.1$ Hz), 3.79 (dd, 1H, $J = 4.9$ et 10.1 Hz), 1.87 (s, 3H), 1.84 (s, 3H).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 169.3, 152.2, 138.8-136.1, 129.2-126.8, 96.3, 78.2, 76.9, 75.9, 74.8, 73.3, 72.3, 71.9, 69.9, 69.0, 47.4, 23.4, 20.0.

MS (FAB) m/e 622 (M^+).

HMRS calculée pour $\text{C}_{39}\text{H}_{44}\text{NO}_6$ (M^+) : 622.01154, trouvée 622.01230 avec une erreur $\sigma < 3.1$ ppm.

5-Acétamido-4-*O*-benzyl-5-désoxy-6-(1'*S*,2'*S*,3'-tribenzyloxypropyl)-*L*-*manno*-(2*R*/*S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **5.16** et **5.17**



Le composé **5.11** (200 mg, 0.25 mmoles) est dissous dans du THF (10 mL) et on ajoute graduellement de la soude 1N (800 μ L). Après 10 minutes, la solution est versée dans une ampoule à décanter contenant de l'acide chlorhydrique 1N (10 mL) et du chloroforme (20 mL). La phase organique est séchée (sulfate de sodium), filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 3/2) pour donner **5.16** (45 mg) et **5.17** (80 mg) sous la forme de sirops translucides pour un rendement global de 75 %.

Données pour **5.16** :

$[\alpha]_D +6.4$ (*c* 2.1, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.41-7.23 (m, 20H, arom.), 5.28 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz), 4.73 (d, 1H, *J* = 11.0 Hz), 4.65-4.39 (m, 1H), 3.79-3.73 (m, 4H), 3.75 (d, 3H, *J* = 10.9 Hz, POMe), 3.62 (dd, 1H, *J* = 3.5 et 10.9 Hz), 1.79 (s, 3H, NAc).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 170.3, 138.2, 137.9, 137.8, 137.0, 128.6-127.5, 79.3, 76.5, 74.9 (d, *J* = 8.5 Hz), 74.6, 74.0, 73.3, 72.7, 71.2, 67.8, 64.1 (d, *J* = 146.2 Hz), 55.3 (d, *J* = 7.3 Hz), 46.7, 23.5.

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 19.9 ppm.

MS (FAB) m/e 690 (M^+), 154, 136, 91.

HMRS calculée pour $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{NO}_9\text{P}$ (M^+) : 690.28480 , trouvée 690.28320 avec une erreur $\sigma < 2.3$ ppm.

Données pour **5.17** :

$[\alpha]_{\text{D}}$ -5.6 (c 2.2, CHCl_3)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.36-7.22 (m, 20H, arom.), 5.32 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 4.93 (d, 1H, $J = 10.5$ Hz), 4.67 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz), 4.61 (s, 2H), 4.54-4.50 (m, 4H), 4.41-4.37 (m, 2H), 4.16-4.13 (m, 1H), 3.95-3.85 (m, 3H), 3.77 (dd, 1H, $J = 2.5$ et 11.0 Hz), 3.64-3.60 (m, 1H), 3.54 (d, 3H, $J = 10.5$ Hz, POME), 1.72 (s, 3H, NAc).

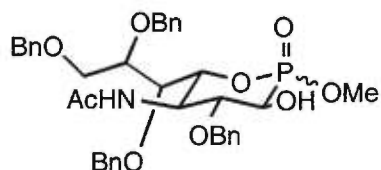
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 170.9, 138.2, 138.0, 137.9, 137.4, 128.9-127.3, 77.3, 76.4, 75.0, 74.2 (d, $J = 8.4$ Hz), 73.2, 73.0, 71.9, 71.6, 68.0, 63.2 (d, $J = 145.9$ Hz), 52.2 (d, $J = 6.9$ Hz, POME), 48.7, 23.4.

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 20.4 ppm.

MS (FAB) m/e 690 (M^+), 154, 136, 91.

HMRS calculée pour $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{NO}_9\text{P}$ (M^+) : 690.28480 , trouvée 690.28320 avec une erreur $\sigma < 2.3$ ppm.

5-Acétamido-4-*O*-benzyl-5-désoxy-6-(1'*S*,2'*S*,3'-tribenzyloxypropyl)-*L*-*gluco*-(2*R/S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **5.18** et **5.19**



Le composé **5.12** (200 mg, 0.25 mmoles) est dissous dans du THF (10 mL) et on ajoute graduellement de la soude 1N (800 µL). Après 10 minutes, la solution est versée dans une ampoule à décanter contenant de l'acide chlorhydrique 1N (10 mL) et du chloroforme (20 mL). La phase organique est séchée (sulfate de sodium), filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 3/2) pour donner le mélange d'isomères inséparables **5.18** et **5.19** (125 mg) sous la forme d'un sirop translucide pour un rendement global de 75 %.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.63-7.17 (m, 20H, arom.), 4.90-3.81 (m, 15H), 3.78 et 3.76 (d, total 3H, POMe min *J* = 11.0 Hz et POMe maj *J* = 10.2 Hz), 3.75-3.61 (m, 2H), 1.78 et 1.64 (s, total 3H, NAc).

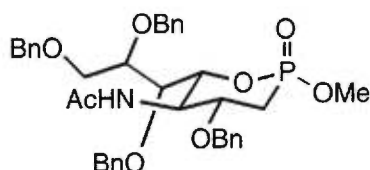
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 170.3 (min), 170.1 (maj), 138.4-137.7, 128.9-127.7, 80.9 (min), 80.5 (maj), 77.2, 75.1, 74.7, 74.5, 73.9, 73.3, 73.3, 72.3, 71.0 (d, *J* = 143 Hz), 67.6 (min), 67.4 (maj), 54.1 (d, POMe maj, *J* = 6.9 Hz), 54.0 (d, POMe min, *J* = 6.5 Hz), 52.2 (C4 maj), 50.9 (C4 min), 23.4 (NAc maj), 23.3 (NAc min).

RMN ³¹P (162 MHz, CDCl₃) (vs H₃PO₄ dans CDCl₃ avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 23.9 et 19.8 ppm (ratio 2/5).

MS (FAB) m/e 690 (M^+), 154, 136, 91.

HMRS calculée pour $C_{38}H_{45}NO_9P$ (M^+) : 690.28190 , trouvée 690.28320
avec une erreur $\sigma < 1.9$ ppm.

5-Acétamido-4-*O*-benzyl-5-désoxy-6-(1'*S*,2'*S*,3'-tribenzyloxypropyl)-*L*-lyxo-
(2*R*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **5.20**



À une solution de **5.16** (50 mg, 0.072 mmoles) et de thiochloroformate de phényle (3 éq., 50 μ L) dans de l'acétonitrile (10 mL), on ajoute de la 4-*N,N*-diméthylaminopyridine (5 éq, 45 mg). Après agitation à température ambiante pendant 16 heures, de l'eau (1 mL) est ajoutée et l'agitation est maintenue pendant 15 minutes. On verse le mélange dans une ampoule à décanter contenant de l'acétate d'éthyle (20 mL) et de l'eau glacée (20 mL). On extrait la phase organique et on la lave successivement avec du carbonate de sodium 5% (2 x 10 mL) et de l'acide chlorhydrique 1N (10 mL). Elle est séchée (sulfate de sodium), filtrée et concentrée pour donner un solide de couleur jaune. On dissout ce solide dans du toluène (15 mL), et de l'AIBN (0.1 éq, 2 mg) et de l'hydrure de tributyle étain (3 éq, 60 μ L) sont ajoutés. Le mélange est agité pendant 2 heures à 110°C. On concentre et le résidu est dissous dans de l'acétonitrile (15 mL) et on le lave avec de l'hexanes (15 mL). Après concentration, le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 3/2) pour donner **5.20** sous la forme d'un sirop translucide (30 mg, 65%).

$[\alpha]_D -7.5$ (c 0.7, CHCl_3)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.57-7.13 (m, 20H, arom.), 5.13 (d, 1H, NH $J = 9.7$ Hz), 4.83-4.31 (m, 10H), 4.00-3.93 (m, 1H), 3.89-3.85 (m, 1H), 3.80-3.69 (m, 2H), 3.75 (d, 3H, POME $J = 9.4$ Hz), 3.64 (dd, 1H, $J = 4.0$ et 11.3 Hz), 2.59-2.49 (m, 1H), 2.04-1.84 (m, 1H), 1.86 (s, 3H, NAc).

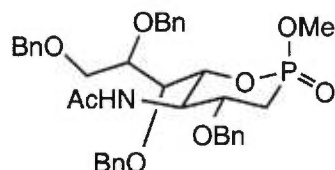
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 170.1, 138.0, 137.9, 137.8, 137.5, 128.6-127.6, 75.8, 75.1, 75.0, 74.5, 74.2, 73.3, 72.7, 70.7, 67.7, 53.0 (d, POME $J = 6.5$ Hz), 51.3, 27.6 (d, $J = 120.7$ Hz), 23.6.

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 26.6 ppm

MS (FAB) m/e 674 (M^+), 307, 154, 136, 91

HMRS calculée pour $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{NO}_8\text{P}$ (M^+) : 674.28827 , trouvée 674.28660 avec une erreur $\sigma < 2.5$ ppm.

5-Acétamido-4-*O*-benzyl-5-désoxy-6-(1'*S*,2'*S*,3'-tribenzyloxypropyl)-*L*-lyxo-
(2*S*)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **5.21**



À une solution de **5.17** (50 mg, 0.072 mmoles) et de thiochloroformate de phényle (3 éq., 50 μ L) dans de l'acétonitrile (10 mL), on ajoute de la 4-*N,N*-diméthylaminopyridine (5 éq, 45 mg). Après agitation à température ambiante pendant 16 heures, de l'eau (1 mL) est ajoutée et l'agitation est maintenue pendant 15 minutes. On verse le mélange dans une ampoule à décanter contenant de l'acétate d'éthyle (20 mL) et de l'eau glacée (20 mL). On extrait la phase organique et on la lave successivement avec du carbonate de sodium 5% (2 x 10 mL) et de l'acide chlorhydrique 1N (10 mL). La phase organique est séchée (sulfate de sodium), filtrée et concentrée pour donner un solide de couleur jaune. On dissout ce solide dans du toluène (15 mL) et de l'AIBN (0.1 éq, 2 mg) et de l'hydrure de tributyle étain (3 éq, 60 μ L) sont ajoutés. Le mélange est agité pendant 2 heures à 110°C. On concentre et le résidu est dissous dans de l'acétonitrile (15 mL) et on le lave avec de l'hexanes (15 mL). Après concentration, le résidu est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/hexanes 3/2) pour donner **5.21** sous la forme d'un sirop translucide (30 mg, 65%).

$[\alpha]_D -34.4$ (*c* 0.8, CHCl_3)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 7.45-7.13 (m, 20H, arom.), 4.84 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz), 4.71-4.65 (m, 2H), 4.62 (d, 2H, $J = 4.5$ Hz), 4.58-4.50 (m, 4H), 4.36 (d, 1H, $J = 11.7$ Hz), 4.09 (td, 1H, $J = 2.6$ et 9.5 Hz), 3.89 (s, 2H), 3.85-3.67 (m, 3H), 3.55 (d, 3H, POME $J = 10.8$ Hz), 2.47-2.38 (m, 1H), 1.91-1.78 (m, 1H), 1.77 (s, 3H, NAc).

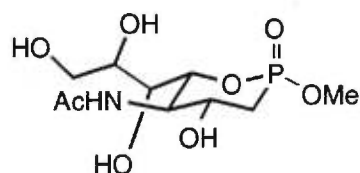
RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 170.2, 138.0, 137.9, 137.8, 137.5, 128.6-127.6, 77.3, 74.8, 74.2, 73.3, 71.8, 71.0, 67.4, 52.9, 51.5 (d, POME $J = 6.4$ Hz), 27.9 (d, $J = 120.6$ Hz), 23.5.

RMN ^{31}P (162 MHz, CDCl_3) (vs H_3PO_4 dans CDCl_3 avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 24.8 ppm

MS (FAB) m/e 674 (M^+), 307, 154, 136, 91

HMRS calculée pour $\text{C}_{38}\text{H}_{45}\text{NO}_8\text{P}$ (M^+) : 674.28827 , trouvée 674.28660 avec une erreur $\sigma < 2.5$ ppm.

5-Acétamido-5-désoxy-6-(1'S,2'S,3'-trihydroxypropyl)-L-lyxo-(2R)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **5.3**



Une solution de **5.20** (65 mg, 0.01 mmoles) dans du méthanol (3 mL) est hydrogénée en présence de Pd(OH)₂/C 20% (20 mg) à une pression de 60 psi pendant 16 heures. La solution est filtrée sur célite et est évaporée pour donner **5.3** sous la forme d'une poudre blanche (30 mg, quantitatif).

p.f. 118-120°C; [α]_D -7.5 (c 0.7, MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 4.34 (ddd, 1H, *J* = 1.1, 2.9 et 10.6 Hz), 4.10-4.05 (m, 1H), 3.96 (t, 1H, *J* = 10.3 Hz), 3.83-3.73 (m, 1H), 3.82 (d, 3H, POMe *J* = 11.3 Hz), 3.66-3.58 (m, 2H), 3.54 (ddd, 1H, *J* = 1.1, 4.0 et 9.3 Hz), 3.29-3.27 (m, 1H), 2.00 (s, 3H, NAc), 1.99-1.86 (m, 1H).

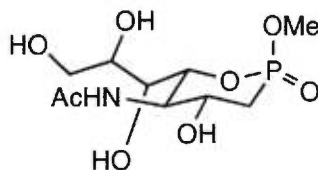
RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 176.6, 78.3, 72.5, 71.9 (d, *J* = 9.1 Hz), 70.3, 66.6, 56.4, 55.9, 33.0 (d, *J* = 120.9 Hz), 24.4

RMN ³¹P (162 MHz, CD₃OD) (vs H₃PO₄ dans CD₃OD avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 29.4 ppm

MS (FAB) *m/e* 314 (M⁺), 289, 154, 137, 120

HMRS calculée pour C₁₀H₂₁NO₈P (M⁺) : 314.10049, trouvée 314.09960 avec une erreur σ < 2.8 ppm.

5-Acétamido-5-désoxy-6-(1'S,2'S,3'-trihydroxypropyl)-L-lyxo-(2S)-méthoxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **5.4**



Une solution de **5.21** (65 mg, 0.01 mmoles) dans du méthanol (3 mL) est hydrogénée en présence de Pd(OH)₂/C 20% (20 mg) à une pression de 60 psi pendant 16 heures. La solution est filtrée sur célite et est évaporée pour donner **5.4** sous la forme d'une poudre blanche (30 mg, quantitatif).

p.f. 130-132°C; $[\alpha]_D -34.4$ (*c* 0.8, MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 4.22 (ddd, 1H, *J* = 1.0, 2.8 et 10.3 Hz), 4.01-3.86 (m, 2H), 3.75 (d, 3H, POMe *J* = 10.9 Hz), 3.77-3.72 (m, 1H), 3.69-3.54 (m, 3H), 2.51-2.42 (m, 1H), 1.99 (s, 3H, NAc), 1.89-1.84 (m, 1H)

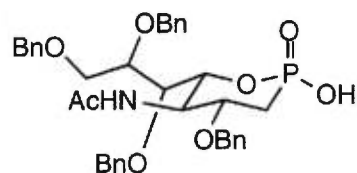
RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 176.7, 79.2 (d, *J* = 5.7 Hz), 72.9, 71.5 (d, *J* = 9.2 Hz), 70.5, 66.6, 56.1, 53.9 (d, *J* = 6.8 Hz), 33.0 (d, *J* = 122.9 Hz), 24.4

RMN ³¹P (162 MHz, CD₃OD) (vs H₃PO₄ dans CD₃OD avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 27.9 ppm

MS (FAB) *m/e* 314 (M⁺), 289, 154, 137, 89

HMRS calculée pour C₁₀H₂₁NO₈P (M⁺) : 314.10049, trouvée 314.09860 avec une erreur σ < 6.0 ppm.

5-Acétamido-4-*O*-benzyl-5-désoxy-6-(1'*S*,2'*S*,3'-tribenzyloxypropyl)-*L*-lyxo-(2*R*)-hydroxy-1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **5.22**



Le composé **5.20** et/ou **5.21** (50 mg, 0.074 mmoles) est dissous dans du dichlorométhane (10 mL) et du bromure de triméthylsilyle (5 éq, 145 µL) est ajouté. La solution est agitée pendant 16 heures à température ambiante sous atmosphère inerte. De l'eau (50 µL) est ajoutée et l'agitation est maintenue pendant 15 minutes. Après concentration, le résidu est purifié par cristallisation (acétate d'éthyle/pentane) pour donner **5.22** sous la forme d'un sirop translucide (46 mg, 95 %).

$[\alpha]_D -10.0$ (c 1.0, CHCl₃)

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 7.50-7.14 (m, 20H, arom.), 4.70-4.63 (m, 3H), 4.59-4.56 (m, 4H), 4.49-4.46 (m, 2H), 4.33 (t, 1H, *J* = 4.9 Hz), 3.88-3.84 (m, 3H), 3.70 (dd, 1H, *J* = 3.1 et 10.7 Hz), 2.63-2.53 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 1.89-1.79 (m, 1H)

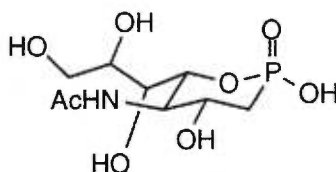
RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 173.5, 78.4, 78.1, 76.7 (d, *J* = 8.3 Hz), 76.0, 75.6, 74.3, 73.6, 72.1, 68.9, 52.6, 30.3 (d, *J* = 119.7 Hz), 23.1

RMN ³¹P (162 MHz, CDCl₃) (vs H₃PO₄ dans CDCl₃ avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 18.6 ppm

MS (FAB) m/e 660 (M^+), 570, 307, 181, 154, 91

HMRS calculée pour $C_{37}H_{43}NO_8P$ (M^+) : 660.27264 , trouvée 660.27430
avec une erreur $\sigma < 2.5$ ppm.

5-Acétamido-5-désoxy-6-(1'S,2'S,3'-trihydroxypropyl)-L-lyxo-(2R)-hydroxy-
1,2λ⁵-oxaphosphorinan-2-one **5.2**



Une solution de **5.22** (13 mg, 0.02 mmoles) dans du méthanol (3 mL) est hydrogénée en présence de $Pd(OH)_2/C$ 20% (10 mg) à une pression de 60 psi pendant 16 heures. La solution est filtrée sur célite et est évaporée pour donner **5.2** sous la forme d'une poudre blanche (6 mg, quantitatif).

p.f. 178-180°C; $[\alpha]_D -7.0$ (c 0.3, MeOH)

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 4.11-4.08 (m, 1H), 3.98-3.91 (m, 1H), 3.88-3.82 (m, 1H), 3.80-3.75 (m, 2H), 3.62 (q, 1H, $J = 5.5$ Hz), 3.45 (d, 1H, $J = 7.5$ Hz), 2.23 (t, 1H, $J = 17.5$ Hz), 2.02 (s, 3H), 1.76-1.72 (m, 1H)

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm) : 174.8, 75.0, 70.9, 70.1, 65.0, 55.2, 34.2 (d, $J = 120.4$ Hz), 22.7

RMN ^{31}P (162 MHz, CD_3OD) (vs H_3PO_4 dans CD_3OD avec une réf. externe δ 0.0 ppm) δ : 20.7 ppm

MS (FAB) m/e 300 (M^+), 237, 217, 149, 91, 57.

HMRS calculée pour $\text{C}_9\text{H}_{18}\text{NO}_8\text{P}$ (M^+) : 300.08484, trouvée 300.08410 avec une erreur $\sigma < 2.5$ ppm.