

UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE

UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE DE PHARMACIE

ANNEE 2006

N°

THESE

présentée et soutenue le 16 juin 2006 par :

CHRISTOPHE AUGE

Né le 16 février 1977 au Havre (Seine-Maritime)

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE ARDENNE

Discipline : **Sciences du médicament**

Directeur de thèse : **Pr. Jean-Yves LARONZE**

**Synthèses en série tryptophane :
Dipeptides à visée anti-angiogénique et dérivés C-2-mannosylés**

JURY

Rapporteurs : **Monsieur le Dr Jean-Alain Fehrentz** (Directeur de Recherche CNRS à la Faculté de Pharmacie de Montpellier)
Monsieur le Dr Yves Chapleur (Directeur de Recherche CNRS à l'Université Henri Poincaré de Nancy I)

Asseseurs : **Monsieur le Pr Jean-Daniel Brion** (Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris XI)
Monsieur le Pr Arnaud Haudrechy (Professeur à la Faculté des Sciences de Reims)
Monsieur le Pr Janos Sapi (Professeur à la Faculté de Pharmacie de Reims)
Monsieur le Pr Jean-Yves Laronze (Professeur à la Faculté de Pharmacie de Reims)

A Monsieur Yves Chapleur
 Directeur de Recherche CNRS à l'Université Henri Poincaré de Nancy I

Qui a accepté d'être rapporteur de cette thèse qu'il me
fait, aujourd'hui, l'honneur de juger.
Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

A Monsieur Jean-Alain Fehrentz
 Directeur de Recherche CNRS à la Faculté de Pharmacie de Montpellier.

Qui me fait l'honneur de juger ce travail en qualité de
rapporteur.

Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

A Monsieur Jean-Daniel Brion
Professeur de Chimie Thérapeutique à la Faculté de Pharmacie de Paris XI

Qui me fait l'honneur de juger ce travail.
Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

A Monsieur Arnaud Haudrechy
Professeur de Chimie à la Faculté des Sciences de Reims

Pour sa disponibilité et l'aide qu'il m'a fourni sur divers problèmes et pour l'honneur qu'il me fait d'accepter de juger ce travail.

Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

A Monsieur Janos Sapi
 Professeur de Chimie Thérapeutique à l'Université de Reims.

Qui a toujours su trouver du temps pour mes questions.
Pour ses conseils, sa gentillesse et pour l'honneur qu'il
me fait de juger ce travail.
Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

A Monsieur Jean-Yves Laronze
 Professeur émérite de Chimie Thérapeutique à l'Université de Reims.

Mon directeur de thèse

Qui m'a confié ce travail et qui m'a encadré pendant ces
quatre ans de thèse.

Pour la richesse de son enseignement et la bienveillance
qu'il m'a toujours manifesté.

Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

Mes remerciements s'adressent également :

A Marie COCHARD et Stéphane GERARD

Qui ont bien voulu me consacrer de leur temps pour corriger cette thèse.

Qu'ils trouvent ici mes sincères remerciements et l'expression de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur Christian PETERMANN

Pour les spectres de RMN bien sûr mais surtout pour son éternelle bonne humeur et sa disponibilité.

Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

A Monsieur Dominique PATIGNY

Qui m'a aidé à faire mes premiers pas en C.L.H.P. et pour les spectres de masse.

Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

A Monsieur Philippe SIGAUT

Pour les spectres de masse.

Qu'il trouve ici mes sincères remerciements.

A Mes collègues du Laboratoire et particulièrement Gwen et Enguerran

Pour leur humour et la bonne ambiance qui a toujours régné à la paillasse...

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude et mes sincères remerciements.

A Jacinthe, mes parents, ma sœur, mon frère et mes amis.

Pour leur soutien inconditionnel, pour leurs encouragements et leur bonne humeur quotidienne. Qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance.

INTRODUCTION

Cette thèse a été réalisée au sein de l'Unité CNRS FRE 2715 "Isolement, Structure et Synthèse de Substances Naturelles" dirigée par le Professeur Janos Sapi. Les travaux de recherche ont été effectués dans l'équipe de Chimie Thérapeutique de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Reims Champagne-Ardenne, sous la direction du Professeur Jean-Yves Laronze.

Dans le cadre d'une collaboration avec l'Unité CNRS UMR 6198 du Professeur François-Xavier Maquart sur le thème de l'angiogenèse, nous avons appliqué le savoir-faire de l'Unité dans la chimie de l'indole et du tryptophane à la préparation de molécules susceptibles d'interférer avec ce phénomène. Dans une première partie, nous ferons donc quelques rappels sur l'angiogenèse et son rôle dans les mécanismes de cancérisation et la dissémination des métastases.

Au cours de cette recherche, nous avons abordé deux problèmes ; dans un premier temps nos travaux ont porté sur la synthèse d'analogues d'un dipeptide (E-W) : l'IM862 (*1*), ce dernier ayant montré une activité anti-angiogénique particulièrement intéressante. Cependant son mécanisme, que l'on sait lié au VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), n'est pas encore totalement élucidé. Deux types d'analogues ont été préparés (**Schéma 1**) : des dipeptides incorporant des tryptophanes β substitués, et un composé issu du couplage de l'acide L-pyroglutamique et du L-tryptophane.

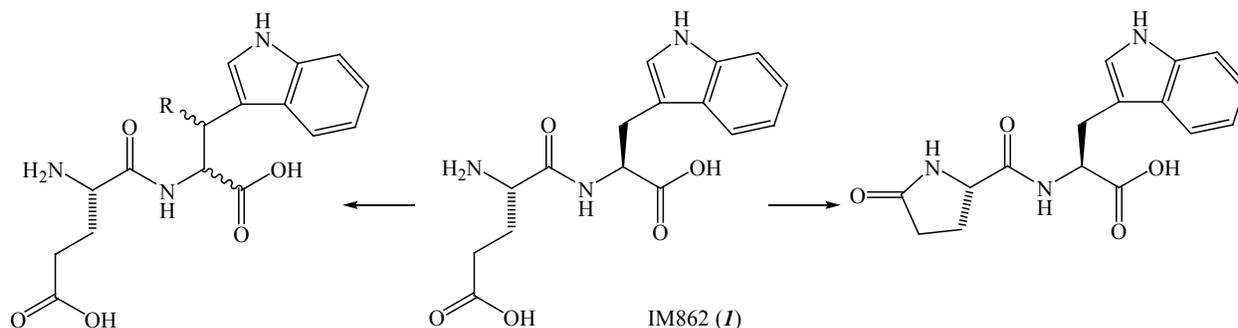


Schéma 1 : IM862 (*1*) et dérivés synthétisés.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à la préparation d'un autre dérivé du tryptophane, l' α -C-2-mannosyl-tryptophane (*2*). Cette synthèse a pour but l'étude du rôle structural de la mannosylation des tryptophanes des thrombospondines, glycoprotéines également impliquées dans l'angiogenèse, sur l'expression des métalloprotéinases de la matrice extracellulaire (MMPs). En effet, l'équipe du Docteur Georges Bellon¹ (UMR 6198) a découvert que le segment peptidique de reconnaissance des bFGF (*basic Fibroblast Growth Factor*) et des MMPs par la thrombospondine présente des motifs W-X-X-W où les tryptophanes sont substitués par un reste mannosyle en position 2 du noyau indole (**Schéma 2**).

¹ Hornebeck W. ; Emonard H. ; Monboisse J. C. ; Bellon G. **Matrix-directed regulation of pericellular proteolysis and tumor progression.** *Semin. Cancer Bio.* **2002**, *12*, 231-241.

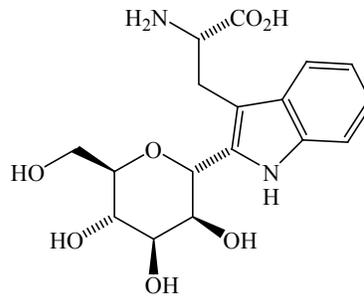


Schéma 2 : α -C-2-mannosyl-tryptophane (2).

Les deux projets dans lesquels s'inscrivent ces recherches seront tout d'abord détaillés. Nous analyserons ensuite les différentes voies de synthèse envisagées et les difficultés rencontrées. Enfin, nous conclurons sur ce travail et les suites à lui apporter.

L'ANGIOGENESE ET SON CONTROLE

1- L'angiogenèse :

1-1- Généralités :

L'embryon du mammifère se compose, au tout début de son évolution, d'un amas de cellules avasculaires. Le développement d'un réseau vasculaire, capable de transporter fluides et gaz nécessaires à la vie cellulaire, apparaît rapidement au cours de la croissance embryonnaire. On appelle vasculogénèse les événements embryologiques initiaux débutant par la migration de précurseurs endothéliaux (angioblastes) qui se différencient et forment, localement, des tubules de cellules endothéliales. Ces dernières s'organisent alors en plexus. La croissance, la différenciation et l'organisation de ces plexus en réseaux vasculaires fonctionnels constituent l'angiogenèse. Ce processus est caractérisé par le bourgeonnement de cellules endothéliales à partir des extrémités et des parois latérales des vaisseaux préexistants. Le mécanisme d'angiogenèse intervient tout au long de la vie lorsque des vaisseaux sanguins doivent être fabriqués par l'organisme, comme lors de la cicatrisation, du remodelage cyclique de l'endomètre ou encore de l'implantation du placenta.

Dans les années 70, les travaux séminaux de Judah Folkman² ont montré que les tumeurs, au-delà d'un volume de quelques millimètres cubes, souffrent d'hypoxie et qu'elles ne peuvent survivre sans former de nouveaux vaisseaux sanguins nécessaires à leur alimentation en oxygène et en nutriments. Les cellules tumorales font alors appel au même processus que les cellules embryonnaires : l'angiogenèse. L'inhibition du développement tumoral par le blocage de la néoangiogenèse est logiquement devenue une stratégie majeure dans la recherche de traitements des cancers. Pour ce faire, la compréhension de ce phénomène complexe est essentiel.

1-2- Mécanisme de l'angiogenèse :

L'angiogenèse est un phénomène physiologique pouvant être scindé en plusieurs étapes.

A l'origine, une cellule normale, pour différentes raisons pouvant impliquer des facteurs aussi bien exogènes (irradiations, chimiques) qu'endogènes (génétiques), se transforme en cellule cancéreuse. Cette dernière se développe de façon anarchique jusqu'à former une masse tumorale de deux millimètres cubes au maximum (**Schéma 3**).

² Folkman J. **Tumor angiogenesis: therapeutic implications.** *N. Engl. J. Med.* **1971**, 285, 1182-1186.

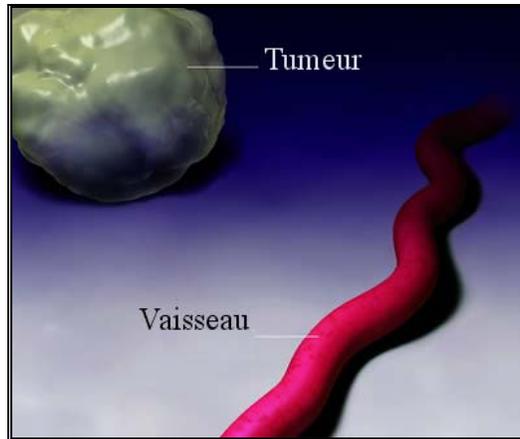


Schéma 3 : Tumeur primitive. (Image modifiée du site allemand de Roche^{®3})

A ce stade, la tumeur ne peut plus se développer par manque de nutriments et d'oxygène : les cellules cancéreuses sont en hypoxie. Comme des cellules normales placées dans les mêmes conditions, les cellules tumorales libèrent des messagers vers les cellules de l'endothélium vasculaire le plus proche (**Schéma 4**). Ces messagers, principalement les facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) tout comme leurs récepteurs, constituent une cible privilégiée dans le traitement des cancers.

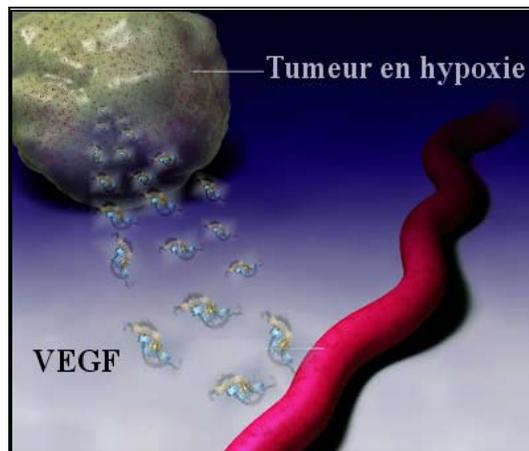


Schéma 4 : Tumeur en hypoxie libérant des VEGF. (Image modifiée³)

Sous l'effet de la stimulation de leurs récepteurs, les cellules endothéliales se mettent à proliférer et à sécréter des messagers, qui vont activer les métalloprotéinases matricielles (MMPs) qui dégradent les protéines de la matrice extracellulaire (MEC) (**Schéma 5**).

³ ROCHE[®]

Antikörpertherapie [Consulté le 19/02/2006]

Disponible à partir de : URL :

<http://www.roche.de/pharma/indikation/onkologie/darmkrebs/therapie/antikoerpertherapie/index.html?sid=acd9e86b2e99c796b697f6b7194ad8c6>

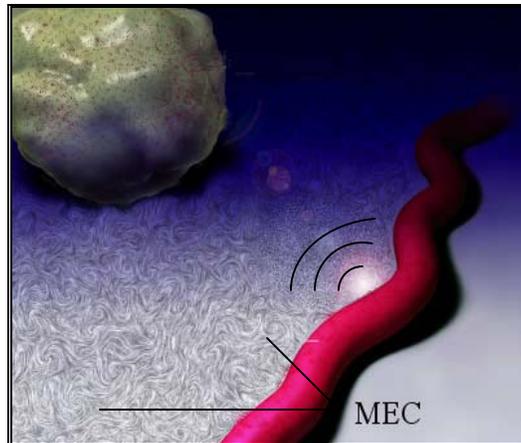


Schéma 5 : Destruction de la MEC par les MMPs. (Image modifiée³)

La matrice extracellulaire est le milieu intercellulaire, c'est à dire une sorte de « ciment » biologique. Elle est constituée de protéines à caractère fibrillaire (collagène, laminine) ou élastique (élastine), ou encore de protéines formant un gel (gélatine). Les métalloprotéinases matricielles (MMPs) sont des endopeptidases ; leur activité protéolytique s'effectue sur des liaisons peptidiques internes. Elles font partie de la superfamille des *metzinciques* car elles possèdent un ion zinc au niveau de leur site catalytique. A ce jour, vingt-huit MMPs différentes ont été identifiées⁴. Parmi elles, figurent des collagénases (MMP1, MMP8 et MMP13), des élastases (MMP12) ou encore des gélatinases (MMP2 et MMP9). Leur action protéolytique permet aux cellules endothéliales de migrer vers les cellules cancéreuses (chimiotactisme).

Après leur migration, les cellules endothéliales fabriquent les éléments constitutifs de la membrane basale (collagène, protéoglycanes, etc...) puis les molécules d'adhésion : intégrines, V-CAM et sélectines, nécessaires au développement harmonieux des nouveaux capillaires (**Schéma 6**).

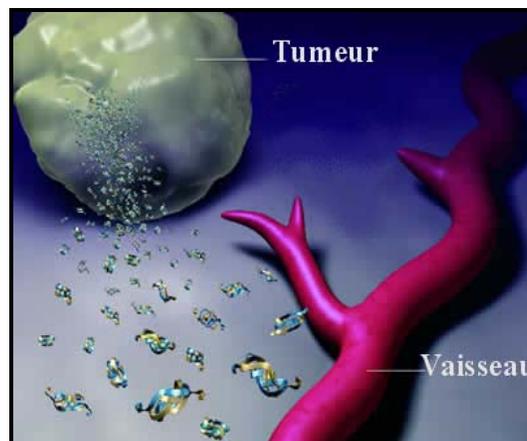


Schéma 6 : Bourgeonnement de vaisseaux toujours sous l'influence des VEGF. (Image modifiée³)

De nouveau alimentées, les cellules cancéreuses vont pouvoir se multiplier et la tumeur se développer (**Schéma 7**).

⁴ Roy R. ; Zhang B. ; Moses M. A. **Making the cut : Protease-mediated regulation of angiogenesis.** *Exp. Cell Res.* **2006**, 312, 608-622.

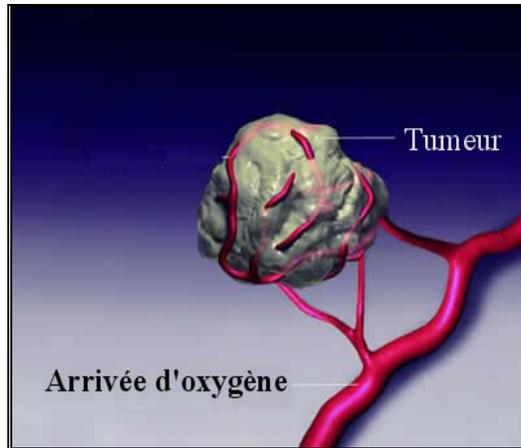


Schéma 7 : Tumeur vascularisée. (Image modifiée³)

Au cours de sa croissance, la tumeur va pouvoir développer un réseau vasculaire complexe (Schéma 8).

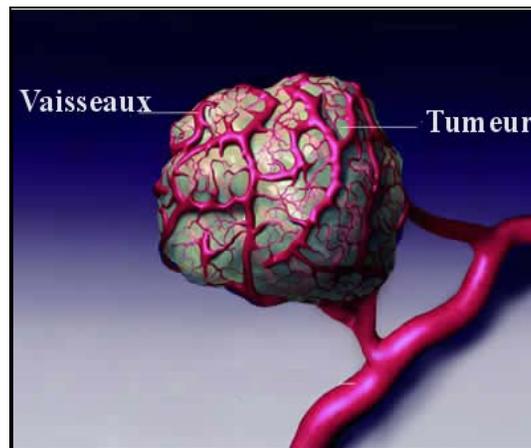


Schéma 8 : Tumeur mature. (Image modifiée³)

Outre le fait de permettre la croissance des tumeurs, l'angiogenèse permet également la dissémination des cellules cancéreuses depuis une tumeur primitive par intravasation (Schéma 9). Ces cellules vont pouvoir sortir de la circulation générale pour créer des tumeurs cancéreuses secondaires ou métastases en un autre endroit de l'organisme.

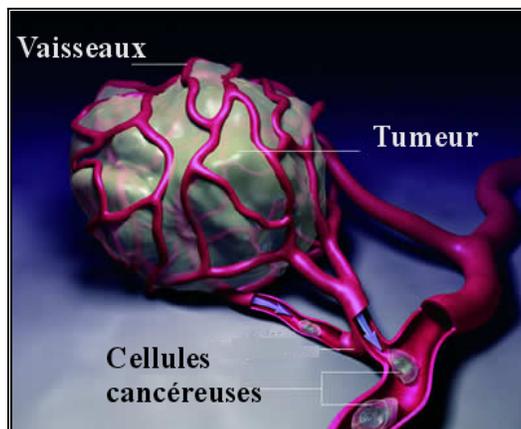


Schéma 9 : Tumeur libérant des cellules cancéreuses. (Image modifiée³).

2- Contrôle de l'angiogenèse :

Il est aujourd'hui admis que le système vasculaire de l'adulte est maintenu quiescent à l'état normal par un équilibre entre les facteurs pro- et anti-angiogéniques⁵. Le processus d'angiogenèse est activé en cas de déséquilibre de cette balance, dans diverses maladies comme les rétinopathies, le psoriasis, l'arthrite rhumatoïde et bien entendu les cancers.

Le **Tableau I**⁶ montre une liste non exhaustive des principaux activateurs et inhibiteurs physiologiques de l'angiogenèse connus à l'heure actuelle. Le nombre important de partenaires impliqués dans ce processus nous montre toute la complexité du processus.

Tableau I : Facteurs pro- et anti- angiogéniques⁶.

Activateurs	Fonctions	Inhibiteurs	Fonctions
VEGF et PIGF (placenta)	Active les VEGFR, augmente la perméabilité des vaisseaux.	VEGFR-1 NP-1	Capture des VEGF. Capture des VEGF.
VEGF-C	Stimule la lymphangiogenèse.	Angiopoïétine-2	Antagoniste de Ang-1 (induit la régression des vaisseaux).
VEGFR-1	Stimule l'organisation des néo-CE.	Thrombospondine -1	<i>Type 1 repeats</i> (TSR-1) : inhibe la migration cellulaire, la multiplication, l'adhésion et la survie.
VEGFR-2	Stimule la prolifération des CE vasculaires.		
VEGFR-3	Stimule la prolifération des CE lymphatiques.	Thrombospondine -2 Meth-1 et Meth-2	Provoque l'apoptose. Inhibiteurs de métalloprotéinases.
EGF(<i>epidermal</i>)	Stimule la prolifération cellulaire.	Angiostatine	Inhibe la migration cellulaire.
Angiopoïétine-1 et Récepteurs Tie2	Stabilise les néo-vaisseaux par mobilisation des muscles lisses.	Endostatine	Inhibe la survie et la migration cellulaire.
PDGF-BB (<i>Platelet Derived Growth Factor</i>) et récepteurs	Recrute les cellules musculaires lisses.	TGF- β et récepteurs Calreticuline	Action anti-oncogénique. Inhibe la croissance de l'endothélium.
TGF- β et récepteurs	Stabilisation par production de matrice extracellulaire autour des néo-vaisseaux.	<i>Platelet factor-4</i>	Inhibent la reconnaissance de VEGF et FGF.
Intégrines	Récepteurs pour macromolécules matricielles et MMPs.	TIMPs	Inhibent les métalloprotéinases matricielles.
VE-cadherine CD31	Molécules de jonction entre les CE. Anticorps.	Interférons	Inhibent la migration cellulaire.
Activateur du plasminogène (tPA)	Favorise la migration cellulaire et le remodelage matriciel.	Interleukine (II) 4, 12, 18	Inhibent la migration cellulaire.
Métalloprotéinases matricielles (MMPs)	Remodelage matriciel.	Prothrombine	Inhibe la croissance de l'endothélium.
FGF		
NO synthase		

CE= Cellules Endothéliales.

Nous développerons dans ce manuscrit les mécanismes d'action des VEGF et des thrombospondines : ces deux modulateurs nous intéressent plus particulièrement dans le cadre de notre travail de recherche.

⁵ Huang Z. ; Bao S. D. **Roles of main pro- and anti-angiogenic factors in tumor angiogenesis.** *World J. Gastroenterol.* **2004**, *10*, 463-470.

⁶ Conway E. M. ; Collen D. ; Carmeliet P. **Molecular mechanisms of blood vessel growth.** *Cardiovasc. Res.* **2001**, *49*, 507-521.

2-1- Les VEGF et VEGFR (récepteurs) :

Parmi les cytokines impliquées dans la régulation positive de l'angiogenèse, les mieux étudiées appartiennent aux familles du *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) et du *Fibroblast Growth Factor* (FGF). A la différence de ce dernier, le rôle régulateur de VEGF dans l'angiogenèse au cours du développement est clairement établi. Il en est de même dans l'angiogenèse physiologique et pathologique.

Les VEGF sont des protéines dont la production est induite par l'HIF-1 (*Hypoxemia Inducible Factor-1*). Il est également connu que certains oncogènes (notamment des familles ras et erbB) potentialisent l'expression des gènes VEGF⁷.

Les VEGF agissent en se fixant à des récepteurs présents sur les cellules endothéliales : les premiers découverts ont été nommés VEGFR 1 et 2. Il s'agit d'enzymes transmembranaires de type tyrosine kinase. Le VEGFR-1 contrôle le développement de l'endothélium par l'intermédiaire des interactions cellule-cellule et cellule-matrice, et le VEGFR-2 induit la prolifération et la survie des cellules endothéliales : le VEGFR-2 est donc le récepteur le plus important pour l'initiation de l'angiogenèse. Le VEGF possède une affinité dix fois plus grande pour les récepteurs de type 1 que pour ceux de type 2. Il en résulte un effet inhibiteur de l'initiation de l'angiogenèse (par capture du médiateur) par le VEGFR-1⁸.

Un autre facteur, VEGF-C, et son récepteur le VEGFR-3 ont également un rôle dans l'activation de la prolifération des cellules endothéliales appartenant, cette fois-ci, au système lymphatique. Le mécanisme décrit précédemment pour les vaisseaux sanguins est en effet transposable au système lymphatique, principalement pour ce qui concerne la dissémination des cellules cancéreuses entraînant la formation des métastases.

Il faut cependant souligner que VEGF est nécessaire, mais probablement pas suffisant pour induire l'angiogenèse à lui-seul. La présence d'autres régulateurs positifs de l'angiogenèse ou la perte de régulateurs négatifs, est requise pour déclencher une réponse complète⁹.

Les VEGF et les gènes codant pour ces protéines sont actuellement des cibles de choix dans la recherche de traitements anti-cancéreux. Il en est de même des VEGF-R pour lesquels des antagonistes (extra-cellulaires) et des inhibiteurs (de tyrosines kinases, intra-cellulaires) sont déjà sur le marché.

⁷ Ferrara N. ; Gerber H. P. ; LeCouter J. **The biology of VEGF and its receptors.** *Nat. Med.* **2003**, *6*, 669-676.

⁸ Kroll J. ; Waltenberg J. **The vascular endothelial growth factor receptor KDR activates multiple signal transduction pathways in porcine aortic endothelial cells.** *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 32521-32527.

⁹ Pepper M. S. **Angiogenèse et morphogenèse de l'arbre vasculaire : de la biologie cellulaire à la clinique.** *Med. Sci. (Paris)*, **2000**, *16*, 1378-1386.

2-2- Les thrombospondines (TSP) :

Les thrombospondines constituent une famille de cinq glycoprotéines aux rôles physiologiques divers. Comme indiqué sur le **Schéma 10**¹⁰, la thrombospondine 1 inhibe l'angiogenèse en interagissant avec de nombreuses protéines de la matrice extra-cellulaire et du plasma. La TSP-2 présente également des propriétés inhibitrices de l'angiogenèse.

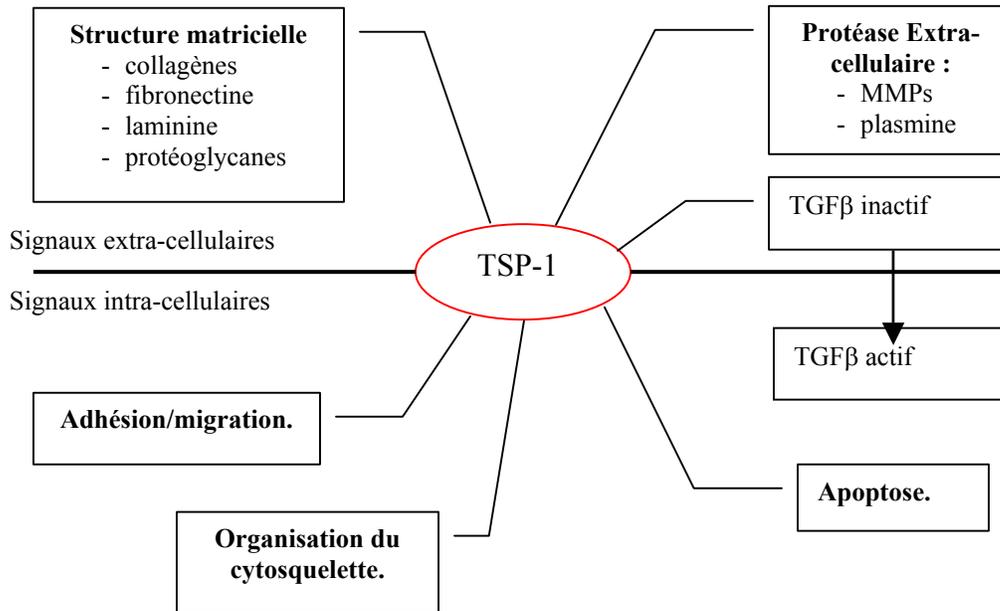


Schéma 10 : Représentation des principales interactions de la thrombospondine-1.

De nombreuses publications^{11,12,13} font état des propriétés anti-angiogéniques de TSP-1 et TSP-2. Ces différentes propriétés sont médiées par divers segments de la protéine (**Schéma 11**).

¹⁰ Lawler J. **Thrombospondin-1 as an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth.** *J. Cell. Mol. Med.* **2002**, 6, 1-12.

¹¹ De Fairpont F. ; Nicholson A.C. ; Feige J.-J. ; Van Meir E. G. **Thrombospondines and tumor angiogenesis.** *Trends Mol. Med.* **2001**, 7, 401-407.

¹² Armstrong L. C. ; Bornstein P. **Thrombospondins 1 and 2 function as inhibitors of angiogenesis.** *Matrix Biol.* **2003**, 22, 63-71.

¹³ Ren B. ; Yee K. O. ; Lawler J. ; Khosravi-Far R. **Regulation of tumor angiogenesis by thrombospondin-1.** *Biochim. Biophys. Acta- Rev. Cancer* **2006**, sous presse.

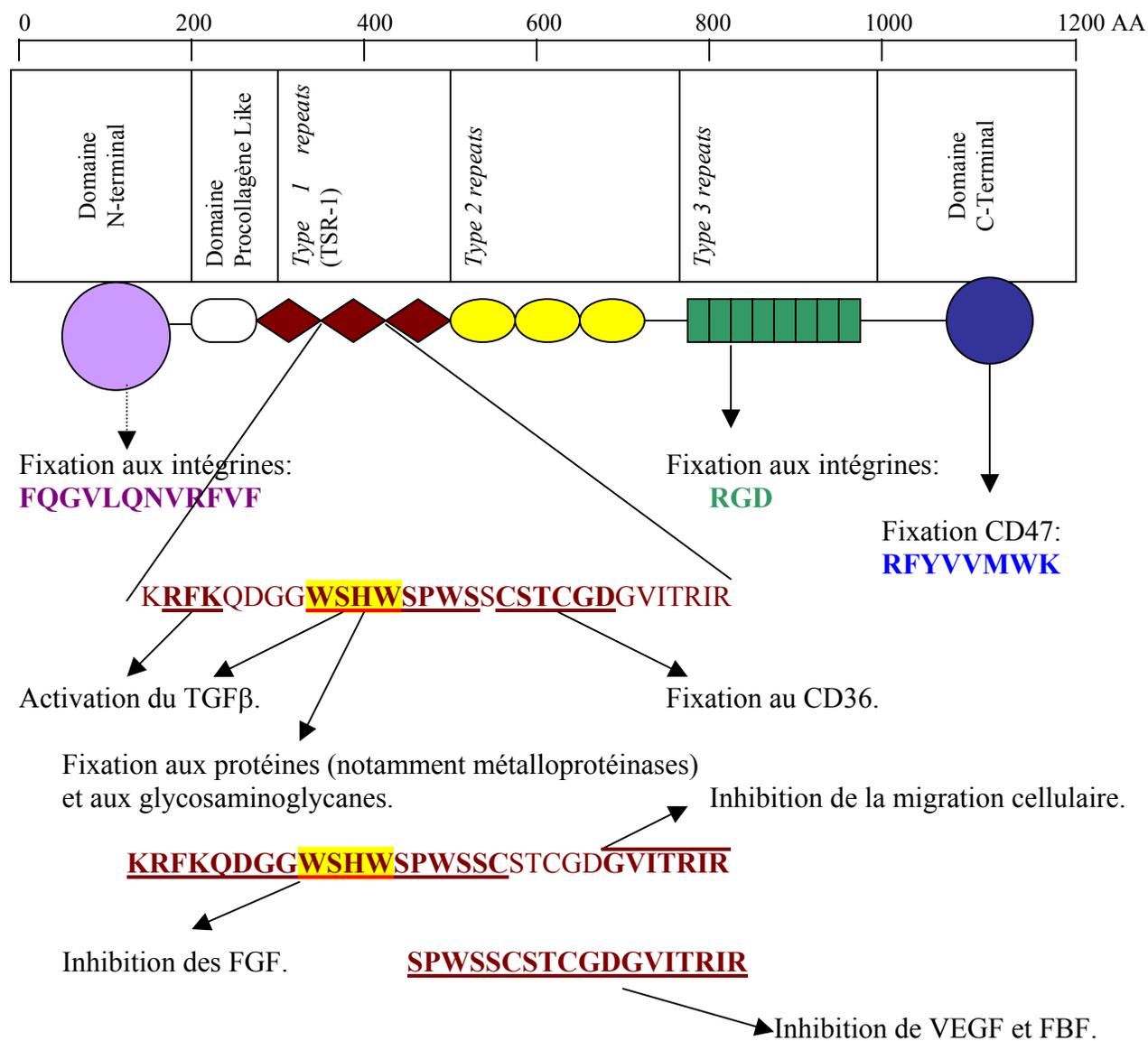


Schéma 11 : Séquences peptidiques actives de TSP-1.

Comme nous pouvons le voir sur le **Schéma 11**, la majorité des effets anti-angiogéniques est liée au secteur TSR-1 (*Thrombospondin type 1 Repeats*)¹⁴ :

- interaction avec CD36 et induction de l'apoptose ;
- activation du TGF-β. Cette cytokine, comme indiqué dans le **Tableau I**, présente un effet inhibiteur des oncogènes au début du développement tumoral et un effet activateur sur les tumeurs développées. Les séquences impliquées dans cette activation seraient RFK et **WSHWSPW**¹⁵ ;
- inhibition de l'activation de la pro-MMP-9 par la séquence **WSHWSPWS**, laquelle est liée à la libération de VEGF ;

¹⁴ Tucker R. P. **The thrombospondin type 1 repeat superfamily.** *Int. J. Biochem. Cell. Bio.* **2004**, 36, 969-974.

¹⁵ Young G.D. ; Murphy-Ullrich J.E. **The tryptophan-rich motifs of the thrombospondin type 1 repeats bind VLAL motifs in the latent transforming growth factor-beta complex.** *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 47633-47642.

- inhibition de l'activation de la pro-MMP-2¹⁶ par l'intermédiaire de la séquence peptidique **WSHW**SPWS ;
- inhibition directe par liaison au VEGF et au bFGF par les séquences peptidiques SPWSSCSTCGDGVITRIR et KRFKQDGG**WSHW**SPWSSC¹⁷ ;
- inhibition de la migration cellulaire par la séquence peptidique GVITRIR. Cette propriété est actuellement mise à profit par un analogue qui est en essais cliniques de phase I.

L'originalité de la séquence active GG**WSHW**SPW de cette protéine porte sur le fait que les deux premiers tryptophanes présentent une modification post-traductionnelle inhabituelle¹⁸ : ils sont C-mannosylés sur la position 2 du noyau indole. Comme nous le verrons dans la partie qui lui est consacrée, cette modification est effectuée par une enzyme : la C-mannosyltransférase, qui utilise le dolichylphosphate de mannose comme précurseur¹⁹.

2-3- L'angiogénèse comme cible thérapeutique :

De nombreuses molécules visant le mécanisme de l'angiogénèse sont actuellement à l'étude²⁰. Nous ne nous intéresserons ici qu'à celles ciblant les VEGF, les VEGFR ou la thrombospondine.

2-3-1- Anti-VEGF ou antagonistes des VEGF-R :

La production d'anticorps ciblant les facteurs pro-angiogéniques et/ou leurs récepteurs est une méthode spécifique pour inhiber l'angiogénèse. Le bevacizumab, anticorps monoclonal anti-VEGF, est actuellement commercialisé par ROCHE sous le nom d'AVASTIN[®] ; il est indiqué en traitement de première ligne, chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique, en association à une chimiothérapie par voie injectable (5-fluorouracile). Un autre anticorps, également commercialisé par ROCHE, le trastuzumab (HERCEPTIN[®]), dirigé contre HER2 (récepteur de type 2 du facteur de croissance épidermique humain) est utilisé dans le traitement des cancers du sein métastatique surexprimant HER2. L'inhibition de ce récepteur induit, entre autre, une diminution de la production de VEGF.

Concernant les anticorps dirigés contre les récepteurs VEGF, le CDP 791(UCB/ImCLONE), un anti-VEGFR-2, est actuellement en phase II d'études cliniques, tout comme l'oligonucléotide anti-sens du VEGF : VEGF-AS.

¹⁶ Bein K. ; Simons M. **Thrombospondin Type 1 Repeats Interact with Matrix Metalloproteinase 2.** *J. Bio. Chem.* **2000**, *275*, 32167-32173.

¹⁷ Gupta K. ; Gupta P. ; Wild R. ; Ramakrishnan S. ; Hebbel R. P. **Binding and displacement of vascular growth factor (VEGF) by thrombospondin: effect on human microvascular endothelial cell proliferation and angiogenesis.** *Angiogenesis* **1999**, *3*, 147-158.

¹⁸ Hofsteenge J. ; Huwiler K. G. ; Macek B. ; Hess D. ; Lawler J. ; Mosher D. F. ; Peter-Katalinic J. **C-Mannosylation and O-Fucosylation of the thrombospondin Type 1 Module.** *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 6485-6498.

¹⁹ Doucey M. A. ; Hess D. ; Cacan R. ; Hofsteenge J. **Protein C-Mannosylation is enzyme-catalysed and uses dolichyl-phosphate-mannose as a precursor.** *Mol. Bio. Cell.* **1998**, *9*, 291-300.

²⁰ Milkiewicz M. ; Ispanovic E. ; Doyle J. L. ; Haas T. L. **Regulators of angiogenesis and strategies for their therapeutic manipulation.** *Int. J. Biochem. Cell Bio.* **2006**, *38*, 333-357.

D'autres approches, comme la thérapie génique (visant la régulation des VEGF ou des VEGFR) ou l'injection d'analogues de VEGFR-1 et -2 solubles, permettant de shunter la voie de signalisation, sont également en développement mais n'ont pas encore atteint les études cliniques de phase I.

Au niveau des petites molécules, les inhibiteurs de tyrosine kinase avec en tête l'erlotinib (TARCEVA[®], **Schéma 12**) inhibent de nombreuses enzymes et notamment celles du site catalytique des VEGFR. Bien que cela ne soit pas décrit dans leur mécanisme d'action, les autres inhibiteurs de tyrosine kinase commerciaux, l'imatinib (GLIVEC[®]) et le gefitinib (IRESSA[®]), auraient également montré une activité sur les VEGFR²¹.

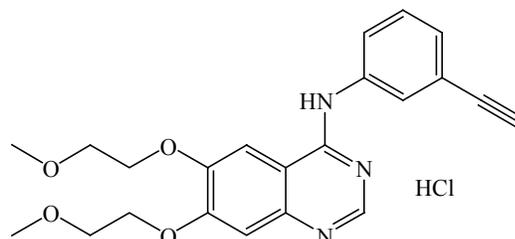


Schéma 12 : Structure chimique de l'erlotinib (TARCEVA[®]).

En décembre 2005, un nouveau médicament a été approuvé par la *Food and Drug Administration* des Etats Unis. Il s'agit du sorafenib (NEXAVAR[®], **Schéma 13**), commercialisé par BAYER. Cette molécule agit en inhibant les récepteurs VEGF-2 et -3.

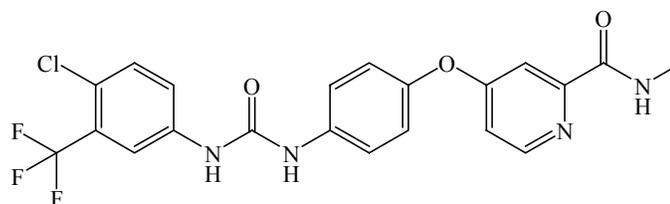


Schéma 13 : Structure chimique du sorafenib (BAY 43-9006).

Comme le montre le **Tableau II**, plusieurs autres molécules, issues des grands laboratoires pharmaceutiques, ont atteint le stade des études cliniques²².

Tableau II : Molécules antiangiogéniques visant les VEGF, actuellement en cours d'essais cliniques.

Nom	Mécanisme d'action	Phase
AZD 2171 (ASTRA-ZENECA)	Inhibe le VEGFR1 et le VEGFR2	III
AZD 6474 (ASTRA-ZENECA)	Inhibe le VEGFR2	III
PTK787/ZK22584 (NOVARTIS)	Inhibe le VEGFR2	III
AEE788 (NOVARTIS)	Inhibe les VEGFR et EGFR	III
AG013736 (AGURIAN/PFIZER)	Inhibiteur mixte des VEGFR et PDGFR	I/II
SU11248 (PFIZER)	Inhibe les VEGFR1, VEGFR2 et VEGFR3	I/II
Atiprimod (AnorMED)	Inhibe la production de VEGF et d'Il-6	I/II

²¹ Legros L. ; Pagés G. **Anti-angiogenic properties of imatinib mesylate.** *Hematol.* **2004**, 6, 464-467.

²² National Cancer Institute
Clinical trials [Consulté le 26/02/2006]
Disponible à partir de : URL :
<http://www.cancer.gov/clinicaltrials>

Comme le montre le **Schéma 14**, l'AZD 6474 et l'AZD 2171 sont deux molécules de structure voisine de l'erlotinib ; les variations portent sur les groupements greffés sur le noyau 4-(phenylamino)quinazoline. Les trois suivants : le PTK787/ZK22584, l'AEE788 et l'AG013736 possèdent, respectivement, des noyaux phthalazine, pyrrolo-pyrimidine et indazole, analogues isostères du noyau quinazoline. SU11248 est un antagoniste compétitif de l'ATP dans les enzymes à tyrosine kinase. A ce jour, le mécanisme d'action de l'atiprimod est toujours inconnu.

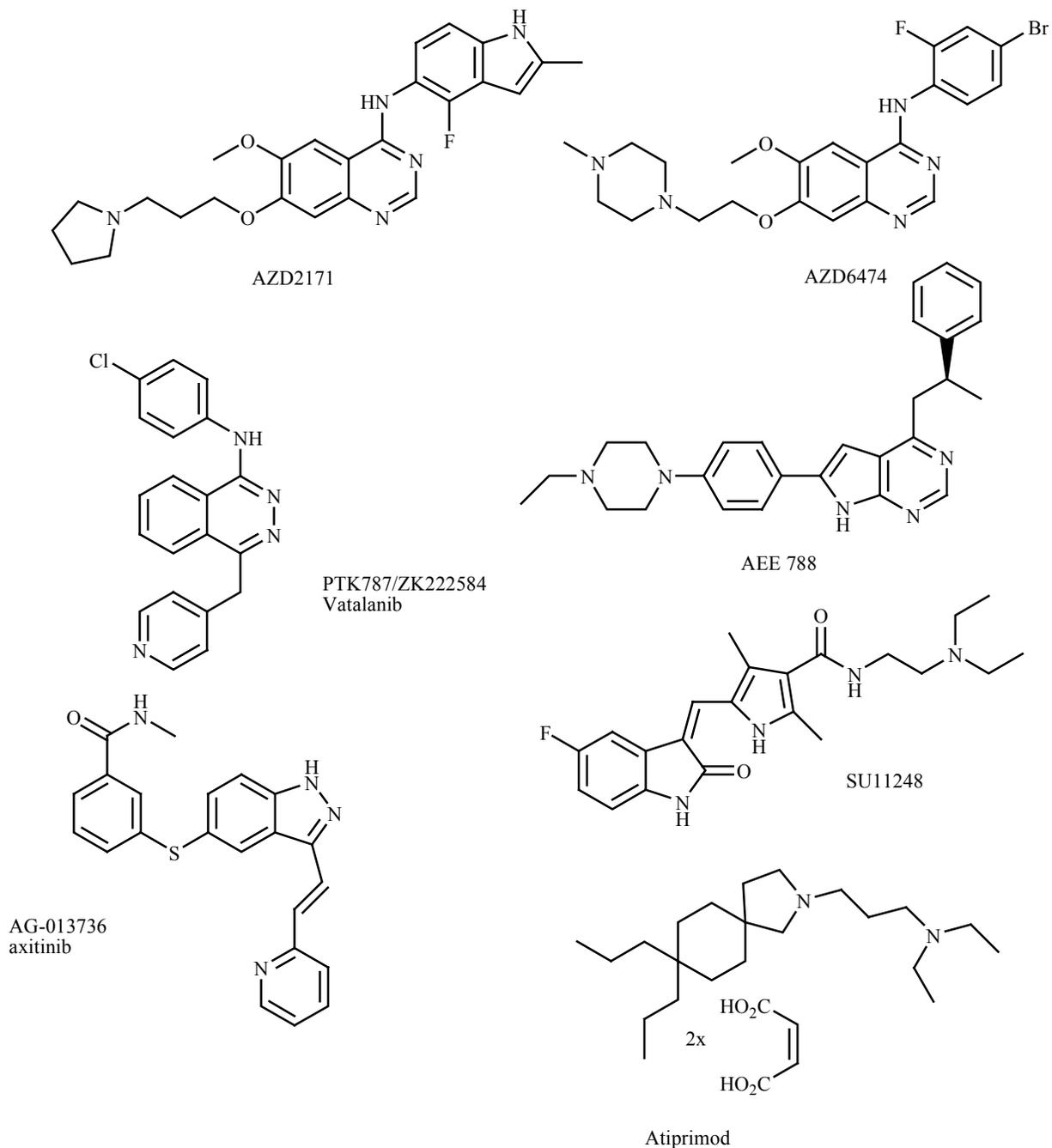


Schéma 14 : Structures chimiques des molécules du **Tableau II**.

2-3-2- Inhibiteur de l'angiogenèse basé sur la thrombospondine.

Une seule molécule est actuellement en phase I d'études cliniques : l'ABT-510²³ ; il s'agit d'un nonapeptide mimant une partie du TSR-1 (GVITRIR) de la thrombospondine. Ce peptide, comme son analogue, l'ABT-526, présente une activité inhibitrice sur plusieurs étapes du processus d'angiogenèse. Les études *in vitro* montrent leurs aptitudes à inhiber la migration cellulaire et la formation de capillaires et à induire l'apoptose des cellules endothéliales²⁴.

3- Conclusions.

L'angiogenèse est au cœur des recherches actuelles dans la lutte contre le cancer. Les travaux de synthèse chimique qui font l'objet de cette thèse visent à produire des molécules anti-angiogéniques, donc potentiellement anti-tumorales. Ils s'inscrivent dans les engagements de notre Unité, dans le cadre du cancéropôle Grand Est.

Ils seront exposés en deux parties.

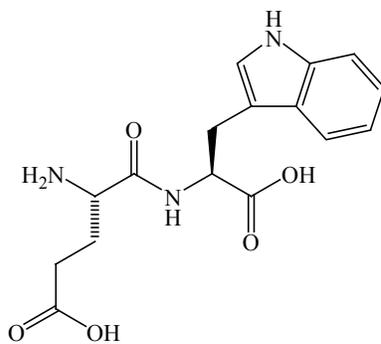
La première, la synthèse d'analogues de l'IM862, s'inscrit dans la lignée des traitements antiangiogéniques. En effet, la molécule originale est parvenue jusqu'en phase III des études cliniques dans le traitement du sarcome de Kaposi.

Cependant, en l'absence de différences significatives d'efficacité de celle-ci *versus* placebo, CYTRAN, la société investigatrice a dû déposer son bilan, abandonnant cette molécule qui avait pourtant montré un fort potentiel.

La seconde consiste à trouver une méthode d'accès simple au C-2 mannosyle tryptophane. Dans ce cas, l'objectif est méthodologique : préparer des peptides incorporant un ou plusieurs mannosyltryptophanes afin que l'équipe du Docteur Georges Bellon (UMR 6198) puisse étudier le rôle de cette mannosylation dans le mécanisme d'action de la thrombospondine. Cette étude pourrait également mener à la synthèse de nouveaux inhibiteurs mimant les TSR-1.

²³ Hoekstra R. ; de Vos F. Y. F. L. ; Eskens F. A. L. M. ; de Vries E. G. E. ; Uges D. R. A. ; Knight R. *et al.* **Phase I study of the thrombospondin-1-mimetic angiogenesis inhibitor ABT-510 with 5-fluorouracil and leucovorin : A safe combination.** *Eur. J. Cancer* **2006**, *42*, 467-472.

²⁴ Haviv F. ; Bradley M.F. ; Kalvin D. M. ; Schneider A. J. ; Davidson D. J. ; Majest S.M. *et al.* **Thrombospondin-1 Mimetic Peptide Inhibitors of Angiogenesis and Tumor Growth: Design, Synthesis, and Optimization of Pharmacokinetics and Biological Activities.** *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 2838-2846.

SYNTHESES D'ANALOGUES DE L'IM862.**1**

1- Historique de l'IM862 :

Le composé IM862 est un dipeptide naturel de composition : L-Glu-L-Trp, également appelé glufanide. Il a été isolé pour la première fois par le Laboratoire PEPTOS, en Russie, qui s'intéressait aux peptides pharmacologiquement actifs. Initialement isolé du thymus de veau, il a été ensuite obtenu par synthèse²⁵.

L'activité immunomodulatrice du composé IM862 a tout d'abord été constatée sur des animaux. La spécialité : Thymogen[®] (version à usage vétérinaire et médicament) a été développée par PEPTOS et est commercialisée en Russie depuis 1990 (10 millions de doses par an). Il s'agit d'un médicament en vente libre, indiqué dans les maladies « en lien avec des déficiences immunitaires... »²⁵.

En 1995, PEPTOS a vendu le brevet de Thymogen[®] à la compagnie américaine CYTRAN, basée près de Seattle. Cette compagnie développait et commercialisait de petits peptides pour le traitement de diverses pathologies, en particulier les cancers. Des études pré-cliniques ayant montré l'activité à la fois immunomodulatrice et antiangiogénique du composé IM862, celui-ci est apparu comme un bon candidat pour le traitement des tumeurs hypervasculaires comme par exemple dans le sarcome de Kaposi.

Dès 1998, CYTRAN, en association avec le *National Cancer Institute*, a réalisé sur cette molécule des études cliniques de phase I et II dans le traitement du sarcome de Kaposi, du cancer de l'ovaire et du colon²². Dans ces études, l'IM862 était utilisé seul ou en association avec des chimiothérapies standards. Ces essais ont notamment permis de constater que l'IM862 présente une très faible toxicité, même à 2000 fois la dose thérapeutique. Les principaux effets secondaires observés sont des maux de tête et de la fatigue. L'autre intérêt notable de ce traitement est qu'il offre l'avantage d'être administré par voie nasale à des doses minimales (5 mg/jour).

Des études cliniques de phase III, dans le traitement du sarcome de Kaposi, ont été réalisées par la même compagnie en 2001. Il s'agissait d'une étude contrôlée contre placebo, où certaines personnes recevaient du composé IM862 seul, à la même dose que lors des essais de phase II, et d'autres une solution de NaCl. L'IM862 n'a malheureusement pas montré une efficacité significativement différente de celle du placebo²⁶. Suite à cet échec, la compagnie CYTRAN, qui avait investi 50 millions de dollars dans cette étude, a été contrainte à cesser son activité. Toutefois, plus récemment, un autre essai clinique de phase II, dans le traitement du cancer métastatique du rein, a été mis en place par l'Unité d'Oncologie Médicale de l'Université d'Oxford²⁷. Cette étude, publiée en 2004, conclut à l'inactivité de l'IM862 utilisé seul mais

²⁵ ALTIKA

Disponible à partir de : URL : [Consulté le 26/02/2006]
<http://www.altika.com/services/IP/GIG%20Patents/pdf/deigin.pdf>

²⁶ Business Wire

Cytran Announces Preliminary Results of Phase III KS Trial [Consulté le 28/02/2006]

Disponible à partir de : URL :
<http://www.aegis.com/news/bw/2001/BW010806.html>

²⁷ Deplanque G. ; Madhusudan S. ; Jone P. H. ; Wellmann S. ; Christodoulos K. ; Talbot D. C. *et al.* **Phase II trial of the antiangiogenic agent IM862 in metastatic renal cell carcinoma.** *Br. J. Cancer* **2004**, *91*, 1645-1650.

confirme bien la diminution du taux de VEGF sous l'effet du dipeptide. Etant donnée sa faible toxicité, des études en association avec des chimiothérapies standards sont recommandées.

2- Mécanisme d'action de l'IM862 :

Le mécanisme d'action du composé IM862 n'est pas encore connu avec exactitude. Que ce soit dans le cas de son utilisation pour ses propriétés immunomodulatrices ou antiangiogéniques, peu d'informations sont disponibles sur les mécanismes d'action. Deux publications russes (dont une rédigée par des chercheurs de PEPTOS), rapportent la faculté de l'IM862 à combattre les déficiences immunitaires induites (soit par des peptides dérivés du VIH²⁸ soit par irradiation²⁹). Concernant son action anti-angiogénique, selon une étude effectuée sur des souris atteintes de cancer, l'utilisation du composé IM862 associée à un traitement par la technique *Photodynamic Therapy* (qui consiste à traiter les tumeurs par un faisceau laser qui pénètre dans les tissus), ferait diminuer le taux de VEGF³⁰. De ce fait, les auteurs en ont déduit que le composé IM862 serait un inhibiteur de la production de VEGF. Dans la publication rapportant les résultats de l'étude de phase II dans le traitement du sarcome de Kaposi, Gill et son équipe mentionnent l'activité *in vitro* de l'IM862 sur le test de la membrane chorioallantoïque de l'œuf (test d'inhibition de la vascularisation de l'embryon de poulet)³¹ et sur les modèles précliniques de mélanome, de sarcome et de cancers du poumon ou hépatique³². Ils concluent à une activité inhibitrice sur la synthèse des VEGF et à une potentialisation des cellules NK.

Le peu d'informations disponibles sur le mécanisme d'action et le site d'action de cette molécule autorise donc la synthèse d'analogues variés. En l'absence d'études de relations structure-activité, il paraît impossible de prédire l'activité potentielle de telle ou telle structure analogue sans effectuer les tests pharmacologiques adéquats.

Nous allons donc présenter les synthèses d'analogues de l'IM862 effectuées au Laboratoire puis les tests biologiques que nous avons réalisés.

²⁸ Morozov V. G. ; Khavinson V. KH. **Natural peptides as therapeutics for immune dysfunction.** *Int. J. Immunopharmac.* **1997**, *19*, 501-505.

²⁹ Deigin V. I. ; Poverenny A. M. ; Semina O.V. ; Semenets T.N. **Reciprocal effect of optical isomerism of EW-dipeptides on immune response.** *Immunol. Let.* **1999**, *67*, 41-46.

³⁰ Ferrario A. ; von Tiehl K. F. ; Rucker N. ; Schwarz M. A. ; Gill P. S. ; Gomer C. J. **Antiangiogenic Treatment Enhances Photodynamic Therapy Responsiveness in a mouse Mammary Carcinoma.** *Cancer Res.* **2000**, *60*, 4066-4069.

³¹ Tulpule A. ; Scadden D. T. ; Espina B. ; Cabriaes S. ; Howard W. ; Shea K. *et al.* **Results of a Randomized Study of IM862 Nasal Solution in the Traitement of AIDS-Related Kaposi's Sarcoma.** *J. Clin. Oncol.* **2000**, *18*, 716-724.

³² Noy A. ; Scadden D. T. ; Lee J. ; Dezube B. J. ; Aboulafia D. ; Tulpule A. *et al.* **Angiogenesis Inhibitor IM862 Is Ineffective Against AIDS-Kaposi's Sarcoma in a Phase III trial, but Demonstrates Sustained, Potent Effect of Highly Active Antiretroviral Therapy: From the AIDS Malignancy Consortium and IM862 Study Team.** *J. Clin. Oncol.* **2004**, *23*, 990-998.

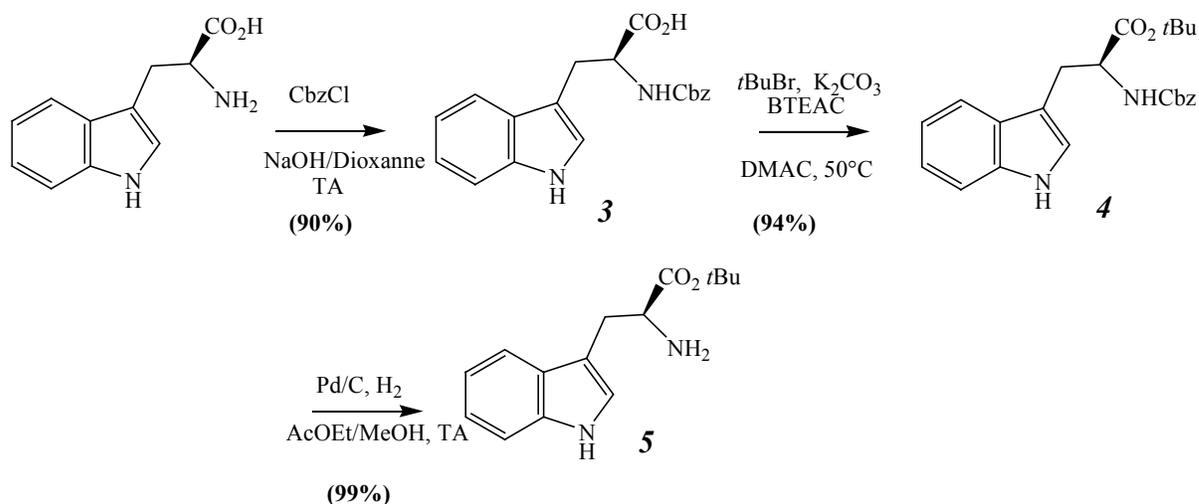
3- Synthèse d'analogues de l'IM862:

Le Laboratoire de Chimie Thérapeutique de la Faculté de Pharmacie de Reims est impliqué dans la chimie du noyau indolique et la préparation de dérivés non naturels du tryptophane. La synthèse de tryptophanes β -substitués mise au point par Laurent Jeannin³³ et développée au Laboratoire³⁴ a permis de produire des peptides modifiés par remplacement des tryptophanes par ces dérivés, pour en faire, par exemple, des antagonistes des récepteurs à cholécystokinine³⁵.

Dans le cadre de ces travaux de thèse, ce sont des analogues de l'IM862 que nous nous sommes proposés de synthétiser et d'évaluer en tant qu'anti-angiogéniques potentiels.

3-1- Synthèse de l'IM862 :

La molécule originale IM862 (**1**) a tout d'abord été préparée par synthèse peptidique en phase liquide. L'obtention des deux partenaires amino-acides protégés s'effectue par une série de protections-déprotections (**Schémas 15 et 16**). Le tryptophanate de *tert*-butyle est ainsi obtenu avec un rendement global de 84%.



Pour la synthèse de l'acide glutamique protégé **9**, le rendement global non optimisé a été de 33%. Lors de la réaction transformant **8** en **9**, il est à noter que le résidu formyle est clivé lors du traitement.

³³ Jeannin L. ; Nagy T. Vassileva E. ; Sapi J. ; Laronze J.-Y. **A general Preparation of β -substituted Tryptophan Esters** *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2057-2058.

³⁴ Nemes C. ; Jeannin L. ; Sapi J. ; Laronze M. ; Seghir H. ; Augé F. ; Laronze J.-Y. **A convenient Synthesis of conformationally Constrained β -substituted Tryptophans.** *Tetrahedron* **2000**, *56*, 5479-5492.

³⁵ Jeannin L. **Préparation de dérivés non naturels du Tryptophane. Utilisation dans la préparation de 1-oxo-1,2,3,4-tétrahydro- β -carbolines et de dérivés peptidiques actifs sur les récepteurs de la cholécystokinine.** Th : Pharm : Reims : **1996**, 209.

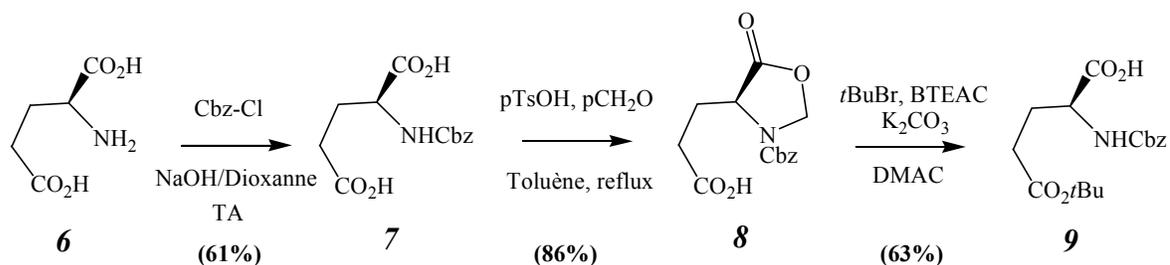


Schéma 16 : Préparation du dérivé protégé de l'acide glutamique 9.

Le couplage peptidique a été réalisé de manière classique, grâce au couple dicyclohexylcarbodiimide - hydroxybenzotriazole (Schéma 17). L'IM862 est ainsi obtenu sous forme protégée **10** avec un bon rendement global.

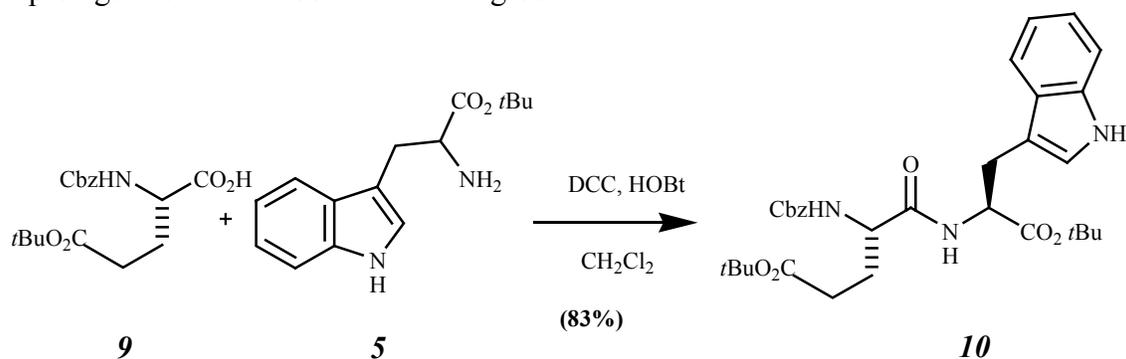


Schéma 17 : Préparation de l'IM862 protégé **10**.

Une double déprotection des groupements ester *tert*-butylique et benzyloxycarbonyle (Schéma 18) permet d'accéder à l'IM862 (**1**).

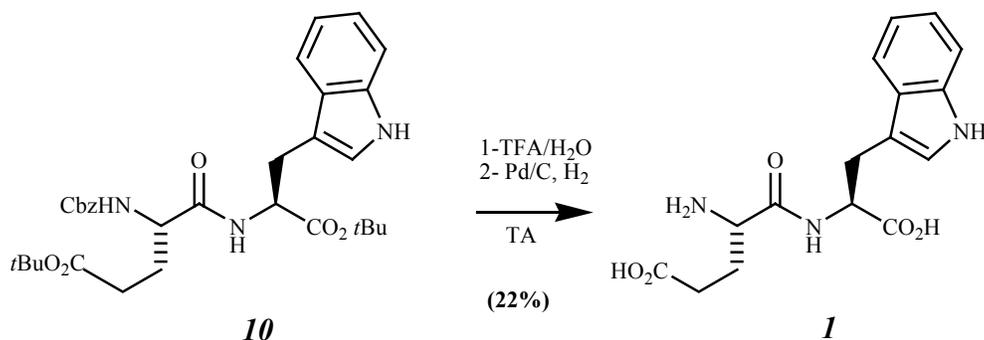


Schéma 18 : Déprotection et obtention de l'IM862 (**1**).

Par la suite, tous les analogues ont été synthétisés à partir de l'acide *N-tert*-butyloxycarbonyl- γ -*tert*-butyl-L-glutamique commercial. Le remplacement du groupement protecteur « Cbz » par un « Boc », permet de simplifier la synthèse et d'améliorer le rendement de la dernière déprotection.

3-2- Synthèses d'analogues portant des tryptophanes β -substitués :

La préparation de ces analogues suit le schéma réactionnel mis au point au Laboratoire (Schéma 19)³⁴ :

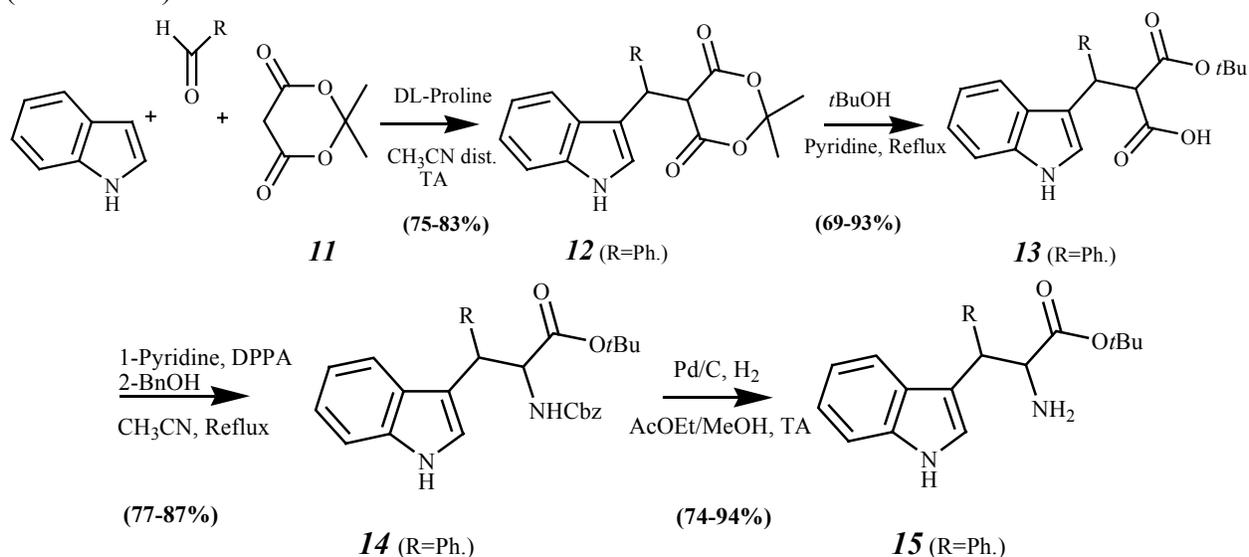


Schéma 19 : Préparation des tryptophanes β -substitués.

Ces synthèses nous conduisent à 4 tryptophanes β -substitués différents. La purification en chromatographie sur silice nous a permis d'isoler certains diastéréoisomères :

- en série phényle (un seul couple d'énantiomères S^*, S^*),
- en série isopropyle (un seul couple d'énantiomères S^*, S^*),
- en série isopentyle (un seul couple d'énantiomères de configuration non déterminée)
- en série cyclohexyle (pas de séparation : 4 isomères).

L'utilisation de chlorure de diméthoxy-triazine-méthylmorpholinium (DMTMM) pour effectuer le couplage peptidique de ces produits avec le dérivé protégé de l'acide glutamique, a conduit à l'obtention des dérivés correspondants avec de très bons rendements (Schéma 20).

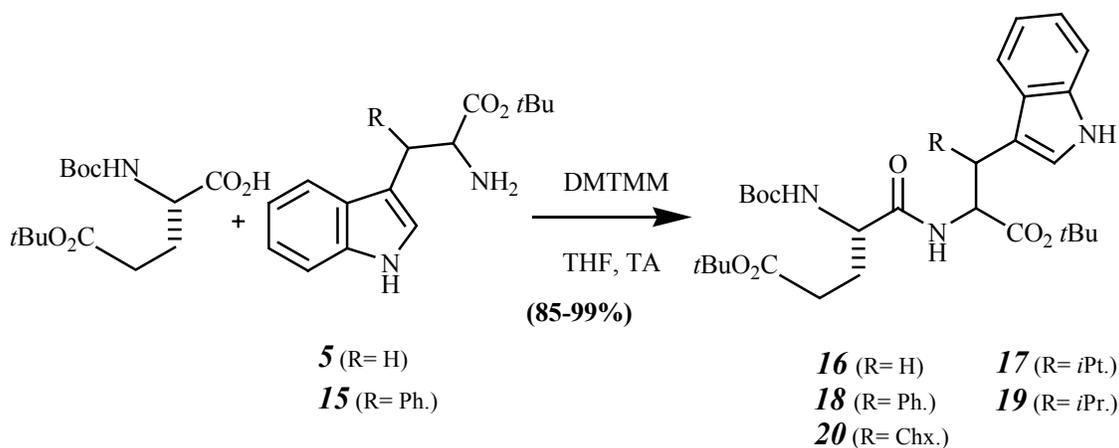


Schéma 20 : Synthèses des dipeptides protégés.

Le **Schéma 21** rappelle le mécanisme réactionnel de couplage utilisant la DMTMM³⁶.

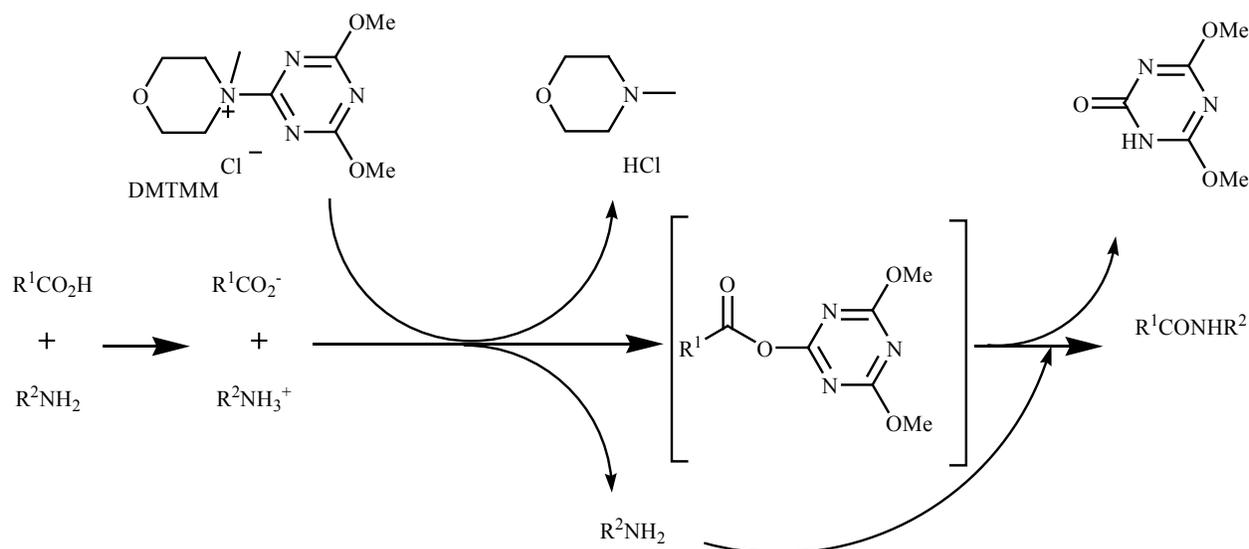


Schéma 21 : Mécanisme d'action de la DMTMM.

Les peptides ainsi obtenus ont été conservés sous leur forme protégée jusqu'à leur utilisation pour les tests biologiques.

3-3- Analogue pyroglutamique :

L'acide pyroglutamique **21** peut être obtenu à partir de l'acide glutamique **6** en milieu aqueux. D'une manière classique, les protéines et les peptides naturels portant un acide glutamique en position N-terminale sont cyclisés sous forme pyroglutamique, comme dans la TRH (*Thyrotropin Releasing Hormone* : pGlu-His-Pro)³⁷ ou la neurotensine (pGlu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu)³⁸. Cette modification enzymatique, catalysée par la pyroglutamyle cyclase³⁹, permet aux peptides de se soustraire à l'action de certaines enzymes (aminopeptidases) et augmente ainsi leur temps de demi-vie.

Il nous a semblé intéressant de faire la synthèse de l'analogue pGlu-Trp. En effet, la synthèse de l'analogue pyroglutamique nous permettrait de vérifier deux hypothèses. La première serait de valider sous quelle forme (cyclique ou non), se trouve le principe actif *in vivo* en comparant l'activité des deux composés. La seconde serait de comparer leur demi-vie respective ; celle de l'IM862 n'excédant pas quelques minutes, un analogue présentant une activité comparable et une demi-vie plus longue pourrait présenter un avantage pharmacologique.

³⁶ Kunishima M. ; Kawachi C. ; Morita J. ; Terao K. ; Iwasaki F. ; Tani S. **4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methyl-morpholinium Chloride: An Efficient Condensing Agent Leading to the Formation of Amides and Esters.** *Tetrahedron* **1999**, *55*, 13159-13170.

³⁷ Pekary A. E. ; Sattin A. ; Meyerhoff J. L. ; Cilingar M. **Valproates modulates TRH receptor, TRH and TRH-like peptide levels in rat brain.** *Peptides* **2004**, *25*, 647-658.

³⁸ Tyler-McMahon B. M. ; Boules M. ; Richelson R. **Neurotensin : peptide of the next millennium.** *Regul. Pept.* **2000**, *93*, 125-136.

³⁹ Schilling S. ; Hoffmann T. ; Manhart S. ; Hoffmann M. ; Demuth H.U. **Glutaminyl cyclases unfold glutamyl cyclase activity under mild acidic conditions.** *FEBS Lett.* **2004**, *563*, 191-196.

Partant du principe que cette modification pouvait avoir lieu en solution aqueuse, nous avons fait quelques tests de cyclisation directement sur le dipeptide **1**. Malheureusement, même en milieu acide fort, aucune cyclisation n'est observée et le peptide se dégrade. Nous avons donc synthétisé le dipeptide suivant un schéma classique (**Schémas 22, 23, 24**) :

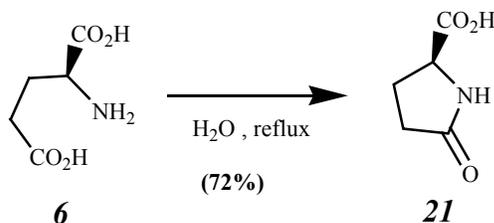


Schéma 22 : Synthèse de l'acide pyroglutamique **21**.

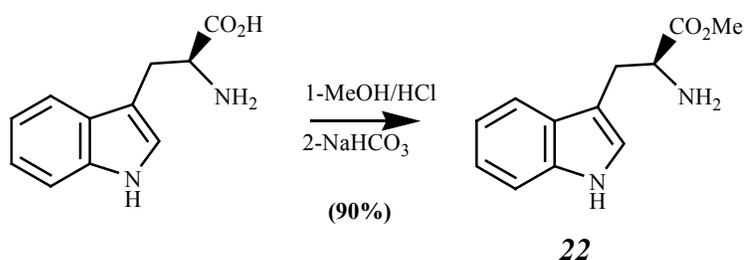


Schéma 23 : Synthèse du tryptophanate de méthyle **22**.

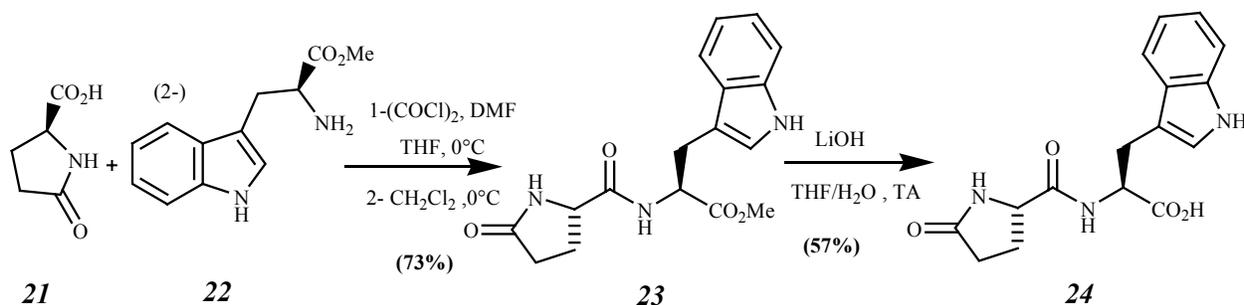


Schéma 24 : Synthèse du dipeptide pGlu-Trp **24**.

Cette approche nous a permis d'obtenir le produit désiré **24** et ainsi d'effectuer les tests biologiques.

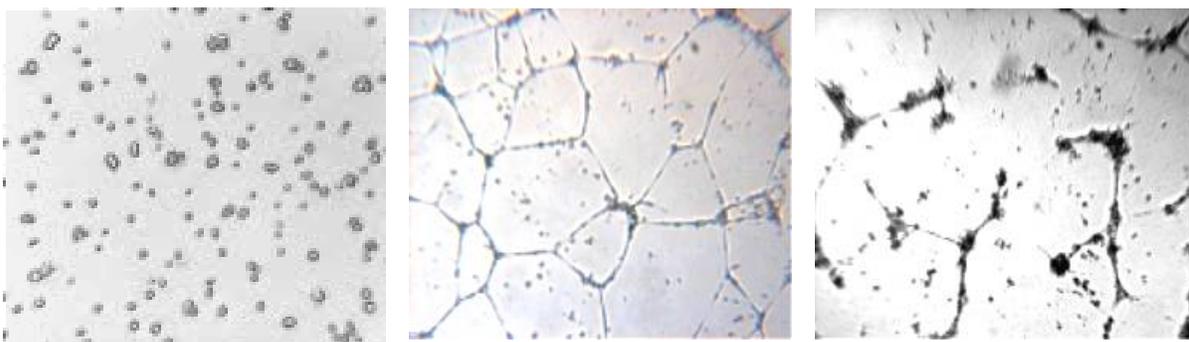
4- Tests biologiques :

Il existe principalement deux tests classiques de l'activité inhibitrice de l'angiogenèse : celui de la membrane chorioallantoïque de l'œuf que nous avons déjà cité, et celui de la formation de structures en pseudo-tubes par les cellules endothéliales cultivées sur un gel épais Matrigel[®]. C'est ce dernier test qui a été réalisé sur nos produits, par le Docteur Momboisse, au sein de l'Unité CNRS UMR 6198 du Professeur Maquart.

4-1- Matériel et méthode⁴⁰ :

Les cellules endothéliales cultivées sur un gel épais Matrigel[®] (équivalent de membrane basale extrait de sarcomes de souris, milieu riche en protéines : collagènes, laminine, sulfate d'héparine et en messagers : bFGF, EGF, TGF β , PDGF...) forment spontanément des structures en pseudo-tubes⁴¹. Ces structures sont comparables à des vaisseaux sanguins non fonctionnels.

Dans des puits de 1 mL, sont déposés 250 μ L d'une solution de Matrigel[®] à 10 mg/mL. La formation du gel de Matrigel[®] est obtenue par incubation de la plaque pendant 30 minutes à 37°C. Une culture de cellules endothéliales est détachée de son support par addition de trypsine. Après neutralisation de la trypsine et centrifugation, les cellules sont remises en suspension dans le milieu EGM (*Endothelial Growth Medium* : sérum contenant notamment les facteurs de croissances b-FGF et des EGF) et amenées à une concentration de 300 000 cellules par millilitre (numérotation cellule de Thomas). Sont alors additionnés au Matrigel[®] 100 μ L de cette suspension de cellules. Après incubation pendant 30 minutes à 37°C, les cellules adhèrent au Matrigel[®], 500 μ L de milieu de culture contenant ou non les molécules à tester y sont alors ajoutés. Après 4 heures, la formation de pseudo-tubes est observée au microscope. Sur le **Schéma 25** : photo **A**, nous pouvons voir les cellules endothéliales à T=0 ; photo **B**, la formation des pseudo-tubes, après 4 heures, en l'absence d'inhibiteurs et sur la photo **C** l'allure des cellules endothéliales après 4 heures en présence d'inhibiteurs.



A

B

C

Schéma 25 : Test d'arrangement en tubes des cellules endothéliales sur Matrigel[®].

4-2- Résultats :

Nous avons donc testé simultanément la molécule originale : l'IM862 (**1**) sous sa forme disodique, l'analogue pyroglutamique (**24**), et nous avons choisi, comme « représentant » des dérivés tryptophanes β -substitués, celui portant un substituant cyclohexyle sous sa forme déprotégée (**25**) et disodée ; la présence des quatre isomères permet de tester les quatre molécules simultanément.

⁴⁰ Robinet A. Régulation de l'expression et/ou de l'activation de la gélatinase A par deux peptides issus de la thrombospondine et de l'élastine : implication dans l'invasion tumorale et l'angiogenèse. Th 3 cycle : Med : Reims : 2003 ; 208.

⁴¹ Vaihle B. ; Vittet D. ; Feige J. J. In vitro models of vasculogenesis and angiogenesis. *Lab. Invest.* **2001** , *81*, 439-452.

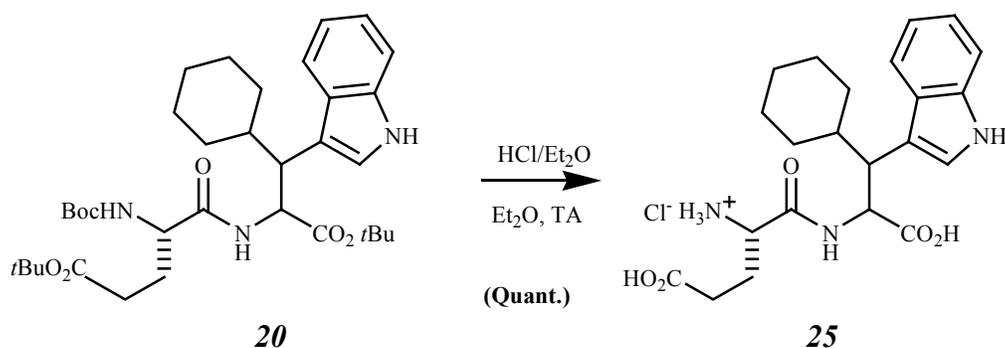


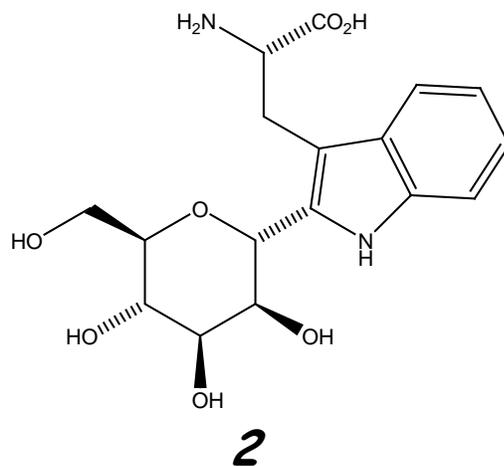
Schéma 25 : Déprotection du dipeptide β -substitué en série cyclohexyle.

Ne possédant que très peu de données sur les tests effectués *in vitro* avec l'IM862, le choix des concentrations a été basé sur les travaux de l'équipe de Semenets²⁹. La faible posologie utilisée *in vivo* dans les essais cliniques nous incitait à utiliser de faibles concentrations. Nous avons donc testé chaque produit à des concentrations de 50, 500 et 5000 nM.

Malheureusement aucune inhibition n'a pu être mise en évidence par ce test, ni de la part de nos molécules ni même pour l'IM862. Nous avons alors conclu qu'en l'absence de données plus précises sur le mécanisme d'action de l'IM862, il serait vain d'effectuer d'autres tests de réactivité générale. Ce projet est donc à l'heure actuelle placé en attente de la découverte du mécanisme d'action de l'IM862 et de la mise au point d'un test plus spécifique nous permettant de quantifier l'activité de nos molécules.

5- Conclusion :

Dans le cadre de ce travail, nous avons effectué la synthèse de l'IM862 et de cinq types d'analogues portant différents substituants en position β du tryptophane. Nous avons également obtenu un dérivé analogue de type pyroglutamique. Ces dérivés sont en attente d'un test biologique adapté.

α -C-2-MANNOPYRANOSYL-TRYPTOPHANE

1- Introduction :

La glycosylation est une des modifications post-traductionnelles des protéines les plus courantes. Ce type de modification est retrouvé aussi bien chez les bactéries que chez les cellules eucaryotes. L'importance des glycoprotéines dans beaucoup de processus biologiques comme le cancer est bien établie⁴². Certaines protéines portent des chaînes osidiques de plusieurs dizaines d'unités d'oses. La complexité de ce type de modification réside principalement dans la liaison glycoside-protéine. La nature de ces liaisons permet de les classer en plusieurs catégories⁴³.

Les protéines *N*-glycosylées sont les premières à avoir été découvertes en 1961 avec la liaison GlcNAc- β -Asn de l'ovalbumine. Depuis, ce type de liaison a été rencontré dans de nombreuses protéines notamment les immunoglobulines, les récepteurs à insuline, les glycoprotéines de surface des cellules thyroïdiennes ou encore le collagène... La liaison *N*-glycosidique ne concerne pourtant pas tous les amino-acides possédant une fonction amine. Comme pour les autres catégories de liaisons, elle ne concerne que certains couples amino-acide/glycoside (**Tableau III**). Les *N*-glycosylations sont principalement retrouvées au niveau de restes asparagine : la glycosylation fait donc intervenir, dans ce cas, un azote non basique (amide).

Tableau III : Liaisons glycoprotéiques connues à ce jour.

Type de liaison	Aminoacide concerné	Glycoside
<i>N</i> -Glycosyle	Asparagine	GlcNAc, GalNAc, Glc, Rha.
	Arginine	Glc.
<i>O</i> -Glycosyle	Sérine	Glc, FucNAc, Xyl, Gal, GlcNAc, GalNAc, Man, Fuc, Pse, DiAcTridH.
	Thréonine	Glc, Gal, GlcNAc, GalNAc, Man, Fuc, Pse, DiAcTridH.
	Tyrosine	Gal, Glc.
	4-Hydroxyproline	GlcNAc, Gal, Ara.
	5-Hydroxylysine	Gal.
<i>P</i> -Glycosyle	Serine	GlcNAc-1- <i>P</i> , Man-1- <i>P</i> , Fuc-1- <i>P</i> , Xyl-1- <i>P</i> .
Glypiation	Position C-terminale	EthN-6- <i>P</i> -Man.
<i>C</i> -Glycosyle	Tryptophane	Man.

La catégorie de liaison la plus répandue est la liaison *O*-glycosidique (**Tableau III**) : cette modification concerne tous les aminoacides hydroxylés, y compris des aminoacides rares tels l'hydroxyproline et l'hydroxylysine qui sont des amino-acides que l'on retrouve principalement dans le collagène. La diversité des protéines concernées par cette modification est aussi importante que pour les liaisons *N*-glycosyle, avec la particularité d'être présente au niveau des protéines structurales du noyau et du cytosquelette, contrairement aux protéines *N*-glycosylées.

La liaison phosphodiester représente une autre catégorie de liaison qui n'a pas, à l'heure actuelle, été retrouvée chez l'homme.

⁴² Fuster M. M. ; Esko J. D. **The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets.** *Nature Rev. Cancer* **2005**, 5, 526-542.

⁴³ Spiro R. G. **Protein glycosylation : nature, distribution, enzymatic formation, and disease implications of glycopeptide bonds.** *Glycobiology* **2002**, 12, 43R-56R.

Une des connexions les plus fréquentes entre les sucres et les protéines est « l'ancre GPI » (*Glycosyl Phosphatidyl Inositol*). Dans cette liaison, un mannose est attaché à une phospho-éthanolamine, elle-même liée à la fonction acide de la partie C-terminale de la protéine. Cette modification est retrouvée sur de nombreuses protéines ayant diverses fonctions comme la catalyse enzymatique ou l'adhésion et cela, dans tous les types de cellules. Toutefois, le rôle de l'ancre GPI, comme pour la plupart des glycosylations, reste inconnue⁴⁴.

La dernière catégorie, de loin la moins répandue, est la liaison C-glycosidique. Elle ne concerne que des tryptophanes liés en 2 à la position anomérique d'un mannopyrannoside et ceci sans extension glycosidique supplémentaire. Ce type de glycosylation a été découvert pour la première fois en 1994 par l'équipe de Hofsteenge⁴⁵ dans la RNase Us humaine. Un an plus tard, la nature du sucre a été identifiée comme étant un α -D-mannopyrannosyle⁴⁶. Depuis, cette modification a été retrouvée sur d'autres protéines humaines (**Tableau IV**) mais aussi animales comme chez certaines ascidies⁴⁷. Il est à noter que dans une large majorité des cas, ces mannosylations s'effectuent sur des segments TSRs (*ThromboSpondin Type-1 Repeats*). Il s'agit d'un segment peptidique répétitif d'environ 60 amino-acides qui est retrouvé dans toutes les thrombospondines mais aussi dans diverses protéines notamment impliquées dans le développement neuronal. Dans une revue relativement récente sur les TSRs⁴⁸, les auteurs émettent l'hypothèse que tous les segments de ce type seraient mannosylés ; toutefois cela n'a pas encore été démontré.

Tableau IV : Protéines humaines portant des tryptophanes C-mannosylés⁴⁹.

Protéine	TSRs	TSR C-glycosylés	Nombre de C-2-ManTrp.
RNase 2 (1994) ⁴⁵	-	-	1
Interleukine 12 (1999)	-	-	1
Complément 6 (1999)	3	3	6
Complément 7	2	2	4
Complément 8 α	2	2	4
Complément 8 β	2	2	4
Complément 9	1	1	2
Properdine (2000)	6	6	14
F-spondine (2000)	5	5	8
Thrombospondine 1 (2001) ⁵⁰	3	3	4
Récepteur à erythropoïétine (2003)	-	-	1
Mucine MUC5AC (2004)	-	-	9
Mucine MUC5B	-	-	7

⁴⁴ Sharom F. J. ; Lehto M. T. **Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins: structure, function, and cleavage by phosphatidylinositol-specific phospholipase C.** *Biochem. Cell. Bio.* **2002**, *80*, 535-549.

⁴⁵ Hofsteenge J. ; Müller D. R. ; de Beer T. ; Löffler A. ; Richter W. J. ; Vliegthart J. **New type of linkage between a carbohydrate and a protein: C-glycosylation of a specific tryptophan residue in human RNase Us.** *Biochem.* **1994**, *33*, 13524-13530.

⁴⁶ de Beer T. ; Vliegthart J. ; Löffler A. ; Hofsteenge J. **The hexopyranosyl residue that is C-glycosidically linked to the side chain of tryptophan-7 in human RNase Us is α -mannopyranose.** *Biochem.* **1995**, *34*, 11785-11789.

⁴⁷ Garcia A. ; Lenis L. A. ; Jiménez C. ; Debitus C. ; Quiñoá E. ; Riguera R. **The Occurrence of the Human Glycoconjugate C2- α -D-Mannopyranosyl-L- tryptophan in Marine Ascidians.** *Org. Lett.* **2000**, *18*, 2765-2767.

⁴⁸ Adams J. C. ; Tucker R. P. **The thrombospondin Type 1 repeats (TSR) Superfamily: Diverse Proteins With Related Roles in Neuronal Development.** *Dev. Dyn.* **2000**, *218*, 280-299.

⁴⁹ Furmanek A. ; Hofsteenge J. **Protein C-mannosylation : Facts and questions.** *Acta Biochim. Pol.* **2000**, *3*, 781-789.

⁵⁰ Hofsteenge J. ; Huwilers K. G. ; Macek B. ; Hess D. ; Lawler J. ; Moshers D. F. *et al.* **C-Mannosylation and O-Fucosylation of the Thrombospondin Type 1 Module.** *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 6485-6498.

En 1998, une équipe franco-suisse démontre que cette modification post-transcriptionnelle est effectuée par une enzyme nommée C-mannosyle transférase et que le précurseur du sucre est le dolichyl-phosphate de mannose¹⁹ (**Schéma 26**).

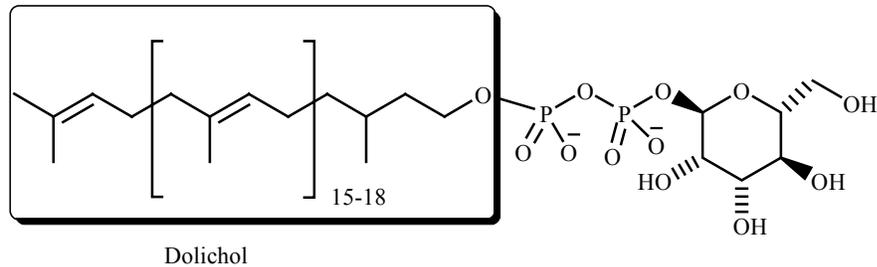


Schéma 26 : Structure du dolichyl-phosphate de mannose⁵¹.

Le dolichyl-phosphate a un rôle de fixation à la membrane du réticulum endoplasmique. Le résidu mannose est fixé à ce polymère hydrophobe transmembranaire par la dolichyl-phosphate mannose synthase qui utilise comme précurseur le GDP-mannose (Guanosine DiPhosphate de mannose), lui-même synthétisé dans le cytosol à partir du mannose. Le dolichyl-phosphate de mannose est également un des précurseurs dans la cascade enzymatique de la N-glycosylation de l'asparagine.

La C-mannosyle transférase est présente dans la plupart des organes des mammifères, mais aussi d'amphibiens, d'oiseaux et chez certains invertébrés. Hofsteenge démontre également que le motif reconnu par cette enzyme est W-X-X-W et que seul le premier tryptophane de cette séquence est mannosylé⁵². Hofsteenge émet alors l'hypothèse que, vu la diversité des cellules pourvues de cette enzyme et le nombre de protéines possédant ce motif (en 2000 : plus de 350 des protéines de mammifères référencées dans Swiss-Prot), cette modification doit être beaucoup plus répandue que ne le laisse imaginer le faible nombre de cas avérés (**Tableau IV**).

A l'heure actuelle, le rôle de ces modifications n'est pas précisément connu, mais elles sont souvent essentielles au fonctionnement des protéines⁴³. L'équipe de Isobe a également montré que ces mannosylés ne sont pas reconnus par les lectines conventionnelles⁵³. Récemment, l'équipe de Ito a montré l'augmentation du taux de C-mannosylation (sans pouvoir déterminer les protéines impliquées) dans certains tissus soumis à une hyperglycémie ; elle conclut à un rôle potentiel de ces modifications dans les complications du diabète⁵⁴.

⁵¹ Jaspard E.

La glycosylation [Consulté le 4/04/2006]

Disponible à partir de : URL :

<http://ead.univ-angers.fr/~jaspard/Page2/COURS/7RelStructFonction/2Biochimie/2ModifPOSTtraduc/8Glycosylation/1Glycosylation.htm>

⁵² Krieg J. ; Hartmann S. ; Vicentini A. ; Gläsner W. ; Hess D. ; Hofsteenge J. **Recognition signal for C-Mannosylation of Trp-7 in RNase Consists of Sequence Trp-X-X-Trp.** *Mol. Biol. Cell* **1998**, *9*, 301-309.

⁵³ Nishikawa T. ; Kajii S. ; Sato C. ; Yasukawa Z. ; Kitajima K. ; Isobe M. **α -C-2-Mannosyltryptophan is not recognized by conventional mannose-binding lectins.** *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 2343-2348.

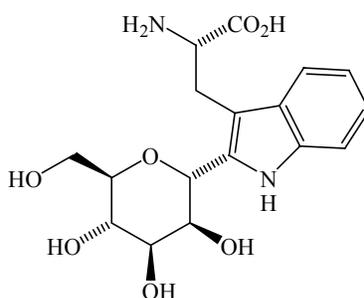
⁵⁴ Ihara Y. ; Manabe S. ; Kanda M. ; Kawano H. ; Nakayama T. ; Sekine I. *et al.* **Increased expression of protein C-mannosylation in the aortic vessels of diabetic Zucker rats.** *Glycobiology* **2005**, *15*, 383-392.

Au-delà du défi synthétique que représente la structure de l' α -C-2-mannopyrannosyle tryptophane, le développement des recherches autour de ce composé en fait un objectif très intéressant pour la compréhension de certains mécanismes biologiques.

2- Synthèses du α -C-2-mannopyrannosyle tryptophane :

2-1- Synthèses publiées dans la littérature :

Peu de temps après la découverte de l'existence de l' α -C-2-mannopyrannosyle tryptophane (**Rappel Schéma 2**), les équipes de Isobe et Ito ont publié des synthèses de ce composé selon deux approches différentes.



Rappel Schéma 2 : α -C-2-mannopyrannosyl-tryptophane (2).

2-1-1- Travaux de Minoru Isobe :

En 1999, l'équipe de Isobe publiait une première synthèse de cette molécule⁵⁵. Celle-ci est basée sur la formation du noyau indolique par une réaction de type Castro (**Schéma 27**). La liaison C-glycosidique est créée dès la première étape par l'addition de triméthyl[(tributylétain)éthynyl] silane au 1-O-acétylmannose. Une réaction de Sonogashira avec de l'iodoaniline permet d'obtenir le précurseur de la réaction de cyclisation de Castro, l'équipe d'Isobe obtient alors un α -C-2-mannopyrannosyl-indole. La chaîne amino-acide est ajoutée *a posteriori* par homologation de l'indole en position 3. L'aldéhyde obtenu subit une réaction de Knoevenagel avec un dérivé de l'aminomalonate pour donner le dérivé déhydro- α,β -amino-acide. Le C-2-mannopyrannosyl-tryptophane est obtenu par hydrogénation de la double liaison.

Le principal inconvénient de cette méthode est qu'elle n'est pas sélective au niveau de la chiralité du centre aminoacide.

⁵⁵ Nishikawa T. ; Ishikawa M. ; Isobe M. **Synthesis of a α -C-Mannosyltryptophan Derivative, Naturally Occurring C-glycosyl Amino Acid Found in Human Ribonuclease.** *Synlett* **1999**, 123-125.

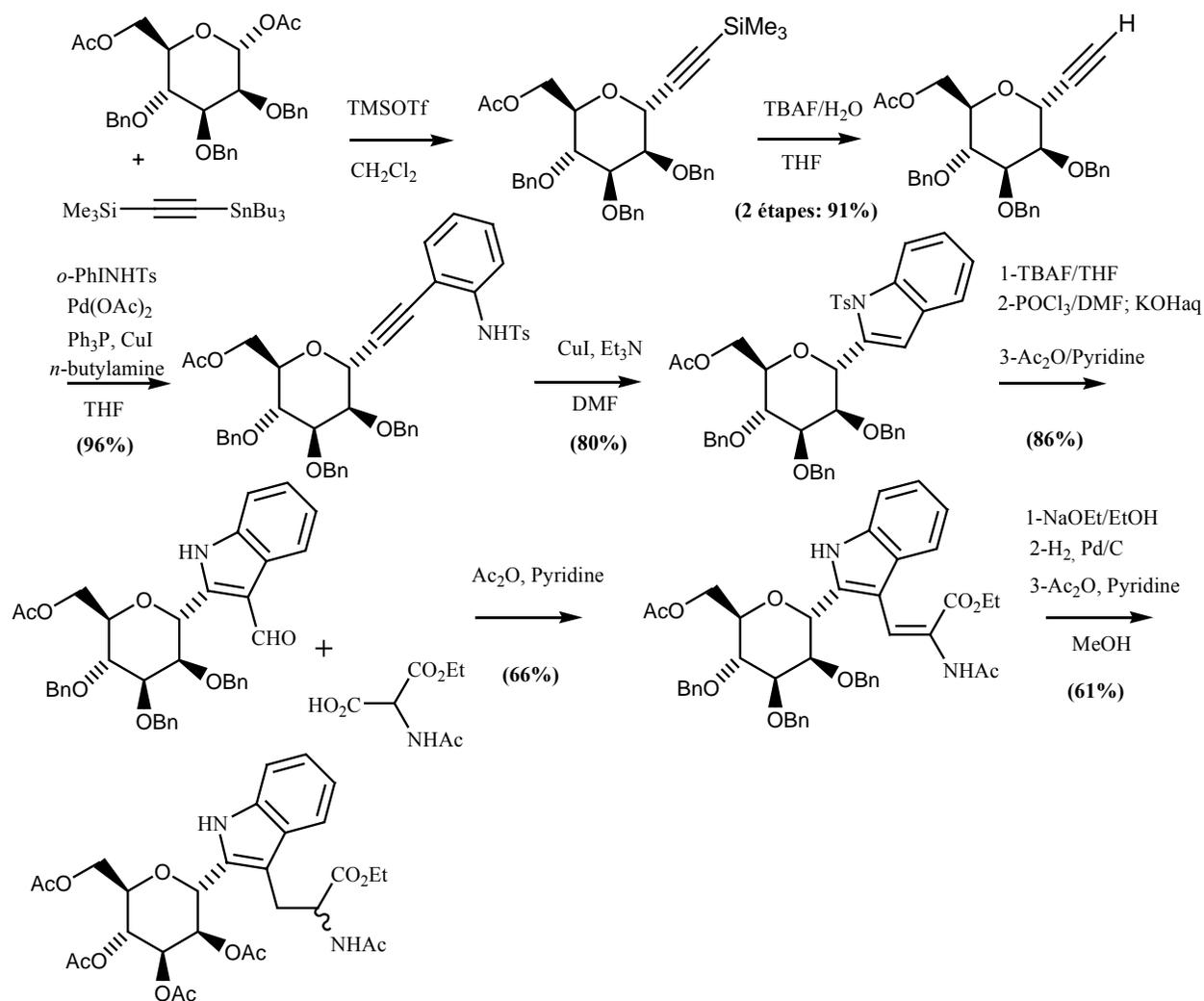


Schéma 27 : Première synthèse par l'équipe de Isobe 1999⁵⁵.

Deux années plus tard, Isobe corrige ce défaut grâce à l'utilisation d'une aziridine chirale (**Schéma 28**) comme précurseur du centre portant la fonction aminoacide⁵⁶. L'utilisation de cette aziridine, synthétisable en quatre étapes à partir de la sérine⁵⁷, permet aux auteurs d'améliorer à la fois le rendement et d'obtenir une sélectivité totale sur la configuration de l'atome de carbone considéré. Toutefois, cette synthèse demeure assez longue si les étapes nécessaires à la synthèse des produits de départ sont prises en compte.

⁵⁶ Nishikawa T. ; Ishikawa M. ; Wada K. ; Isobe M. **Total Synthesis of a α -C-Mannosyltryptophan, a Naturally Occurring C-glycosyl Amino Acid.** *Synlett* 2001, SI, 945-947.

⁵⁷ Kato S. ; Harada H. ; Morie T. **Efficient synthesis of (6R)-6-amino-1-methyl-4-(3-methylbenzyl)-hexahydro-1H-1,4-diazepine from methyl (2R)- and (2S)-1-benzyloxycarbonylaziridine-2-carboxylates.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* 1997, 3219-3225.

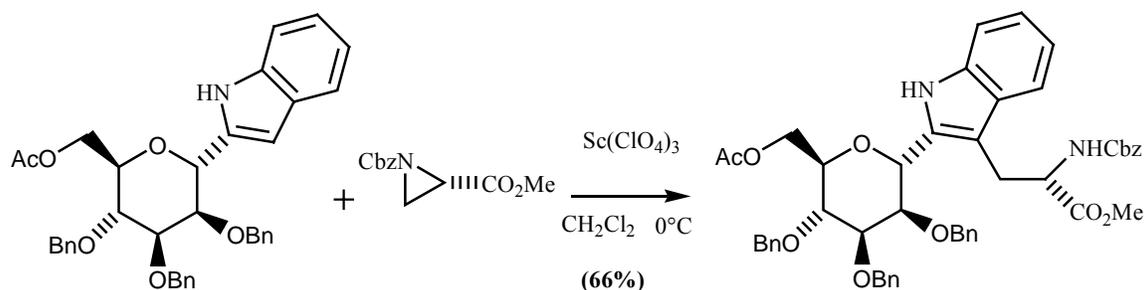


Schéma 28 : Synthèse stéréosélective de Isobe 2001⁵⁷.

En 2005, la même équipe a publié une étude plus générale sur la synthèse d' α -C-2-glycosyle tryptophanes avec des dérivés mannosylés, galactosylés et glucosylés. Elle montre l'impact des groupements protecteurs sur le rendement des synthèses précédemment décrites. Curieusement, le rendement de la condensation de Knoevenagel décrite dans le **Schéma 27** passe de 66% dans la publication originale à 49%. Isobe y expose une étude particulièrement intéressante sur les conformations des C-glycosyles α et β diversement substitués⁵⁸ (*vide infra* page 66).

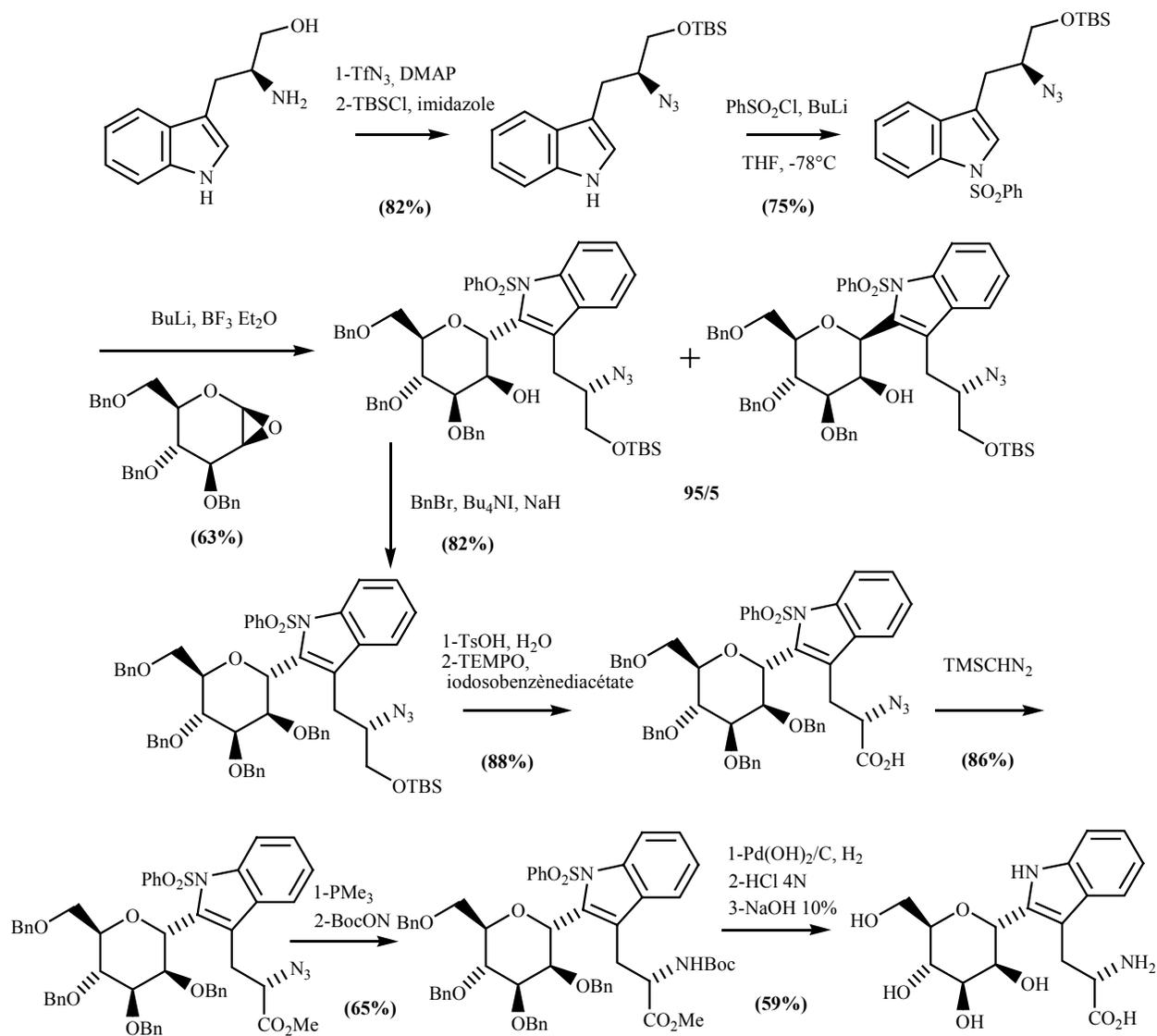
2-1-2- Travaux de Yukishige Ito :

La seconde équipe à avoir publié une synthèse du mannosyltryptophane est également japonaise : il s'agit de celle du Professeur Ito. Leur approche est plus directe ; elle repose sur la réaction d'un dérivé d'indole lithié en position 2 avec un époxyde de mannose à l'aide d'éthérate de trifluorure de bore (**Schéma 29**)⁵⁹. Les auteurs ont testé ce couplage sur divers indoles *N*-protégés par un groupement soit *tert*-butyloxycarbonyle soit benzènesulfonyle et différemment substitués en position 3, afin de déterminer le précurseur adéquat pour obtenir une synthèse énantiosélective. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec un dérivé azide du tryptophanol protégé ; les rendements n'excèdent toutefois pas 63%. Après cette étape clef, les étapes d'oxydation de l'alcool en acide et de réduction d'azide en amine permettent l'obtention du composé attendu.

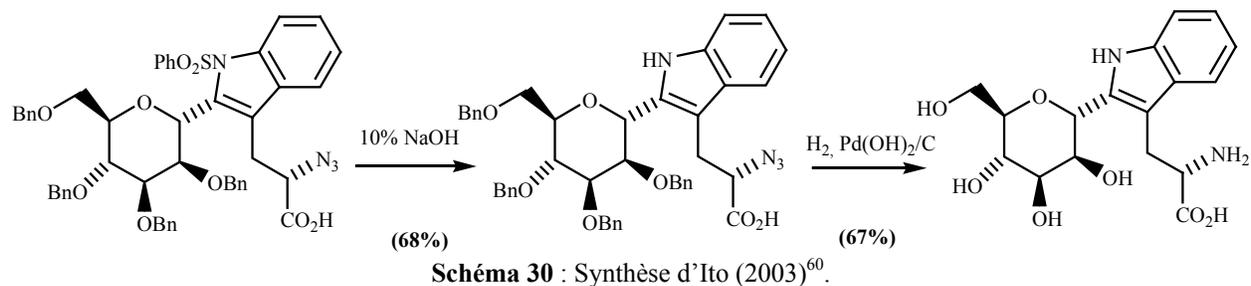
Cette synthèse comporte plusieurs points faibles : premièrement, les matières premières nécessitent un important travail de préparation, notamment l'époxyde. D'autre part, trois des réactions utilisées ont un rendement inférieur à 65%. Enfin, l'emploi de NaOH 10% pour cliver la protection benzylsulfonyle nous semble, d'expérience, plus que hasardeuse quant à la conservation de la chiralité du centre portant la fonction amino-acide.

⁵⁸ Nishikawa T. ; Koide Y. ; Kajii S. ; Ishikawa M. ; Isobe M. **Stereocontrolled syntheses of a α -C-Mannosyltryptophan and its analogues.** *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 687-700.

⁵⁹ Manabe S. ; Ito Y. **Total Synthesis of Novel Subclass of Glyco-amino Acid Structure Motif: C²- α -D-C-Mannosylpyranosyl-L-tryptophan.** *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 9754-9755.

Schéma 29 : Synthèse d'Ito (1999)⁵⁹.

En 2003, Ito publie de nouveau cette synthèse en simplifiant et en améliorant le rendement des dernières étapes (Schéma 30)⁶⁰. Après l'oxydation de l'alcool en acide, la protection sulfonyle est clivée directement et l'hydrogénation catalytique des groupements benzyliques permet l'obtention du C-2-mannosyltryptophane en deux étapes au lieu de six.

Schéma 30 : Synthèse d'Ito (2003)⁶⁰.

⁶⁰ Manabe S. ; Marui Y. ; Ito Y. Total Synthesis of Mannosyl Tryptophan and Its Derivatives. *Chem. Eur. J.* 2003, 9, 1435-1447.

Cette synthèse est la seule basée sur la glycosylation directe de la position 2 du noyau indolique, voie que nous avons explorée sans succès (*vide infra* chapitre 2-4-).

2-2- Objectifs :

En septembre 2002, au début de cette thèse, il avait été décidé de privilégier une voie de synthèse basée sur la glycosylation de la position 2 de l'indole d'un tryptophane convenablement protégé. L'objectif était de conserver la chiralité du tryptophane et, si possible, de trouver des conditions compatibles avec une glycosylation du tryptophane incorporé dans un peptide ou tout au moins protégé par des groupements permettant son incorporation rapide à un peptide (Fmoc, Boc, Cbz...) : c'est ce qui sera appelé par la suite « voie directe » (Schéma 31).

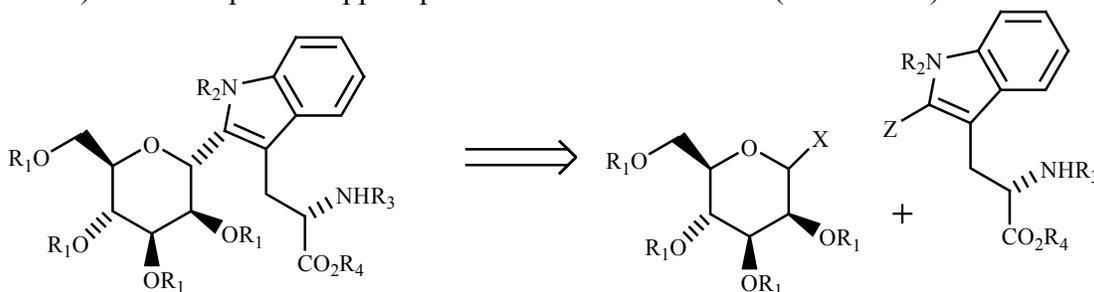


Schéma 31 : Rétrosynthèse de la voie directe (Chapitre 2-4-).

Cette voie nécessite plusieurs conditions : tout d'abord, l'utilisation de groupements protecteurs (R_1 , R_2 , R_3 et R_4) clivables par des réactifs n'entraînant pas la racémisation du centre chiral du tryptophane. En ce qui concerne les groupements protecteurs du sucre (R_1), ils doivent être orthogonaux pour le moins avec R_3 et R_4 . Cette voie nécessite également l'utilisation de systèmes d'activation X et Z, respectivement des positions anomérique du sucre et 2 de l'indole, permettant de réaliser la connexion sans utiliser de réactifs organométalliques durs (qui réagiraient avec les carbonyles). Les différentes tentatives et leurs résultats seront détaillés dans le chapitre 2-4-.

Les résultats obtenus avec cette première voie nous ont conduits à en explorer deux autres, plus originales. La première est basée sur le clivage sélectif de la liaison C_1-N_2 d'une β -carboline (chapitre 2-5- Voie de la réaction de Pictet et Spengler) ; la rétrosynthèse est présentée sur le Schéma 32.

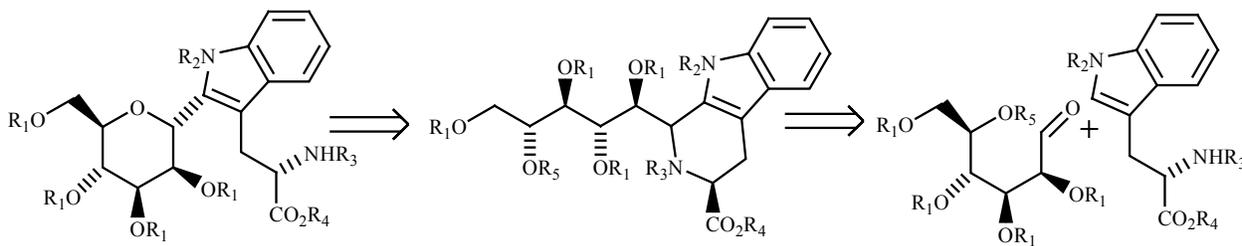


Schéma 32 : Rétrosynthèse proposée pour la voie de type Pictet Spengler (Chapitre 2-5-).

Nous pensons qu'il s'agit de la voie choisie par la Nature, en effet cette réaction est très classique dans les biosynthèses du règne végétal, notamment dans celles des alcaloïdes.

La seconde voie envisagée, basée sur la réaction de McMurry, n'est pas biogénétique, bien qu'elle utilise des kynurénines, qui sont les métabolites du tryptophane et de ses dérivés⁶¹. Dans cette voie, dont la rétrosynthèse est présentée sur le **Schéma 33**, l'atome de carbone 2 du noyau indole est perdu dans une réaction d'ozonolyse du tryptophane : il est apporté par homologie du mannose.

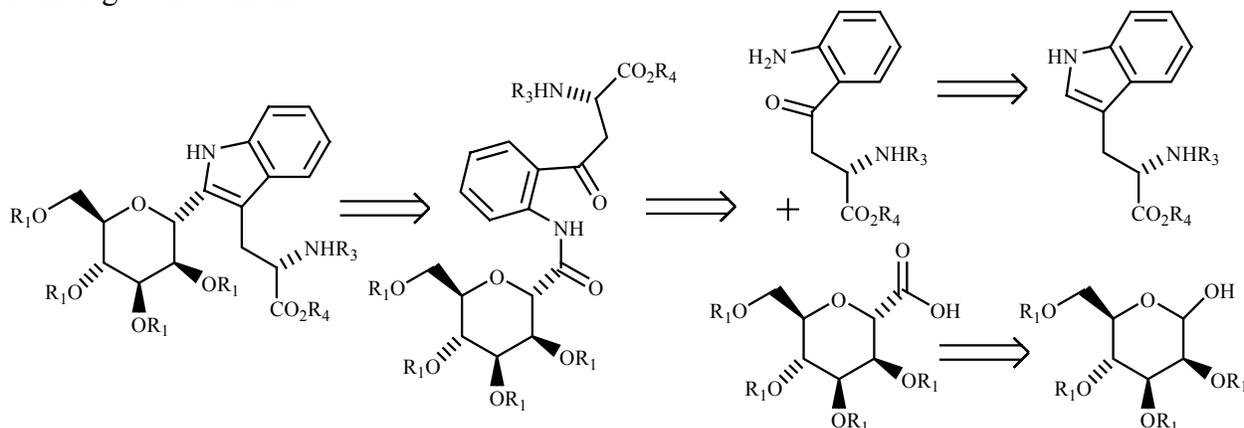


Schéma 33 : Rétrosynthèse proposée pour la voie de type McMurry (**Chapitre 2-6**).

Cette dernière voie a été la plus productive, elle sera décrite dans le chapitre **2-6-Voie de la réaction de McMurry**.

Avant d'aborder la description de ces différentes approches, nous relaterons dans le chapitre **2-3**- une voie que nous avons envisagée, basée sur une synthèse *de novo* du tryptophane selon une réaction de Larock.

2-3- Voie de synthèse de type Larock :

Dans notre objectif d'utiliser la chiralité de l'acide-amino, la rétrosynthèse présentée dans le **Schéma 34**, basée sur les travaux de Larock⁶², a été envisagée. Dans cette voie de synthèse, l'acide aspartique est utilisé comme précurseur du tryptophane.

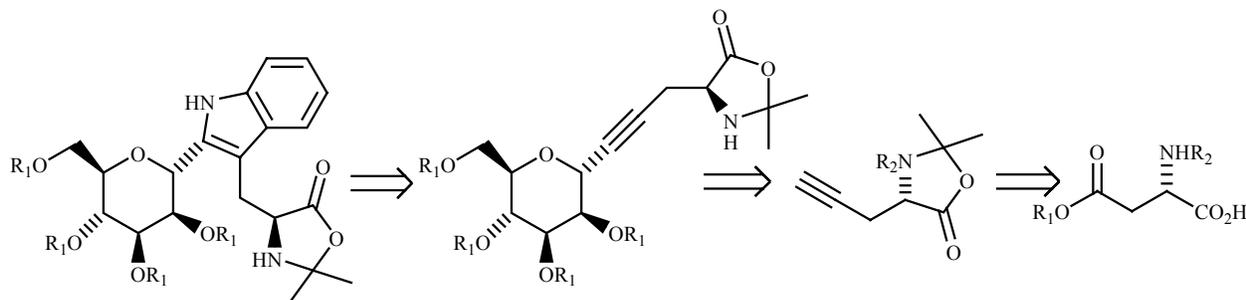


Schéma 34 : Voie de synthèse type Larock envisagée.

⁶¹ Moroni F. **Tryptophan metabolism and brain function: focus on kynurénine and other indole metabolites.** *Eur. J. Pharmacol.* **1999**, 375, 87-100.

⁶² Larock R. C. **Palladium-catalysed annulation.** *J. Organomet. Chem.* **1999**, 576, 111-124.

En fait, cette approche n'a donné lieu à aucun travail de paillasse. En effet, fin 2002, l'équipe de Minoru Isobe publie les résultats obtenus avec une stratégie voisine⁶³ (**Schéma 35**). En adoptant un début de synthèse équivalent à celui de la publication de 1999 (voir **Schéma 27**), les auteurs obtiennent un sucre acétylénique qu'ils couplent à une chaîne amino-acide par l'intermédiaire d'un organo-zincique. Une cyclisation de type Larock avec une orthoiodoaniline protégée aurait dû conduire à l' α -C-2-mannosyl-tryptophane attendu. En fait, Isobe obtient un couplage en sens inverse, en contradiction avec ce qui est connu de la régiosélectivité de cette réaction⁶⁴.

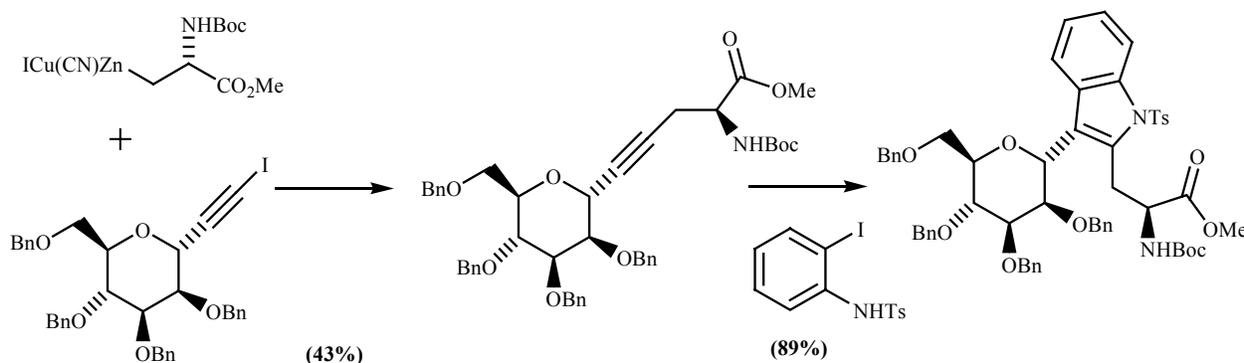


Schéma 35 : Application de la réaction de Larock dans la synthèse du C-mannosyl-iso-tryptophane par Isobe⁶³.

En effet, l'intermédiaire arylpalladium est réputé s'additionner sur l'atome de carbone le moins encombré de l'acétylénique. L'obtention par Isobe du seul régioisomère (iso-tryptophane) nous a fait renoncer à la voie de synthèse de type Larock.

2-4- La voie directe :

La faible réactivité intrinsèque de la position 2 du noyau indolique nécessite généralement une activation de celle-ci par l'introduction d'un métal. Néanmoins, nous avons voulu tester, en l'absence de tout réactif d'activation de la position 2, une éventuelle réaction entre différentes formes activées de mannose : dérivés acétylé **26**, chloré **27** et bromé **28**. La préparation de ces dérivés est effectuée de manière classique et permet l'obtention des dérivés souhaités avec d'excellents rendements (**Schéma 36**).

⁶³ Nishikawa T. ; Wada K. ; Isobe M. **Synthesis of Novel α -C-Glycosylamino Acids and reverse Regioselectivity in Larock's Heteroannulation for the Synthesis of the Indole Nucleus.** *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2002**, *66*, 2273-2278.

⁶⁴ Larock R. C. ; Yum E. K. ; Refik M.D. **Synthesis of 2,3-disubstitued indole via palladium-catalysed annulation of internal alkynes.** *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7652-7662.

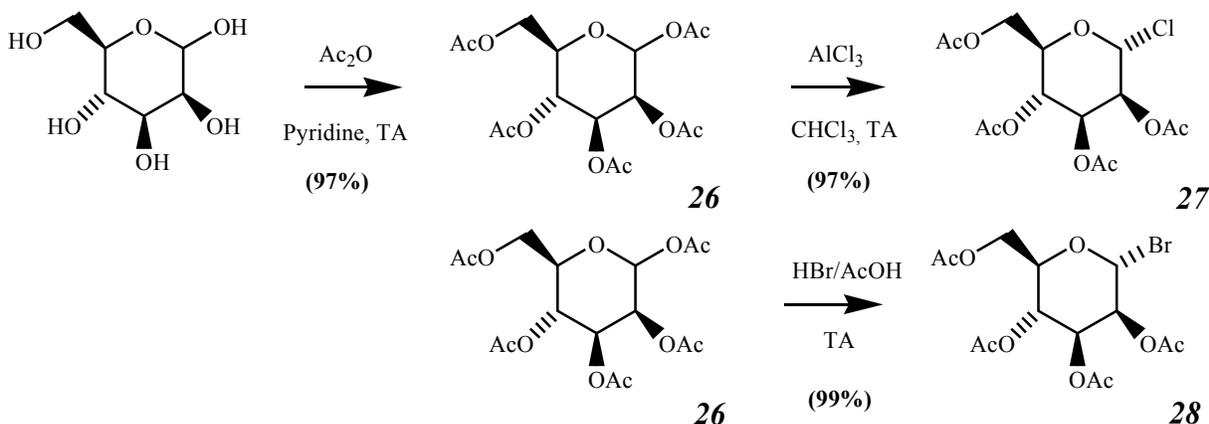


Schéma 36 : Préparation des mannoses acétylés et halogénés.

Dans tous les cas, nous avons activé l'électrophile à l'aide d'un acide de Lewis. Une étude bibliographique nous montre que ce type de couplage est réalisable sur le penta-*O*-acétyl mannose, au moins avec des nucléophiles simples comme le cyanure triméthylsilylé⁶⁵ ou le triméthylallylsilylé⁶⁶. Si nous étendons la recherche à d'autres pyranosides, il apparaît que plusieurs équipes sont parvenues à effectuer des couplages de résidus glycosyle peracétylés avec des noyaux aromatiques à l'aide d'acides de Lewis. Quelques exemples sont représentés sur le Schéma 37^{67,68}.

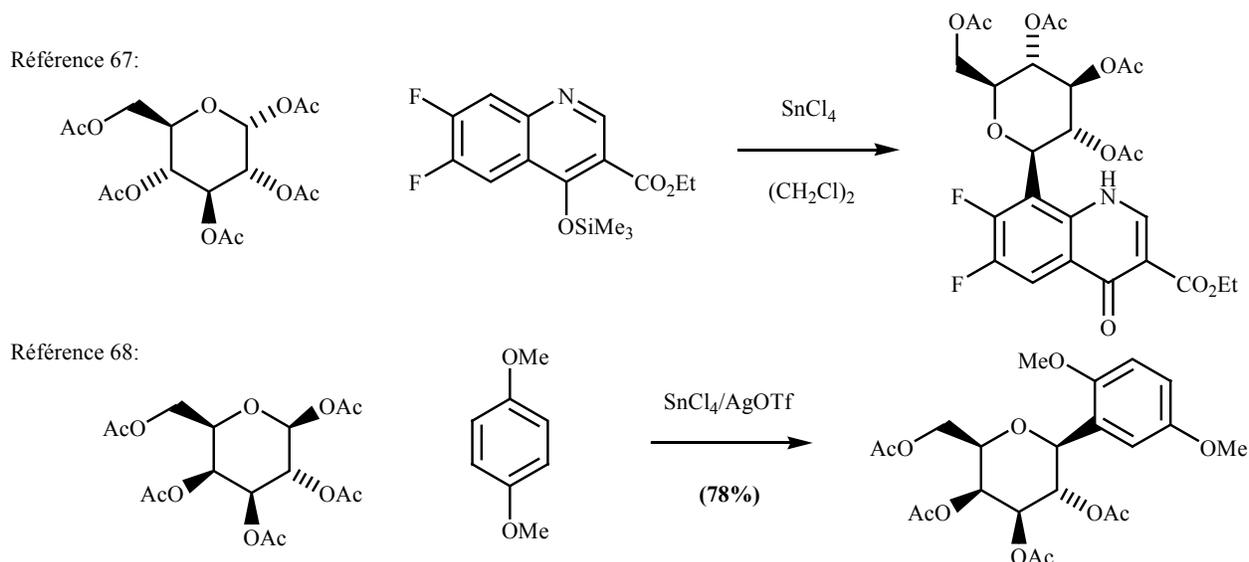


Schéma 37 : Exemples de synthèses de *C*-glycosides à partir de sucres peracétylés^{67,68}.

⁶⁵ Myers R. W. ; Lee Y. C. **Improved preparations of some per-*O*-acetylated aldohexopyranosyl cyanides.** *Carbohydrate Res.* **1986**, *154*, 145-163.

⁶⁶ McDevitt P. ; Lansbury P. T. J. **Glycosamino Acids: New Building Blocks for Combinatorial Synthesis.** *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 3818-3828.

⁶⁷ Tolstikov G. A. ; Mustafin G. A. ; Yghibaeva G. K. ; Gataullin R.R. ; Spiriklin L.V. ; Sultanova V.S. et al. ***N*- and *C*-Glycosylation of 6,7-Difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline Carboxylic Acid Ethyl Ester.** *Mendeleev Com.* **1993**, *3*, 194.

⁶⁸ Takeshi K. ; Sayako G. ; Yumiko M. ; Masayuki S. ; Ito K. ; Satoh S. **Bis *C*-Glycosylated Diphenylmethanes for stable Glycopeptide Mimetics.** *Synlett* **1999**, 737-740

Les essais que nous avons effectués pour réaliser ce type de couplage sont présentés dans le **Tableau V**. Ils ne nous ont malheureusement jamais permis d'isoler un produit de couplage des deux produits de départ. Suivant les conditions utilisées, soit le mannose protégé, soit le dérivé de l'indole s'est dégradé.

Tableau V : Conditions des tentatives de couplages directs.

Indole de départ	Mannose de départ	Réactif(s)	Conditions	Résultat
1,3 diméthyl indole	26	SnCl ₄	CH ₂ Cl ₂ , TA	Destruction
4 (N-Cbz -Trp-O- <i>t</i> Bu)	26	TiCl ₄	CH ₂ Cl ₂ , TA	Déprotection (<i>t</i> Bu)
4 (N-Cbz -Trp-O- <i>t</i> Bu)	26	TiCl ₄	CH ₂ Cl ₂ , 0°C → reflux	Destruction
3 (Trp-N-Cbz)	26	TiCl ₄	CH ₂ Cl ₂ , TA	Pas de réaction

De nombreuses réactions de couplages radicalaires avec des bromures de tétra-*O*-acétyl-glycosyles, à l'aide d'hydruure de tributylétain en présence d'azo-bis-isobutyronitrile, sont également décrites dans la littérature⁶⁹. Malgré les médiocres rendements généralement observés, nous avons effectué un essai de ce type (**Tableau VI**). La dernière entrée de ce tableau correspond à l'adaptation d'une réaction de substitution de l'indole en position 2 décrite par Sleiter⁷⁰ (**Schéma 38**) utilisée avec succès au Laboratoire. Malheureusement, ces réactions radicalaires n'ont pas donné plus de résultats que les tentatives de couplage précédentes.

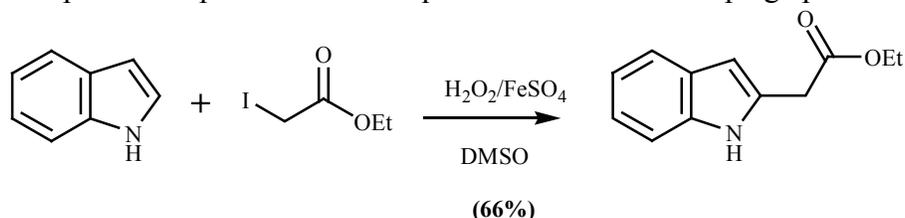


Schéma 38 : Réaction d'insertion radicalaire en position 2 de l'indole par Sleiter⁷⁰.

Tableau VI : Conditions des tentatives de couplages radicalaires.

Indole de départ	Mannose de départ	Réactif(s)	Conditions	Résultat
Indole	28	SnBu ₃ H, AIBN	Toluène, TA	Pas de réaction
Indole	28 , NaI, Acétone	FeSO ₄ , H ₂ O ₂	DMSO, TA	Pas de réaction

Suite à ces observations, nous avons cherché une stratégie afin de rendre la position 2 de l'indole plus réactive en introduisant un métal sur cette position. Lorsque l'azote est substitué par un groupement attracteur d'électrons, c'est la position 2 qui porte le proton le plus acide. Ce proton peut alors être remplacé par un métal. Toutefois, nous devons garder à l'esprit que cette activation devait être compatible avec des carbonyles d'ester.

La synthèse des indoles protégés (**Schéma 39**), effectuée de manière classique, permet l'obtention des dérivés souhaités avec d'excellents rendements.

⁶⁹ Yim A. M. ; Vidal Y. ; Viallefont P. ; Martinez J. **Diastereoselective radical addition to dehydroalanine derivatives of pantolactone**. *Tetrahedron: Asym.* **2002**, *13*, 503-510.

⁷⁰ Baciocchi E. ; Muraglia E. ; Sleiter G. **Homolytic Substitution Reactions of Electron-Rich Pentatomic Heteroatoms by Electrophilic Carbon-Centered Radicals. Synthesis of α -Heteroarylacetic Acids**. *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 6817-6820.

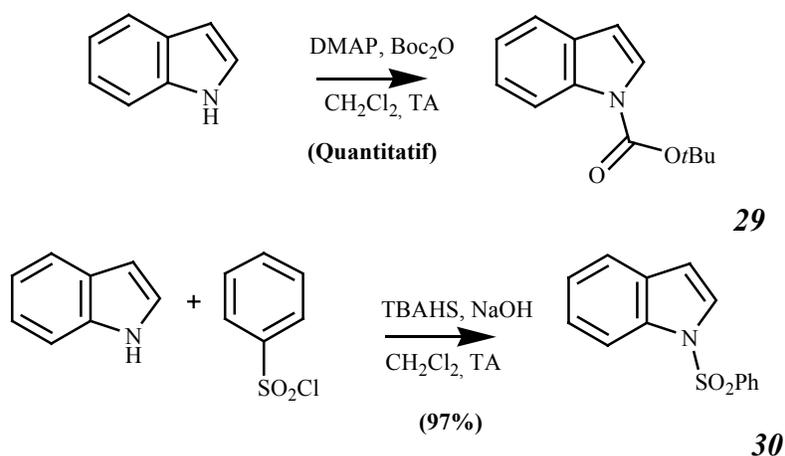


Schéma 39 : Réactions de protection de l'atome d'azote indolique.

Nos premiers essais se rapprochent de la stratégie employée par Ito qui couple un dérivé de l'indole avec un époxyde du mannose. Nous avons tenté de faire réagir un indole lithié en position 2 à l'aide de LDA (Lithium DiisopropylAmidure) avec un sucre acétylé en présence d'acide de Lewis (**Tableau VII**).

Tableau VII : Conditions des tentatives de couplages directs de l'indole lithié.

Indole de départ	Mannose de départ	Réactif(s)	Conditions	Résultat
29	28	LDA	THF -70°C \rightarrow TA	Pas de réaction
29	26	LDA, TiCl_4	THF -70°C \rightarrow TA	Déprotection (Boc)
29	26 , TiCl_4	LDA	THF 0°C , reflux	Déprotection (Boc)

Le choix de l'utilisation de dérivés silylés nous a alors paru plus adéquat. En effet, d'après les travaux de Gribble⁷¹ (**Schéma 40**), un indole silylé peut réagir avec un équivalent d'acylium dans une réaction de type Friedel et Crafts. Il aurait donc pu être couplé avec l'oxonium provenant d'un des dérivés activés du mannose. L'introduction du silicium sur une double liaison permet à la fois de localiser le carbone qui va réagir avec l'électrophile (ici l'oxonium du mannose) et de stabiliser transitoirement la charge sur le carbone α , permettant ainsi l'élimination du groupement triméthylsilyle dans de bonnes conditions de régiosélectivité.

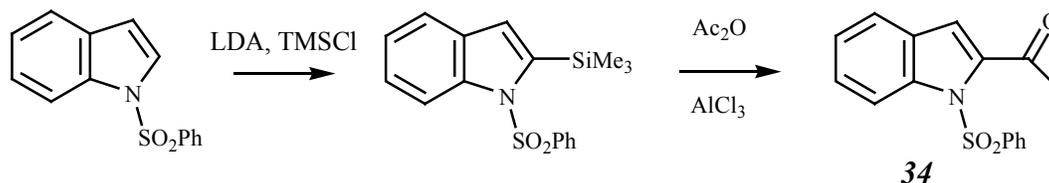


Schéma 40 : Travaux de Gribble⁷¹.

La réactivité des indoles 2-silylés a récemment fait l'objet d'utilisation en synthèse⁷². L'équipe de Sui prépare ainsi une grande variété de tétrahydropyrano[3,4-b]indoles à partir de 2-triméthylsilyltryptophanol et de cétones diversement substituées. Les réactions sont catalysées

⁷¹ Ketcha D. M. ; Lieurance B.A. ; Homan D. F. J. ; Gribble G. W. **Synthesis of Alkyl-Substitued N-Protected Indoles via Acylation and Reductive Deoxygenation**. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4350-4356.

⁷² Zhang X. ; Li X. ; Lanter J. C. ; Sui Z. **Silicon-Directed Oxa-Pictet-Spengler Cyclization and an Unusual Dimerization of 2-Trimethylsilylanyl Tryptophols**. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2043-2046.

avec de l'éthérate de trifluorure de bore ou de l'acide trifluoroacétique et présentent généralement de bons rendements.

Nous avons donc réalisé les réactions de silylation en position 2 de l'indole (**Schéma 41**).

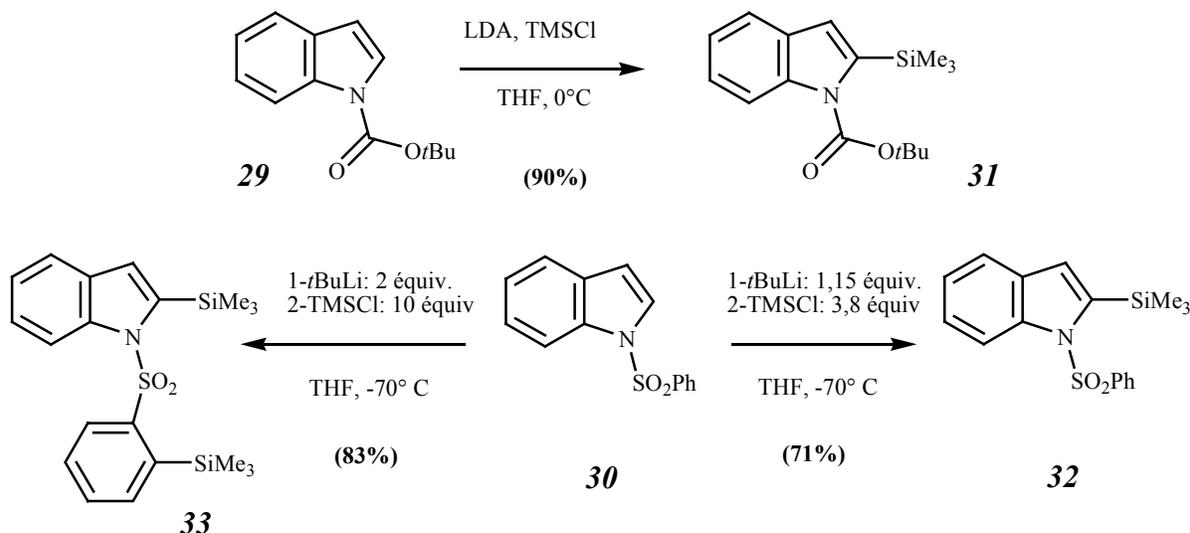


Schéma 41 : Réactions de silylation de la position 2 de l'indole.

Les réactions de silylation se sont avérées assez simples ; celle du *tert*-butyloxycarbonylindole peut même être réalisée à 0°C. Dans le cas de l'indole benzylsulfonylé, un excès de *tert*-butyllithium et de chlorure de triméthylsilyle conduit à une double silylation en 2 de l'indole et en *ortho* sur le benzyle du groupement protecteur.

Bien que nous ayons pu reproduire la réaction d'acylation du dérivé silylé par l'anhydride acétique selon Gribble (première entrée du **Tableau VIII**), celui-ci, en présence de nombreux acides de Lewis, n'a en aucun cas réagi avec les dérivés activés du mannose.

Tableau VIII : Conditions des tentatives de couplages directs sur les indoles silylés.

Indole de départ	Mannose de départ	Réactif(s)	Conditions	Résultat
32		Ac ₂ O, AlCl ₃	CH ₂ Cl ₂ , TA	34 (86%)
31	26	SnCl ₄	CH ₂ Cl ₂ , TA	Destruction
31	26	AlCl ₃	CH ₂ Cl ₂ , TA	Destruction
31		TFA	H ₂ O, TA	→Indole
31	26	BF ₃ , Et ₂ O	CH ₂ Cl ₂ , TA	Destruction
31		AlCl ₃	CHCl ₃ , TA	→Indole
31	27	AgNO ₃	DMSO, TA	Pas de réaction
31	27	TBAF	THF, 0°C → TA	Pas de réaction
31	26	BF ₃ , Et ₂ O	CH ₂ Cl ₂ , -78°C → TA	Pas de réaction
31	26	SnCl ₄	CH ₂ Cl ₂ , -78°C	Pas de réaction
31	27	BF ₃ , Et ₂ O	CH ₂ Cl ₂ , -78°C	Pas de réaction
32	26	Ac ₂ O, AlCl ₃	CH ₂ Cl ₂ , TA	Désilylation
32	26	BF ₃ , Et ₂ O	CH ₂ Cl ₂ , TA	Désilylation

Plusieurs facteurs doivent être pris en compte pour expliquer ces échecs : tout d'abord, la fragilité des protections du mannose en présence d'acides de Lewis, qui empêche de pousser les conditions de concentration et de température. Ces conditions ne sont pas non plus idéales pour les dérivés indoliques. En effet, au bout d'un certain temps, variant selon la température, il y a clivage des substituants triméthylsilyle et, pour le composé **31**, perte du groupement protecteur conduisant à l'obtention de l'indole. Nous avons conclu de cette étude que le groupement silyle n'est pas un assez bon activateur de la position 2 du noyau indolique dans les conditions douces que nous sommes tenus d'utiliser.

Il nous fallait donc à la fois augmenter la réactivité de la position 2 sans que cette modification n'affecte la fonction ester du tryptophane, remplacer les groupements protecteurs acétate du sucre jugés trop labiles, et enfin, éventuellement augmenter la réactivité de la position anomérique du mannose.

L'introduction d'un dérivé de l'aluminium en position 2 de l'indole par transmétallation du dérivé lithié nous semblait une piste intéressante, compte tenu de la faible nucléophilie du groupement diéthylaluminium, et de sa lacune électronique, favorable à sa réactivité avec les dérivés halogénés du mannose. Si cette méthodologie est connue pour convenir à divers hétérocycles, nous n'avons trouvé qu'une seule référence bibliographique où cette réaction est effectuée sur un noyau indolique (**Schéma 42**)⁷³. Malheureusement la description de la réaction et les données spectrales des produits obtenus sont trop succinctes pour être réellement exploitables.

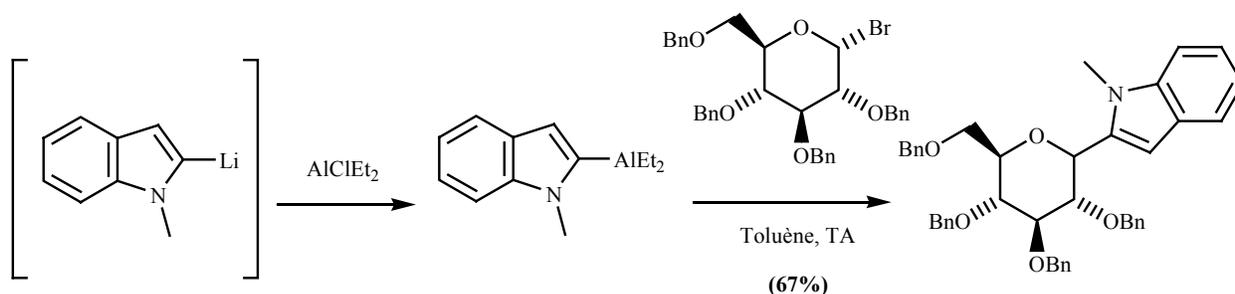


Schéma 42 : Synthèse de Sultanmuratova de C-glycosides par transmétallation⁷³.

Une autre publication fait état de ce type de réaction entre un noyau pyrrole et un dérivé du mannose fluoré en position anomérique (**Schéma 43**)⁷⁴. Les auteurs montrent sur plusieurs exemples de sucres (glucose, mannose, ribose) et d'hétérocycles (furanne et méthylpyrrole) que l'utilisation de glycosyles fluorés permet une « rétention » de la configuration du carbone anomérique.

⁷³ Tolstikov G. A. ; Prokhorova N. A. ; Spivak A. Y. ; Khalilov L. M. Sultanmuratova V. R. **Synthesis of C-glycopyranosides on the basis of the reaction of organoaluminium compounds with a 2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-Glucopyranoside.** *J. Org. Chem. USSR* **1991**, *27*, 1858-1863.

⁷⁴ Macdonald S. J. F. ; Huizinga W. B. ; McKenzie T. C. **Retention of Configuration in the Coupling of Aluminated Heterocycles with Glycopyranosyl Fluorides** *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3371-3373.

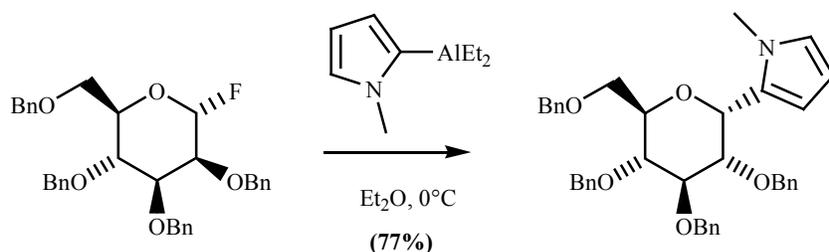


Schéma 43 : Synthèse de C-Glycoside par transmétallation.

Nous avons donc décidé de tenter ce couplage entre le mannose *O*-benzylé et fluoré en position anomérique et l'indole sulfonyle. Lors de la préparation du dérivé du mannose fluoré **38** (Schéma 44), l'étape la plus délicate n'est pas l'introduction du fluor qui, à l'aide du diéthylaminofluorure de soufre, s'avère simple, rapide et parfaitement reproductible. L'étape critique est en fait l'hydrolyse acide de **36** ; cette réaction, donnée ici avec le meilleur rendement auquel nous soyons parvenus, est très difficilement reproductible et peut potentiellement conduire à un grand nombre de produits de dégradation. Nous verrons par la suite une autre méthode d'accès à **37** qui donne de bien meilleurs résultats.

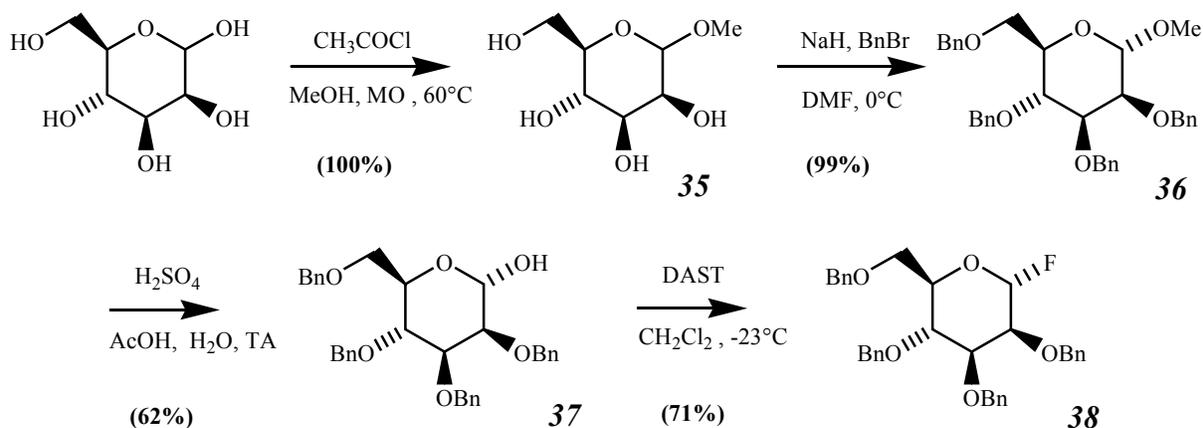


Schéma 44 : Préparation du 1-fluoro-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside (**38**).

Malheureusement, la réaction, effectuée dans les conditions de la publication de Sultanmuratova⁷³ en ce qui concerne la formation du dialkylindolyaluminium et de celle de McKenzie⁷⁴ pour le couplage avec le mannose fluoré, n'a pas permis d'obtenir le produit attendu (Schéma 45). Toutefois, par manque de temps, nous n'avons pas étudié davantage cette réaction, et nous ignorons si c'est la formation de l'organoaluminium ou le couplage qui a échoué...

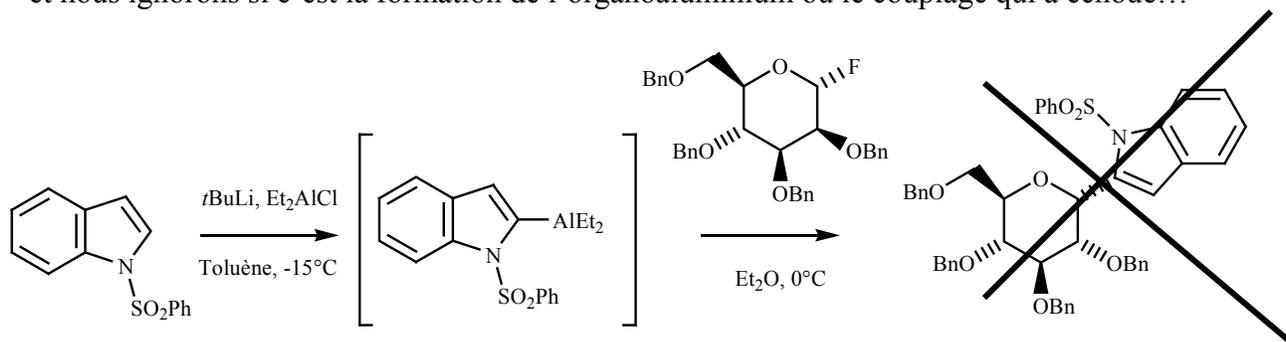


Schéma 45 : Essai de couplage direct par transmétallation.

Nous avons également tenté quelques couplages sur des mannoses *O*-benzylés et acétylés en position anomérique (**Tableau IX**). Pour accéder à ces dérivés, deux stratégies sont décrites dans la littérature : soit directement à partir du dérivé méthoxylé **36**, soit à partir du mannose libre en position anomérique **37** (lui-même issu de **36**). Toutefois, nous pouvons constater que la différence de protocole entre le mono- et le bi-acétylé 1,6 ne réside que dans la quantité de H₂SO₄. D'une manière pratique, la voie de synthèse passant par le dérivé du mannose **37** s'avère plus simple. En effet, dans les deux cas, l'hydrolyse acide de **36** mène à une grande variété de produits issus de la protection de plusieurs groupements benzyle. Notons que, dans le cas de la synthèse en une seule étape (**36**→**39**), la protection sous forme acétyle des fonctions alcools fraîchement libérées complique grandement la purification.

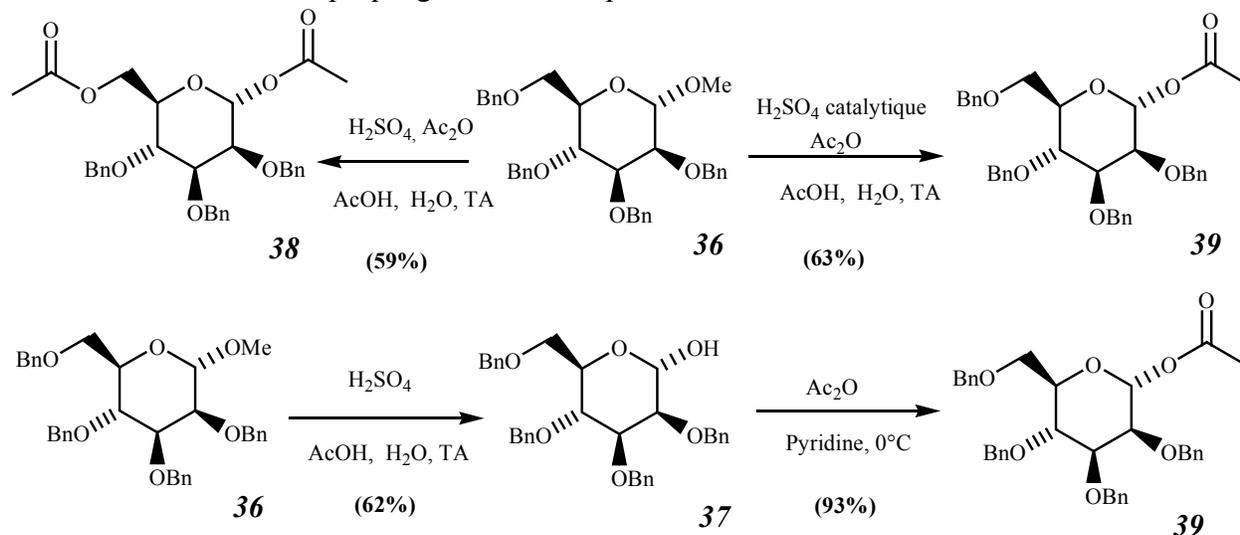


Schéma 46 : Préparation du mannose benzylé, acétylé en position anomérique.

Tableau IX : Conditions des tentatives de couplages directs sur les indoles silylés

Indole de départ	Mannose de départ	Réactif(s)	Conditions	Résultat
31	38	Sc(ClO ₄) ₃	CH ₂ Cl ₂ , TA	Pas de réaction
31	38	BF ₃ , Et ₂ O	CH ₂ Cl ₂ , TA	Pas de réaction, déprotection.
N-COCF₃-Trp-O-Me	39	Sc(ClO ₄) ₃	CH ₃ CN, TA	Pas de réaction

A la suite de ces échecs, nous avons décidé d'abandonner cette voie de synthèse au profit d'une approche moins directe. En effet, nous n'avons pu simplifier l'approche de Ito qui se révèle finalement efficace. La protection du mannose par des groupements acétyle ne résiste pas aux conditions du couplage et comme Ito, nous avons été amenés à benzyliser les fonctions alcool. Une interrogation demeure toutefois sur sa stratégie quant à l'utilisation de NaOH 10% lors du clivage de groupement benzènesulfonyle qui, au Laboratoire, a toujours conduit à la racémisation du centre de chiralité des amino-acides.

2-5- Voie de la réaction de Pictet-Spengler :

La voie de synthèse qui va être exposée est une voie biomimétique hypothétique, basée sur la formation d'une liaison C-glycosyle assistée par la formation d'une liaison N-glycosyle, plus conventionnelle. A notre connaissance une telle migration d'un atome d'azote vers un atome de carbone n'a jamais été démontrée pour des produits naturels. Par contre, la formation de C-glycosyles à partir de O-glycosyles est très fortement suspectée (réarrangement de Fries « bio ») pour des produits d'origine fongique ou bactérienne⁷⁵.

La réaction de Pictet et Spengler (**Schéma 47**) est une réaction connue depuis 1911 : il s'agit de la condensation d'une aryléthylamine avec un aldéhyde, pour former un tétrahydroisoquinoléine.

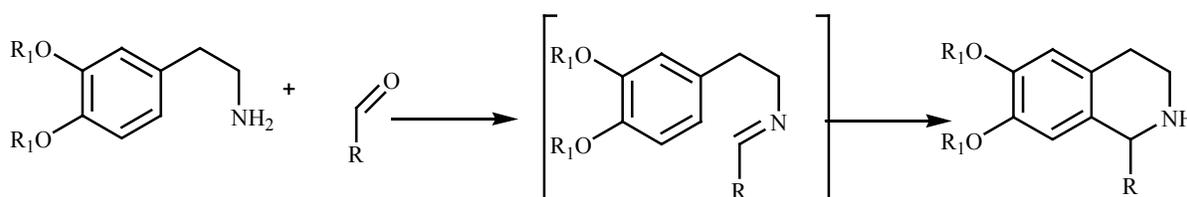


Schéma 47 : Réaction de Pictet et Spengler.

Cette réaction entre dans la biosynthèse d'un grand nombre d'alcaloïdes. Elle est très utilisée dans la chimie hétérocyclique notamment pour la synthèse de produits naturels indoliques pharmacologiquement actifs possédant un noyau β -carboline.

Nous pensons que la mannosyle transférase pourrait catalyser les premières étapes d'une réaction de type Pictet et Spengler. En effet, bien que l' α -C-2-mannosyl-tryptophane soit le seul produit de condensation du tryptophane et du mannose retrouvé dans l'urine humaine, l'équipe de Herderich⁷⁶ a identifié une série de produits de condensation (**Schéma 48**) de sucres et de tryptophane dans certains jus de fruits. Parmi ceux-ci, on retrouve un N-mannosyltryptophane, un produit issu d'un réarrangement d'Amadori, le C-2-mannosyltryptophane et une glyco-tétrahydro- β -carboline. Ceci nous conduit à penser que la tétrahydro- β -carboline pourrait être l'intermédiaire de la réaction.

⁷⁵ Bililign T. ; Griffith B. R. ; Thorson J. S. **Structure, activity, synthesis and biosynthesis of aryl-C-glycosides.** *Nat. Prod. Rep.* **2005**, *22*, 742-760.

⁷⁶ Gutche B. ; Grun C. ; Scheutzwow D. ; Herderich M. **Tryptophan glycoconjugate in food and human urine.** *Biochem. J.* **1999**, *343*, 11-19.

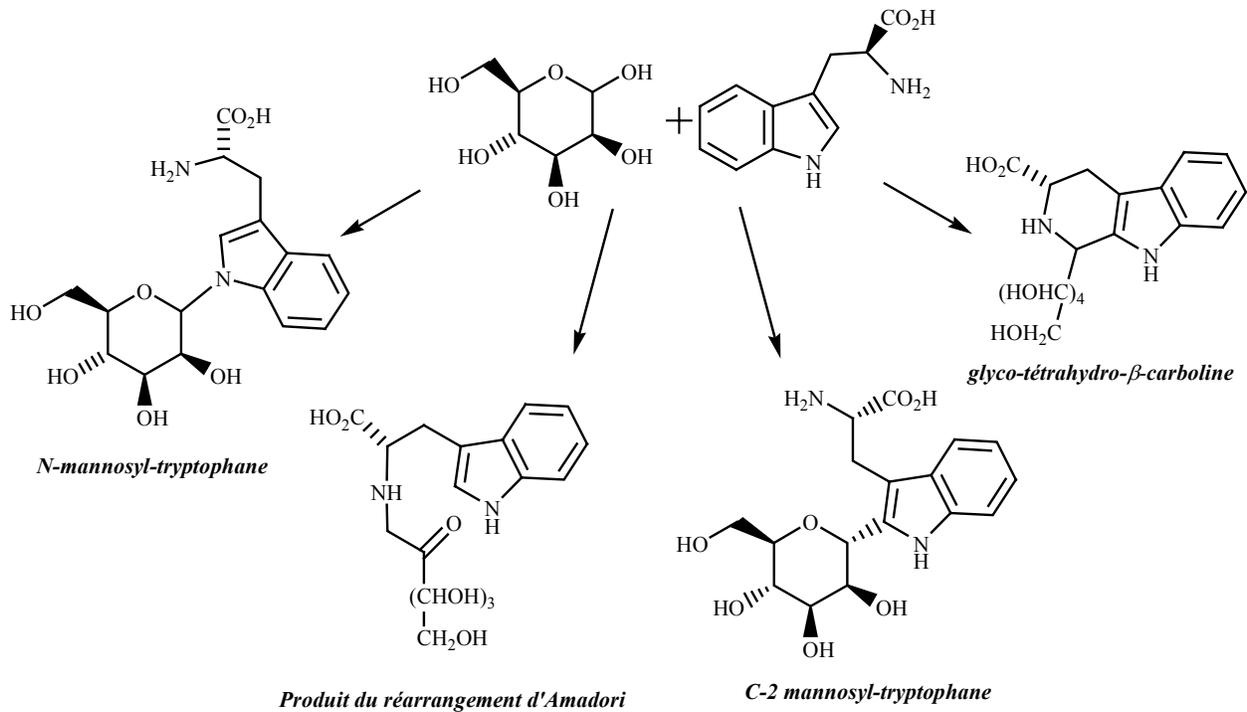


Schéma 48 : Différents produits de couplage tryptophane-mannose retrouvés dans des fruits⁷⁶.

2-5-1 Réactions biogénétiques possibles aboutissant à la glycosylation du tryptophane :

Nous proposons les suites de réactions des **Schémas 49** et **51** pour rendre compte de la formation du *C-2*-glycosyle **E** à partir du tryptophane présent dans un peptide **A**. Le **Schéma 49** présente une voie d'accès à la forme tétrahydro- β -carboline **D** par l'intermédiaire d'une réaction de Pictet et Spengler.

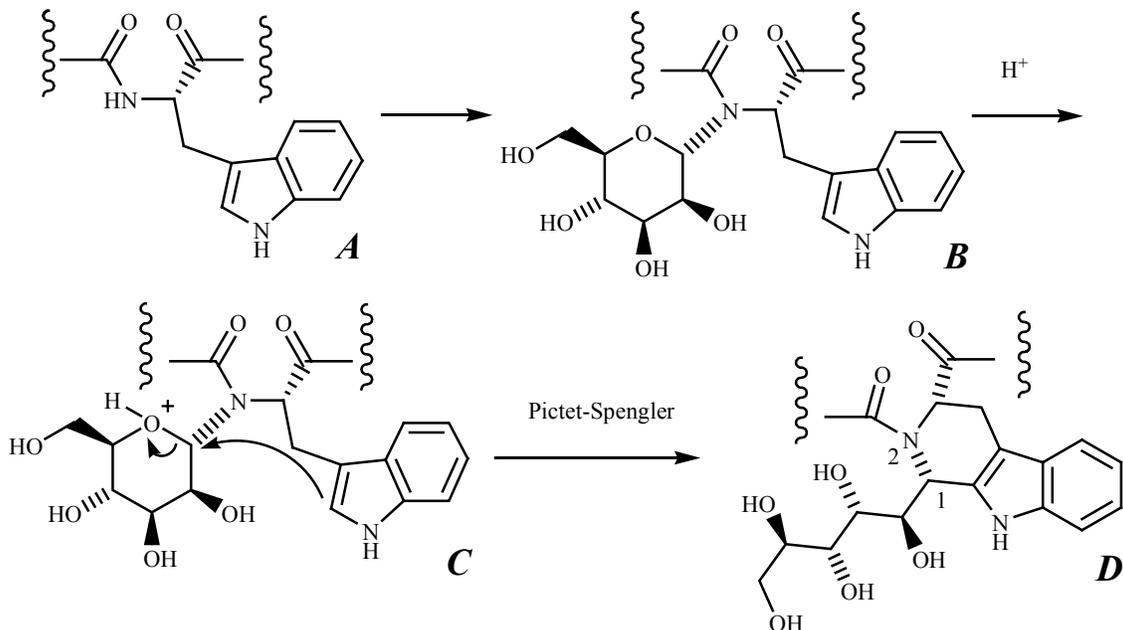


Schéma 49 : Voie de biogénèse proposée.

Nous savons qu'au niveau biologique, les *N*-glycosylations ont généralement lieu sur des azotes d'amide (cf. **Tableau III**) : la glycosylation de l'amide **A** conduisant à **B** est donc envisageable. Si **C**, qui correspond à la forme protonée de **B**, subit l'attaque de la position 2 de l'indole suivant une réaction de type Pictet et Spengler, la tétrahydro- β -carboline **D** est obtenue. Cette réaction peut également se produire sans intermédiaire si l'on admet qu'une partie du mannose se trouve sous forme aldéhyde acyclique⁷⁷. Des équivalents aux intermédiaires **B** et **C** sont retrouvés dans les travaux de l'équipe de Czarnocki⁷⁸ présentés sur le **Schéma 50**. Dans cette suite réactionnelle, des dérivés acylés de la tryptamine réagissent avec des céto-acides pour donner d'une part, les composés de couplage **II** et d'autre part, les produits d'équilibre **III**, issus de la réaction de la cétone avec l'atome d'azote de l'amide. Le mélange réagit en milieu acide pour former des tétrahydro- β -carboline **IV** selon une réaction de type Pictet et Spengler.

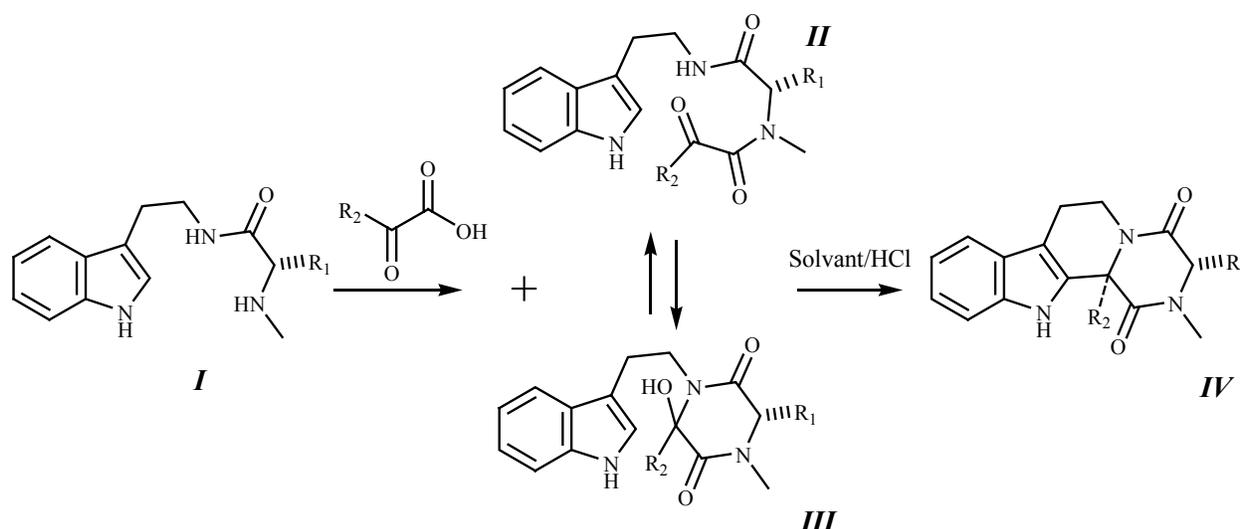


Schéma 50 : Réaction de Pictet et Spengler avec un dérivé *N*-acylé de la tryptamine selon Czarnocki⁷⁸.

Le **Schéma 51** propose différentes voies envisageables pour accéder à l' α -C-2 mannosyle tryptophane **E** à partir de la tétrahydro- β -carboline **D**.

⁷⁷ Dworkin J. P. ; Miller S. L. A kinetic estimate of the free aldehyde content of aldoses. *Carbohydr. Res.* **2000**, 329, 359-365.

⁷⁸ Siwicka A. ; Wojtasiewicz K. ; Rosiek B. ; Leniewski A. ; Maurin J. K. ; Czarnocki Z. Diastereodivergent synthesis of 2,5-diketopiperazine derivatives of β -carboline and isoquinoline from L-amino acids. *Tetrahedron Asymmetry* **2005**, 16, 975-993.

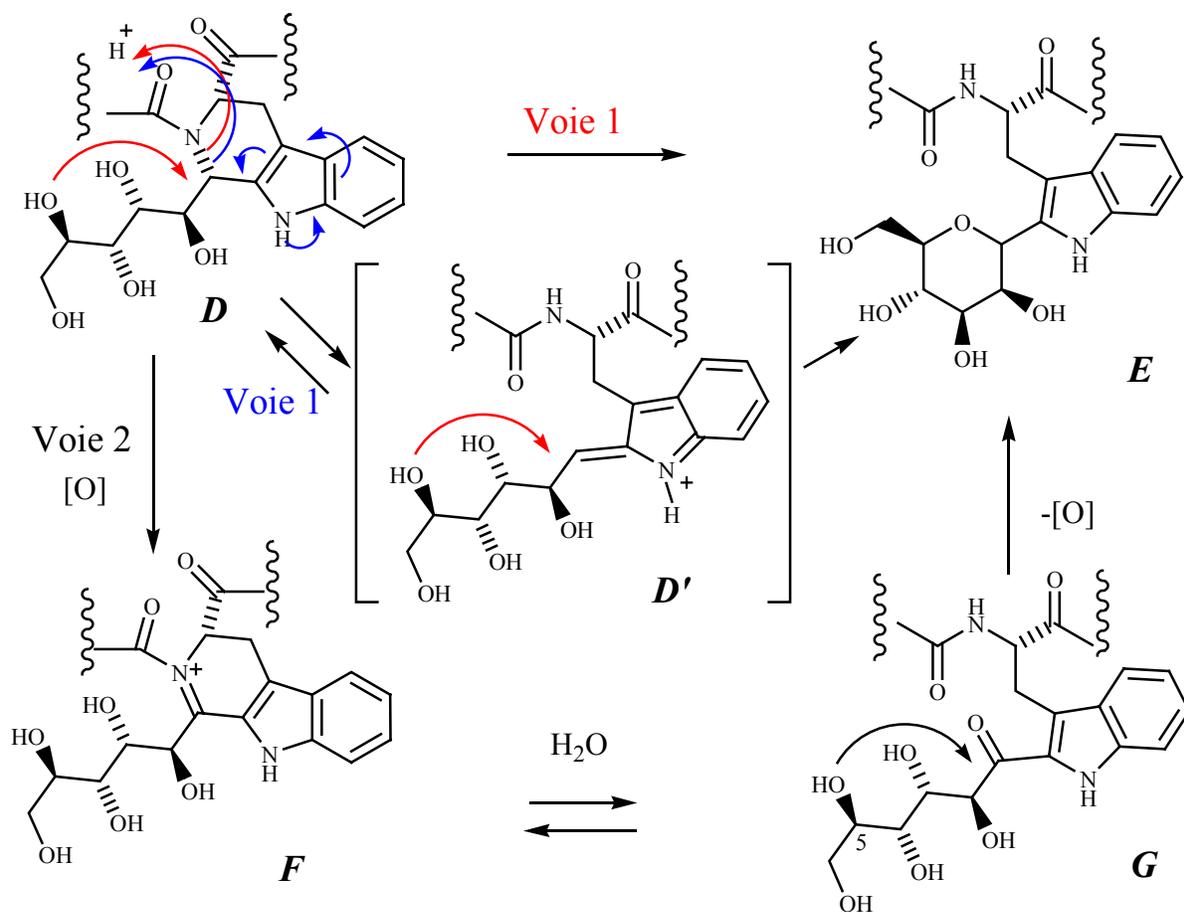


Schéma 51 : Voies biogénétiques envisageables pour l'ouverture de la tétrahydro- β -carboline **D**.

La présence de groupements attracteurs d'électrons sur l'azote (forme amide) et la participation de l'indole (flèches bleues) polarisent la liaison C_1-N_2 de la tétrahydro- β -carboline **D** et facilitent sa fragmentation. Cette réaction devient irréversible par piégeage de l'intermédiaire **D'** par l'hydroxyle en 5 (flèches rouges) conduisant à **E** par la voie 1.

L'étape clef de la rupture de la liaison C_1-N_2 est connue dans la famille des alcaloïdes indoliques, qui dérivent tous de la condensation de la tryptamine avec le sécolanoside, un aldéhyde terpénique glycosylé (**Schéma 52**).

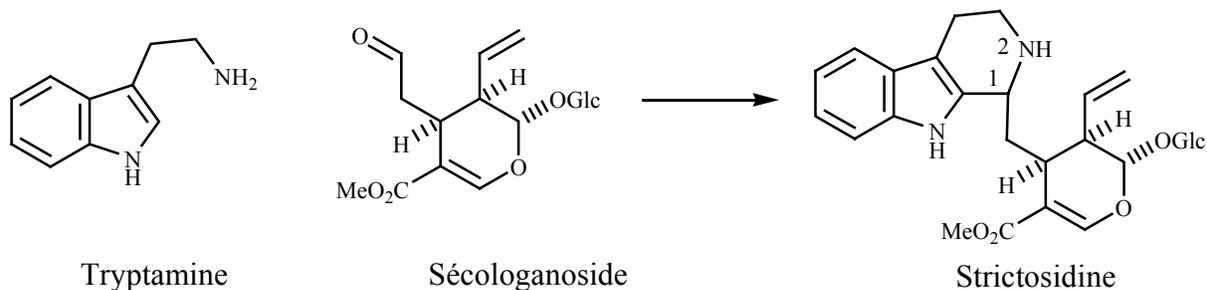


Schéma 52 : Première étape de la biogenèse des alcaloïdes indoliques.

Ce type de réaction est notamment retrouvé dans la biogenèse des alcaloïdes du *gelsemium*⁷⁹ (Schéma 53):

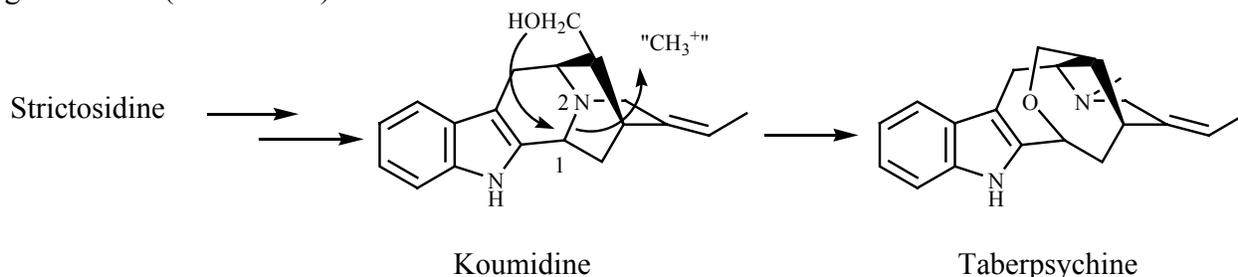
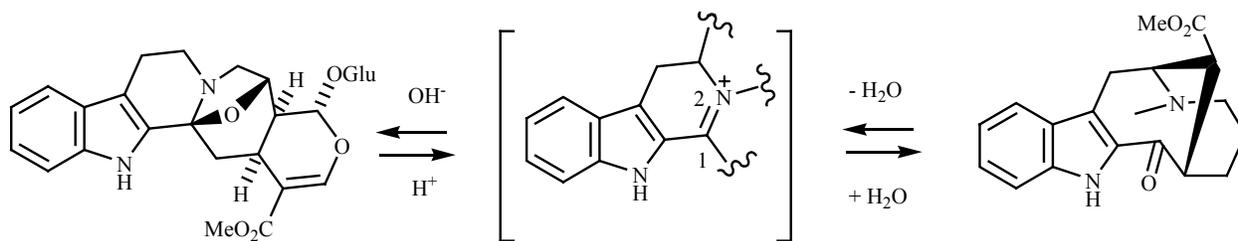


Schéma 53 : Voie de biosynthèse d'alcaloïdes indoliques du *gelsemium*.

Dans cette séquence, l'attaque de l'atome de carbone 1 de la tétrahydro- β -carboline par l'alcool est assistée par la méthylation concomitante de l'atome d'azote 2 qui polarise la liaison.

Une voie passant par une oxydation « réversible » de la liaison C₁-N₂ de la tétrahydro- β -carboline est également envisageable (Voie 2). Dans ce cas, l'amide est transformé en amidium *F* qui est hydrolysé en 2-acylindole *G*. Ce dernier cyclise puis est réduit en *E*.

Tous les alcaloïdes indoliques dérivent de la strictosidine par divers jeux de réarrangements, cyclisations et ajustement des degrés d'oxydation. Des formes oxydées de la double liaison C₁-N₂ ont donné naissance à différentes familles d'alcaloïdes (Schéma 54). Cette voie nécessite l'oxydation de l'atome d'azote en 2 de la tétrahydro- β -carboline et ceci paraît difficilement envisageable s'il est engagé dans une liaison peptidique amide.



Cadambine et dérivés⁸⁰

Vobasine et dérivés⁸¹

Schéma 54 : Voie d'accès à divers alcaloïdes indoliques *via* une oxydation de la liaison C₁-N₂.

⁷⁹ Ponglux D. ; Wongseripipatana S. ; Sudhahirasakui S. ; Takayama H. ; Yokota M. ; Ogata K. *et al.* **Studies on the indole alkaloids of Gelsemium Elegans (Thailand): Structure elucidation and proposal of biogenetic route.** *Tetrahedron* **1988**, *44*, 5075-5094.

⁸⁰ Kapil R. S. ; Brown R. T. **Monoterpene alkaloid glycosides.**

In: The Alkaloids Vol. XVII.

Ed. Manske R. H. F.

New-York : Academic Press, Inc ; **1979** : 545-588.

⁸¹ Taylor W. L. **The Iboga and Voacanga alkaloids.**

In: The Alkaloids Vol.VIII.

Ed. Manske R. H. F.

New-York : Academic Press, Inc ; **1965** : 203-235.

Des applications en synthèse pour les deux voies de biosynthèse envisagées existent.

La voie 2 a été la plus utilisée ; elle dérive des travaux de Harley-Masson⁸². Les β -carbolines dihydrogénées en 3,4 sont préparées classiquement en une étape par une réaction de Bischler Napieralsky⁸³ (B.N.) (Schéma 55).

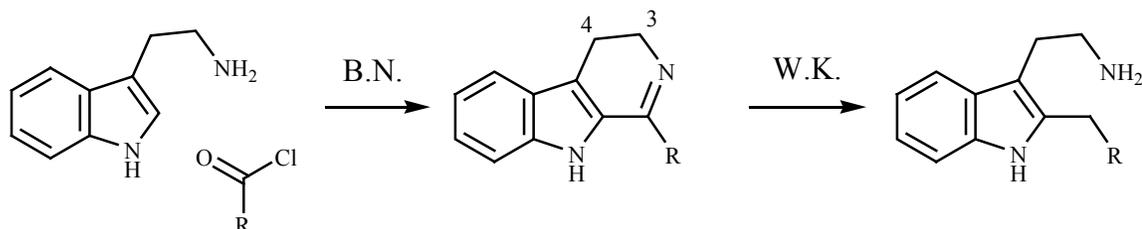


Schéma 55 : Préparation de composé séco 1,2.

Dans des conditions proches de la réaction de réduction de Wolff-Kishner (W.K.), le composé séco-1,2 est obtenu. Cette réaction a été utilisée avec succès au Laboratoire pour préparer des macrocycles lactoniques bis-indoliques⁸⁴.

La voie 1 est plus difficile à mettre en œuvre et a été moins utilisée : un remarquable exemple est la synthèse biogénétique de divers alcaloïdes du *gelsenium* par Sakai⁸⁵ (Schéma 56).

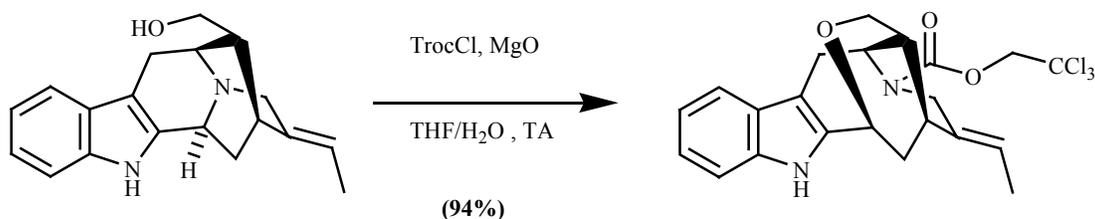


Schéma 56 : Ouverture du cycle tétrahydro- β -carboline dans la synthèse de gelséline de Sakai⁸⁵.

Dans cette synthèse, la rupture de la liaison C₁-N₂ est assistée par l'acylation de l'azote par un groupement trichloroéthoxy-carbonyle.

Notre stratégie de synthèse va donc comporter deux étapes : d'une part, engager le mannose dans une réaction de type Pictet et Spengler avec un ester de tryptophane, et d'autre part cliver la liaison C₁-N₂ de la tétrahydro- β -carboline, en suivant les voies 1 ou 2. Pour l'instant, seule la condensation du mannose a fait l'objet d'un travail expérimental.

⁸² Fleming I. ; Harley-Mason J. A synthesis of 2-Alkyltryptamine and of 3,4-Dihydro- β -carboline. *J. Chem. Soc. C* **1966**, 425.

⁸³ Voir par exemple : Chrzanowska M. ; Rozwadowska M. D. Asymmetric Synthesis of Isoquinoline Alkaloids. *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 3341-3370.

⁸⁴ Charlet-Fagnère C. ; Jiang W. Q. ; Laronze J. Y. Syntheses of Large-Ring Bis-Indolic Dilactams. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 1685-1688.

⁸⁵ Takayama H. ; Tominaga Y. ; Kitajima M. ; Aimi N. ; Sakai S. I. First Synthesis of the Novel Gelsenium Alkaloids, Gelselegine, Gelsenicine, and Gelsedine, Using a Biomimetic Approach. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4381-4385.

2-5-2- Synthèses effectuées dans le cadre de la voie du type Pictet-Spengler :

Afin d'effectuer cette réaction, nous avons tout d'abord testé les conditions évoquées par les articles de Hederich⁷⁶ et Pischetsrieder⁸⁶. En effet, les deux équipes, afin d'identifier les produits naturels, réalisent des synthèses dans l'eau. Dans les deux cas, les purifications sont réalisées par chromatographie liquide haute performance. Les rendements ne sont pas fournis. Dans ces couplages, le tryptophane et le mannose sont à l'état totalement déprotégé (**Tableau X**).

Tableau X : Conditions utilisées pour les couplages du tryptophane et du mannose déprotégés.

Trp. équiv. :	Man. Equiv. :	Réactif, équiv. :	Conditions :	Résultats :
1	6	NaOH, 1éq. ⁷⁶	H ₂ O, reflux, 3H	Mélange complexe.
1	2,5	LiOH, 1éq.	MeOH, reflux 3H	Mélange complexe, large majorité de produits de départ.
1	2,5	NaOH, 1éq.	MeOH, reflux 3H	Mélange complexe, large majorité de produits de départ.
1	1	NaOH, 1 éq.	H ₂ O, TA, 20H	Mélange de 2 produits non identifiés, pas de couplage en 2 de l'indole.
1	1	NaOH, 1 éq.	H ₂ O, TA, 5 jours	Mélange complexe.
1	2	H ₂ SO ₄ , 1N ⁸⁶	80°C, 7 jours	Mélange complexe.
1	2	H ₂ SO ₄ , 1N	80°C, micro-ondes 1H	Pas de réaction.

Malheureusement, quelle que soit la nature de la catalyse, basique ou acide, nous ne sommes jamais parvenus à isoler un produit de couplage entre les deux synthons. Dans la colonne « Résultats », le terme « Mélange complexe » correspond à la dégradation du mannose en une série de très nombreux produits que l'on peut faire migrer sur chromatographie sur couche mince après acétylation.

Nous avons également tenté des réactions de couplage de mannose avec des tryptophanes estérifiés comme le tryptophanate de méthyle **22** et son dérivé *N*-benzylé **40** que nous avons préparé selon la méthode classique présentée sur le **Schéma 57**.

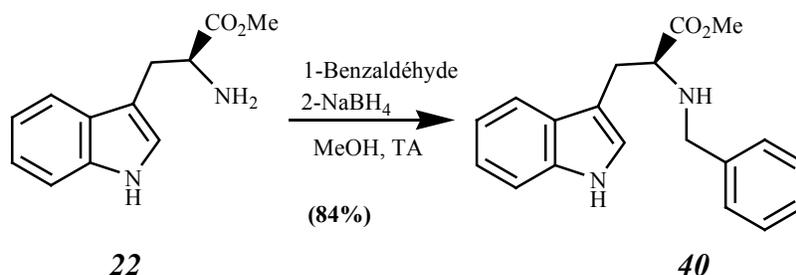


Schéma 57 : Préparation du *N*-benzyle tryptophanate de méthyle **40**.

⁸⁶ Rönner B. ; Lerche H. ; Bergmüller W. ; Freillinger C. ; Severin T. ; Pieschetrieder M. **Formation of Tetrahydro-β-carbolines and β-Carbolines during the Reaction of L-Tryptophan with D-Glucose.** *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 2111-2116.

Ces tentatives, effectuées dans les conditions acides généralement employées pour les réactions de Pictet et Spengler, n'ont pas non plus conduit à la formation de tétrahydro- β -carbolines (**Tableau XI**).

Tableau XI : Conditions utilisées pour les couplages de tryptophanes protégés et de mannoses déprotégés.

Trp.	Man. équiv :	Réactif, équiv. :	Conditions :	Résultats :
22, 1 éq.	1	HCl, 1éq.	MeOH, TA, 2j.	Pas de réaction.
22, 1 éq.	1	HCl, 1éq.	H ₂ O, TA, 2j.	Pas de réaction.
22, 1 éq.	1	HCl, 1éq.	EtOH, reflux, 36H.	Pas de réaction.
22, 1 éq.	1	TFA, 0,5 éq.	DMF, tamis 4Å, TA, 20H.	Mélange complexe.
22, 1 éq.	1	AcOH, 5 éq.	H ₂ O, Reflux 3j.	Mélange complexe.
40, 1 éq.	3	MeOH/HCl	MeOH, reflux 3j.	40 + mélange complexe de sucres
40, 1 éq.	3	TFA, 20 éq.	Dioxanne, Toluène, reflux 1H	Mélange complexe.
22, 1 éq.	1		AcOH, DMF, TA, 24H.	41

La seule réaction à avoir donné un résultat exploitable correspond à la dernière entrée du **Tableau XI**. L'interprétation des spectres RMN correspondants s'est avérée délicate ; il était toutefois évident que le produit obtenu (**41**) était bien issu d'un couplage entre les deux molécules de départ, et que la position 2 du noyau indolique portait un hydrogène. C'est le spectre *J* modulé (**Schéma 58**) qui nous a permis d'identifier le produit **41**; en effet la répartition des signaux des carbones (CH et CH₃ / C et CH₂ : 4/2) appartenant au résidu glycosyle ne correspondait pas à une forme pyranose. L'existence d'un signal à 97,9 ppm indiquait l'existence d'un atome de carbone quaternaire substitué par deux oxygènes.

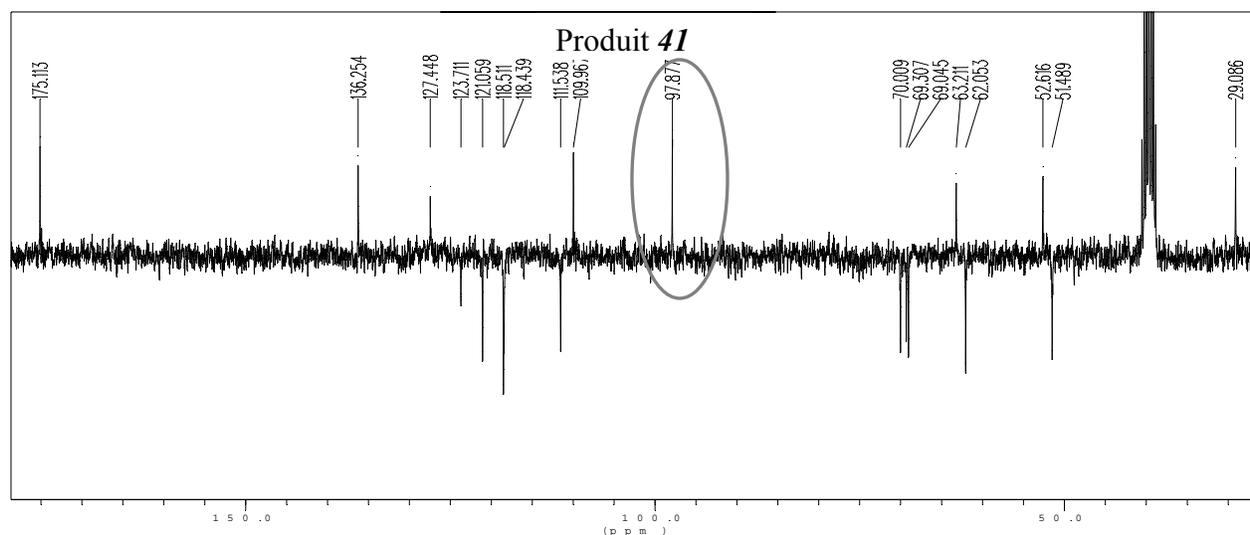
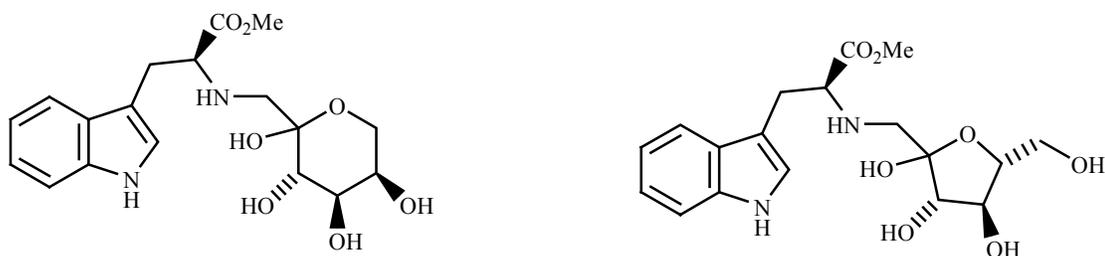
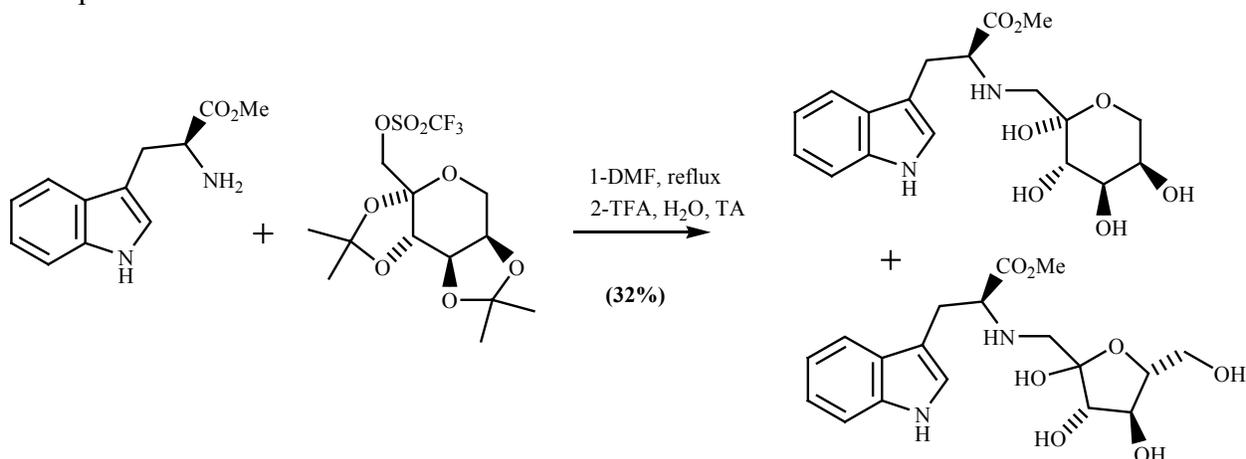


Schéma 58 : Spectre RMN ¹³C *J* modulé du composé **41**.

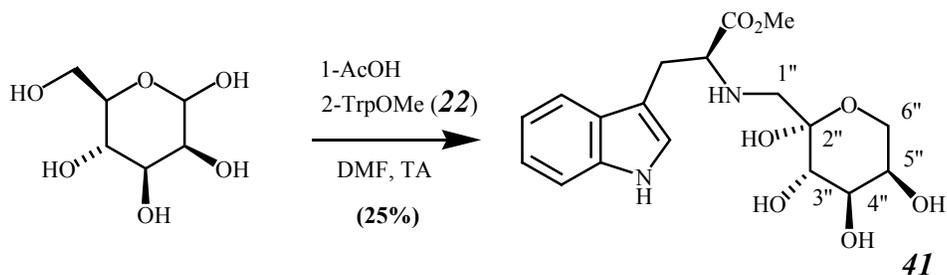
Nous avons alors envisagé deux structures (**Schéma 59**) provenant potentiellement de cyclisation d'un composé issu du réarrangement d'Amadori (pour le produit du réarrangement d'Amadori voir le **Schéma 48**).

Schéma 59 : Hypothèses de structure pour le produit **41**.

Une étude bibliographique nous a permis de voir que ce type de produit avait déjà été synthétisé en mettant en réaction la dibenzylamine et le glucose en présence d'acide acétique (97%)⁸⁷. A partir du tryptophanate de méthyle, l'équipe de Gruenwedel⁸⁸ synthétise les deux types de structure à partir d'un autre dérivé de sucre (**Schéma 60**). Les données spectrales des trois formes tautomères obtenues (β pyranosyle, α et β furannosyle) ont permis d'identifier notre produit **41**.

Schéma 60 : Travaux de Gruenwedel⁸⁷.

C'est le *N*-(1-déoxy- β -D-fructopyranose) tryptophanate de méthyle **41** (**Schéma 61**) :

Schéma 61 : Synthèse du produit d'Amadori **41**.

⁸⁷ Hou Y. ; Wu X. ; Xie W. ; Braunschweiger P. G. ; Wang P. G. **The synthesis and cytotoxicity of fructose-1-SNAP, a novel fructose conjugated S-nitroso nitric oxide donor.** *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 825-829.

⁸⁸ Lopez M. G. ; Gruenwedel D. W. **Synthesis of aromatic Amadori compounds.** *Carbohydr. Res.* **1991**, *212*, 37-45.

A la suite de ces résultats, nous avons tenté la réaction de Pictet et Spengler avec des mannoses ouverts et protégés, présentant la fonction aldéhyde libre. Ce type de réaction a déjà été effectué par l'équipe de Pandit⁸⁹ en 1987 (**Schéma 62**).

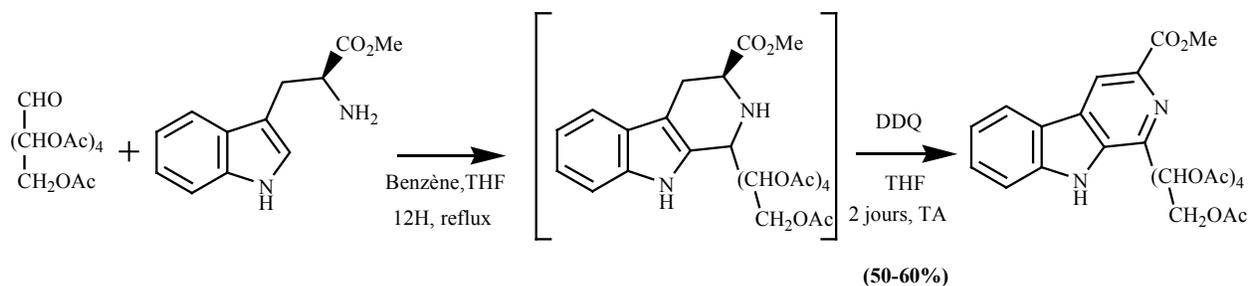


Schéma 62 : Synthèse de β -carbolines glycosylées par Pandit⁸⁹.

Nous avons donc préparé les aldéhydes du mannose en série acétyle (**Schéma 63**) et en série benzyle (**Schéma 64**), suivant les stratégies classiques, passant par un dithioacétal.

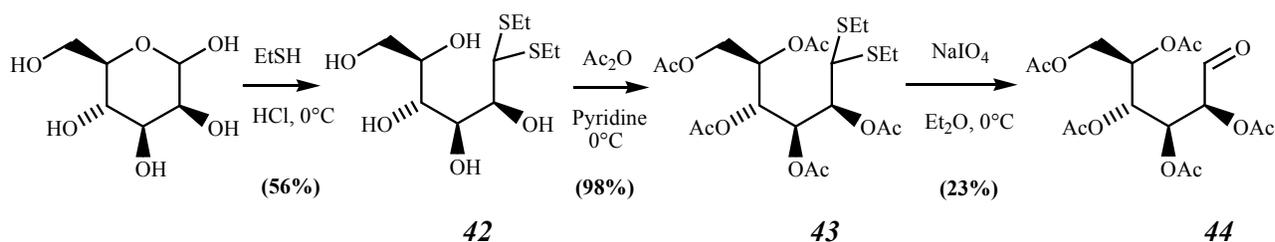


Schéma 63 : Préparation du 2,3,4,5,6-pentaacétyl-D-mannose.

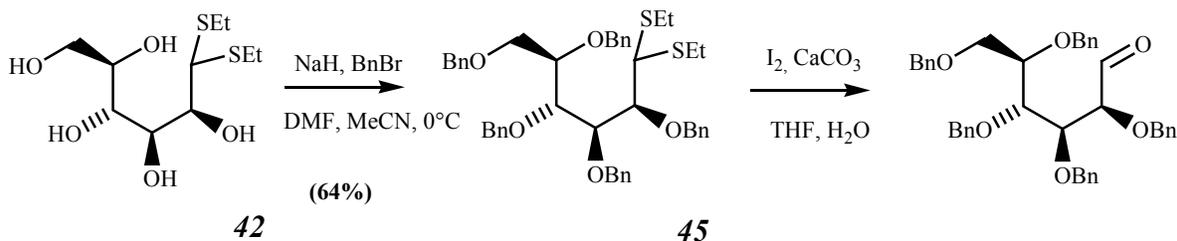


Schéma 64 : Préparation du 2,3,4,5,6-pentabenzyl-D-mannose.

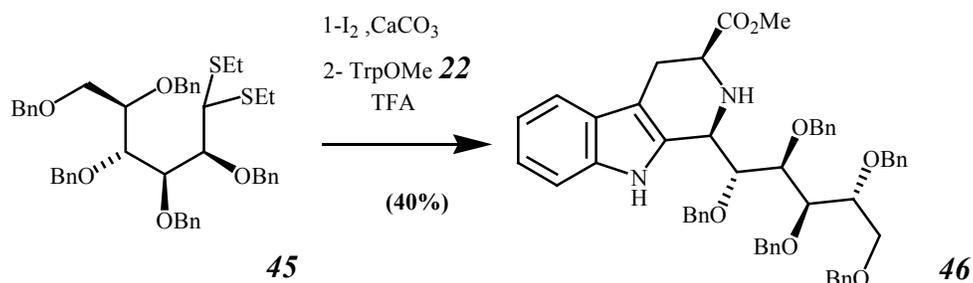
Les réactions de Pictet et Spengler effectuées sur ces dérivés (généralement sans purification de l'intermédiaire aldéhyde) se sont avérées délicates (**Tableau XII**) particulièrement en série acétyle, pour laquelle les mélanges obtenus n'ont pas pu être exploités.

⁸⁹ Willard N. P. ; Dorland E. ; Pandit U. K. **Pyridindolol analogues. Synthesis of 3-hydroxy-methyl-1-(polyhydroxyalkyl)- β -carbolines.** *Heterocycles* **1987**, 26, 1549-1553.

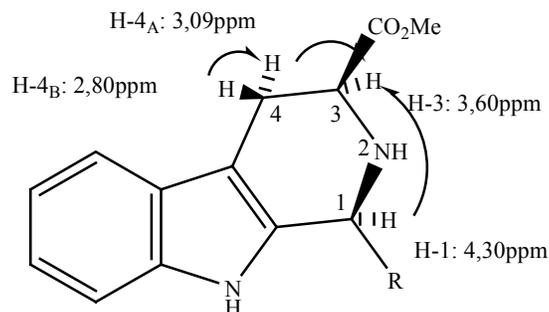
Tableau XII : Conditions de couplage de **22** avec des aldéhydes de mannoses déprotégés.

Trp.	Man. équiv :	Réactif de déprotection	Conditions de couplage:	Résultats :
22 , 1 éq.	43 , 1 éq	NaIO ₄	Toluène, THF, TA, 2j.	Mélange complexe.
22 , 1 éq.	43 , 1 éq	NaIO ₄	Toluène, DMSO, Reflux 5H.	Mélange complexe.
22 , 1 éq.	43 , 1 éq	NaIO ₄	CH ₂ Cl ₂ , Yb(OTf) ₃ , Micro-ondes 100°C, 50W, 30 min.	Mélange complexe.
22 , 1 éq.	43 , 1 éq	NaIO ₄	CH ₂ Cl ₂ , Yb(OTf) ₃ , Micro-ondes 40°C, 50W, 20 min.	Mélange complexe.
22 , 1 éq.	43 , 1 éq	I ₂ / CaCO ₃	CH ₂ Cl ₂ , Tamis moléculaire 4Å, TFA, TA, 2H.	46 (33%)
22 , 1 éq.	43 , 1 éq	I ₂ / CaCO ₃	CH ₂ Cl ₂ , Tamis moléculaire 4Å, TFA, TA, 24H.	46 (40%)

Toutefois, l'utilisation du couple I₂/CaCO₃ pour débloquent la fonction aldéhyde permet d'obtenir **46** avec un rendement modeste.

**Schéma 65** : Réaction de Pictet et Spengler avec le penta-*O*-benzyl-mannose.

Il est à noter que cette réaction est stéréosélective : seul le produit où les deux substituants de la tétrahydro- β -carboline sont en position équatoriale est observé (**Schéma 65**). Cette configuration a été déterminée par une expérience de RMN NOESY. En effet, le spectre présente une tache de corrélation entre les protons H-1 et H-3. La seule configuration permettant l'obtention de ce signal est celle présentée sur le **Schéma 66**.

**Schéma 66** : Interprétation du spectre RMN NOESY de **46**.

Sachant qu'un couplage de type Pictet et Spengler entre un tryptophanate de méthyle et un mannose benzylé était possible, nous avons proposé la rétrosynthèse suivante (**Schéma 67**) :

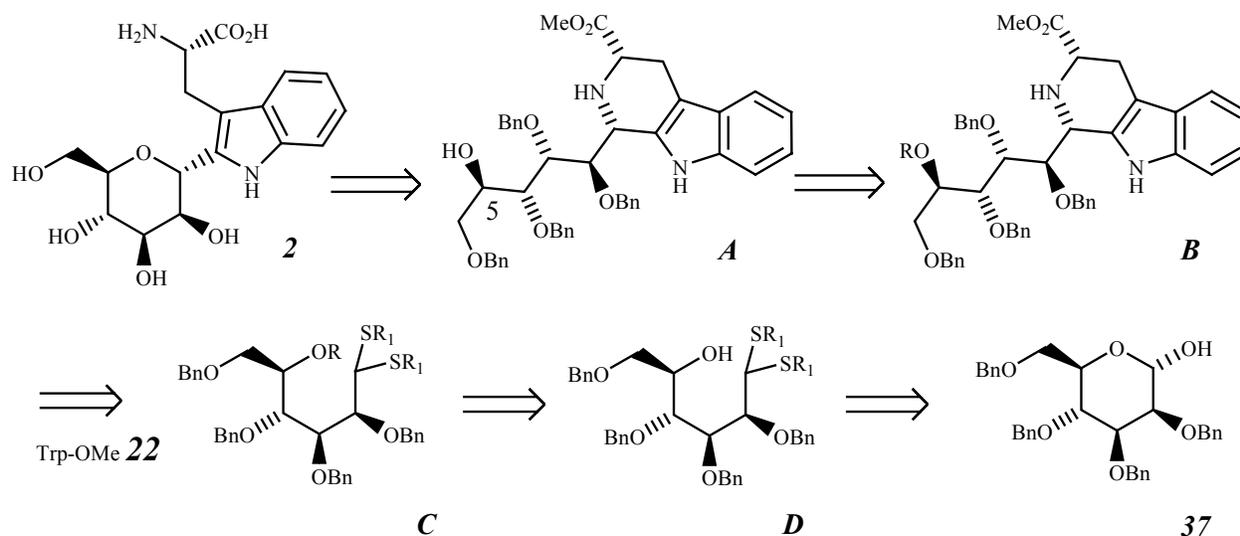


Schéma 67 : Rétrosynthèse de la voie du Pictet et Spengler.

Nos travaux ont commencé par la synthèse des dérivés de type **D** et **C**. La protection en position 5 (*R*) du sucre doit résister aux conditions de la réaction de Pictet et Spengler et pouvoir être clivée sans affecter les groupements benzyle et l'ester méthylique. En effet, la fonction hydroxylée en 5 est nécessaire à la formation du cycle pyranne de **2**. Nous avons choisi d'utiliser un groupement trialkylsilyle. Étonnamment, cette problématique n'est pas fréquemment rencontrée dans la littérature pour les hexoses. Nous avons dû nous baser sur un protocole concernant un pentose⁹⁰. La stratégie consiste à ouvrir un sucre protégé, excepté en position anomérique, par le propane dithiol. À notre grande surprise, le produit majoritaire de la réaction, dans les conditions proposées n'est pas le dithioacétal cyclique **47** attendu mais le produit thioacétal ouvert **48** (Schéma 68).

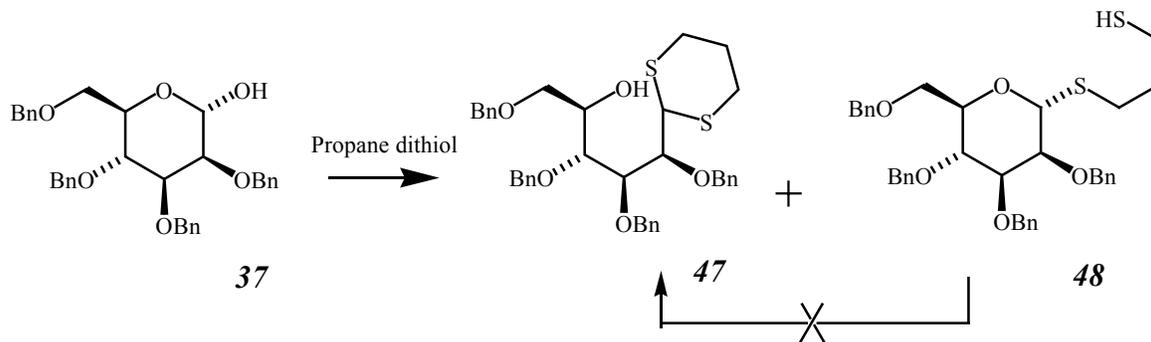


Schéma 68 : Réaction du mannopyranoside benzylé avec le propane dithiol.

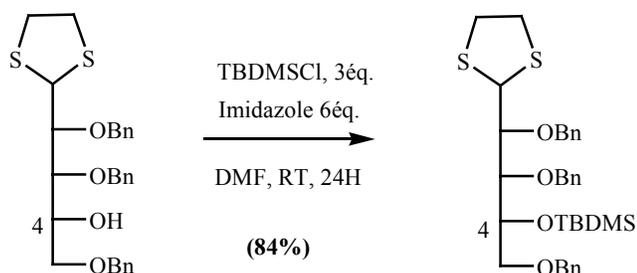
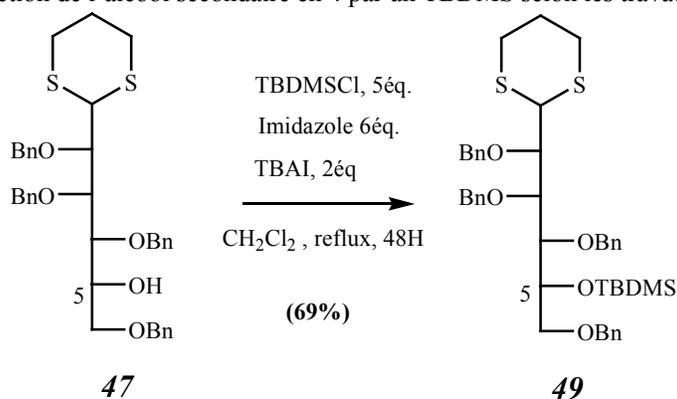
Plusieurs conditions réactionnelles ont été essayées (Tableau XIII). Finalement, ayant constaté l'impossibilité de faire évoluer **48** en **47**, nous avons pensé que **47** pouvait être le produit cinétique et **48** le produit thermodynamique de la réaction. La réaction à basse température permet effectivement d'accéder à **47** avec un rendement acceptable de 70% (2 dernières entrées du Tableau XIII).

⁹⁰ Maryanoff B. E. ; Nortey S. O. ; Inners R. R. ; Campbell S. A. ; Reitz A. B. **Synthesis of C-arabinofuranosyl Compounds. Phosphonate and carbohydrate isosteres of D-arabinose 1,5-bis-phosphate.** *Carbohydr. Res.* **1987**, *171*, 259-278.

Tableau XIII : Conditions utilisées pour la synthèse de **47**.

Equivalents de thiol	Réactifs et nombre d'équivalents	Conditions	Rdt 47	Rdt 48
Propane dithiol 3,5 éq.	CH ₃ MeSO ₃ H, 2 éq.	Toluène, TA, 24H	17%	42%
Propane dithiol 2 éq.	CH ₃ MeSO ₃ H, 2 éq.	Toluène, TA, 24H + reflux, 3H	16%	42%
Propane dithiol 4 éq.	CH ₃ MeSO ₃ H, 2 éq.	Toluène, 45°C, 2H	24%	46%
Propane dithiol 4 éq.	37 + CH ₃ MeSO ₃ H, 2 éq., 15min.	Toluène, TA, 24H	33%	45%
Propane dithiol 1,2 éq.	37 + Sc(ClO ₄) ₃ , 0,3 éq.	Et ₂ O, Tamis 4Å, 0°C-TA	0	0
Propane dithiol 1,2 éq.	37 + BF ₃ Et ₂ O, 1 éq.	Et ₂ O, Tamis 4Å, 0°C-TA	0	0
Propane dithiol 1,5 éq.	Dioxanne/ HCl		27%	0
Ethane thiol 5,5 éq.	HCl concentré		0%	0%
Propane dithiol 2 éq.	CH ₃ MeSO ₃ H, 2 éq.	Toluène, -50°C- -15°C, 24H+ TA, 6H	61%	Traces
Propane dithiol 2 éq.	CH ₃ MeSO ₃ H, 2 éq.	Toluène, -50°C- +10°C, 4H+ 10°C, 10H	69%	Traces

L'étape suivante, protection de la position 5 du mannose par un groupement silylé, s'est également avérée être assez délicate. En effet, les essais d'introduction d'un reste *tert*-butyldiphénylsilyle avec le protocole classique faisant appel à l'imidazole ou NaH pour activer l'oxygène 5 n'ont pas donné de résultats. Nous sommes finalement parvenus à protéger l'alcool en position 5 avec un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle, mais en modifiant le protocole trouvé dans la littérature (**Schéma 69**)⁹¹ afin d'améliorer la réactivité (**Schéma 70**).

**Schéma 69** : Protection de l'alcool secondaire en 4 par un TBDMS selon les travaux de Frankowski⁹¹.**Schéma 70** : Protection de l'alcool secondaire en 5 de la molécule **47** par TBDMS.

⁹¹ Frankowski A. ; Deredas D. ; Dubost E ; Gessier F. ; Jankowski S. ; Neuburger M. *et al.* **Stereocontrolled synthesis of imidazolo[1,5]hexopiperidines and imidazol-4(5)-yl-C-glycosides. Tetrahedron** **2003**, *59*, 6503-6520.

A l'heure actuelle, les différentes tentatives de réaction de Pictet et Spengler entre le mannose protégé **49** et le benzyle tryptophanate de méthyle **40** n'ont toujours pas donné la produit **50** attendu... (Schéma 71).

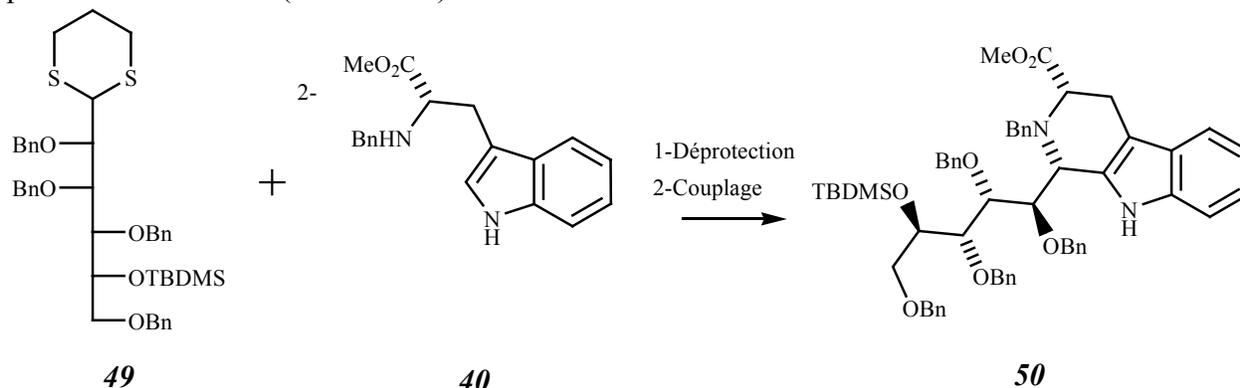


Schéma 71 : Réaction de Pictet et Spengler entre l'aldéhyde **49** et le benzyle tryptophanate de méthyle **40**.

Des travaux sont actuellement en cours pour mener à bien cette dernière étape et terminer cette voie de synthèse. Au vu des travaux de Sakai⁸⁴ (Schéma 56), qui paraissent tout à fait applicables à notre voie de synthèse (Schéma 72), nous avons bon espoir d'arriver à la molécule finale. Toutefois, la stéréosélectivité au niveau du carbone anomérique paraît difficile à prédire.

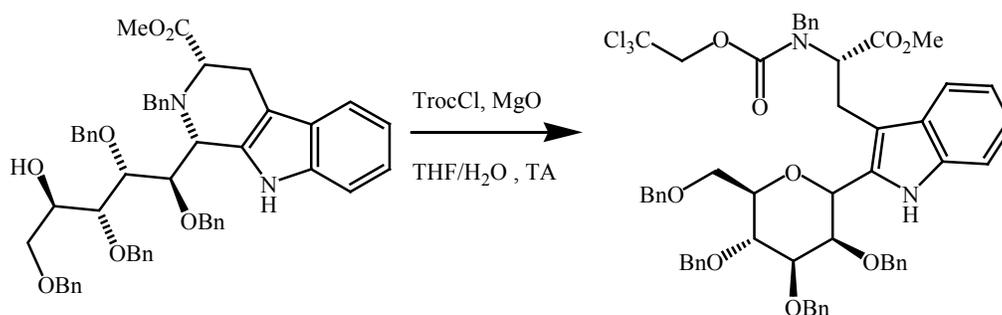


Schéma 72 : Réaction envisagée pour l'ouverture de la tétrahydro- β -carboline.

En cas de succès, le produit obtenu après clivage du Troc par le zinc, serait directement utilisable en synthèse peptidique. Le résidu mannosyle serait ainsi débenzylé en fin de synthèse.

Comme la voie du Pictet et Spengler était ralentie par des difficultés liées à la protection sélective de la position 5 du sucre, nous avons tenté une autre méthode. Celle-ci est également inspirée de biotransformations de l'indole, à savoir la dégradation des noyaux indoliques en kynurénines. Cette biodégradation correspond au clivage oxydatif de la double liaison C₂-C₃ de l'indole.

2-6- Voie des kynurénines ; utilisation de réactions titano-catalysées de type McMurry :

Dans la biotransformation du tryptophane (Schéma 73) le noyau indole est oxydé en *N*-formylkynurénine par la tryptophane-2,3-dioxygénase (TDO), dans le règne animal comme dans le règne végétal⁶¹.

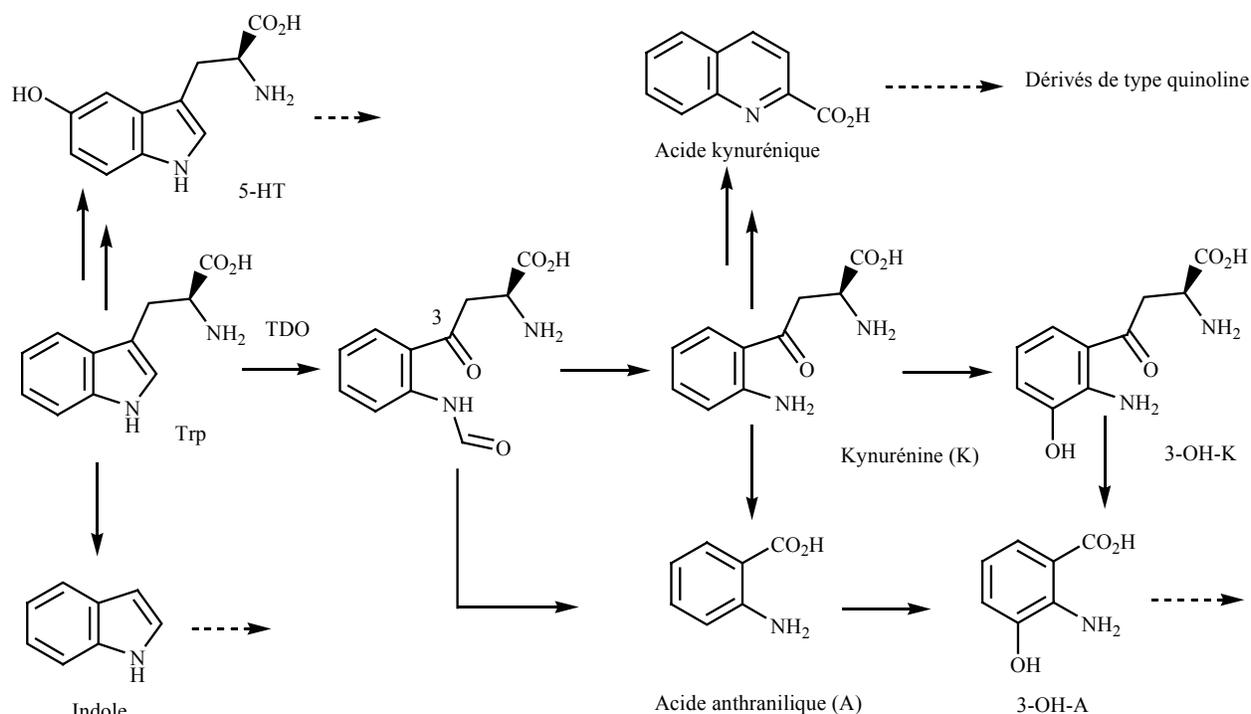


Schéma 73 : Voies de biotransformation du tryptophane.

A la suite de l'oxydation de la position 3 de la chaîne amino-acide, il se forme l'acide kynurénique. Celui-ci, dans les plantes, est à l'origine de nombreux alcaloïdes. Sur le plan expérimental, l'action de la TDO peut être remplacée par celle de l'ozone à condition de protéger la fonction amine. Cette stratégie a permis de mettre au point au Laboratoire une réaction récurrente d'indolisation selon Fischer aboutissant à des macrocycles⁹². Si l'ozonolyse a lieu dans des conditions hydrolytiques, c'est la kynurénine elle-même qui est obtenue. Dans cette oxydation, l'atome de carbone 2 du noyau indolique est perdu : il sera apporté par la suite, par le mannose, préalablement homologué en position anomérique (Schéma 74).

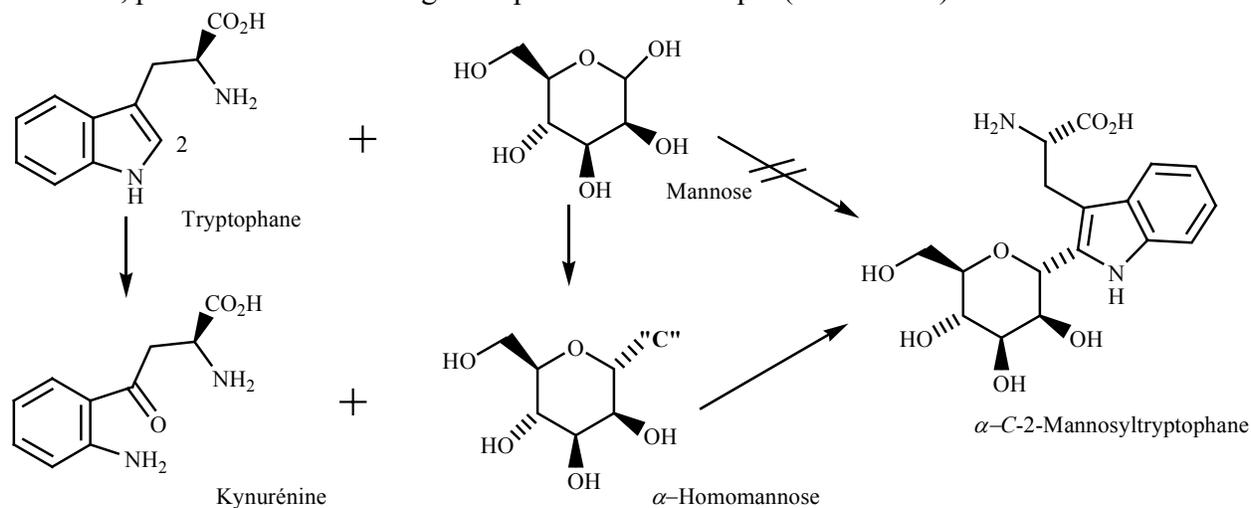


Schéma 74 : Voie des kynurénines.

⁹² Sigaut F. ; Didierdefresse B. ; Lévy J. **Indole as a Tool in Synthesis. Algorithmic Construction of a Family of Compounds with all Ring Sizes Ranging from 10 to 16.** *Tetrahedron* 2000, 56, 9641-9646.

Il nous est rapidement apparu que le carbone apporté par le mannose devait être sous forme de groupement carboxylique.

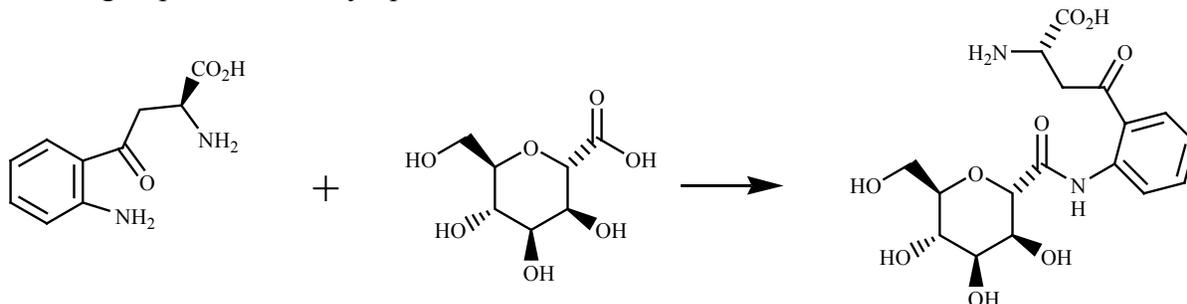


Schéma 75 : Couplage kynurénine-homomannose dans la voie des kynurénines.

En effet, la connexion est réalisée par un couplage acide-amine, facilement mis en œuvre. L'azote de l'aniline se trouve ainsi « auto-protégé » sous forme d'un amide. Enfin, l'application de la réaction de McMurry à la préparation de noyau indolique, développée par Fürstner⁹³ (**Schéma 76**), nous semblait particulièrement intéressante à utiliser car susceptible de développement dans la synthèse de produits naturels indoliques.

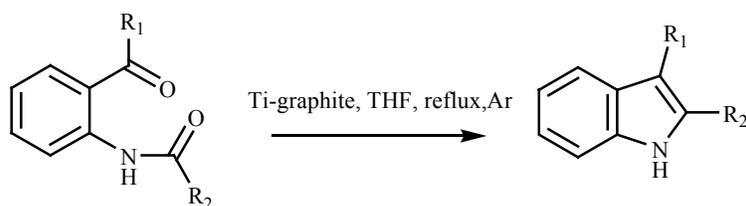


Schéma 76 : Synthèse de noyau indole par réaction de type McMurry.

Entre 1992 et 1998, l'équipe de Fürstner a publié six articles sur le sujet, diversifiant aussi bien les produits de départ (**Schéma 77**)⁹⁴ que la source de titane de basse valence.

⁹³ Fürstner A. ; Jumbam D. N. **Titanium-Induced Syntheses of Furans, Benzofurans and Indoles.** *Tetrahedron* **1992**, *48*, 5991-6010.

⁹⁴ Fürstner A. ; Hupperts A. ; Ptock A. ; Janssen E. "Site Selective" Formation of Low-Valent titanium Reagents: An "Instant" Procedure for the Reductive Coupling of Oxo Amides to Indoles. *J.Org. Chem.* **1994**, *59*, 5215-5229.

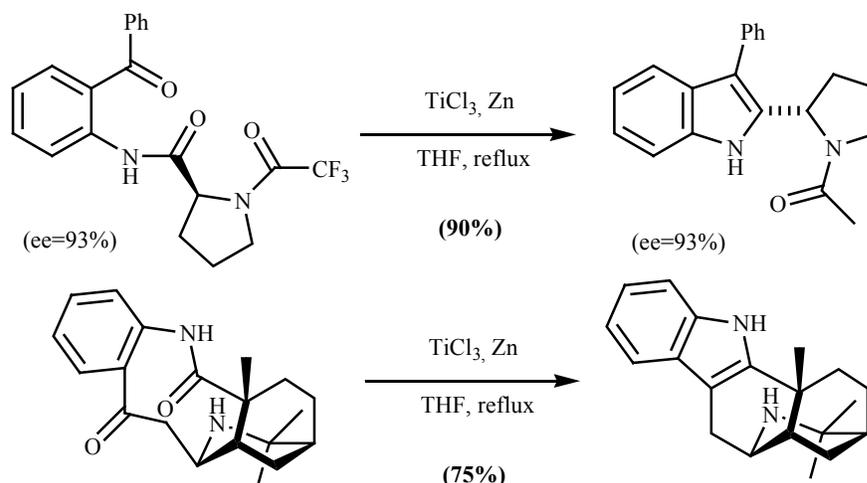


Schéma 77: Exemples de synthèses de noyaux indole réalisées par Fürstner avec du titane de basse valence⁹⁴.

Dans un article de 1995⁹⁵, l'équipe de Fürstner réalise même ce type de couplage de façon catalytique à l'aide de chlorure de triméthylsilyle. Les rendements sont identiques à ceux obtenus avec la procédure classique nécessitant environ deux équivalents. Les auteurs proposent un cycle catalytique, présenté sur le **Schéma 78**, où l'espèce réactive est le Ti^1 .

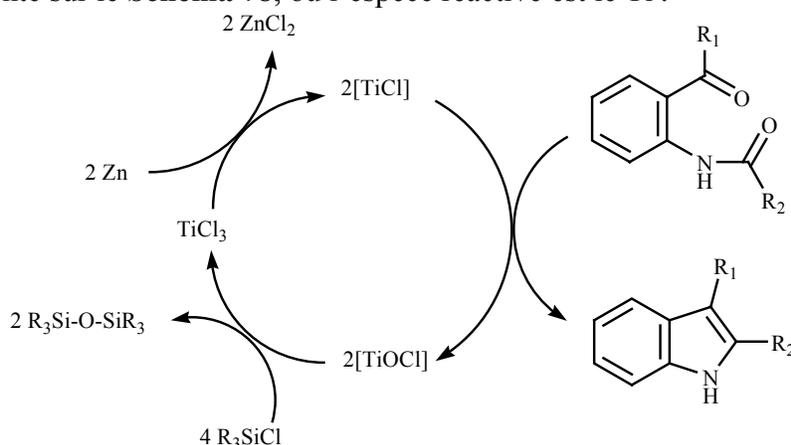


Schéma 78: Cycle catalytique du titane de basse valence proposé par l'équipe de Fürstner.

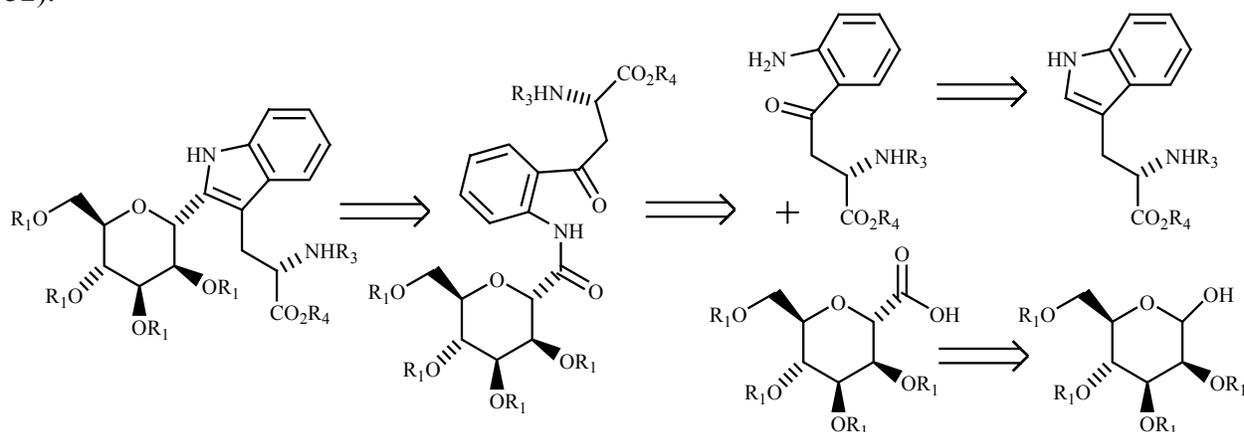
En fait, le mécanisme réactionnel du titane de basse valence n'est pas connu. Dans la majorité des cas, c'est le Ti^0 qui est considéré comme étant l'espèce réactive.

Dans le même article, les auteurs décrivent l'utilisation de poudre de titane commerciale. Le titane métallique est connu pour son inertie ; cette propriété, particulièrement intéressante en mécanique et en médecine, en fait un réactif chimiquement peu attrayant. Cette propriété provient d'une fine couche d'oxydation particulièrement résistante aux attaques chimiques. L'équipe de Fürstner a découvert que, en présence de chlorure de triméthylsilyle à reflux dans le DME ou le THF, cette couche d'oxyde de titane peut être réduite et ainsi exposer Ti^0 aux réactants. Celui-ci

⁹⁵ Fürstner A. ; Hupperts A. **Carbonyl Coupling Reactions Catalytic in Titanium and the Use of Commercial Titanium Powder for Organic Synthesis.** *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4468-4475.

peut alors réagir dans une réaction de type McMurry. Les quelques exemples donnent un rendement équivalent à ceux obtenus sur les mêmes produits avec la méthode « classique ».

La diversité des molécules et des conditions employées ainsi que les bons rendements généralement obtenus nous ont encouragés à développer l'approche suivante (Rappel : **Schéma 32**).



Rappel Schéma 32 : Rétrosynthèse de la voie des kynurénines.

Nous présenterons tout d'abord les travaux relatifs à la préparation des deux synthons : kynurénine et mannose homologué. Suivront le couplage, puis les essais de cyclisation de type McMurry pour conduire à la cible, le C-mannopyrannosyl-tryptophane.

2-6-1- Préparation de la kynurénine :

La réaction classique d'accès aux kynurénines à partir des tryptophanes est une réaction d'ozonolyse, suivie d'un traitement acide pour éliminer le résidu formyle⁹⁶ (**Schéma 79**).

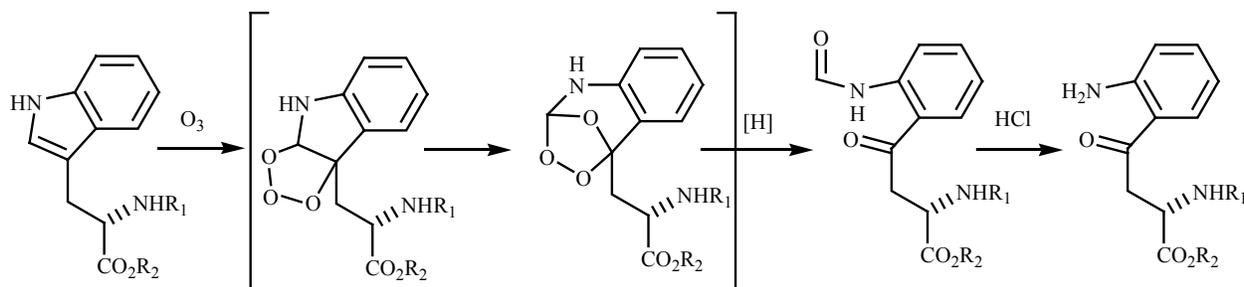
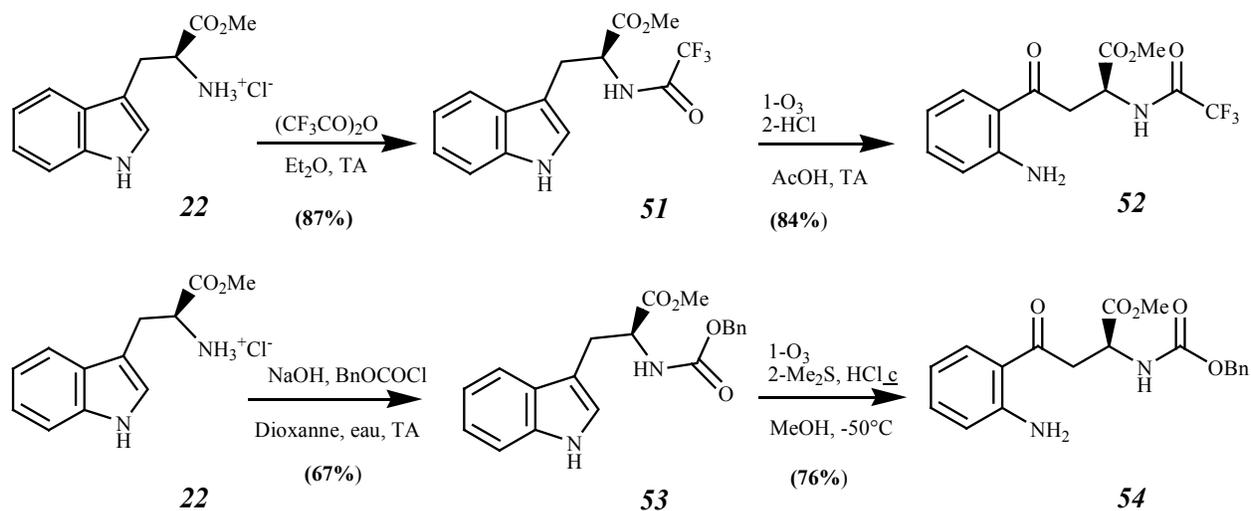


Schéma 79 : Synthèse des kynurénines par ozonolyse du tryptophane.

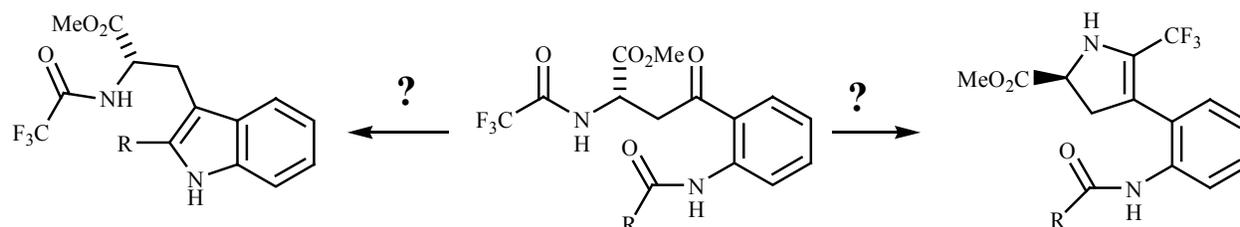
Nous avons donc préparé une série de kynurénines (**Schéma 80**) portant des groupements R_1 et R_2 résistants aux conditions acides et neutralisant l'action du doublet de l'atome d'azote. Ainsi il est possible d'éviter la concurrence des deux fonctions amines lors du couplage de l'étape suivante avec l'acide mannosylcarboxylique. En fait, cette protection est également fortement

⁹⁶ Gellerman G. ; Rudi A. ; Kashman Y. **The Biomimetic Synthesis of Marine Alkaloid Related Pyrido- and Pyrrolo[2,3,4-k]acridines**. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 12959-12972.

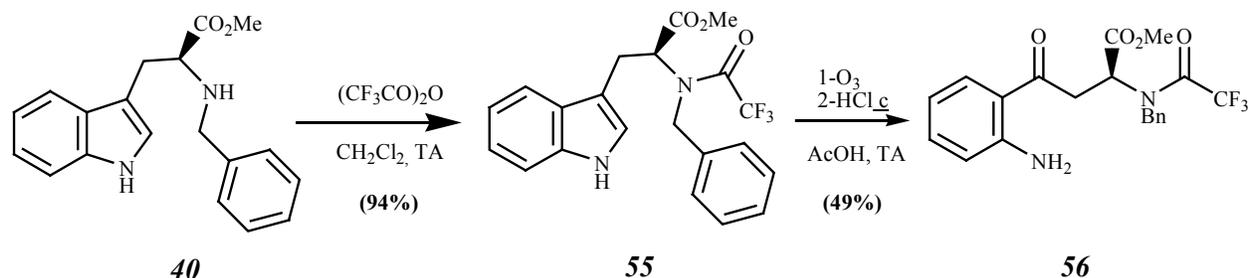
recommandée pour la réaction d'ozonolyse car une amine secondaire libre peut entrer en réaction avec l'ozone ou l'ozonide pour former une multitude de produits secondaires⁹⁷.



Nous nous sommes aperçus que nous risquons une concurrence entre les deux carbonyles lors de la cyclisation de type McMurry (**Schéma 81**).



Nous avons donc préparé des dérivés doublement protégés (**Schéma 82**). En cas de réaction parasite, la fonction trifluoroacétamide aurait pu être clivée sans pour autant donner une amine primaire.



⁹⁷ Bailey P. S. *Ozonation in organic chemistry, Volume II, Nonolefinic Compounds*. New-York : Academic Press, Inc ; 1982 : 155-200.

Une fois ce premier type de synthon obtenu (**56**), nous avons préparé le second partenaire, l'acide homologue du mannose.

2-6-2- Préparation de l'homologue du mannose en série acétyle:

L'homologation du mannose pose deux problèmes : le choix du réactif nucléophile d'homologation et la stéréochimie de la réaction, devant aboutir, dans notre cas, à l'anomère α (**Schéma 83**).

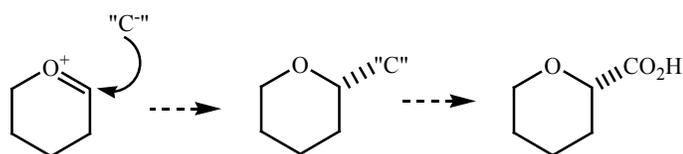


Schéma 83 : Schéma théorique d'accès à l' α -acide homomannose.

Le cyanure, anion stabilisé, nous a semblé la réponse la plus simple à ces problèmes : l'hydrolyse du nitrile conduisant, en une étape, au carboxyle souhaité. De plus, au vu de la littérature, il semblait possible de contrôler la stéréochimie de l'addition en utilisant le mannose acétylé. En effet, le groupement acétyle de la position 2 participe à la sélectivité de l'addition du groupement nitrile en position anomérique⁹⁸ (**Schéma 84**).

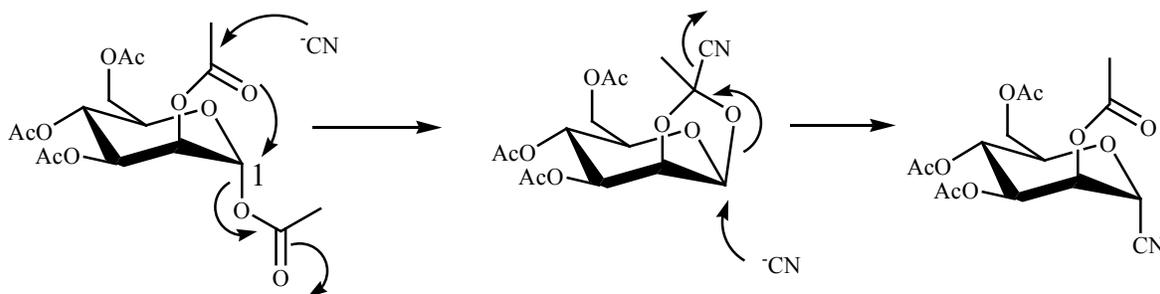


Schéma 84 : Mécanisme de contrôle de la sélectivité de l'insertion du nitrile en α sur le mannose acétylé.

L'équipe de Wong propose deux synthèses de l'acide homologue du mannose avec une protection benzyle des hydroxyles. Dans un premier cas, la fonction carboxylique provient de l'ozonolyse d'une oléfine⁹⁹, dans le second, d'une réaction radicalaire de couplage entre un phosphate de glycosyle et le dioxyde de carbone¹⁰⁰ (**Schéma 85**). Cependant, les schémas synthétiques utilisés par Wong nous ont paru longs.

⁹⁸ Kini G. D. ; Petrie C. R. ; Hennen W. J. ; Dalley N. K. ; Wilson B. E. ; Robins R. K. **Improved and large-scale synthesis of certain glycosyl cyanides. Synthesis of 2,5-anhydro-5-thio-D-allonitrile.** *Carbohydr. Res.* **1987**, *159*, 81-94.

⁹⁹ Wong C. H. ; Moris-Varas F. ; Hung S. C. ; Marron T. G. ; Lin C. C. ; Gong K. W. *et al.* **Small Molecules as Structural and functional Mimics of sialyl Lewis X Tetrasaccharide in Selectin Inhibition: A remarkable Enhancement of Inhibition by Additional Negative Charge and/or Hydrophobic Group.** *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8152-8158.

¹⁰⁰ Wong C. H. ; Hung S. C. **Samarium Diiodide Mediated Coupling of Glycosyl Phosphates with Carbon Radical or Anion Acceptors- Synthesis of C-Glycosides.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2671-2674.

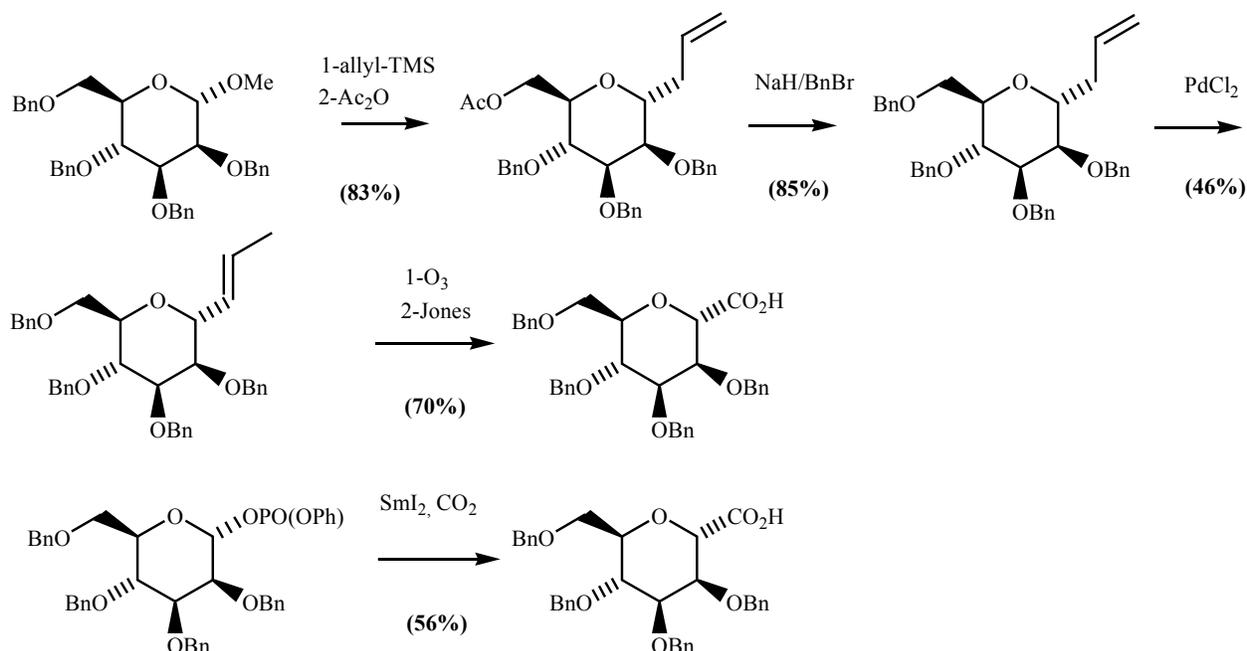


Schéma 85 : Schémas de synthèses de l'acide homologue du mannose selon Wong^{99/100}.

Nous avons préféré suivre les travaux de Myers⁵⁵ : utilisation du mannose peracétylé, du cyanure de triméthylsilyle dans le nitrométhane en présence de BF_3 , Et_2O . (**Schéma 86**)

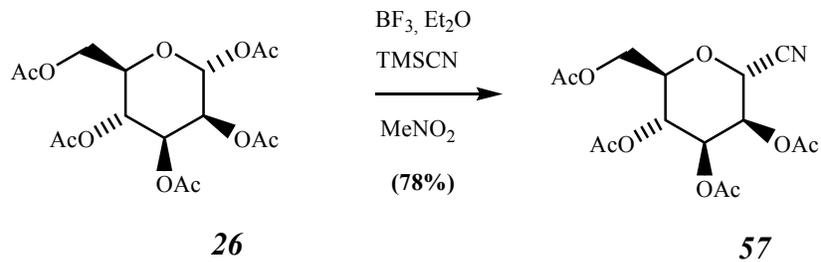


Schéma 86 : Introduction du nitrile en α sur la position anomérique.

Dans la littérature, l'hydrolyse d'un nitrile porté par un sucre acétylé en acide carboxylique peut être réalisée en milieu acide ou alcalin¹⁰¹. Dans le cas du mannose, seules les conditions alcalines avaient été utilisées pour mener à l'acide. Toutefois, Nakamura obtient l'ester de méthyle en position α par une hydrolyse menée dans le méthanol chlorhydrique¹⁰². Dans des conditions basiques d'équilibration, le groupement carboxylique se trouve en position β qui, dans le cas de cet homomannose, semble être l'isomère le plus stable.

¹⁰¹ Myers R. W. Lee Y. C. **Synthesis of diazomethyl β -D-galactopyranosyl and β -D-glucopyranosyl ketones. Potential affinity-labeling reagents for carbohydrate-binding proteins.** *Carbohydr. Res.* **1986**, *152*, 143-158.

¹⁰² Lichtenthaler F. W. ; Klotz J. ; Nakamura K. **(-)-Daucic acid: Proof of D-lyxo configuration, synthesis of its D-ribo, D-xylo, L-arabino and L-lyxo analogs, and biosynthetic implications.** *Tetrahedron Asymmetry* **2003**, *14*, 3973-3986.

Reproduire la synthèse de l'homologue β n'a pas posé de problème. En revanche, l'hydrolyse de ce même nitrile en milieu acide a demandé de nombreux essais afin d'obtenir un rendement acceptable (**Schéma 87**). Ceci est très probablement dû à l'instabilité du mannose déprotégé en milieu acide fort (indispensable à l'hydrolyse du nitrile).

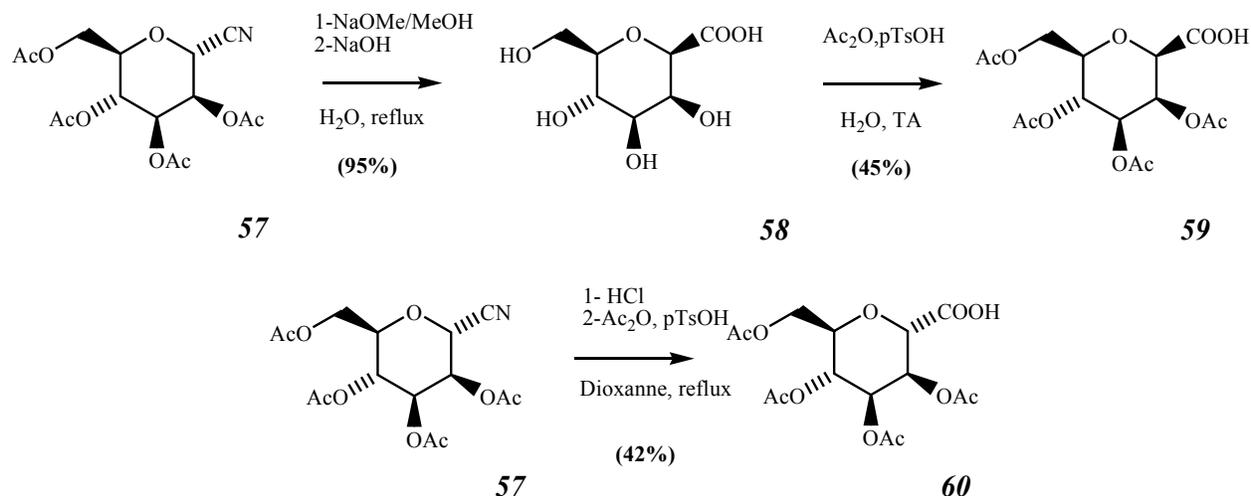


Schéma 87 : Préparation de l'acide homologue du mannose acétylé en configuration β (59) et α (60).

Pour la détermination de la configuration absolue de l'atome de carbone anomérique des sucres, ce sont généralement les constantes de couplage vicinales proton-proton qui sont utilisées, et plus particulièrement le J_{1-2} . Toutefois, comme indiqué dans le **Tableau XIV**, cette technique est difficilement applicable aux dérivés du mannose car cette constante présente des valeurs voisines pour les configurations α et β .

Tableau XIV : Constantes de couplage H_1, H_2 en RMN du proton sur quelques sucres déprotégés¹⁰³.

Glycoside déprotégé	Configuration	
	α : Couplage J_{1-2}	β : Couplage J_{1-2}
Glucose	3,6 Hz	7,8 Hz
Galactose	3,8 Hz	8,0 Hz
Mannose	1,8 Hz	1,5 Hz

Nous avons donc déterminé ces configurations grâce à une méthode plus avancée de RMN 2D homonucléaire, la NOESY. La configuration de C_1 a été déterminée par l'existence, ou non, de corrélations entre le proton anomérique et les protons H-2, H-3 et H-5, liées à une proximité dans l'espace de ces hydrogènes (**Schéma 88**).

¹⁰³ Duus J. Ø. ; Gotfredsen C. H. ; Bock K. **Carbohydrate Structural Determination by NMR Spectroscopy: Modern Methods and Limitations**. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 4589-4614.

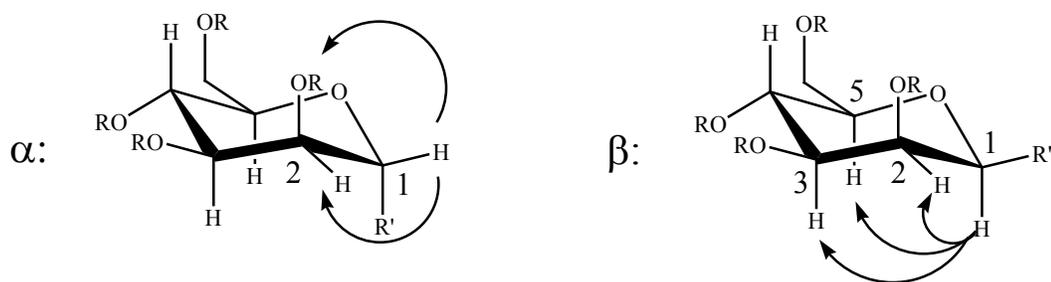


Schéma 88 : Corrélations observées dans les expériences de RMN NOESY pour les dérivés α et β du mannose.

Dans la configuration α , une corrélation est également régulièrement observée entre le proton anomérique et le groupement protecteur de l'oxygène en 2. Cette méthode de détermination implique une attribution précise des signaux des spectres RMN du proton. Celle-ci a été réalisée à l'aide des spectres d'expériences bidimensionnelles de RMN : HMBC, HSQC et COSY. Il est à noter que la détermination de configuration représentée sur le **Schéma 88** n'est valable que dans le cas d'une conformation chaise 4C_1 . Pour le mannose, cette conformation est privilégiée dans la plupart des cas. Toutefois, il peut y avoir une inversion de la forme chaise dans les cas où le substituant de la position anomérique est en configuration α et qu'il est très encombrant. Les travaux de détermination structurale de Isobe⁵⁸ montrent bien ce phénomène (**Schéma 89** et **Tableau XV**) et ses conséquences sur la valeur des constantes de couplage proton-proton.

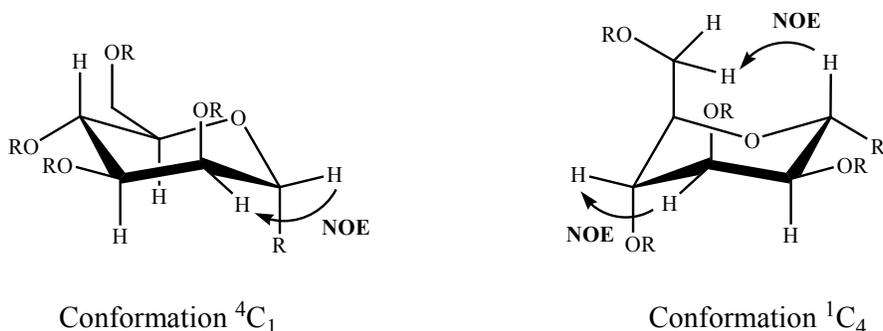


Schéma 89 : Conformation 4C_1 et 1C_4 du mannose 1- α substitué.

Tableau XV : Couplages vicinaux et conformation de différents mannoses α -substitués.

	J_{H1-H2}	J_{H2-H3}	J_{H3-H4}	J_{H4-H5}	Conformation
α -D-Mannose	1,8 Hz	3,8 Hz	10,0 Hz	9,8 Hz	4C_1
	2,5 Hz	2,5 Hz	9,0 Hz	9,0 Hz	4C_1
	2,5 Hz	2,5 Hz	9,0 Hz	9,0 Hz	4C_1
	5,0 Hz	2,5 Hz			${}^4C_1 \leftrightarrow {}^1C_4$
	2,5 Hz	2,5 Hz	8,5 Hz	8,5 Hz	4C_1
	9,5 Hz	2,5 Hz	4,0 Hz	1,5 Hz	1C_4
	8,0 Hz	3,0 Hz	5,0 Hz	3,0 Hz	1C_4

D'après les valeurs de couplage obtenues pour le proton anomérique, toutes les molécules que nous avons synthétisées ont conservé la conformation 4C_1 . Grâce aux expériences de RMN NOESY, nous avons donc pu déterminer avec certitude la configuration absolue des centres anomériques avant d'engager nos sucres homologués dans les réactions de couplage.

2-6-3- Essais préliminaires de couplage et de réaction de McMurry en série mannosyle peracétylé :

Malgré les bons résultats généralement obtenus au Laboratoire avec ce réactif¹⁰⁴, les premiers essais de couplage entre l'acide (**58**) et la kynurénine (**52**), effectués à l'aide de DMTMM³⁶, ont donné des rendements assez faibles (**Schéma 90**). Ces résultats s'expliquent par la faible réactivité de l'atome d'azote de l'aniline (encombrement, désactivation).

¹⁰⁴ Laronze M. ; Boisbrun M. ; Léonce S. ; Pfeiffer B. ; Renard P. ; Lozach O. *et al.* **Synthesis and anticancer activity of new pyrrolo-carbazoles and pyrrolo-b-carbolines.** *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2263-2283.

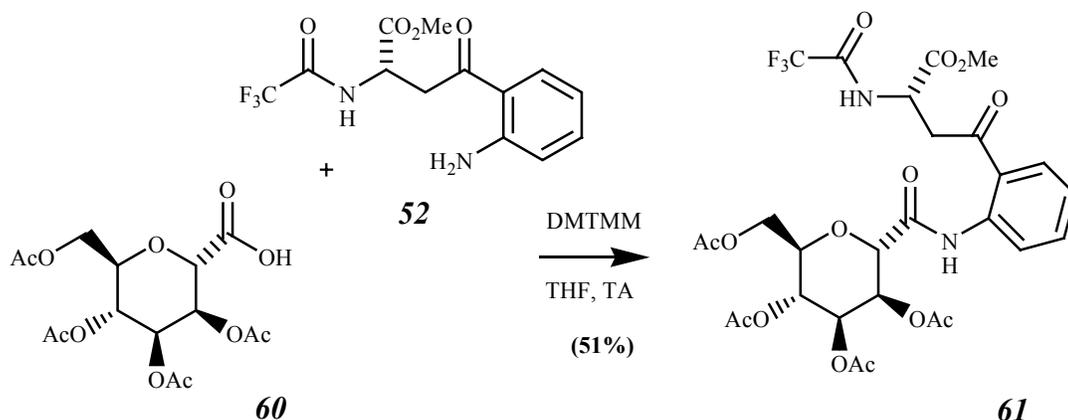


Schéma 90 : Couplage de l'acide 58 avec l'amine 52.

Nous avons également préparé par d'autres méthodes de couplage, quelques dérivés moins complexes afin d'effectuer des essais : le premier portant un groupement acétyle **62** et le second un groupement malonyle **63** (Schéma 91).

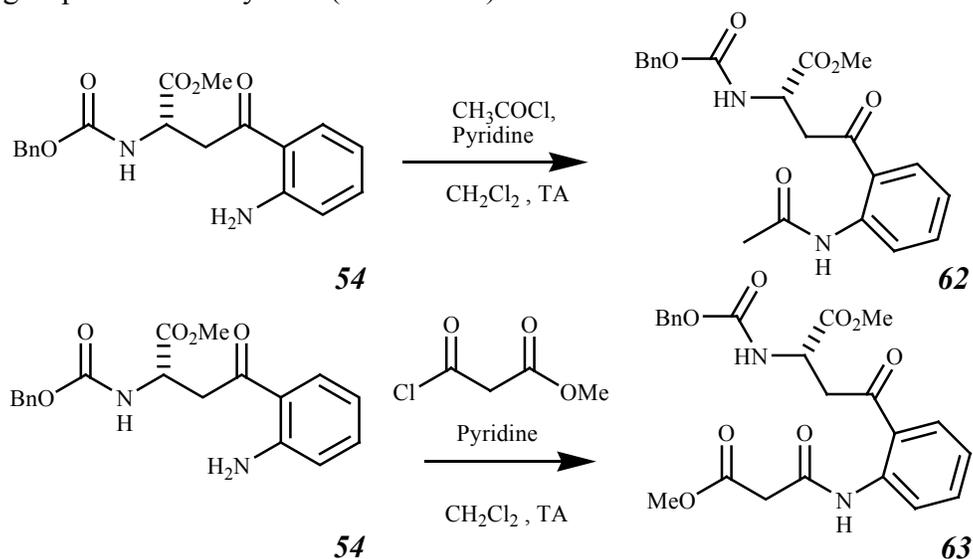


Schéma 91 : Préparation de dérivés céto-amides moins complexes.

Nous avons débuté nos essais de réactions de McMurry, dans les conditions décrites par Fürstner (TiCl_3 commercial, Zn poudre, DME à reflux sous atmosphère inerte stricte), sans obtenir le résultat souhaité. Dans ces conditions, le produit **61** s'est même avéré être peu stable. Les essais sur les molécules **62** et **63** n'ont pas donné davantage de résultats. Nous avons alors tenté de complexer le TiCl_3 avec le DME comme décrit par McMurry¹⁰⁵. L'échec de cette dernière réaction nous a montré l'inactivité de l'échantillon de TiCl_3 que nous possédions au Laboratoire. Ceci est tout à fait en accord avec les remarques trouvées fréquemment dans les publications sur les réactions de type McMurry conseillant d'employer un réactif fraîchement préparé. Ayant attendu un an la livraison de notre commande de TiCl_3 , nous avons eu le temps de

¹⁰⁵ McMurry J. E. ; Rico J. G. **Synthesis of 1,2-cycloalkanediols by intramolecular titanium-induced pinacol coupling**. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 1169-1172.

redéfinir notre stratégie. Comme précédemment, il est apparu que la protection des atomes d'oxygène des hydroxyles du mannose sous forme acétylée est peu compatible avec les conditions acides de la réaction de McMurry ; de plus, les nombreuses fonctions carbonylées sont autant de piège pour le titane. Il nous a semblé opportun d'utiliser des groupements benzyles (*vide supra* 37,39), même si de tels éthers peuvent être clivés en milieu acide fort... Nous avons également recherché les différentes stratégies de synthèse du TiCl_3 afin de pouvoir le préparer extemporanément.

2-6-4- Préparation de l'homologue du mannose en série benzyle:

Nous avons débuté cette synthèse à partir du mannose benzylé 37 précédemment préparé (Schémas 44 et 46). Toutefois, sur les conseils du Professeur Arnaud Haudrechy, nous en avons effectué la synthèse différemment (Schéma 92). Cette nouvelle stratégie¹⁰⁶, plus complexe au premier abord, s'avère être plus reproductible et bien moins coûteuse en temps de purification.

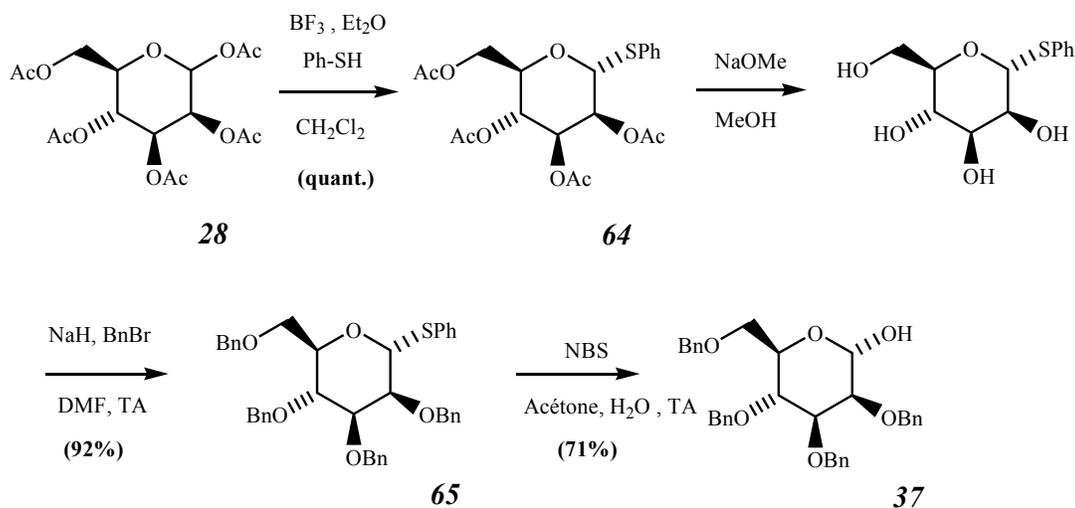


Schéma 92: Synthèse du tétrabenzyle α -D-mannopyrannoside selon la stratégie de Penadès⁸⁰.

Nous avons logiquement débuté nos essais par une réaction analogue à celle employée pour la série acétyle, c'est à dire par l'addition du cyanure de triméthylsilyle sur la position anomérique du dérivé acétylé 39. Toutefois, nous avons changé d'acide de Lewis au profit du perchlorate de scandium 66. En effet, cet acide a donné de bons rendements et une forte sélectivité lors de réactions de ce type sur d'autres sucres¹⁰⁷. Utilisé en quantité catalytique, cet acide de Lewis peut être récupéré dans la phase aqueuse après traitement de la réaction. Son prix (environ 70 € le gramme) peut paraître élevé mais il est facilement préparé à partir d'oxyde de scandium (45 € le gramme) (Schéma 93), et du fait de son utilisation en quantité catalytique, il n'est pas plus coûteux qu'un autre acide de Lewis.

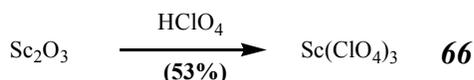


Schéma 93 : Préparation du perchlorate de scandium.

¹⁰⁶ Charbonnier F. ; Penadès S. A Straightforward Synthesis of 1-Adamantylmethyl Glycosides, and Their Binding to Cyclodextrins. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3650-3656.

¹⁰⁷ Hachiya I. ; Kobayashi S. Scandium (III) Perchlorate ($\text{Sc}(\text{ClO}_4)_3$). A novel Catalyst in the α -C- and N-Glycosylation Reactions. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 3319-3320.

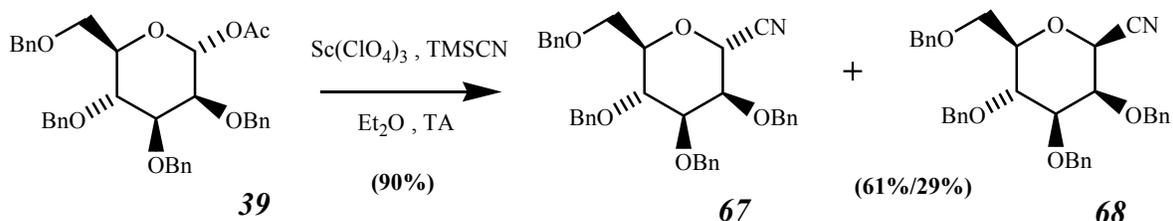


Schéma 94 : Préparation de l'homologue cyano- du mannose benzylé.

Cette réaction conduit à un mélange des deux anomères **67** et **68**. Celui attendu (α : **67**) est majoritaire. Nous avons tenté de modifier les conditions expérimentales (température, concentrations, solvant) pour favoriser la formation de **67** par rapport à **68**, mais le rapport de 2 pour 1 a toujours été conservé. Malgré sa médiocre sélectivité, cette réaction a l'avantage d'être très « propre » en comparaison de celle utilisant BF_3 , Et_2O . Les deux produits obtenus sont facilement séparés. Nous avons ainsi pu accéder à des quantités convenables du produit α **67** pour pouvoir effectuer les tentatives d'hydrolyse de la fonction nitrile.

Comme pour la série acétyle, l'hydrolyse en milieu alcalin n'a pas posé de problème particulier (**Schéma 95**). Nous avons cependant remarqué la présence récurrente, quelles que soient les conditions employées (avec **67** seul ou en mélange **67/68**), du produit secondaire d'élimination **69** en proportion variable mais non négligeable (entre un quart et un dixième du rendement global). Malheureusement le produit **70** obtenu présente, comme en série acétyle, la configuration β .

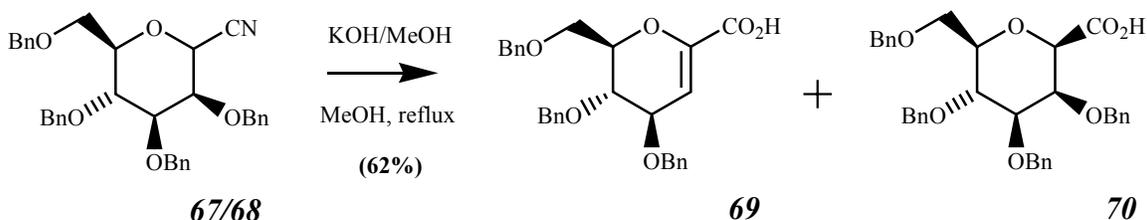


Schéma 95 : Hydrolyse du nitrile en série mannose benzylé.

En revanche, lors de l'hydrolyse en milieu acide, quelles que soient les conditions employées, nous ne sommes jamais parvenus à dépasser le stade amide **71**. Nous avons également tenté de transformer ce nitrile en ester méthylique ou allylique que nous aurions ainsi pu déprotéger sélectivement dans des conditions non racémisantes. Dans tous les cas, soit le produit de départ reste intact, soit il est transformé en amide (**Schéma 96**).

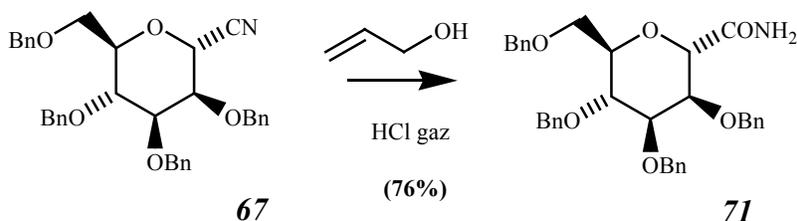


Schéma 96 : Tentative de synthèse de l'ester allylique à partir du nitrile **67**.

Devant ce nouveau revers, nous avons recherché d'autres groupements susceptibles d'être fixés en position anomérique pour être, par la suite, transformés en acide carboxylique. Trois hétérocycles, potentiellement précurseurs de cette fonction, peuvent être liés en position anomérique : le furanne, le thiazole et le benzothiazole (**Schéma 97**).

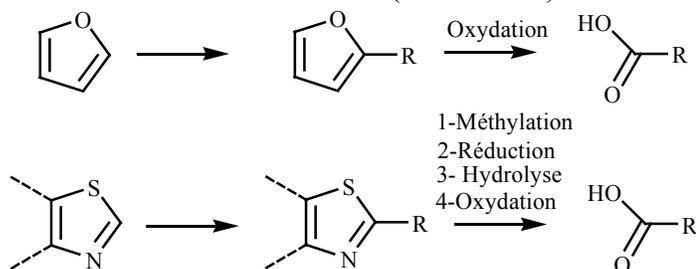


Schéma 97 : Quelques hétérocycles précurseurs de la fonction carboxylique.

Leur clivage oxydatif, suivi d'un aménagement fonctionnel dans le cas des noyaux thiazole, permet l'introduction de la fonction carboxylique souhaitée. Nous avons donc tenté ce type d'addition sur le mannose benzylé, à l'aide d'acides de Lewis et notamment le perchlorate de scandium. Si les résultats obtenus avec les hétérocycles à noyaux thiazole n'ont pas été concluants, nous avons pu obtenir le dérivé du furanne avec un rendement acceptable (**Schéma 98**). Ce qui est remarquable dans cette réaction, c'est la sélectivité totale pour la configuration α sur le sucre obtenu.

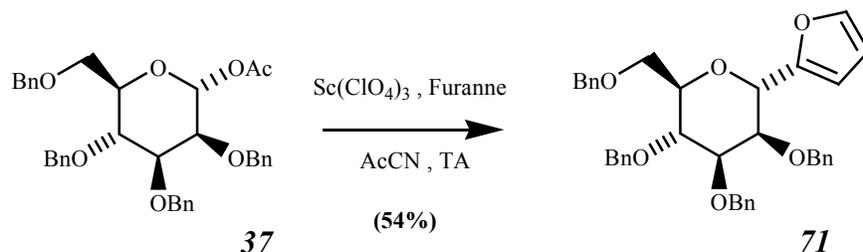
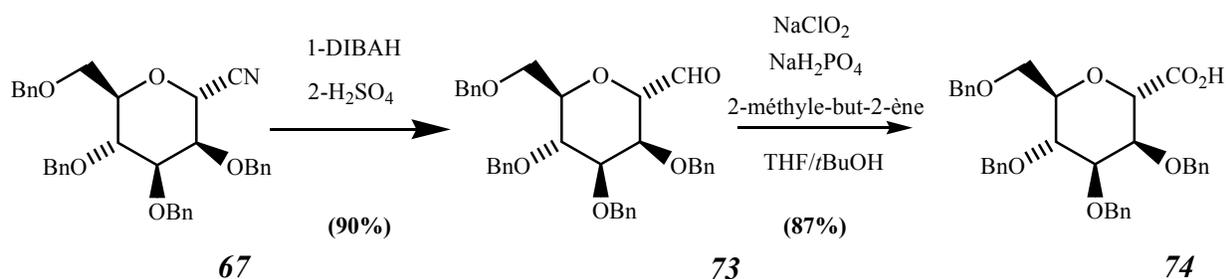


Schéma 98 : Synthèse du dérivé furannyle du mannose benzylé.

Malheureusement, toutes les méthodes d'oxydation appliquées (RuCl₃, RuO₂, KMnO₄, O₃...) à notre dérivé **71** ont mené à des mélanges complexes. Seules les réactions d'ozonolyse ont conduit à l'acide recherché, mais en faible quantité et celui-ci n'a pu être isolé. Cette réaction facile d'introduction du furanne en position anomérique n'a malheureusement pas pu être reproduite avec l'indole ou des dérivés du tryptophane (**Tableau IX**, page 44).

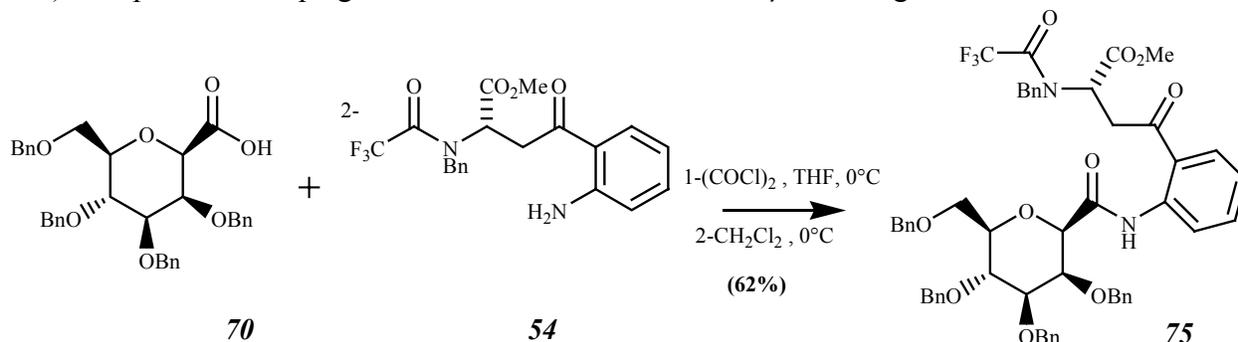
Si les réactions sur les thiazoles n'ont pu aboutir, elles nous ont toutefois permis d'imaginer une autre voie d'accès à l'acide recherché à partir du nitrile. En effet, si l'hydrolyse du nitrile s'avère délicate en milieu acide, la réduction en imine suivie de l'hydrolyse en aldéhyde est plus aisée (**Schéma 99**). L'oxydation de cet aldéhyde conduit à l'acide voulu **74** dans des conditions non racémisantes, avec un rendement global satisfaisant de 78%.

Schéma 99 : Synthèse de l' α -acide du mannose benzylé.

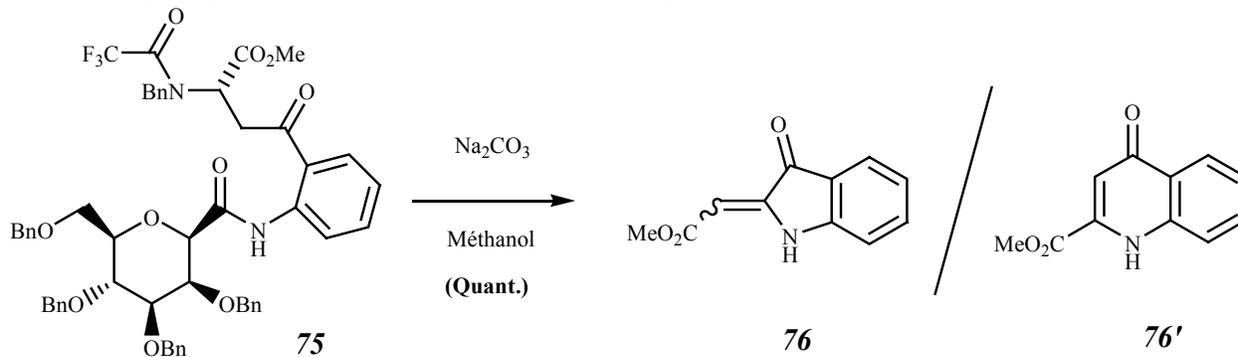
Nous avons par la suite couplé les deux acides (α **74** et β **70**) de l'homomannose aux dérivés kynuréniques protégés.

2-6-5- Couplage des mannoses benzylés aux kynurénines :

Les couplages effectués à l'aide de DMTMM n'ayant donné que des résultats médiocres, nous avons utilisé la stratégie classique de couplage du chlorure d'acide avec l'amine (**Schéma 100**). Les premiers couplages ont été effectués sur le dérivé β homologué du mannose.

Schéma 100 : Couplages de l'acide β -homologue du mannose benzylé à la kynurénine **54**.

Comme nous l'avions initialement prévu, nous avons tenté de cliver la protection trifluoroacétamide ; cependant, ni des conditions faiblement basiques, ni l'utilisation d'hydrazine n'ont permis cette déprotection. Lors d'un essai de déprotection au carbonate de sodium dans des conditions plus poussées, nous avons observé une cyclisation inattendue (**Schéma 101**).

Schéma 101 : Essai de déprotection de **75**.

L'analyse des spectres de RMN du proton et du carbone nous a fait envisager deux structures **76** et **76'** pour le produit obtenu. Une étude bibliographique nous a permis de voir que ces deux molécules avaient déjà été synthétisées : le dérivé de l'indole par l'équipe de Mérour¹⁰⁸ et la quinoline notamment par l'équipe de Dalpiaz¹⁰⁹. La description de leurs propriétés spectrales permet de dire que le produit obtenu correspond au 2-acryloyl-indole **76**. Il est à noter que le spectre de **76'** montre que ce dérivé est dans ce cas sous forme aromatique : 3-hydroxy-quinoléine, contrairement aux isomères de position en 3 de la fonction carboxylique (antibiotiques de la famille des acides quinolinecarboxyliques).

L'obtention, en deux ou trois (si l'acylation est nécessaire) étapes à partir du tryptophane protégé, de ce type de dérivé semble particulièrement intéressante. (Schéma 102).

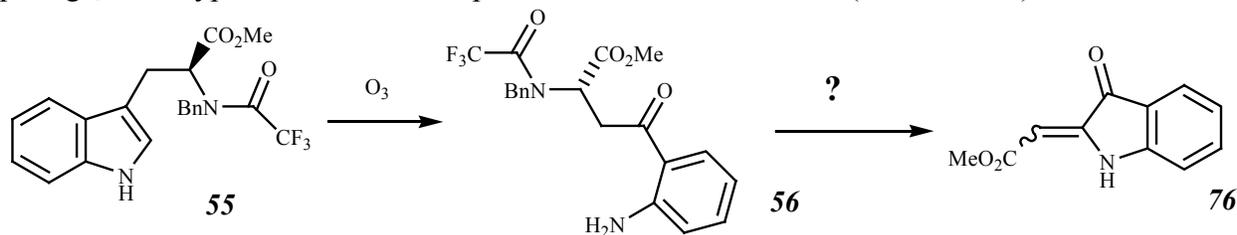


Schéma 102 : Synthèse envisagée de **76** par **55**.

En effet, les synthèses précédentes de ce dérivé, proposées par Mérour, consistent soit en une aldolisation du 3-oxindole (19%) soit en une insertion d'éthyl-nitroacétate sur le dérivé triflique de l'oxindole *N*-acétylé (56%)¹¹⁰. Ce sont des réactions délicates et qui ne présentent pas de bons rendements ; elles sont peu adaptées à la préparation d'un produit de départ d'une synthèse multi-étapes. Pourtant, ce dérivé est particulièrement intéressant, notamment pour synthétiser des hétérocycles par réaction de Diels-Alder (Schéma 103).

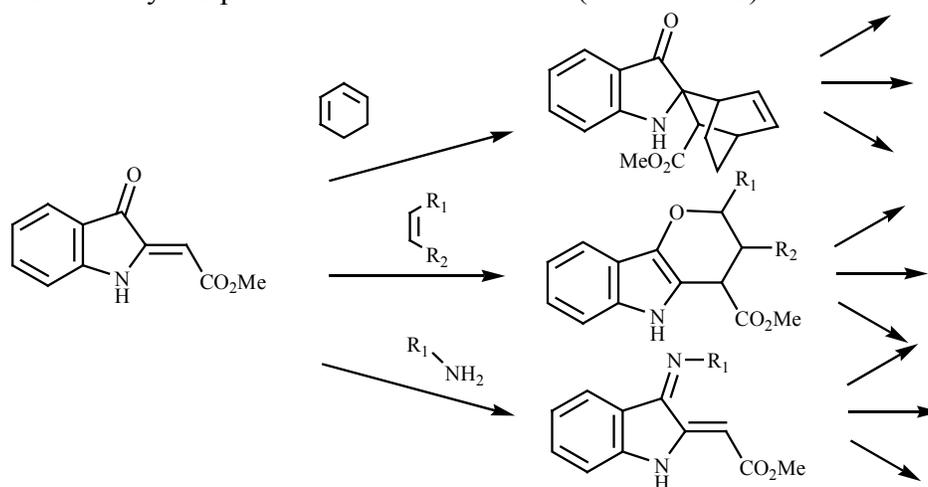


Schéma 103 : Synthèses réalisées à partir du synthon **76**.

¹⁰⁸ Mérour J. Y. ; Chichereau L. ; Desarbre E. ; Gadonneix P. **Synthesis and Reactivity of (3-Oxo-2,3-dihydro-1*H*-ylidene)acetic Acid Alkyl Esters in Diels-Alder Reactions.** *Synthesis* **1996**, 519-524

¹⁰⁹ Mandrefini S. ; Vertuani S. ; Pavan B. ; Vitali F. ; Scaglianti M. ; Bortolotti F. *et al* **Design, synthesis and in vitro evaluation on HRPE cells of ascorbic and 6-bromoascorbic acid conjugates with neuroactive molecules.** *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 5453-5463.

¹¹⁰ Malapel-Andrieu B. ; Mérour J. Y. **Réactions of ((Trifluorométhyl)sulfonyl)oxy)-1*H*-indole Derivatives With Diamines and Carbon nucleophiles. Synthesis of 6*H*-Indolo[2,3-*b*]quinoxaline Dérivatives.** *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 11095-11110.

Nous avons donc remis à plus tard l'étape de clivage de l'amide trifluoroacétique, et avons préparé le produit non benzylé **77**, avec la configuration α au niveau du carbone anomérique (**Schéma 104**).

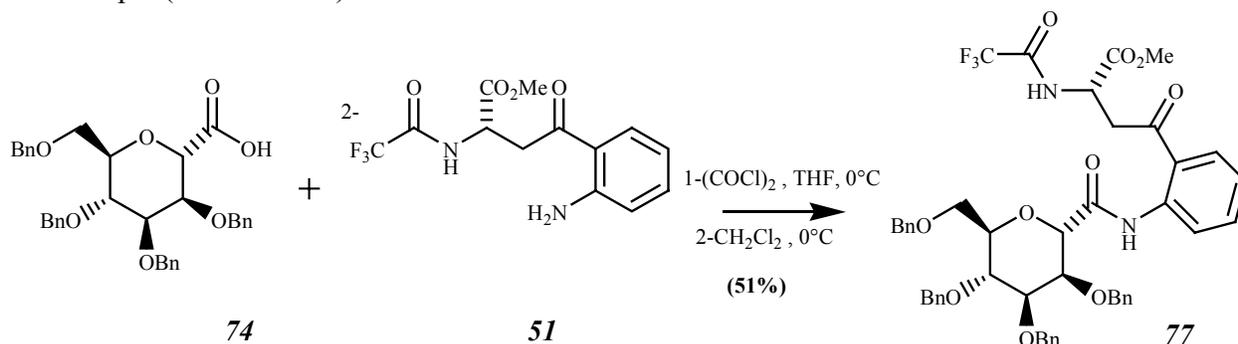


Schéma 104 : Couplage de l'acide homologue du β -mannose benzylé à la kynurénine protégée.

Les molécules **75** et **77** ont ainsi pu être engagées dans des réactions de type McMurry.

2-6-6- Cyclisation par réaction de type McMurry :

Ayant finalement reçu le flacon de TiCl_3 de chez ALDRICH, nous avons pu effectuer quelques tests afin de mettre au point les conditions réactionnelles. Nous avons pour cela choisi une cétone dont la réactivité dans ce type de réaction est connue : la fluorénone. En quelques essais, nous sommes parvenus à obtenir le dimère **78** avec de très bons rendements (**Schéma 105**).

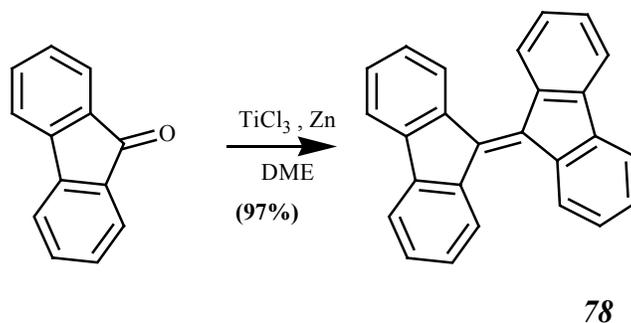


Schéma 105 : Réaction de type McMurry sur la fluorénone.

Nous avons utilisé ces mêmes conditions réactionnelles sur le dérivé β **75**, ce qui a permis d'obtenir le β -C-2-mannosyltryptophane **79**, mais avec un rendement très faible de 10 % (**Schéma 106**).

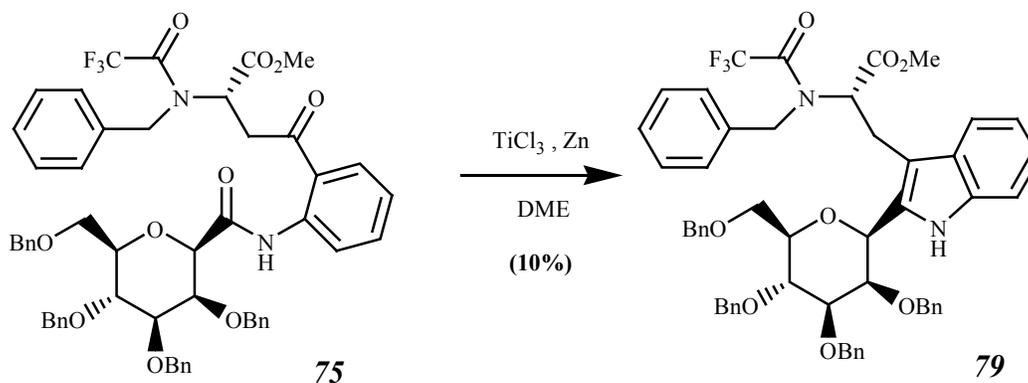


Schéma 106 : Cyclisation du dérivé **75** en système indolique **79** par réaction de type McMurry.

Afin d'améliorer ce rendement nous avons diversifié les conditions et notamment les sources de titane de basse valence et les sources de zinc ; à savoir, du titane métal⁹⁴ associé au TMSCl ou du TiCl_4 réduit à l'aide de zinc. Dans la majorité des cas, ces nouvelles conditions, appliquées à la fluorénone, permettent d'obtenir le bis-fluorénylidène **78**. En revanche, appliquées à la synthèse des noyaux indole, elles ne nous ont jamais permis d'améliorer le rendement que nous avons obtenu initialement.

Nous avons également préparé TiCl_3 , selon deux stratégies différentes qui ne conduisent pas à des cristaux de TiCl_3 de même nature, ni de même réactivité. La première technique est une réduction du TiCl_4 par l'hexaméthylsilane (**Schéma 107**)¹¹¹.



Schéma 107 : Préparation de TiCl_3 selon Andersen¹¹⁰.

Cette réaction présente au moins deux avantages : elle est effectuée sans solvant et conduit au mélange TiCl_3 et TMSCl, deux réactifs de la réaction de McMurry. Curieusement, nous ne sommes jamais parvenus à effectuer de réaction de McMurry avec le trichlorure de titane ainsi formé. Ceci peut s'expliquer par la nature du TiCl_3 , qui est obtenu sous forme β (de coloration brun foncé) ; or le TiCl_3 commercial est sous forme δ (de coloration pourpre) et il a été remarqué de grandes différences de réactivité entre les deux formes notamment dans les réactions de polymérisation de certaines oléfines (principal usage industriel du trichlorure de titane)¹¹². Nous avons donc également préparé TiCl_3 type δ selon la méthode fournie par le brevet de Goko¹¹². Il s'agit d'une réduction de TiCl_4 par le chlorure de diéthylaluminium dans le benzène en présence d'éther butylique normal. Cette réaction est particulièrement délicate du fait de ses

¹¹¹ Hermes A. R. ; Girolami G. S. ; Andersen R. A. **An active form of titanium(III) chloride**. *Inorg. Synth.* **1998**, 32, 309-310.

¹¹² Goko N. ; Uehara Y.

Process for preparing solid titanium trichloride useful for the polymerization of an α -olefin.

Mitsubishi Chemical Industries, Ltd.

USA

Brevet, **1985**, 4,534,953

constituants et des conditions employées. Les durées de chaque étape, et principalement celles de précipitation (après l'ajout de chlorure de diéthylaluminium et lors du refroidissement après le chauffage à 95°C), sont particulièrement importantes afin de pouvoir récupérer les cristaux TiCl_3 formés par filtration sous vide sur verre fritté (**Schéma 108**). Le trichlorure de titane est isolé par filtration sous argon dans une boîte à gants et est stocké également sous argon.

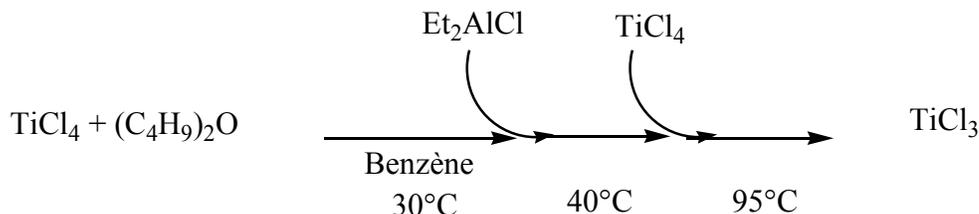


Schéma 108 : Préparation de TiCl_3 par réduction du TiCl_4 selon Goko¹¹¹.

Les cristaux de TiCl_3 ainsi obtenus ont été utilisés dans des tentatives de cyclisation de type McMurry mais ne nous ont pas encore permis d'obtenir le α -C-2-mannopyrannosyl tryptophane. Toutefois, un essai appliqué au dérivé malonylé **61** nous a permis d'accéder au dérivé indolique **80** mais, malgré une conversion totale en 30 minutes (suivie sur chromatographie sur couche mince), cette réaction n'a fourni, après traitement, qu'un rendement modeste de 6% (**Schéma 108**).

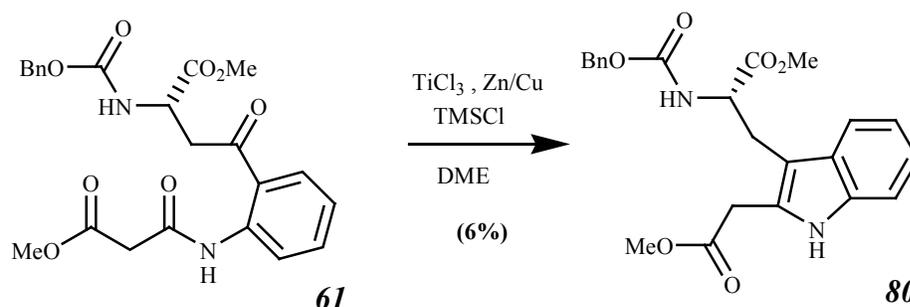


Schéma 109 : Cyclisation du dérivé malonylé **61** en indole bisubstitué.

Des travaux sont actuellement en cours afin d'obtenir la molécule cible (**2**) à partir de ce type de réaction.

3- Conclusions :

Au cours de ces années de thèse, j'ai rencontré un certain nombre de problèmes se rapportant à la synthèse multi-étapes qui caractérise la préparation des produits naturels ou à visée biologique. La spécificité structurale de la cible fait que bon nombre de méthodes chimiques, mises au point sur des modèles simples, nécessitent des aménagements, voire des modifications substantielles pour être efficaces. Le choix des groupements protecteurs est un point fondamental : il conditionne le choix du schéma rétrosynthétique en autorisant, ou non, tel ou tel type de réactif ; ceci n'empêchant pas quelques surprises, comme par exemple, l'impossibilité de cliver un trifluoroacétamide.

L'identification des produits de réaction est grandement aidée par un accès aisé aux expériences spectrales de RMN et de masse. Dans les cas les plus complexes, seule une étude approfondie de ces spectres nous ont permis de mettre en évidence de faibles différences, comme dans le cas des configurations α et β du mannose.

Ce travail m'a également montré la nécessité de toujours garder une vision globale : associer un sucre, un indole et une chaîne α -amino-acide ne doit pas être appréhendé comme l'addition des spécificités de la chimie des glycanes, des hétérocycles et des peptides. Les voies suivies par la Nature, quand elles sont connues, peuvent guider les chimistes dans les choix des schémas rétrosynthétiques. C'est une stratégie qui a été initiée dans notre Unité CNRS par le Professeur Jean Le Men, et suivie avec succès par le Professeur Jean Lévy durant toute sa carrière. Nous pensons que la voie jugée « biomimétique » de l'ouverture de la tétrahydro- β -carboline sera rapidement menée à bien.

C'est à mon initiative qu'a été explorée la voie des kynurénines passant par un couplage de type pinacolique. Nous pensons que, appliquée au tryptophane, cette voie possède un potentiel important pour la synthèse de dérivés de l'indole. La réaction d'ozonolyse de la double liaison C₂-C₃, même pour les composés indoliques complexes, est une réaction connue et facile à mettre en œuvre, de plus elle respecte la chiralité des molécules.

Réalisée en tandem avec une réaction de type McMurry, cette réaction permet d'envisager un grand nombre de combinaisons dans lesquelles le fragment rapporté est attaché à la position 2 de l'indole qui est justement celle qu'il est difficile de fonctionnaliser.

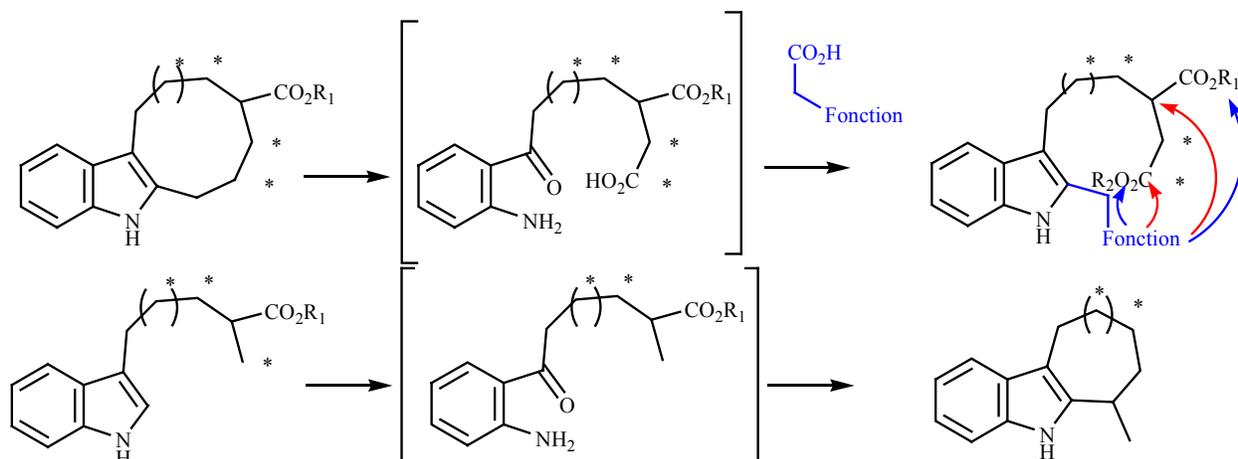


Schéma 110 : Perspectives d'utilisation de la voie des kynurénines en synthèse.

Les produits intermédiaires d'ozonolyse (figurés entre crochets) libèrent des fonctions complémentaires (amines et carboxyles) dont la réaction permet des réarrangements par acylation de l'azote, ou aldolisation des fonctions carbonyles. Cette voie a été exploitée avec profit au Laboratoire par le passé.

La réacylation de l'atome d'azote par un dérivé fonctionnel d'un acide (représenté en bleu sur le **Schéma 110**), permet non seulement de régénérer, selon une réaction de type McMurry, le

noyau indolique, mais aussi de créer de nouvelles liaisons avec les autres fonctions carboxyliques (flèches bleues) ou les atomes de carbone que ces dérivés activent (flèches rouges).

En ce qui concerne la synthèse des dipeptides analogues de l'IM862, nous n'avons pas pu valider notre hypothèse d'une forme active pyroglutamique. Les tests biologiques ne nous ont pas non plus permis de juger de l'efficacité des analogues incorporant des tryptophanes β -substitués. Cette partie de mon travail n'a pas présenté de complexité chimique particulière ; toutefois, cela a été pour moi l'occasion de comprendre les bases biologiques d'un projet pharmacochimique. Ma formation première de pharmacien m'a donné une ouverture d'esprit aux différents domaines de la biologie et de la biochimie, indissociables d'une pratique efficace de la chimie thérapeutique. Dans le cadre de ce travail, il s'agissait de l'angiogenèse d'origine tumorale, dont beaucoup pensent qu'il s'agit d'une piste majeure dans les nouvelles chimiothérapies anti-cancéreuses.

PARTIE EXPERIMENTALE

Généralités

Les points de fusion (**pF**) ont été mesurés à l'aide d'un appareil numérique Stuart SMP 3 et ne sont pas corrigés.

Les pouvoirs rotatoires (**[α_D]**) ont été déterminés grâce à un polarimètre Perkin-Elmer 241 en utilisant la raie D du sodium, à 23°C.

Les spectres ultraviolets (**UV**) qualitatifs ont été enregistrés à partir de solutions méthanoliques, par un spectrophotomètre monofaisceau UNICAM 8700. Les maxima d'absorption sont donnés en nanomètre (nm).

Les spectres infrarouges (**IR**) ont été obtenus à partir d'un appareil Bonen Hartman et Braun MB série monofaisceau à transformée de Fourier. Les spectres sont réalisés à partir de films sur pastille de NaCl ou à partir d'échantillons dispersés dans une poudre de KBr. Les principales bandes d'absorption sont données en cm^{-1} . Pour certaines bandes, des interprétations seront proposées.

Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été enregistrés sur un spectromètre Brücker AC 300 à aimant supraconducteur de 7,05 T (^1H résonne à 300 MHz et ^{13}C à 75 MHz). Les solvants utilisés sont soit du deutérochloroforme (CDCl_3), soit du deutérométhanol (CD_3OD), soit du diméthylsulfoxyde hexadeutérié ($\text{DMSO}-d_6$). Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm (partie par million) par rapport au tétraméthylsilane (TMS). L'utilisation de la technique du J-modulé est systématique. Les attributions sont déterminées grâce aux spectres bidimensionnels (COSY, HMQC, HMBC) et la configuration des composés par les constantes de couplages proton-proton et par des spectres NOESY.

Concernant les spectres de masse (**SM**), les spectres notés ESI sont enregistrés sur un appareil MSQ THERMOFINNIGAN fonctionnant par la technique d'ionisation par électrospray, en mode positif (+) ou négatif (-), couplé à un détecteur quadripolaire.

Les spectres notés IE et les spectres haute résolution notés SMHR sont enregistrés sur un appareil WATERS MICROMASS GCT CA 170 fonctionnant en impact électronique à -70eV . Pour certains pics, des interprétations seront proposées.

Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été réalisées sur des plaques analytiques en aluminium prêtes à l'emploi recouvertes de gel de silice Kieselgel[®] 60 PF₂₅₄ Merk de 0,2 mm d'épaisseur. Les chromatographies sur colonne ont été réalisées avec comme adsorbant un gel de silice 60 AC.C Chromagel S.D.S.[®] de granulométrie 70 à 200 μm .

Les solvants et les réactifs utilisés ont été purifiés, si nécessaire, selon les méthodes de la littérature.

Notes concernant la partie expérimentale

La partie expérimentale est présentée de la façon suivante : le schéma réactionnel avec les réactifs et les solvants utilisés, suivi d'une référence bibliographique lorsque la réaction provient ou est inspirée de la littérature. Le mode opératoire est suivi du nom de la molécule selon la nomenclature I.U.P.A.C. et de son nom trivial lorsqu'il est différent. Pour les molécules déjà décrites dans la littérature, le numéro d'enregistrement C.A.S. (*Chemical Abstracts Service*) sera spécifié, ainsi que la formule brute, la masse moléculaire et enfin les différentes analyses réalisées. Suivant les molécules, pourront être donnés : le point de fusion, le pouvoir rotatoire, les maxima d'absorption ultra-violet, les bandes principales d'absorption infra-rouge, l'analyse des spectres de résonance magnétique nucléaire du proton puis du carbone et enfin, les spectres de masse.

Conventions adoptées :

Schéma réactionnel :

Lorsqu'il existe une abréviation courante d'un réactif ou d'un solvant, celle-ci est employée. Les réactions effectuées à température ambiante sont notées « TA ».

Mode opératoire :

La majorité des valeurs numériques sont données avec trois chiffres significatifs, sauf quand ces valeurs ne permettent pas la mesure avec la précision nécessaire (exemple : les dixièmes de milligramme).

Les abréviations suivantes seront employées :

CH₂Cl₂ pour dichlorométhane,

Éther pour éther diéthylique,

DMSO pour diméthyle sulfoxyde,

NaOH pour hydroxyde de sodium,

HCl pour acide chlorhydrique, suivi de c lorsqu'il est concentré (35%),

NaCl pour chlorure de sodium,

MgSO₄ pour sulfate de magnésium,

Azote pour diazote : N₂,

Hydrogène pour dihydrogène : H₂,

équiv. pour équivalent,

N pour normale (Solution 1N),

M pour molaire (Solution 1M),

Rdt pour Rendement.

Les concentrations des solutions utilisées sont spécifiées entre parenthèses, soit en normalité, soit en molarité, soit en pourcentage masse/masse.

Analyses :

Les valeurs $[\alpha_D]$ sont suivies de la concentration à laquelle elles ont été mesurées et du solvant employé : MeOH pour méthanol et CHCl₃ pour chloroforme.

Les infra-rouges enregistrés sur une pastille de NaCl par évaporation d'une solution organique du produit sont notés **IR** (film), ceux réalisés en inclusion dans une pastille de KBr sont notés **IR** (KBr).

L'analyse des spectres RMN ^1H se fait de la manière suivante : déplacement chimique (ppm) puis, entre parenthèses, multiplicité du signal, valeur d'intégration, constante de couplage (J) en Hertz (Hz) et attribution.

Lorsqu'un diastéréoisomère est distinguable de l'autre sur les spectres RMN, ces valeurs sont décrites entre crochets. Exemple : **6,03 [5,93]**. Les constantes de couplage notées entre crochets appartiennent au signal entre crochets.

Les multiplicités des signaux sont indiquées par les symboles s, sl, d, dd, t, q, m correspondant respectivement aux singulets, singulets larges, doublets, doublets de doublets, triplets, quadruplets et multiplets ou massifs (pour lesquels les constantes de couplage sont indéterminables).

Lorsque deux protons portés par un même atome de carbone possèdent des déplacements chimiques différents, ils sont différenciés et notés H_A et H_B .

Afin de faciliter la lecture des spectres, les conventions suivantes sont utilisées :

L'atome responsable du signal est mis en italique.

Lorsque l'atome appartient à un substituant, un groupe ou une fonction identifiable, son numéro est suivi d'une abréviation de ce groupement par exemple : (t, 1H, $J= 8,0$ Hz, ***H-5-ind.***)

Les abréviations utilisées sont les suivantes :

Indole : ind.

Acide glutamique : Glu.

Mannose et sucre dérivés : Man.

Tryptophane : Trp.

Phényle : Ph.

Isopropyle : *iPr*.

Isopentyle : *iPt*.

Cyclohexyle : Chx.

Acide de Meldrum, acide malonique et produits dérivés : Mel. et Mal.

Furyl : Fu.

Benzyle : Bn.

Acétate : Ac.

Dans le cas des sucres, et s'il y a eu attribution, les groupements Bn. et Ac. sont suivis du numéro de l'atome de carbone sur lequel l'hétéroatome est porté.

Les attributions dont les déplacements chimiques sont suivis des annotations *, °, + ou § sont interchangeables.

Les conventions pour les spectres RMN ^{13}C sont identiques.

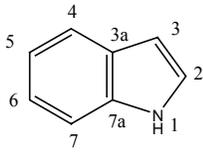
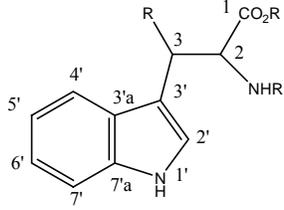
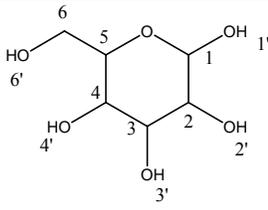
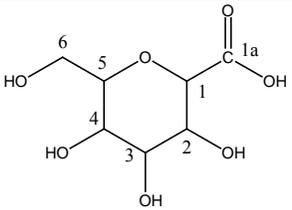
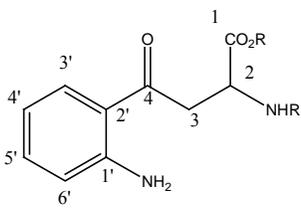
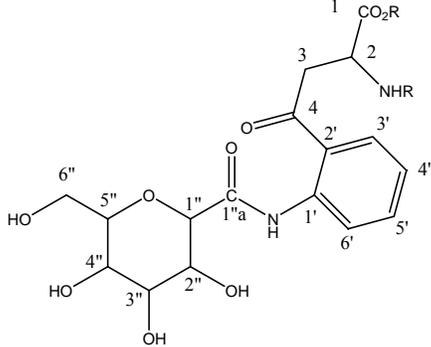
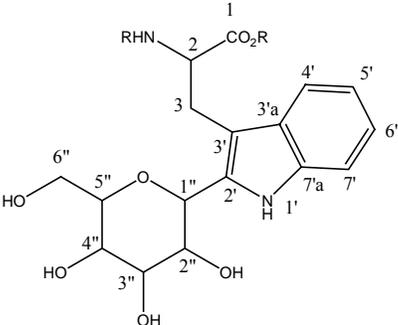
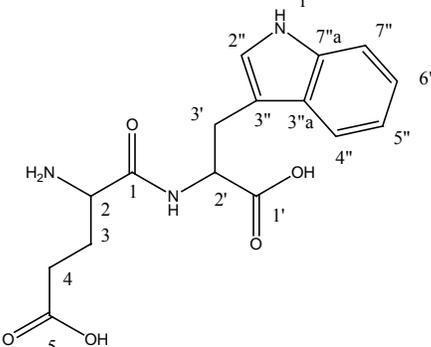
Dans l'analyse des spectres de masse :

Pour les spectres enregistrés en ESI seul le pic moléculaire sera mentionné suivi de $[\text{M}+\text{H}]^+$, $[\text{M}+\text{Na}]^+$, $[\text{M}-\text{H}]^+$...

Pour les spectres enregistrés en IE, l'ion moléculaire sera suivi de $[\text{M}^+]$; les autres masses moléculaires seront suivies de leur proportion relative, la valeur relative étant attribuée à l'ion le plus intense.

Pour les spectres SMHR, la valeur observée sera suivie de la valeur calculée (calc :), l'écart en partie par million (Δ ppm :) et l'écart en millidalton (Δ mDa :).

Numérotation utilisée pour l'analyse des spectres RMN :

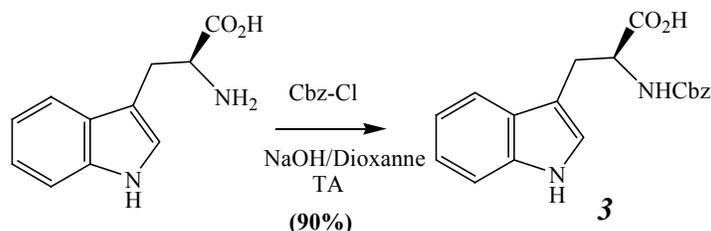
<p style="text-align: center;">Indole :</p>	<p style="text-align: center;">Tryptophane et produits de condensation:</p>
	
<p style="text-align: center;">Sucre :</p>	<p style="text-align: center;">Sucre homologué :</p>
	
<p style="text-align: center;">Aniline :</p>	<p style="text-align: center;">Produit de couplage Aniline-Sucre :</p>
	
<p style="text-align: center;">Glycosyl-tryptophane :</p>	<p style="text-align: center;">Dipeptide Glu-Trp :</p>
	

1-Synthèse de l'IM862 et de ces analogues :

1-1- Synthèse de l'IM862 :

1-1-1- Synthèse du tryptophanate de *tert*-butyle 5 :

1-1-1-1- *N*-Benzyloxycarbonyl-L-tryptophane 3:



Après dissolution de 4 g (19,6 mmol) de L-tryptophane dans 40 mL d'un mélange eau/dioxanne (1/1), 4,2 mL (29,4 mmol ; 1,5 équiv.) de chloroformate de benzyle sont lentement additionnés au mélange réactionnel. Après 3 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est évaporé sous pression réduite (40 mbar) afin d'éliminer le dioxanne. Après acidification par une solution aqueuse de HCl (1N) jusqu'à un pH environ égal à 2, le mélange réactionnel est extrait par deux fois par 50 mL d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies puis lavées par 100 mL d'une solution aqueuse d'HCl (1N) puis 100 mL d'eau. La phase organique est ensuite séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Après cristallisation dans un mélange d'acétate d'éthyle/pentane (1/5), 5,96 g (Rdt = 90%) de cristaux blancs sont isolés.

Acide 2-benzyloxycarbonylamino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoïque.

(*N*-Benzyloxycarbonyl-L-tryptophane)

CAS : 7432-21-5.

C₁₉H₁₈N₂O₄: MM = 338,4 g.mol⁻¹.

pF = 190°C.

UV: λ_{max} = 222 ; 282 ; 290 nm.

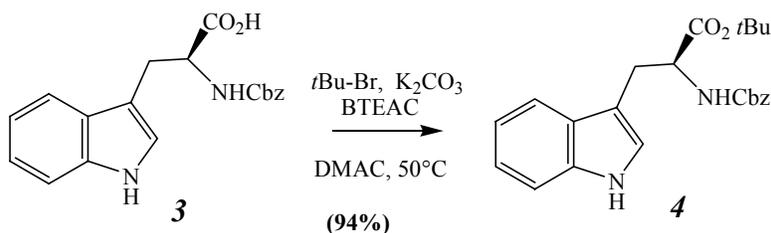
IR (KBr) = 3365 (N-H) ; 2916 ; 1722 (C=O) ; 1656 (C=O) ; 1511 ; 1432 ; 1053 ; 745 cm⁻¹.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) : δ_{ppm} = 12,5 (sl, 1H, CO₂H) ; 10,9 (s, 1H, NH) ; 7,58 (m, 2H, *H*-4'-ind., *H*-7'-ind.) ; 7,30-7,35 (m, 6H, 5xCH-Ph., NH-carbamate) ; 7,18 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz, *H*-2'-ind.) ; 7,09 (dd, 1H, *J*_{6'-5'} = *J*_{6'-7'} = 7,4 Hz, *H*-6'-ind.) ; 7,00 (dd, 1H, *J*_{5'-6'} = *J*_{5'-4'} = 7,4 Hz, *H*-5'-ind.) ; 5,00 (système AB, 2H, 5,03-4,97, *J*_{gem} = 12,6 Hz, CH₂-Bn.) ; 4,26 (m, 1H, CH-2) ; 3,21 (dd, 1H, *J*_{3A-3B} = 14,6 Hz, *J*_{3A-2} = 4,4 Hz, CH_AH_B-3) ; 3,02 (dd, 1H, *J*_{3B-3A} = 14,6 Hz, *J*_{3B-2} = 9,7 Hz, CH_AH_B-3).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) : δ_{ppm} = 174,0 (CO₂H) ; 156,0 (NCO₂) ; 137,2 (C-1-Ph.) ; 136,4 (C-7'a-ind.) ; 128,6 ; 128,0 ; 127,9 (5xCH-Ph.) ; 127,4 (C-3'a-ind.) ; 124,0 (C-2'-ind.) ; 121,2 (C-6'-ind.) ; 118,7 (C-5'-ind.) ; 118,4 (C-4'-ind.) ; 111,7 (C-7'-ind.) ; 110,4 (C-3'-ind.) ; 65,6 (CH₂-Bn.) ; 55,3 (CH-2) ; 27,2 (CH₂-3).

SM (IE): 338 (25) [M⁺] ; 130 (100) ; 108 (35).

1-1-1-2- *N*-Benzyloxycarbonyl-L-tryptophanoate de *tert*-butyle 4:



Référence : Chevallet P. ; Garrouste P. ; Malawska B. ; Martinez J. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7409-7412.

Après dissolution de 4,19 g (12,4 mmol) de *N*-Cbz-L-tryptophane (**3**) dans 60 mL de diméthylacétamide, 2,83 g (12,4 mmol ; 1 équiv.) de chlorure de benzyltriéthylammonium sont additionnés, à température ambiante, à la solution. Après 10 minutes d'agitation à température ambiante, 44,6 g (322 mmol ; 26 équiv.) de carbonate de potassium sec et 40 mL (345 mmol ; 28 équiv.) de 2-bromo-2-méthylpropane sont successivement ajoutés au mélange réactionnel. La suspension obtenue est maintenue à 50°C pendant 24 heures puis est reprise par 100 mL d'acétate d'éthyle et lavée à trois reprises par 50 mL de l'eau. La phase organique est ensuite séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Après élimination des traces de diméthylacétamide à la pompe à palettes, 4,61 g (Rdt = 94%) d'huile incolore sont obtenus.

2-Benzyloxycarbonylamino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate de *tert*-butyle.
(*N*-Benzyloxycarbonyl-L-tryptophanoate de *tert*-butyle).

CAS : 16874-03-06.

C₂₃H₂₆N₂O₄: MM = 394,5 g.mol⁻¹.

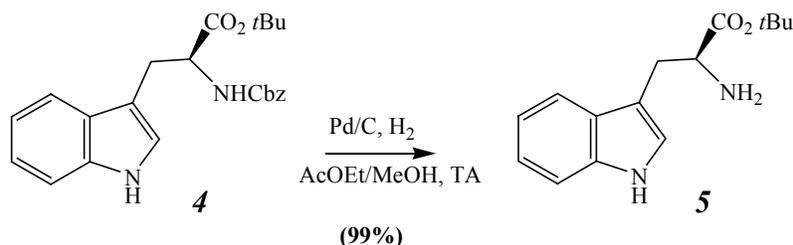
[α_D] = -5,2° (c = 10 g.L⁻¹, MeOH).

UV: λ_{max} = 222 ; 281 ; 290 nm.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,13 (s, 1H, NH) ; 7,58 (d, 1H, J_{4'-5'} = 7,8 Hz, H-4'-ind.) ; 7,27-7,37 (m, 6H, 5xCH-Ph, H-7'-ind.) ; 7,17 (dd, 1H, J_{6'-5'} = J_{6'-7'} = 7,4 Hz, H-6'-ind.) ; 7,10 (dd, 1H, J_{5'-6'} = J_{5'-4'} = 7,4 Hz, H-5'-ind.) ; 6,98 (d, 1H, J = 1,7 Hz, H-2'-ind.) ; 5,33 (d, 1H, J = 7,8 Hz, NH-carbamate) ; 5,08 (système AB, 2H, 5,11-5,05 J_{gem} = 12,2 Hz, CH₂-Bn.) ; 4,60 (m, 1H, CH-2) ; 3,26 (m, 2H, CH₂-3) ; 1,36 (s, 9H, C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 171,0 (CO₂tBu) ; 155,7 (NCO₂) ; 136,3 (C-1-Ph.) ; 136,0 (C-7'a-ind.) ; 128,4 ; 128,0 ; 127,7 (5xCH-Ph.) ; 127,5 (C-3'a-ind.) ; 122,5 (C-2'-ind.) ; 121,9 (C-6'-ind.) ; 119,5 (C-5'-ind.) ; 118,4 (C-4'-ind.) ; 111,0 (C-7'-ind.) ; 110,0 (C-3'-ind.) ; 82,0 (C(CH₃)₃) ; 66,7 (CH₂-Bn.) ; 54,8 (CH-2) ; 27,8 (CH₂-3) ; 27,7 (C(CH₃)₃).

1-1-1-3- L-Tryptophanate de *tert*-butyle 5:



Dans un ballon de 150 mL, 150 mg (0,14 mmol ; 0,08 équiv.) de palladium sur charbon (10%) sont additionnés à une solution de 700 mg (1,78 mmol ; 1 équiv.) de *N*-Cbz-*O*-*t*Bu-L-tryptophane (**4**) dans 30 mL d'un mélange acétate d'éthyle/méthanol (1/1). Le mélange réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène avec une agitation vigoureuse pendant 12 heures. Le mélange réactionnel est ensuite filtré sur Célite® ; cette dernière est lavée trois fois par 10 mL du même mélange de solvants. La solution est évaporée sous pression réduite, 459 mg (Rdt= 99%) d'une huile incolore sont isolés.

2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate de *tert*-butyle.

(L-tryptophanate de *tert*-butyle).

CAS : 16874-09-2.

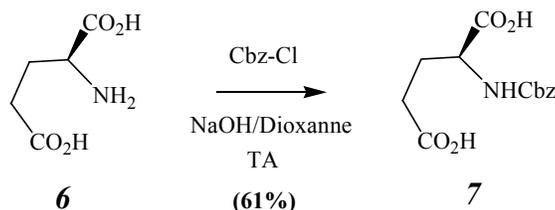
C₁₅H₂₀N₂O₂: MM = 260,3 g.mol⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,31 (s, 1H, NH) ; 7,64 (d, 1H, *J*_{4'-5'} = 7,5 Hz, *H*-4'-ind.) ; 7,35 (d, 1H, *J*_{7'-6'} = 7,9 Hz, *H*-7'-ind.) ; 7,17 (dd, 1H, *J*_{6'-5'} = 6,9 Hz, *J*_{6'-7'} = 7,9 Hz, *H*-6'-ind.) ; 7,10 (dd, 1H, *J*_{5'-6'} = 6,9 Hz, *J*_{5'-4'} = 7,5 Hz, *H*-5'-ind.) ; 7,03 (s, 1H, *H*-2-ind.) ; 3,72 (dd, 1H, *J*_{2-3A} = 4,9 Hz, *J*_{2-3B} = 8,0 Hz, CH-2) ; 3,26 (dd, 1H, *J*_{3A-2} = 4,9 Hz, *J*_{3A-3B} = 14,4 Hz, CH_AH_B-3) ; 2,96 (dd, 1H, *J*_{3B-2} = 8,0 Hz, *J*_{3B-3A} = 14,4 Hz, CH_AH_B-3) ; 1,83 (sl, 2H, NH₂) ; 1,43 (s, 9H, C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 174,0 (CO₂*t*Bu) ; 136,2 (C-7'*a*-ind.) ; 127,5 (C-3'*a*-ind.) ; 123,1 (C-2'-ind.) ; 121,9 (C-6'-ind.) ; 119,4 (C-5'-ind.) ; 118,8 (C-4'-ind.) ; 111,2 (C-7'-ind.) ; 110,9 (C-3'-ind.) ; 81,3 (C(CH₃)₃) ; 55,2 (CH-2) ; 30,4 (CH₂-3) ; 27,9 (C(CH₃)₃).

1-1-2 Synthèse du dérivé protégé de l'acide glutamique 9 :

1-1-2-1 Acide *N*-Benzoyloxycarbonyl-L-glutamique 7 :



Référence : Chevallet P. ; Garrouste P. ; Malawska B. ; Martinez J. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 7409-7412.

Après dissolution de 4 g (27,2 mmol ; 1 équiv.) d'acide L-glutamique (**6**) dans 50 mL d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (1N), 4,0 mL (27,2 mmol ; 1 équiv.) de chloroformate de benzyle sont lentement additionnés au mélange réactionnel. La solution est maintenue 4 heures sous agitation à température ambiante, elle est ensuite acidifiée par une solution aqueuse de HCl (1N) jusqu'à un pH environ égal à 2. Le mélange réactionnel est alors extrait par deux fois 50 mL d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies puis lavées successivement par 100 mL d'une solution aqueuse d'HCl (1N) et 100 mL d'eau. La phase organique est ensuite séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Après élimination des traces de solvants à la pompe à palettes, 4,69 g (Rdt = 61%) de cristaux blancs sont isolés.

Acide 2-benzyloxycarbonylaminopentanedioïque.

(acide N-Benzyloxycarbonyl-L-glutamique)

CAS : 1155-62-0.

C₁₃H₁₅NO₆: MM = 281,3 g.mol⁻¹.

pF = 110°C.

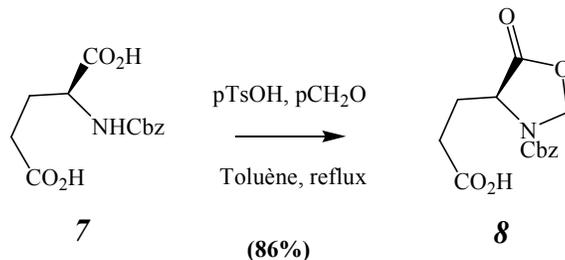
[α]_D = -10,1° (10 g.L⁻¹ ; acide acétique).

UV: λ_{max} = 211 ; 252 ; 258 ; 263 ; 268 nm⁻¹.

RMN ¹H (CD₃OD) : δ_{ppm} = 7,4-7,2 (m, 5H, 5xCH-Ph.) ; 5,08 (s, 2H, CH₂-Bn.) ; 4,21 (dd, 1H, J= 4,9 Hz, J= 9,4 Hz, CH-2) ; 2,41 (t, 2H, J= 7,6 Hz, CH₂-4) ; 2,15 (m, 1H, CH_AH_B-3) ; 1,91 (m, 1H, CH_AH_B-3).

RMN ¹³C (CD₃OD) : δ_{ppm} = 176,4 (CO₂H) ; 175,4 (CO₂H) ; 158,7 (CON) ; 138,1 (C-1-Ph.) ; 129,4 ; 129,2 ; 128,9 (5xCH-Ph.) ; 67,6 (CH₂-Bn.) ; 54,6 (CH-2) ; 31,2 (CH₂-4) ; 27,9 (CH₂-3).

1-1-2-2- Oxazolidine dérivée de l'acide glutamique **8**.



Référence : Chevallet P. ; Garrouste P. ; Malawska B. ; Martinez J. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 7409-7412.

A une solution de 1,87 g (6,7 mmol ; 1 équiv.) d'acide N-Cbz-L-glutamique (**7**) dans 50 mL de toluène, sont additionnés successivement 400 mg (13,3 mmol ; 2 équiv.) de paraformaldéhyde et 80 mg (0,4 mmol ; 0,06 équiv.) d'acide para-toluène sulfonique. La solution est chauffée à reflux avec un appareil de Dean-Stark pendant 60 minutes. Après refroidissement, le mélange est repris par 10 mL d'acétate d'éthyle puis la solution est lavée par une solution aqueuse de carbonate de potassium saturée (10 mL) et à trois reprises par de l'eau (10 mL). La phase organique est ensuite séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Finalement, 1,68 g (Rdt = 86%) d'huile incolore sont isolés.

Acide (*S*)-3-benzyloxycarbonyl-5-oxo-4-oxazolidinepropanoïque.

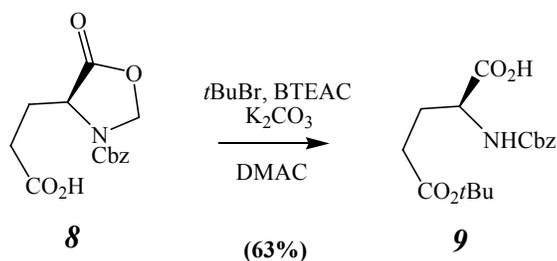
CAS : 23632-67-9.

C₁₄H₁₅NO₆: MM = 293,3 g.mol⁻¹.

RMN ¹H (CD₃OD) : δ_{ppm} = 7,40-7,30 (m, 5H, CH-Ph.) ; 5,46 (d, 1H, J_{gem} = 4,2 Hz, NCH_AH_BO) ; 5,30 (d, 1H, J_{gem} = 4,2 Hz, NCH_AH_BO) ; 5,16 (s, 2H, Ph.-CH₂) ; 4,43 (t, 1H, J = 5,7 Hz, CH-2) ; 2,42-2,10 (m, 4H, CH₂-3, CH₂-4).

RMN ¹³C (CD₃OD) : δ_{ppm} = 173,7 (CO₂) ; 172,7 (CO₂) ; 154,0 (NCO₂) ; 136,3 (C-1-Ph.) ; 128,7 ; 128,3 ; 127,9 (5xCH-Ph.) ; 78,0 (OCH₂N) ; 67,0 (CH₂-Bn.) ; 54,2 (CH-2) ; 29,2 (CH₂-4) ; 25,9 (CH₂-3H).

1-1-2-3- Acide *N*-Benzyloxycarbonyl-γ-*tert*-butyl-L-glutamique 9:



Référence : Chevallet P. ; Garrouste P. ; Malawska B. ; Martinez J. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 7409-7412.

A une solution de 1,59 g (5,4 mmol ; 1 équiv.) d'acide *N*-Cbz-5-oxo-4-oxazolidinepropanoïque (**8**) dans 45 mL de diméthylacétamide (DMAC), est additionné 1,23 g (5,4 mmol ; 1 équiv.) de chlorure de benzyltriéthylammonium (BTEAC). Après 10 minutes d'agitation à température ambiante, 19,4 g (140 mmol ; 26 équiv.) de carbonate de potassium sec et 150 mL (130 mmol ; 24 équiv.) de 2-bromo-2-méthylpropane (*t*BuBr) sont successivement ajoutés au mélange réactionnel. La suspension est maintenue à 55°C pendant 24 heures puis est filtrée sous vide. Le filtrat obtenu est repris par 200 mL d'acétate d'éthyle puis extrait à deux reprises par 50 mL d'eau. La phase aqueuse est acidifiée par une solution aqueuse de HCl (1N) jusqu'à un pH environ égal à 2. La solution est alors ré-extraite par 100 mL d'acétate d'éthyle, la phase organique obtenue est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Après élimination des traces de DMAC à la pompe à palettes, 1,15 g (Rdt = 63%) d'huile incolore sont obtenus.

4(*S*)-Carboxy-4-benzyloxycarbonylamino-butanoate de *tert*-butyle.

(Acide *N*-Benzyloxycarbonyl-γ-*tert*-butyl-L-glutamique)

CAS : 3886-08-6.

C₁₇H₂₃NO₆: MM = 337,4 g.mol⁻¹.

[α_D] = - 9,0° (c = 10 g.L⁻¹; MeOH).

UV: λ_{max} = 215 ; 252 ; 258 ; 263 ; 268 nm.

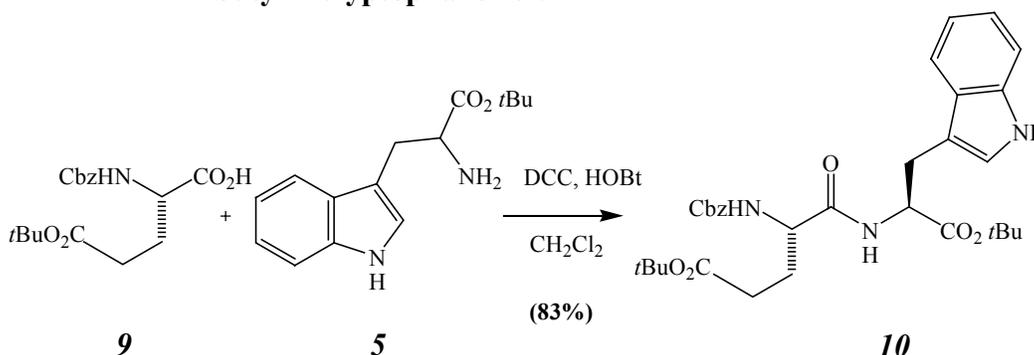
IR (film) = 3330 ; 2977 ; 1718 (C=O) ; 1524 ; 1449 ; 1255 ; 1150 ; 1053 ; 842 ; 745 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 7,40-7,27 (m, 5H, CH-Ph.) ; 5,56 (d, 1H, $J=7,9$ Hz, NH) ; 5,15 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 4,39 (m, 1H, CH-2) ; 2,50-1,90 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-3}$, $\text{CH}_2\text{-4}$) ; 1,43 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 173,9 ; 172,3 (CO_2H ; CO_2tBu) ; 155,9 (NCO_2) ; 136,2 (C-1-Ph.) ; 128,6 ; 128,1 ; 127,7 (5xCH-Ph.) ; 80,7 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; 66,8 (CH_2Ph) ; 58,6 (CH) ; 31,5 ($\text{CH}_2\text{-4}$) ; 27,9 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; 27,7 ($\text{CH}_2\text{-3}$).

1-1-3- Couplage peptidique et déprotection :

1-1-3-1- *N*-Benzyloxycarbonyl- γ -*O*-*tert*-butyl-L- α -glutamyl-*O*-*tert*-butyl-L-tryptophane **10** :



Après dissolution de 260 mg (1 mmol ; 1 équiv.) de *O*-*tert*-butyl-L-tryptophane (**5**) et de 337 mg (1 mmol ; 1 équiv.) d'acide *N*-Cbz-*O*-*tert*-butyl-L-glutamique (**9**) dans 4 mL de CH_2Cl_2 , 148 mg (1,1 mmol ; 1,1 équiv.) d'hydroxybenzotriazole (HOBT) sont additionnés à la solution. Après 10 minutes d'agitation à 0°C , 227 mg (1,1 mmol ; 1,1 équiv.) de dicyclohexylcarbodiimide (DCC) sont ajoutés. Le mélange réactionnel est laissé à cette température pendant 30 minutes, puis 10 heures à température ambiante. Après filtration sous vide et évaporation, le résidu obtenu est repris par 10 mL d'acétate d'éthyle et est de nouveau filtré. La phase organique est alors lavée successivement par 10 mL d'une solution aqueuse d'acide citrique (5%), 10 mL d'une solution aqueuse saturée de NaCl, 10 mL d'une solution aqueuse de carbonate de potassium (5%) puis par 10 mL d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée et évaporée sous pression réduite. Finalement, 480 mg (Rdt = 83%) de mousse blanche sont obtenus.

Benzyl-(*S*)-1-((*S*)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-2-(1*H*-indol-3-yl)éthylcarbamoyl)-3-(*tert*-butoxycarbonyl) propylcarbamate.

(*N*-Benzyloxycarbonyl- γ -*O*-*tert*-butyl-L- α -glutamyl-*O*-*tert*-butyl-L-tryptophane)

$\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_7$; MM = 579,7 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

pF = 187°C .

$[\alpha]_D = +21,0^\circ$ ($c=10$ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; CHCl_3).

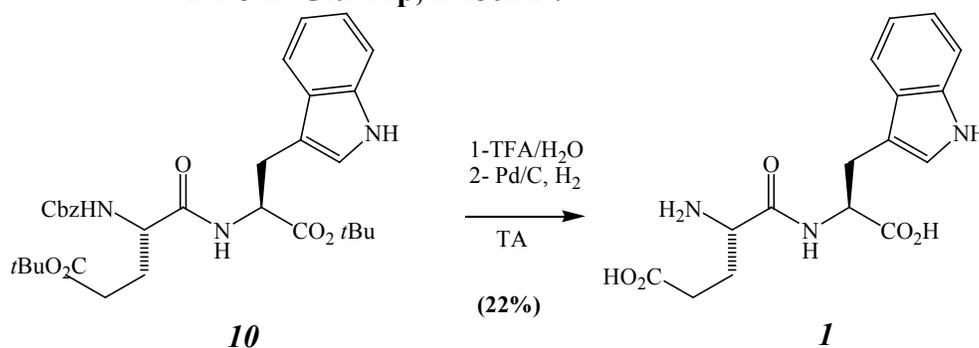
UV: $\lambda_{\text{max}} = 206$; 218 ; 282 ; 290 nm.

IR (film) = 3312 ; 2916 ; 1625 (C=O) ; 1564 ; 1079 ; 745 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,11$ (s, 1H, *NH*-ind.) ; 7,57 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, *H*-4''-ind.) ; 7,40-7,30 (m, 6H, 5x*CH*-Ph., *H*-7''-ind.) ; 7,12 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, *H*-6''-ind.) ; 7,07 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, *H*-5''-ind.) ; 6,99 (s, 1H, *H*-2''-ind.) ; 6,76 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, *NH*-amide) ; 5,54 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, *NH*-carbamate) ; 5,06 (m, 2H, *CH*₂-Bn.) ; 4,76 (m, 1H, *CH*-2'-Trp.) ; 4,19 (m, 1H, *CH*-2-Glu.) ; 3,26 (m, 2H, *CH*₂-3') ; 2,40-1,60 (m, 4H, *CH*₂-3, *CH*₂-4) ; 1,41 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; 1,36 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 172,6$; 170,7 ; 170,6 (2x CO_2tBu ; CO -amide) ; 156,0 (NCO_2) ; 136,2 (*C*-1-Ph.) ; 136,0 (*C*-7''a-ind.) ; 128,5 ; 128,2 ; 128,0 (5x*CH*-Ph.) ; 127,6 (*C*-3''a-ind.) ; 122,7 (*C*-2''-ind.) ; 122,1 (*C*-6''-ind.) ; 119,5 (*C*-5''-ind.) ; 118,8 (*C*-4''-ind.) ; 111,1 (*C*-7''-ind.) ; 110,0 (*C*-3''-ind.) ; 82,1 ; 80,8 (2x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; 66,8 (*CH*₂-Bn.) ; 54,1 (*CH*-2-Glu) ; 53,4 (*CH*-2'-Trp.) ; 33,9 (*CH*₂-4) ; 31,5 (*CH*₂-3) ; 28,1 (*CH*₂-3') ; 28,0-27,5 (6x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

1-1-3-2- Glu-Trp, IM862 1 :



Dans 5 mL d'un mélange acide trifluoroacétique/eau (1/1), 364 mg (0,63 mmol ; 1 équiv.) de dipeptide protégé (**10**) sont dissous. Après 60 minutes d'agitation à température ambiante, la solution est évaporée sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris par de l'acétate d'éthyle (10 mL) puis lavé par 10 mL d'une solution aqueuse d'acide citrique (5%). La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée et évaporée sous pression réduite. Dans un ballon de 50 mL, l'huile incolore obtenue est dissoute dans 20 mL d'un mélange acétate d'éthyle/méthanol (1/1), 75 mg (0,07 mmol ; 0,1 équiv.) de palladium sur charbon à 10% sont additionnés et le mélange réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène avec une agitation vigoureuse pendant une nuit. Le mélange réactionnel est ensuite filtré sur Célite[®] ; cette dernière est lavée plusieurs fois (~25 mL) par le même mélange de solvant (acétate d'éthyle/MeOH 1/1). Le filtrat obtenu est évaporé sous pression réduite pour obtenir 46 mg (Rdt = 22%) de cristaux blancs.

Acide (*S*)-4-((*S*)-1-carboxy-2-(1*H*-indol-3-yl)éthylcarbamoyl)-4-aminobutanoïque.
(*L*- α -glutamyl-*L*-tryptophane)

CAS : 38101-59-6.

$\text{C}_{32}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_7$: MM = 333,3 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

pF = 154°C.

UV : λ_{max} = 203 ; 222 ; 283 ; 291 nm.

IR (Kbr) = 3405 ; 2918 ; 1717 ($\text{C}=\text{O}$) ; 1676 ($\text{C}=\text{O}$) ; 1223 ; 1084 ; 743 cm^{-1} .

RMN ¹H (CD₃OD) : δ_{ppm} = 7,58 (d, 1H, $J_{4''-5''}$ = 7,5 Hz, *H*-4''-ind.) ; 7,33 (d, 1H, $J_{7''-6''}$ = 8,0 Hz, *H*-7''-ind.) ; 7,16 (s, 1H, *H*-2''-ind.) ; 7,06 (dd, 1H, $J_{6''-7''}$ = 8,0 Hz, $J_{6''-5''}$ = 6,9 Hz, *H*-6''-ind.) ; 6,98 (dd, 1H, $J_{5''-4''}$ = 7,5 Hz, $J_{5''-6''}$ = 6,9 Hz, *H*-5''-ind.) ; 4,78 (dd, 1H, J = 4,5 Hz, J = 9,1 Hz, *CH*-2'-Trp.) ; 3,90 (t, 1H, J = 6,2 Hz, *CH*-2-Glu.) ; 3,43 (dd, 1H, J = 4,5 Hz, J_{A-B} = 14,8 Hz, *CH_AH_B*-3') ; 3,19 (dd, 1H, J = 9,1 Hz, J_{A-B} = 14,8 Hz, *CH_AH_B*-3') ; 2,54 (t, 2H, J = 8,0 Hz, *CH*₂-4) ; 2,11 (m, 2H, *CH*₂-3).

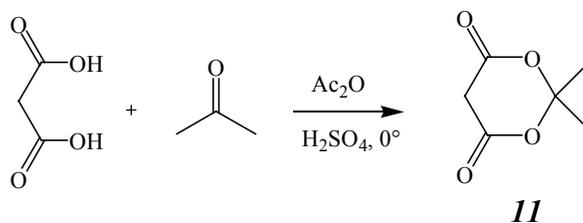
RMN ¹³C (CD₃OD) : δ_{ppm} = 176,0 (CO₂H-Glu.) ; 174,6 (CO₂H-Trp.) ; 169,8 (CO-amide) ; 138,1 (*C*-7''a-ind.) ; 128,6 (*C*-3''a-ind.) ; 122,7 (*C*-2''-ind.) ; 122,5 (*C*-6''-ind.) ; 119,9 (*C*-5''-ind.) ; 119,1 (*C*-4''-ind.) ; 112,4 (*C*-7''-ind.) ; 110,8 (*C*-3''-ind.) ; 54,8 (*CH*-2'-Trp.) ; 53,6 (*CH*-2-Glu.) ; 29,9 (CH₂-4) ; 27,8 (CH₂-3') ; 27,8 (CH₂-3).

SM (IE): 334 [M⁺] (100) ; 316 (55) ; 188 (25).

1-2- Synthèses des analogues portant des tryptophanes β-substitués:

1-2-1- Préparation des tryptophane β-substitués :

1-2-1-1- Acide de Meldrum **11**:



L'acide malonique (26 g ; 0,25 mol) est mis en suspension dans 28,3 mL (0,3 mol, 1,2 équiv.) d'anhydride acétique. Une fois le mélange réactionnel refroidi à 0°C, 20 mL d'acétone sont additionnés puis, goutte-à-goutte, 750 μL d'acide sulfurique concentré. La solution est maintenue à température ambiante pendant 2 heures puis est placée à 0°C pendant 8 heures. Les cristaux obtenus sont filtrés sous vide (les eaux mères peuvent être recristallisées), lavés par 100 mL d'eau glacée puis 100 mL de pentane. Après séchage à la pompe à palettes, 12,8 g (Rdt= 36%) de cristaux blancs sont isolés.

2,2-Diméthyl-4,6-dioxo-1,3-dioxane.

(acide de Meldrum)

CAS : 2033-24-1.

C₆H₈O₄: MM = 144,1 g.mol⁻¹.

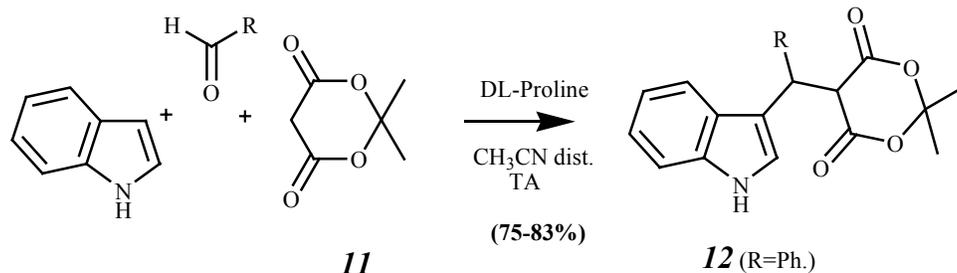
pF = 96°C.

UV: λ_{max} = 258 nm.

IR (KBr) = 3003 ; 2930 ; 1792 (C=O) ; 1757 (C=O) ; 1211 ; 978 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 3,65 (s, 2H, *CH*₂) ; 1,79 (s, 6H, 2x*CH*₃).

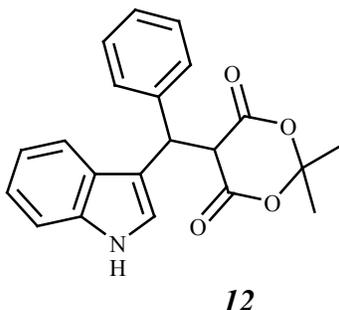
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 163,0 (2xCO₂) ; 105,9 (*C*(CH₃)₂) ; 35,7 (*CH*₂) ; 27,4 (2xCH₃).

1-2-1-2 Condensation trimoléculaire:

Référence : Nemes C. ; Jeannin L. ; Sapi J. ; Laronze M. ; Seghir M. ; Augé F. ; Laronze J.Y. *Tetrahedron* **2000**, *30*, 5479-5492.

En série phényle **12** :

A une solution de 5 g (42,7 mmol ; 1 équiv.) d'indole dans 25 mL d'acétonitrile distillé, sont successivement additionnés 6,15 g (42,7 mmol ; 1 équiv.) d'acide de Meldrum **11**, 8,7 mL (85,4 mmol ; 2 équiv.) de benzaldéhyde fraîchement distillé et 0,25 g (2,17 mmol ; 0,05 équiv.) de D,L-proline. Le mélange est agité à température ambiante pendant 20 minutes sous atmosphère d'azote. Le mélange prend en masse ; il est repris par un minimum d'acétonitrile puis filtré sous vide et lavé par 25 mL d'éther pour isoler 12,4 g (Rdt= 83%) de poudre blanche, qui rosit à l'air.



5-(1-(1*H*-indol-3-yl)-phénylméthyl)-2,2-diméthyl-1,3-dioxane-4,6-dione.

CAS : 67996-11-6.

C₂₁H₁₉NO₄: MM = 349,1 g.mol⁻¹.

pF = 145°C.

UV: λ_{max} = 219 ; 273 ; 292 nm.

IR (KBr) = 3393 ; 3055 ; 2987 ; 1778 (C=O); 1749 (C=O) ; 1456 ; 1384 ; 1306 ; 1287 ; 1003 ; 892 ; 743 cm⁻¹.

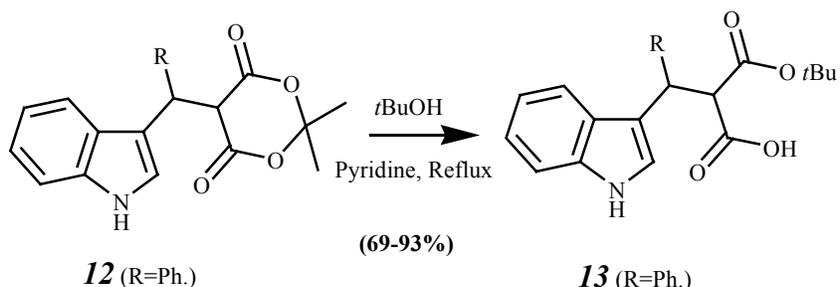
RMN ¹H (DMSO-*d*₆) : δ_{ppm} = 11,0 (s, 1H, NH) ; 7,50-7,14 (m, 8H, 5xCH-Ph. + *H*-2'-ind., *H*-4'-ind., *H*-7'-ind.) ; 7,08 (t, 1H, *J* = 7,2 Hz, *H*-6'-ind.) ; 6,91 (t, 1H, *J* = 7,2 Hz, *H*-5'-ind.) ; 5,45 (d, 1H, *J* = 2,3 Hz, CH-3) ; 5,26 (d, 1H, *J* = 2,3 Hz, CH-2) ; 1,84 (s, 3H, CH₃) ; 1,55 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) : δ_{ppm} = 165,8 ; 165,3 (2xCO) ; 141,4 (C-1-Ph.) ; 136,0 (C-7'a-ind.) ; 129,0 ; 128,4 ; 128,1 (3xCH-Ph.) ; 127,2 (C-3'a-ind.) ; 124,2 (C-2'-ind.) ; 121,3 (C-6'-ind.) ;

118,8 (C-5'-ind) ; 118,7 (C-4'-ind.) ; 113,4 (C-3'-ind) ; 111,6 (C-7'-ind.) ; 105,2 (C(CH₃)₂) ; 51,9 (CH-2) ; 40,5 (CH-3) ; 27,9 ; 27,0 (2xCH₃).

SM (IE): 349 (12) [M⁺] ; 247 (43) ; 206 (50, -Me.) ; 174 (62) ; 117 (55) ; 58 (100).

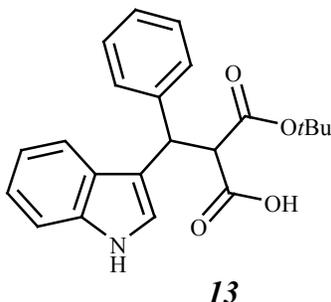
1-2-1-3- Ouverture de l'adduit:



Référence : Nemes C. ; Jeannin L. ; Sapi J. ; Laronze M. ; Seghir M. ; Augé F. ; Laronze J. Y. *Tetrahedron*, **2000**, *30*, 5479-5492.

En série phényle (**13**) :

Le produit de condensation trimoléculaire **12** (5 g ; 14,3 mmol ; 1 équiv.) est dissous dans 45 mL d'un mélange pyridine/alcool *tert*-butylique distillé (1/2). Le mélange est chauffé à reflux pendant 1 heure 45. Après évaporation des solvants sous pression réduite, l'huile obtenue est reprise par 100 mL de CH₂Cl₂. Cette solution est lavée par 100 mL de solution aqueuse de HCl (1N) à 0°C : le produit précipite. Après addition de 100 mL de cyclohexane, la phase organique est évaporée sous vide jusqu'à élimination du CH₂Cl₂. La suspension est filtrée sous vide, la poudre blanche obtenue est séchée à la pompe à palettes, 4,86 g (Rdt= 93%) d'acide-ester sont isolés.



Mélange de 2 diastéréoisomères (1/1):

Acide-2-*tert*-butoxycarbonyl-3-(1*H*-indol-3-yl)-3-phénylpropanoïque.

CAS : 296235-46-6.

C₂₂H₂₃NO₄: MM = 365,2 g.mol⁻¹.

pF = 175°C.

UV: λ_{max} = 220 ; 281 ; 291 nm.

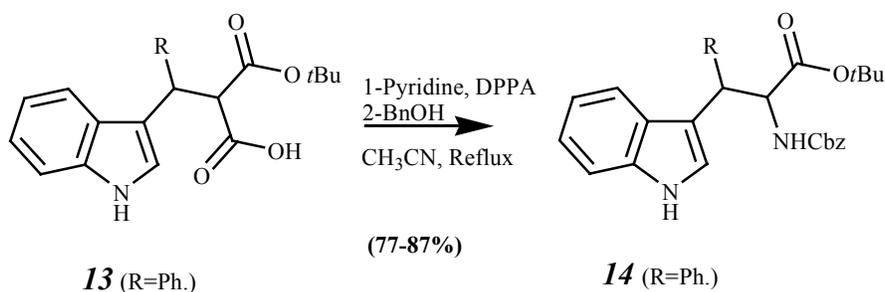
IR (KBr) = 3471 ; 3403 ; 2977 ; 1730 (C=O) ; 1706 (C=O) ; 1456 ; 1330 ; 1147 ; 742 cm⁻¹.

RMN ^1H (DMSO- d_6) : $\delta_{\text{ppm}} = 10,9$ (s, 1H, NH) ; 7,55-6,90 (m, 10H, 5xCH-Ph., 5xCH-ind.) ; 4,79 [4,77] (d, 1H, $J = 12,2$ Hz, Ph-CH) ; 4,36 [4,33] (d, 1H, $J = 12,2$ Hz, CHCO $_2$) ; 1,13 [1,09] (s, 9H, C(CH $_3$) $_3$).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : $\delta_{\text{ppm}} = 169,2$ (CO $_2$ H) ; 167,2 (CO $_2$ tBu) ; 143,1 [142,6] (C-1-Ph.) ; 136,2 [136,1] (C-7a-ind.) ; 128,7-126,2 (5xCH-Ph.) ; 126,6 (C-3a-ind.) ; 121,2 (C-2-ind.) ; 122,2 (C-6-ind.) ; 118,8 (C-5-ind) ; 118,5 (C-4-ind.) ; 116,7 [116,2] (C-3-ind.) ; 111,4 (C-7-ind.) ; 80,9 [80,8] (C(CH $_3$) $_3$) ; 59,3 [58,4] (CH-Mel.) ; 42,6 [42,4] (Ph-CH) ; 27,4-27,3 (CH $_3$).

SM (IE): 365 (21) [M $^{+}$] ; 264 (42) ; 205 (100).

1-2-1-4- Réaction de Curtius :

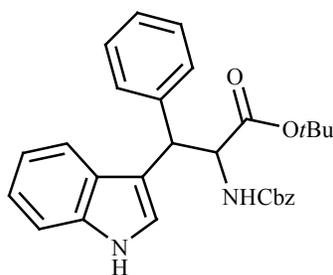


Référence : Nemes C. ; Jeannin L. ; Sapi J. ; Laronze M. ; Seghir M. ; Augé F. ; Laronze J. Y. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 5479-5492.

En série phényle (**14**) :

A une solution de 500 mg d'acide-ester **13** (1,37 mmol ; 1 équiv.) dissous dans 50 mL d'acétonitrile distillé, sont successivement additionnés, 1,2 mL (13,7 mmol ; 10 équiv.) de pyridine et 0,33 mL (1,5 mmol ; 1,1 équiv.) de diphénylphosphorylazide (DPPA). Le mélange est chauffé à reflux pendant 90 minutes puis 180 μL (1,64 mmol ; 1,2 équiv.) d'alcool benzylique sont ajoutés. Après une nuit au reflux, les solvants sont évaporés sous pression réduite et le résidu est ensuite repris dans 50 mL de CH $_2$ Cl $_2$. Cette solution est lavée successivement par 50 mL d'une solution aqueuse d'acide citrique (5%), 50 mL de saumure saturée, 50 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de potassium puis par 50 mL d'eau. La phase organique est ensuite séchée par MgSO $_4$, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle 8/2) permet d'isoler 497 mg (Rdt=77%) d'huile incolore.

L'huile obtenue est un mélange de 2 diastéréoisomères (1/1). Sur de plus grandes quantités, une cristallisation sélective dans l'éther permet d'isoler un des couples de diastéréoisomères.

**14**

2-(*S*^{*})-Benzyloxycarbonylamino-3(*S*^{*})-(1*H*-indol-3-yl)-3-phénylpropanoate de *tert*-butyle.

CAS : 296235-55-7.

C₂₂H₂₃NO₄: MM = 365,2 g.mol⁻¹.

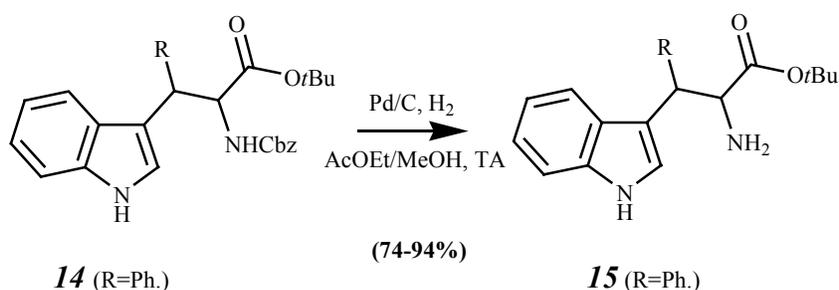
Diastéréoisomère cristallisable:

IR (KBr) = 3437 ; 3412 ; 3133 ; 1724 (C=O) cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,12 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,50-6,9 (m, 15H, 10xCH-Ph., 5xCH-ind.) ; 5,35 (d, 1H, *J* = 8,6 Hz, NH-carbamate) ; 5,01 (m, 3H, CH₂-Bn., CH-3) ; 4,67 (t, 1H, *J* = 8,6 Hz, CH-2) ; 1,17 (s, 9H, C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 170,8 (CO₂*t*Bu) ; 156,0 (CO₂N) ; 140,3* (C-1-Ph.) ; 136,2* (C-1-Ph.) ; 136,1* (C-7'a-ind.) ; 128,6-126,9 (10xCH-Ph.) ; 127,1 (C-3'a-ind.) ; 122,2 (C-2'-ind.) ; 119,5 (C-5'-ind.) ; 119,1 (C-4'-ind.) ; 114,7 (C-3'-ind.) ; 111,1 (C-7'-ind.) ; 81,9 (C(CH₃)₃) ; 66,7 (CH₂-Bn.) ; 58,5 (CH-2) ; 46,0 (CH-3) ; 27,7 (C(CH₃)₃).

1-2-1-5- Déprotection :

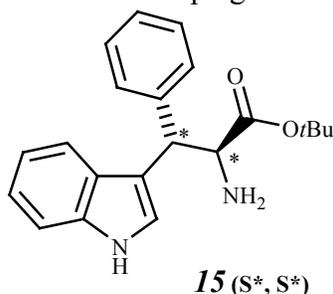


Référence : Nemes C. ; Jeannin L. ; Sapi J. ; Laronze M. ; Seghir M. ; Augé F. ; Laronze J. Y. *Tetrahedron* **2000**, 56, 5479-5492.

En série phényle (**15**):

A une solution de 820 mg (2 mmol, 1 équiv.) de carbamate **14** (un seul couple d'énantiomères : *S*^{*},*S*^{*}) dans 30 mL d'un mélange d'acétate d'éthyle/méthanol (1/1), sont additionnés 120 mg (0,113 mmol, 0,06 équiv.) de palladium sur charbon 10%. Le mélange réactionnel est placé sous atmosphère d'hydrogène avec une agitation vigoureuse pendant 12 heures. Le mélange réactionnel est alors filtré sur Célite[®] ; cette dernière est lavée trois fois par 10 mL du mélange de solvants (acétate d'éthyle/MeOH 1/1). La solution est ensuite évaporée sous pression réduite ;

632 mg (Rdt= 94%) de cristaux blancs sont obtenus. Les configurations sont déterminées par comparaison avec les valeurs de constantes de couplage décrites dans la publication de référence.



2-(S*)-Amino-3-(S*)-(1H-indol-3-yl)-3 phénylpropanoate de *tert*-butyle.
(β -phényl-tryptophanate de *tert*-butyle)

CAS : 296235-67-1.

C₂₂H₂₃NO₄: MM = 336,2 g.mol⁻¹.

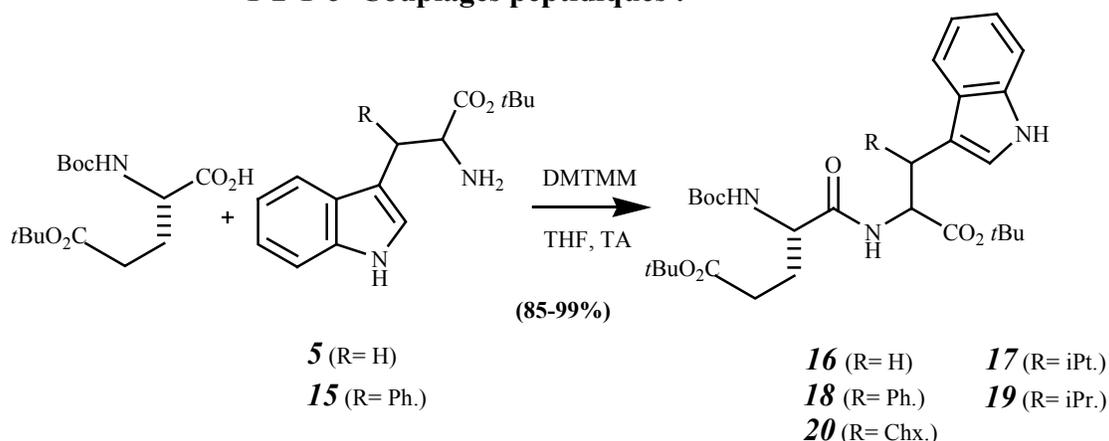
pF = 146° C.

IR (KBr) = 3410 ; 3059 ; 1724 (C=O) cm⁻¹.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) : δ_{ppm} = 11,0 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,54 (d, 1H, *J*= 2,0 Hz, *H*-2'-ind.) ; 7,50-7,14 (m, 7H, 5xCH-Ph., *H*-4'-ind., *H*-7'-ind.) ; 6,95* (t, 1H, *J*= 7,3 Hz, *H*-5'-ind.) ; 6,92* (t, 1H, *J*= 7,3 Hz, *H*-6'-ind.) ; 4,38 (d, 1H, *J*= 8,6 Hz, CH-3) ; 4,07 (d, 1H, *J*= 8,6 Hz, CH-2), 1,11 (s, 9H, C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) : δ_{ppm} = 173,4 (CO₂*t*Bu) ; 142,8* (C-1-Ph.) ; 136,1* (C-7'a-ind.) ; 128,9 (CH-Ph.) ; 128,7 (CH-Ph.) ; 127,9 (CH-Ph.) ; 127,4 (C-3'a-ind.) ; 126,1 (C-2'-ind.) ; 121,0 (C-6'-ind.) ; 118,6* (C-5'-ind) ; 118,4* (C-4'-ind.) ; 114,7 (C-3'-ind) ; 111,4 (C-7'-ind.) ; 79,8 (C(CH₃)₃) ; 59,6 (CH-2) ; 48,2 (CH-3) ; 27,4 (C(CH₃)₃).

1-2-1-6- Couplages peptidiques :



Mode opératoire générale :

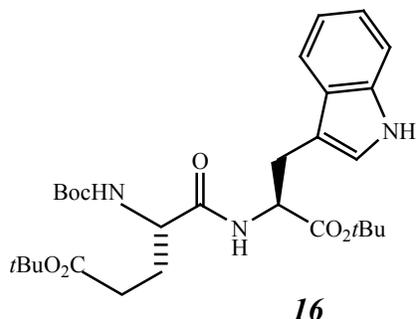
Dans 2 mL de tétrahydrofurane sec, 94 mg (0,31 mmol, 1 équiv.) d'acide glutamique protégé et de 0,33 mmol (1,06 équiv.) de dérivé du tryptophane sont dissous. Après 10 minutes d'agitation à température ambiante, 92 mg (0,33 mmol ; 1,06 équiv.) de diméthoxytriazine-

méthylmorpholinium (DMTMM) sont additionnés au mélange réactionnel. La solution est maintenue 3 heures à température ambiante puis 5 mL d'eau sont ajoutés. Le mélange réactionnel est extrait par 20 mL l'éther puis lavé successivement par 10 mL d'une solution aqueuse de carbonate de potassium (5%), 10 mL d'eau, 10 mL d'une solution aqueuse d'HCl (1N), 10 mL d'une solution aqueuse saturée de NaCl, puis par 10 mL d'eau. La phase organique séchée par MgSO₄, filtrée est évaporée sous pression réduite.

Pour R= H (16).

Dérivé du tryptophane de départ : *O*-*tert*-butyl-L-tryptophane.

Produit obtenu :



167 mg (Rdt= 99%) de solide amorphe beige.

tert-butyl-(*S*)-1-((*S*)-1-(*tert*butoxycarbonyl)-2-(1-*H*-indol-3-yl)éthylcarbamoyl)-3-(*tert*-butoxycarbonyl) propylcarbamate.

(*N*-*tert*-butyl-oxycarbonyl- γ -*O*-*tert*-butyl-L- α -glutamyl-*O*-*tert*-butyl-L-tryptophane)

C₂₉H₄₃N₃O₇: MM = 545,7 g.mol⁻¹.

pF = 72°C.

[α _D] = +10,4° (10 g.L⁻¹ ; CHCl₃).

UV = 210 ; 282 ; 290 nm.

IR (film) = 3312 ; 2978 ; 2925 ; 1722 (C=O) ; 1661 (C=O) ; 1511 ; 1366 ; 1155 ; 740 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,21 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,59 (d, 1H, *J*= 7,6 Hz, *H*-4''-ind.) ; 7,34 (d, 1H, *J*= 7,7 Hz, *H*-7''-ind.) ; 7,18 (t, 1H, *J*= 7,5 Hz, *H*-6''-ind.) ; 7,11 (t, 1H, *J*= 7,5 Hz, *H*-5''-ind.) ; 7,05 (d, 1H, *J*= 2,0 Hz, *H*-2''-ind.) ; 6,76 (d, 1H, *J*= 7,2 Hz, NH-amide) ; 5,21 (d, 1H, *J*= 7,8 Hz, NH-carbamate) ; 4,78 (m, 1H, CH-2'-Trp) ; 4,08 (m, 1H, CH-2-Glu) ; 3,27 (m, 2H, CH₂-3') ; 2,29 (m, 2H, CH₂-4) ; 2,03 (m, 1H, CH_AH_B-3) ; 1,81 (m, 1H, CH_AH_B-3) ; 1,42 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,40 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,35 (s, 9H, C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 172,6 ; 171,2 (2xCO₂tBu) ; 170,6 (CON) ; 155,5 (NCO₂) ; 136,0 (C-7''a-ind.) ; 127,6 (C-3''a-ind.) ; 122,8 (C-2''-ind.) ; 122,0 (C-6''-ind.) ; 119,4 (C-5''-ind.) ; 118,8 (C-4''-ind.) ; 111,1 (C-7''-ind.) ; 110,0 (C-3''-ind.) ; 82,0 ; 80,7 ; 79,8 (3xC(CH₃)₃) ; 53,9 (CH-2-Glu) ; 53,5 (CH-2'-Trp) ; 31,7 (CH₂-4) ; 28,0-27,5 (9xC(CH₃)₃) ; 27,9 (CH₂-3) ; 27,5 (CH₂-3').

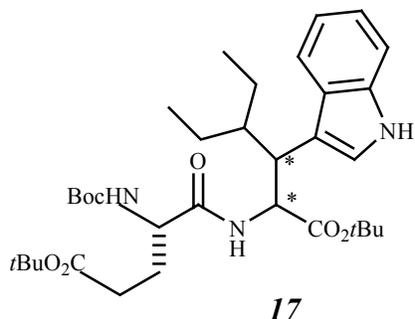
SM (IE): 545 [M⁺] ; 414 ; 293 ; 284 ; 267 ; 149.

HRMS (IE) ; 545,3086 (calc: 545,3101 Δ ppm: -2,8 Δ mDa: -1,5).

Pour R= isopentyle (17).

Dérivé du tryptophane de départ: mélange de diastéréoisomères: 2-amino-4-éthyl-3-(1*H*-indol-3-yl) hexanoate de *tert*-butyle synthétisé au Laboratoire par Marie Cochard (configuration des centres non déterminée).

Produit obtenu :



191 mg (Rdt= 97%) de solide amorphe beige.

tert-butyl-(*S*)-1-(1-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-éthyl-3-(1-*H*-indol-3-yl)hexylcarbamoyl)-3-(*tert*-butoxycarbonyl) propylcarbamate.

$C_{34}H_{53}N_3O_7$: MM = 615,8 g.mol⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,28 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,70-7,0 (m, 5H, CH-ind.) ; 6,61 [6,56] (d, 1H, *J*= 9,2 Hz , NH-amide) ; 5,33 [5,19] (d, 1H, *J*= 6,7 Hz, [*J*= 5,3 Hz], NH-carbamate) ; 4,97 (m, 1H, CH-2'-Trp.) ; 4,08 (m, 1H, CH-2-Glu.) ; 3,40 (m, 1H, CH-3') ; 2,40-1,10 (m, 32H, CH-*i*Pt., 2xCH₂-*i*Pt., 3xC(CH₃)₃) ; 0,86 (m, 3H, CH₃-*i*Pt.) ; 0,74 (m, 3H, CH₃-*i*Pt.).

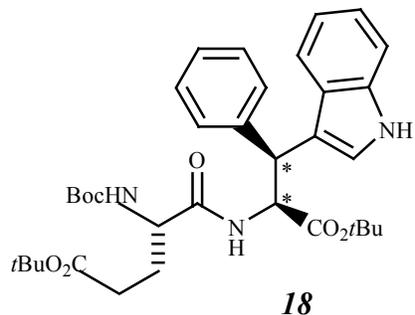
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 172,6 ; 171,2 [171,0] ; 170,9 [170,5] ((2xCO₂tBu ; CON) ; 155,5 (NCO₂) ; 136,0 (C-7''a-ind.) ; 128,7 [128,6] (C-3''a-ind.) ; 123,0 [122,8] (C-2''-ind.) ; 121,9 [121,8] (C-6''-ind.) ; 119,4 (C-5''-ind.) ; 119,3 (C-4''-ind.) ; 112,9 [112,6] (C-7''-ind.) ; 111,0 [110,9] (C-3''-ind.) ; 82,0 ; 80,7 ; 79,8 (3xC(CH₃)₃) ; 56,1 [55,2] (CH-2'-Trp.) ; 54,2 (CH-2-Glu.) ; 42,2 [41,9] (CH-*i*Pt.) ; 31,7 (CH₂-4) ; 28,0-27,5 (3xC(CH₃)₃) ; 27,9 (CH₂-3) ; 23,0 (2xCH₂-*i*Pt.) ; 11,6-10,9 (2xCH₃-*i*Pt.).

SM (ESI): 638 [M+Na⁺] ; 616 [M+H⁺].

Pour R= phényle (18).

Dérivé du tryptophane de départ: un seul couple d'énantiomères (2*S**,3*S**) : 2-amino-3-phényl-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate de *tert*-butyle. (*O*-*tert*-butyl-β-phényl-tryptophane) **15**.

Produit obtenu :



152 mg (Rdt= 79%) de solide amorphe beige.

tert-butyl-(*S*)-1-((*S**)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-(*S**)-2-phényl-2-(1*H*-indol-3-yl) éthylcarbamoyl)-3-(*tert*-butoxycarbonyl) propylcarbamate.

(*N*-*tert*-butyl-oxycarbonyl- γ -*O*-*tert*-butyl-L- α -glutamyl-*O*-*tert*-butyl- β -phényl-tryptophane).

C₃₅H₄₇N₃O₇: MM = 621,8 g.mol⁻¹.

Les deux diastéréoisomères ont été séparés par chromatographie liquide haute pression (DEA de Hany IBRAHIM juillet 2004), puis lyophilisés:

Appareillage : Perkin Elmer série 200, détection à barrette de diodes.

Logiciel : Turbochrom Navigator.

Colonne: Nucléosil C18 (5 μ m, 10 mm-250 mm).

Eluant: isocratique 76% acétonitrile, 24% eau.

Débit : 6 mL.min⁻¹.

Diastéréoisomère le plus polaire :

Temps de rétention : 12,2 minutes.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,15 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,42-6,99 (m, 10H, 5xCH-Ph., 5xCH-ind.) ; 6,71 (d, 1H, *J*= 6,4 Hz, NH-amide) ; 5,24 (m, 2H, NH-carbamate, CH-2'-Trp) ; 4,70 (d, 1H, *J*= 6,8 Hz, CH-3') ; 4,03 (m, 1H, CH-2-Glu) ; 2,13 (m, 1H, CH_AH_B-4) ; 2,03 (m, 1H, CH_AH_B-4) ; 1,67 (m, 2H, CH₂-3) ; 1,40 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,34 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,16 (s, 9H, C(CH₃)₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 172,6 ; 171,5 (2xCO₂tBu) ; 170,5 (CON) ; 155,5 (NCO₂) ; 140,1 (C-1-Ph.) ; 136,1 (C-7''a-ind.) ; 128,7 ; 128,3 ; 126,9 (5xCH-Ph) ; 127,1 (C-3''a-ind.) ; 122,2 ; 121,7 (C-2''-ind. ; C-6''-ind.) ; 119,4 (C-5''-ind.) ; 119,0 (C-4''-ind.) ; 114,5 (C-3''-ind.) ; 111,1 (C-7''-ind.) ; 82,1 ; 80,8 ; 79,9 (3xC(CH₃)₃) ; 56,9 (CH-2'-Trp) ; 53,9 (CH-2-Glu) ; 45,7 (CH-3') ; 31,5 (CH₂-4) ; 31,2 (CH₂-3) ; 28,1-27,5 (3xC(CH₃)₃).

Diastéréoisomère le moins polaire :

Temps de rétention : 13,3 minutes.

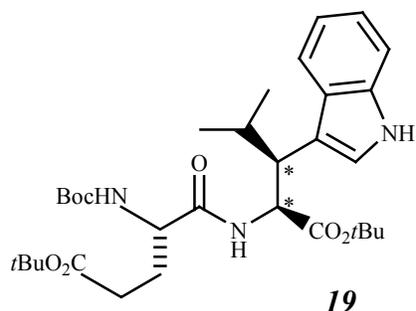
RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,11 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,42-6,99 (m, 10H, 5xCH-Ph., 5xCH-ind.) ; 6,78 (d, 1H, *J*= 8,3 Hz, NH-amide) ; 5,24 (dd, *J*₁=*J*₂= 8,7 Hz, 1H, CH-2'-Trp) ; 5,05 (m, 1H, NH-carbamate) ; 4,70 (d, 1H, *J*= 8,6 Hz, CH-3) ; 4,03 (m, 1H, CH-2-Glu) ; 2,16 (m, 2H, CH₂-4) ; 2,03-1,5 (m, 2H, CH₂-3) ; 1,39 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,36 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,16 (s, 9H, C(CH₃)₃).

Pour R= isopropyle (19).

Dérivé du tryptophane de départ: un seul couple d'énantiomères (2*S**,3*S**): 2-(amino-4-méthyl-3-(1*H*-indol-3-yl)-pentanoate de *tert*-butyle.

(*O*-*tert*-butyl- β -isopropyl-tryptophane) synthétisé au laboratoire par Marie Cochard.

Produit obtenu :



155 mg (Rdt= 85%) de solide amorphe beige.

tert-butyl-(*S*)-1-((*S**)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-3-méthyl-(*S**)-2-(1*H*-indol-3-yl) butylcarbamoyl)-3-(*tert*-butoxycarbonyl) propylcarbamate.

(*N*-*tert*-butyloxycarbonyl- γ -*O*-*tert*-butyl-L- α -glutamyl-*O*-*tert*-butyl- β -isopropyl-tryptophane)

C₃₂H₄₉N₃O₇: MM = 587,7 g.mol⁻¹.

Les deux diastéréoisomères ont été séparés par chromatographie liquide haute pression (DEA de Hany IBRAHIM) sur le même appareillage que les produits substitués par un phényle, puis lyophilisés:

Eluant: isocratique 72% acétonitrile, 28% eau.

Débit : 6 mL.min⁻¹.

Diastéréoisomère le plus polaire :

Temps de rétention : 18,0 minutes.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,11 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,57 (d, 1H, J = 7,9 Hz, *H*-4''-ind.) ; 7,33 (d, 1H, J = 7,9 Hz, *H*-7''-ind.) ; 7,15 (t, 1H, J = 7,9 Hz, *H*-6''-ind.) ; 7,11 (t, 1H, J = 7,9 Hz, *H*-5''-ind.) ; 7,02 (d, 1H, J = 2,3 Hz, *H*-2''-ind.) ; 6,60 (m, 1H, NH-amide) ; 5,29 (d, 1H, J = 5,6 Hz, NH-carbamate) ; 4,94 (t, 1H, J = 8,7 Hz, *CH*-2'-Trp) ; 4,10 (m, 1H, *CH*-2-Glu) ; 3,20 (dd, 1H, J = 6,8 Hz, J = 8,7 Hz, *CH*-3') ; 2,4-2,15 (m, 3H, *CH*₂-4, *CH*-iPr.) ; 2,03 (m, 1H, *CH*_A*H*_B-3) ; 1,94 (m, 1H, *CH*_A*H*_B-3) ; 1,45 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,42 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,12 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,00 (d, 3H, J = 6,8 Hz, *CH*₃-iPr.) ; 0,87 (d, 3H, J = 6,4 Hz, *CH*₃-iPr.).

Diastéréoisomère le moins polaire :

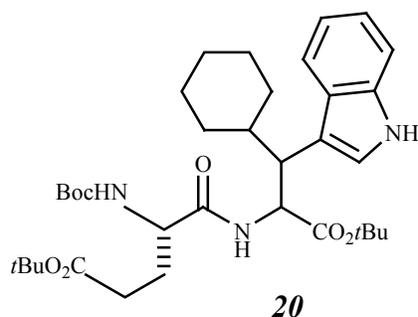
Temps de rétention : 18,95 minutes.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,11 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,55 (d, 1H, J = 7,5 Hz, *H*-4''-ind.) ; 7,33 (d, 1H, J = 7,7 Hz, *H*-7''-ind.) ; 7,15 (t, 1H, J = 7,7 Hz, *H*-6''-ind.) ; 7,11 (t, 1H, J = 7,7 Hz, *H*-5''-ind.) ; 7,00 (d, 1H, J = 2,2 Hz, *H*-2''-ind.) ; 6,60 (d, 1H, J = 8,3 Hz, NH-amide) ; 5,15 (m, 1H, NH-carbamate) ; 4,96 (dd, 1H, J_1 = 8,7 Hz, J_2 = 8,3 Hz, *CH*-2'-Trp) ; 4,10 (m, 1H, *CH*-2-Glu) ; 3,18 (dd, 1H, J = 7,5 Hz, J = 8,7 Hz, *CH*-3') ; 2,4-2,15 (m, 3H, *CH*₂-4, *CH*-iPr.) ; 2,03 (m, 1H, *CH*_A*H*_B-3) ; 1,94 (m, 1H, *CH*_A*H*_B-3) ; 1,43 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,42 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,15 (s, 9H, C(CH₃)₃) ; 1,03 (d, 3H, J = 6,4 Hz, *CH*₃-iPr.) ; 0,87 (d, 3H, J = 6,4 Hz, *CH*₃-iPr.).

Pour R= cyclohexyle (20).

Dérivé du tryptophane de départ: quatre diastéréoisomères : 2-amino-4-méthyl-3-(1*H*-indol-3-yl)-pentanoate de *tert*-butyle. (*O*-*tert*-butyl- β -isopropyl-tryptophane).

Produit obtenu :



155 mg (Rdt= 85%) de solide amorphe beige.

Tert-butyl-1-(*S*)-1-(*tert*-butoxycarbonyl)-2-cyclohexyl-2-(1*H*-indol-3-yl)ethylcarbamoyl)-3-(*tert*-butoxycarbonyl)propylcarbamate.

(*N*-*tert*-butyl-oxycarbonyl- γ -*O*-*tert*-butyl-L- α -glutamyl-*O*-*tert*-butyl- β -cyclohexyl-tryptophane).

C₃₅H₅₃N₃O₇: MM = 627,8 g.mol⁻¹.

Les deux couples diastéréoisomères ont été séparés par chromatographie liquide haute pression (DEA de Hany IBRAHIM) sur le même appareillage que les produits substitués par un phényle, puis lyophilisés:

Eluent: isocratique 88% acétonitrile, 12% eau.

Couple de diastéréoisomères le plus polaire :

Temps de rétention : 5,95 minutes.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,11 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,57 [7,54] (d, 1H, J = 7,2 Hz, [J = 6,9 Hz], *H*-4''-ind.) ; 7,34 [(d, 1H, J = 7,8 Hz, *H*-7''-ind.) ; 7,16-7,00 (m, 2H, *H*-6''-ind., *H*-5''-ind.) , 7,00 [6,98] (d, 1H, J = 2,3 Hz, [J = 2,3 Hz], *H*-2''-ind.) ; 6,60 (m, 1H, NH-amide) ; 5,29 [5,14] (d, 1H, J = 8,6 Hz [J = 7,5 Hz], NH-carbamate) ; 5,00 (m, 1H, *CH*-2'-Trp.) ; 4,10 (m, 1H, *CH*-2-Glu) ; 3,20 (m, 1H, *CH*-3) ; 2,4-0,9 (m, 15H, *CH*₂-3, *CH*₂-4, 10x*CH*₂-Chx., *CH*-Chx.) ; 1,45 [1,43] (s, 9H, C(*CH*₃)₃) ; 1,42 (s, 9H, C(*CH*₃)₃) ; 1,18 [1,14] (s, 9H, C(*CH*₃)₃).

SM (ESI+): 628,8 [M+H]⁺.

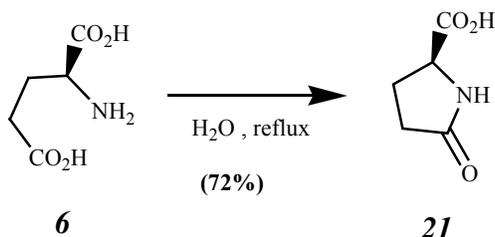
Couple de diastéréoisomère le moins polaire :

Temps de rétention : 8,2 minutes.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,16 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,63 [7,60] (d, 1H, J = 9,9 Hz, [J = 8,1 Hz], *H*-4''-ind.) ; 7,33 (d, 1H, J = 7,7 Hz, *H*-7''-ind.) ; 7,16-7,00 (m, 3H, *H*-5''-ind., *H*-6''-ind., *H*-2''-ind.) ; 6,60 [6,57] (d, 1H, J = 9,6 Hz, [J = 9,6 Hz], NH-amide) ; 5,33 [5,24] (d, 1H, J = 7,2 Hz [J = 8,1 Hz], NH-carbamate) ; 5,06 (m, 1H, *CH*-2'-Trp) ; 4,14 (m, 1H, *CH*-2-Glu) ; 3,37 (m, 1H, *CH*-3') ; 2,4-0,8 (m, 15H, *CH*₂-3, *CH*₂-4, 10x*CH*₂-Chx., *CH*-Chx.) ; 1,43 (s, 9H, C(*CH*₃)₃) ; 1,43 [1,42] (s, 9H, C(*CH*₃)₃) ; 1,23 [1,21] (s, 9H, C(*CH*₃)₃).

SM (ESI+): 628,8 [M+H]⁺.

1-2-2- Préparation de l'analogue pyroglutamique :
1-2-2-1- Acide pyroglutamique 21:



Une solution de 10 g (68 mmol ; 1 équiv.) d'acide L-glutamique **6** dans 120 mL d'eau est placée à reflux pendant 48 heures. Après refroidissement à température ambiante, le mélange réactionnel est placé à -20°C pendant 48 heures ; la filtration sous vide et le séchage à la pompe à palettes permettent d'isoler 6,3 g (Rdt = 72%) de cristaux blancs.

Acide (*S*)-5-oxopyrrolidine-2-carboxylique.

(Acide pyroglutamique)

CAS : 98-79-23.

C₅H₇NO₃; MM = 129,1 g.mol⁻¹.

pF = 148°C.

[α_D] = -10,1° (10 g.L⁻¹ ; H₂O).

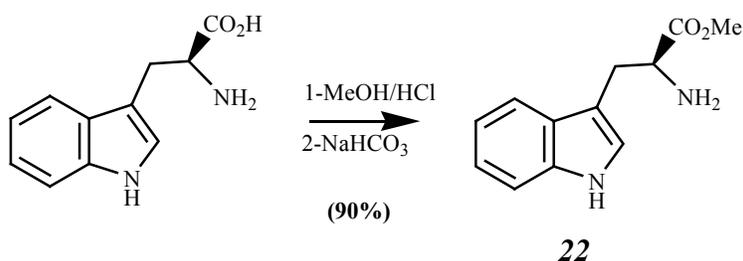
IR (KBr) = 3400 (N-H) ; 2502 ; 1718 (C=O) ; 1648 (C=O) ; 1418 ; 1229 ; 965 ; 714 cm⁻¹.

RMN ¹H (D₂O) : δ_{ppm} = 4,36 (dd, 1H, *J*_{2-3A} = 5,0 Hz, *J*_{2-3B} = 9,0 Hz, CH-2) ; 2,51 (m, 1H, CH_AH_B-4) ; 2,39 (m, 2H, CH₂-3) ; 2,15 (m, 1H, CH_AH_B-4).

RMN ¹³C (D₂O) : δ_{ppm} = 181,6 (CO₂H) ; 176,2 (CON) ; 55,6 (CH-2) ; 28,9 (CH₂-4) ; 24,1 (CH₂-3).

SM (ESI-) : 128,1 [M-H]⁻ ; 257,1 [2M-H]⁻.

1-2-2-2- Tryptophanate de méthyle 22:



Une solution de 10 g de L-tryptophane (49 mmol ; 1 équiv.) dans 120 mL de méthanol chlorhydrique est placée à reflux pendant 2 heures. Après retour à température ambiante, le chlorhydrate du tryptophanate de méthyle cristallise. Les cristaux sont filtrés sous vide puis lavés

par 3x20 mL d'éther. L'élimination des traces de solvants par séchage à la pompe à palettes permet l'obtention de 11,25 g (Rdt= 90%) de cristaux blancs.

Afin d'obtenir la forme base, la poudre est dissoute dans 100 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium; la suspension obtenue est alors extraite par 2x 50 mL de CH₂Cl₂/MeOH (8/2). La phase organique est ensuite séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite.

L-Tryptophanate de méthyle.

CAS : 4299-70-1

C₁₂H₁₄N₂O₂: MM = 218,3 g.mol⁻¹.

pF = 90°C

[α_D] = + 23 ° (c= 10 g.L⁻¹ ; MeOH)

UV: λ_{max} = 222 ; 282 ; 290 nm.

IR (KBr) = 3356 (N-H) ; 3286 (N-H) ; 2916 ; 1731 (C=O) ; 1573 ; 1432 ; 1225 ; 740 cm⁻¹.

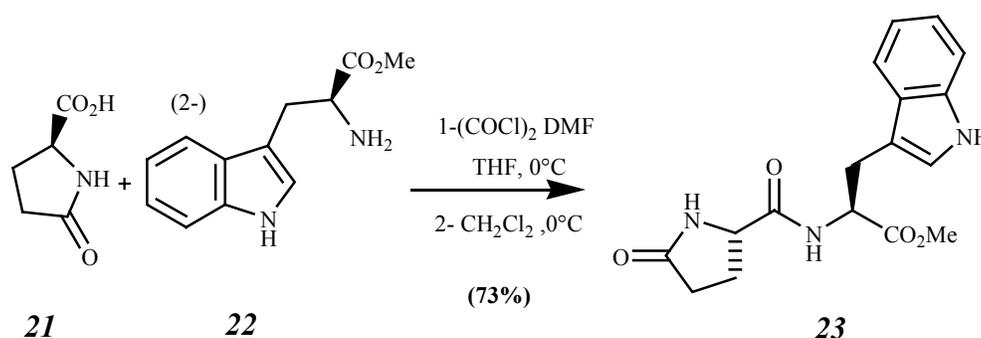
RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,48 (s, 1H, NH) ; 7,60 (d, 1H, J_{4'-5'} = 7,8 Hz, H-4'-ind.) ; 7,33 (d, 1H, J_{7'-6'} = 7,8 Hz, H-7'-ind.) ; 7,25-7,10 (m, 2H, H-6'-ind., H-5'-ind.) ; 7,01 (d, 1H, J = 1,6 Hz, H-2'-ind.) ; 3,80 (m, 1H, CH-2) ; 3,71 (s, 3H, OCH₃) ; 3,29 (dd, 1H, J_{3A-2} = 4,7 Hz, J_{3A-3B} = 14,4 Hz, CH_AH_{B-3}) ; 3,05 (dd, 1H, J_{3B-2} = 7,7 Hz, J_{3A-3B} = 14,4 Hz, CH_AH_{B-3}) ; 1,72 (s, 2H, NH₂).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 175,7 (CO₂Me) ; 136,2 (C-7a'-ind.) ; 127,3 (C-3a'-ind.) ; 122,9 (C-2'-ind.) ; 121,7 (C-6'-ind.) ; 119,4 (C-5'-ind.) ; 118,6 (C-4'-ind.) ; 111,2 (C-7'-ind.) ; 110,8 (C-3'-ind.) ; 54,8 (CH-2) ; 52,0 (OCH₃) ; 30,7 (CH₂-3).

SM (IE): 218 [M⁺⁺] ; 130.

HRMS (IE) : 218,1028 (calc: 218,1055 Δ ppm: -12,5 Δ mDa: -2,7).

1-2-2-3- L-pyroglutamyl-L-tryptophanate de méthyle **23** :



A une solution de 2 g (15,5 mmol ; 1 équiv.) d'acide pyroglutamique **21** dans 20 mL de tétrahydrofurane placée à 0°C, sont successivement ajoutés 1 mL de diméthylformamide et 2 mL (23,3 mmol ; 1,5 équiv.) de chlorure d'oxalyle. Après 30 minutes sous agitation à 0°C, le mélange réactionnel est évaporé sous vide ; le résidu est repris dans 20 mL de CH₂Cl₂ distillé. Une solution de 3,38 g (15,5 mmol ; 1 équiv.) de tryptophanate de méthyle **22** dans 20 mL de CH₂Cl₂ distillé est ajoutée à 0°C au mélange réactionnel. Après 10 minutes, la solution est lavée

par successivement 40 mL de solution aqueuse d'HCl (1N), de solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium puis d'eau. ; la phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH₂Cl₂/CH₃OH (4%)) permet d'isoler 3,7 g (Rdt = 73%) de solide amorphe.

(*S*)-2-((*S*)-5-oxopyrrolidine-2-carboxamido)-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate de méthyl
(*L*-pyroglutamyl-*O*-méthyl-*L*-tryptophane).
C₁₇H₁₉N₃O₄: MM = 329,4 g.mol⁻¹.

pF = 86° C.

[α_D] = +26,7° (10 g.L⁻¹; CHCl₃).

UV: λ_{max} = 220 ; 281 ; 290 nm.

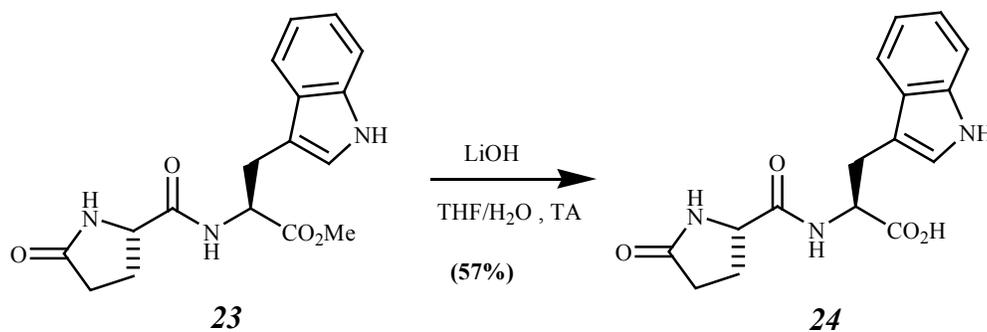
IR (film) = 3286 ; 1740 (C=O) ; 1687 (C=O) ; 1670 (C=O) ; 1533 ; 1432 ; 1220 ; 745 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 9,06 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,48 (d, 1H, *J* = 7,5 Hz, *H*-4''-ind.) ; 7,27 (m, 2H, *H*-7''-ind., CONH-Glu.) ; 7,16-7,00* (m, 3H, *H*-6''-ind., *H*-5''-ind., CONH-Trp.) ; 6,95 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, *H*-2''-ind.) ; 4,88 (m, 1H, CH-2'-Trp.) ; 3,91 (dd, 1H, *J* = 3,9 Hz, *J* = 8,6 Hz, CH-2-Glu.) ; 3,67 (OCH₃) ; 3,28 (m, 2H, CH₂-3') ; 2,19 (m, 1H, CH_AH_B-4) ; 2,04 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz CH₂-3) ; 1,87 (m, 1H, CH_AH_B-3).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 179,6 (CONH-1) ; 170,7 ; 170,6 (CO₂Me ; CONH-4.) ; 136,1 (C-7''a-ind.) ; 127,1 (C-3''a-ind.) ; 123,4 (C-2''-ind.) ; 122,0 (C-6''-ind.) ; 119,4 (C-5''-ind.) ; 118,2 (C-4''-ind.) ; 111,4 (C-7''-ind.) ; 109,1 (C-3''-ind.) ; 56,7 (OCH₃) ; 52,5* (CH-2-Glu) ; 52,4* (CH-2'-Trp.) ; 28,9 (CH₂-4) ; 27,2 (CH₂-3') ; 25,2 (CH₂-3).

SM (ESI+): 330 [M+H]⁺.

1-2-2-4- *L*-pyroglutamyl-*L*-tryptophane 24:



A une solution de 634 mg (2 mmol ; 1 équiv.) de dipeptide protégé (**23**) dans 60 mL d'un mélange de tétrahydrofurane/eau (1/1) placée à 0°C, sont ajoutés 20 mL (4 mmol ; 2 équiv.) d'une solution aqueuse d'hydroxyde de lithium (0,2N). Après 4 heures d'agitation à température ambiante, sont additionnés 5 mL d'une solution aqueuse d'HCl (1N). La solution est alors extraite trois fois par 50 mL d'acétate d'éthyle puis la phase organique est filtrée et évaporée sous pression réduite ; une cristallisation dans l'éther permet d'isoler 358 mg (Rdt = 57%) de cristaux blancs.

Acide (S)-2-((S)-5-oxopyrrolidine-2-carboxamido)-3-(1H-indol-3-yl)propanoïque.
(L-pyroglutamyl-L-tryptophane)
 $C_{16}H_{17}N_3O_4$; MM = 315,3 g.mol⁻¹.

pF = 133° C.

[α_D] = +6,3° (0,2 g. 100 mL⁻¹; MeOH).

UV: λ_{max} = 224 ; 281 ; 290 nm.

IR (film) = 3321 ; 1722 (C=O) ; 1652 (C=O) ; 1639 (C=O) ; 1528 ; 1256 ; 740 cm⁻¹.

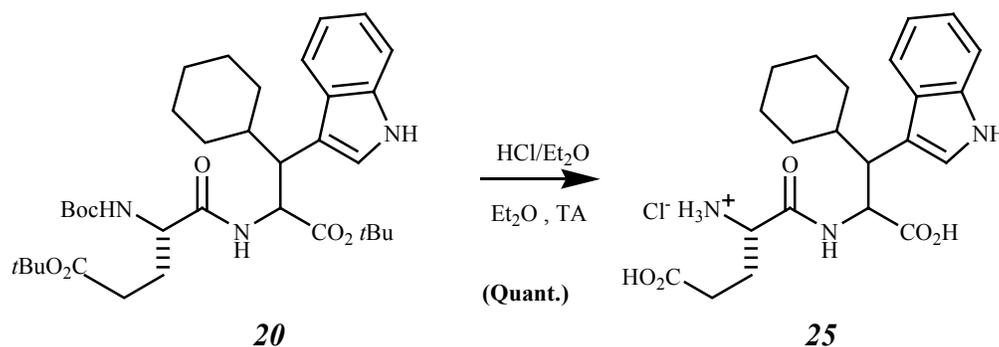
RMN ¹H (DMSO *d*-₆) : δ_{ppm} = 12,80 (sl, CO₂H) ; 10,88 (s, 1H, NH-ind.) ; 8,25 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz, CONH-Glu.) ; 7,79 (s, 1H, CONH-Trp.) ; 7,59 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz, *H*-4''-ind.) ; 7,35 (d, 1H, *J* = 7,7 Hz, *H*-7''-ind.) ; 7,17 (d, 1H, *J* = 1,8 Hz, *H*-2''-ind.) ; 7,09 (t, 1H, *J* = 7,7 Hz, *H*-6''-ind.) ; 7,00 (t, 1H, *J* = 7,7 Hz, *H*-5''-ind.) ; 4,51 (m, 1H, CH-2'-Trp.) ; 4,04 (dd, 1H, *J* = 3,4 Hz, *J* = 8,4 Hz, CH-2-Glu.) ; 3,21 (dd, 1H, *J*_{3'A-2'} = 5,1 Hz, *J*_{3'A-3'B} = 14,7 Hz, CH_AH_B-3'-Trp.) ; 3,21 (dd, 1H, *J*_{3'B-2'} = 8,6 Hz, *J*_{3'A-3'B} = 14,7 Hz, CH_AH_B-3'-Trp.) ; 2,24 (m, 1H, CH_AH_B-4-Glu.) ; 2,07 (m, 2H, *J* = 7,5 Hz CH₂-3-Glu.) ; 1,82 (m, 1H, CH_AH_B-4-Glu.).

RMN ¹³C (DMSO *d*-₆) : δ_{ppm} = 177,8 (CONH-1) ; 173,5 ; 172,8 (CO₂Me ; CONH-4.) ; 136,3 (C-7''a-ind.) ; 127,4 (C-3''a-ind.) ; 124,0 (C-2''-ind.) ; 121,0 (C-6''-ind.) ; 118,7 (C-5''-ind.) ; 118,4 (C-4''-ind.) ; 111,6 (C-7''-ind.) ; 109,9 (C-3''-ind.) ; 55,5 (CH-2-Glu.) ; 53,2 (CH-2'-Trp.) ; 29,3 (CH₂-4-Glu.) ; 27,2 (CH₂-3'-Trp.) ; 25,4 (CH₂-3'-Glu.).

SM (ESI-) : 314,2 [M-H]⁻ ; 629,3 [2M-H]⁻.

1-2-3- Composés destinés aux tests biologiques :

1-2-3-1- Dipeptide β -substitué déprotégé en série cyclohexyle 25:



Une solution de 61 mg (0,097 mmol ; 1 équiv.) de dipeptide protégé **20** dans 10 mL d'une solution d'éther chlorhydrique saturée est maintenue à température ambiante pendant 3 heures. Le mélange réactionnel est évaporé sous pression réduite. L'élimination des traces de solvants à la pompe à palettes permet d'isoler 50 mg (Rdt= quantitatif) de cristaux blancs.

Mélange de quatre diastéréoisomères.

Chlorhydrate d'acide (S)-4-(1-carboxy-2-(1H-indol-3-yl)-2-cyclohexyléthylcarbamoyl)-4-aminobutanoïque.

(chlorhydrate de L- α -glutamyl- β -cyclohexyltryptophane)

$C_{22}H_{29}N_3O_5Cl$: MM = 451,9 g.mol⁻¹.

pF = 158-159°C.

UV: λ_{max} = 204 ; 222 ; 283 ; 291 nm.

IR (KBr) = 3400 (N-H) ; 2916 ; 1722 (C=O) ; 1669 (C=O) ; 1220 ; 736 cm⁻¹.

RMN ¹H (CD₃OD) : δ_{ppm} = 7,51 (m, 1H, H-4''-ind.) ; 7,20 (d, 1H, H-7''-ind.) ; 7,10-6,94 (m, 3H, H-2''-ind., H-6''-ind., H-5''-ind.) ; 5,04 (m, 1H, CH-2'-Trp.) ; 3,61 (m, 1H, CH-2-Glu.) ; 3,34 (m, 1H, CH-3'-Trp.) ; 2,46-0,9 (m, 15H, CH-Chx, 5xCH₂-Chx, CH₂-3, CH₂-4).

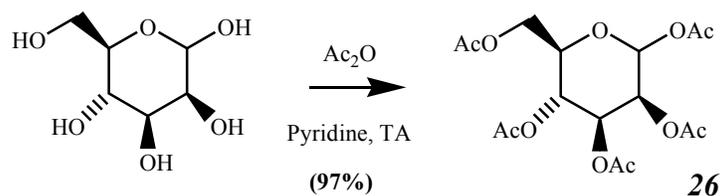
RMN ¹³C (CD₃OD) : δ_{ppm} = 181,5-173,9 (CO₂H-Glu ; CO₂H-Trp. ; CO-amide) ; 137,5 (C-7''a-ind.) ; 130,2-130,0 (C-3''a-ind.) ; 124,4-124,0 (C-2''-ind.) ; 122,3-122,1 (C-6''-ind.) ; 119,8-119,5 (C-5''-ind., C-4''-ind.) ; 114,2-113,7 (C-3''-ind.) ; 112,2 (C-7''-ind.) ; 58,2 (CH-2'-Trp.) ; 58,1 (CH-2-Glu.) ; 45,9-45,6 (CH-3') ; 40,8-40,4 (CH-Chx) ; 33,2-26,7 (CH₂-4, CH₂-3, 5xCH₂-Chx.).

2-Synthèse de l' α -C-2-mannosyltryptophane :

2-1- Voie directe :

2-1-1- Protection et halogénéation du mannose :

2-1-1-1- Mannose penta-O-acétylé 26 :



Référence : Mayato C. ; Dorta R. L. ; Vasquez J. T. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 2385-2397.

Après dissolution de 10 g (55,5 mmol ; 1 équiv.) de D-mannopyranoside dans 10 mL de pyridine, 30,2 mL (305 mmol ; 5,5 équiv.) d'anhydride acétique sont lentement additionnés à 0°C au mélange réactionnel. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, la solution est reprise par 100 mL de CH₂Cl₂ et lavée successivement par 100 mL d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium saturée, d'eau, d'une solution aqueuse de HCl 1N, d'eau, d'une solution aqueuse saturée de CuSO₄ et pour finir, d'eau, jusqu'à disparition de la coloration bleue. La phase organique est ensuite séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. L'élimination des traces de solvants par séchage à la pompe à palettes permet l'obtention de 21 g (Rdt = 97%) d'une huile incolore. Les deux anomères ne sont pas séparés.

Ratio α/β (déterminé par RMN): 3,4/1

Remarque : L'anomère α peut-être obtenu de manière stéréosélective grâce à l'utilisation du couple acétate de sodium/anhydride acétique à reflux mais au prix d'une chute de rendement (75%).

(Référence : Tennant-Eyles R. J. ; Davis B. G. ; Fairbanks A. J. *Tetrahedron Asymmetry* **2003**, *14*, 1201-1210.)

1,2,3,4,6 Penta-*O*-acétyl- α -D-mannopyrannoside.

CAS : 4163-65-9

C₁₆H₂₂O₁₁: MM = 390,1 g.mol⁻¹.

[α _D] = + 60 ° (c= 10 g.L⁻¹, CHCl₃).

IR (Film)= 1749 (C=O) ; 1432 ; 1370 ; 1220 ; 1150 ; 1049 ; 758 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 6,09 (d, 1H, J_{1-2} = 1,9 Hz, *H*-1) ; 5,35 (m, 2H, *H*-3, *H*-4) ; 5,26 (m, 1H, *H*-2) ; 4,28 (dd, 1H, J_{6A-5} = 4,7 Hz, J_{6A-6B} = 12,3 Hz, *H*-6A) ; 4,15 (dd, 1H, J_{6B-5} = 2,2 Hz, J_{6B-6A} = 12,4 Hz, *H*-6B) ; 4,07 (m, 1H, *H*-5) ; 2,22 (s, 3H, CH₃) ; 2,10 (s, 3H, CH₃) ; 2,09 (s, 3H, CH₃) ; 2,05 (s, 3H, CH₃) ; 2,00 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 170,5 (CO) ; 169,9 (CO) ; 169,7 (CO) ; 169,6 (CO) ; 168,0 (CO) ; 90,5 (C-1) ; 70,5 (C-5) ; 68,6 (C-4) ; 68,2 (C-2) ; 65,4 (C-3) ; 62,0 (C-6) ; 20,7 (2xCH₃) ; 20,6 (2xCH₃) ; 20,5 (CH₃).

1,2,3,4,6 Penta-*O*-acétyl- β -D-mannopyrannoside.

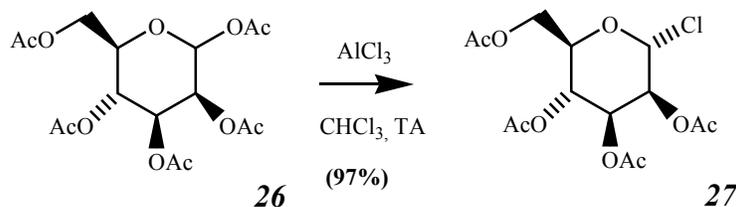
CAS: 4026-35-1

C₁₆H₂₂O₁₁: MM = 390,1 g.mol⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 5,86 (d, 1H, J_{1-2} = 1,1 Hz, *H*-1) ; 5,48 (dd, 1H, J_{2-1} = 1,1 Hz, J_{2-3} = 3,3 Hz, *H*-2) ; 5,29 (t, 1H, J_{4-3} = J_{4-5} = 9,9 Hz, *H*-4) ; 5,13 (dd, 1H, J_{3-2} = 3,3 Hz, J_{3-4} = 9,9 Hz, *H*-3) ; 4,30 (dd, 1H, J_{6A-5} = 4,9 Hz, J_{6A-6B} = 12,4 Hz, *H*-6A) ; 4,14 (dd, 1H, J_{6B-5} = 1,5 Hz, J_{6B-6A} = 12,4 Hz, *H*-6B) ; 3,80 (m, 1H, *H*-5) ; 2,22 (s, 3H, CH₃) ; 2,10 (s, 3H, CH₃) ; 2,09 (s, 3H, CH₃) ; 2,05 (s, 3H, CH₃) ; 2,00 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 170,2 (CO) ; 169,7 (CO) ; 169,4 (CO) ; 169,2 (CO) ; 168,0 (CO) ; 90,4 (C-1) ; 72,7 (C-5) ; 70,3 (C-4) ; 67,9 (C-2) ; 65,1 (C-3) ; 62,0 (C-6) ; 20,7 (2xCH₃) ; 20,6 (2xCH₃) ; 20,5 (CH₃).

2-1-1-2- 1-Chloro-tétra-*O*-acétylmannose 27 :



Référence : Rajanikanth B. ; Seshadri R. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 20, 2295-2296.

A une solution de 1 g (2,6 mmol ; 1 équiv.) de mélange α/β penta-*O*-acétyl-D-mannopyrannoside **26** dans 8 mL de chloroforme, sont additionnés 350 mg (2,6 mmol ; 1 équiv.) de trichlorure d'aluminium. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est repris par 50 mL de CH₂Cl₂ puis lavé à trois reprises par 50 mL d'eau refroidie à 0°C. La phase

organique est ensuite séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une purification par chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH_2Cl_2) permet l'obtention de 890 mg (Rdt= 93%) de cristaux blancs.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

1-Chloro-2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- α -D-mannopyrannoside.

CAS : 14257-40-0.

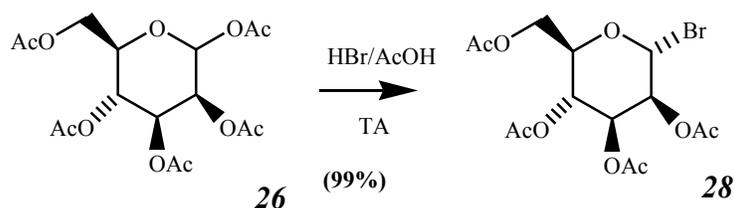
$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{ClO}_9$; MM = 366,7 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

$[\alpha_D] = +85,3^\circ$ (c= 10g.L ; CHCl_3).

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 5,99$ (d, 1H, $J_{1-2} = 1,6$ Hz, *H*-1) ; 5,61 (dd, 1H, $J_{3-2} = 3,4$ Hz, $J_{3-4} = 10,2$ Hz, *H*-3) ; 5,40 (m, 1H, *H*-2) ; 5,37 (dd, 1H, $J_{4-3} = 10,2$ Hz, $J_{4-5} = 9,0$ Hz, *H*-4) ; 4,35-4,11 (m, 3H, *H*-5, CH_2 -6) ; 2,19 (s, 3H, CH_3) ; 2,11 (s, 3H, CH_3) ; 2,07 (s, 3H, CH_3) ; 2,02 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 170,2$ (CO) ; 169,9 (CO) ; 169,6 (CO) ; 169,6 (CO) ; 89,9 (C-1) ; 71,2 (C-5) ; 70,7 (C-4) ; 67,5 (C-2) ; 64,6 (C-3) ; 61,4 (C-6) ; 20,7 (2x CH_3) ; 20,6 (2x CH_3).

2-1-1-3- 1-Bromo-tétra-*O*-acétylmannose **28** :



Référence : Abbott S. D. ; Gagnon L. ; Lagraoui M. ; Kadhim S. ; Attardo G. ; Zacharie B. ; Penney C. L. *J. Med. Chem.* **1998**, *11*, 1909-1926.

Une solution de 2,18 g de mélange α/β penta-*O*-acétyl-D-mannopyrannoside **26** (5,74 mmol ; 1 équiv.) dissout dans 40 mL d'une solution d'acide bromhydrique dans l'acide acétique (33%) est agitée 4 heures à température ambiante. Après évaporation sous pression réduite, le résidu est repris par 100 mL de CH_2Cl_2 ; cette solution est ensuite lavée successivement par de l'eau et une solution aqueuse de bicarbonate de sodium (5%). La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. L'élimination des traces de solvants par séchage à la pompe à palettes permet l'obtention de 2,28 g (Rdt = 99%) d'une huile légèrement jaune.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

1-Bromo-2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl- α -D-mannopyrannoside.

CAS : 13242-53-0

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{BrO}_9$; MM = 411,2 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

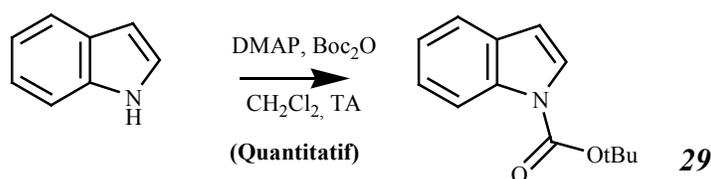
$[\alpha_D] = +124,8$ (c= 10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, CHCl_3).

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 6,30$ (d, 1H, $J_{1-2} = 1,3$ Hz, $H-1$) ; $5,72$ (dd, 1H, $J_{2-3} = 3,4$ Hz, $J_{3-4} = 10,2$ Hz, $H-3$) ; $5,45$ (dd, 1H, $J_{1-2} = 1,3$ Hz, $J_{2-3} = 3,4$ Hz, $H-2$) ; $5,35$ (dd, 1H, $J_{4-3} = J_{4-5} = 10,2$ Hz, $H-4$) ; $4,37-4,10$ (m, 3H, $H-5$, CH_2-6) ; $2,18$ (s, 3H, CH_3) ; $2,14$ (s, 3H, CH_3) ; $2,08$ (s, 3H, CH_3) ; $2,02$ (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 170,5$ (CO) ; $169,9$ (CO) ; $169,6$ (CO) ; $169,5$ (CO) ; $83,0$ (C-1) ; $72,8$ (C-5) ; $72,1$ (C-4) ; $67,8$ (C-2) ; $65,2$ (C-3) ; $61,4$ (C-6) ; $20,7$ (CH_3) ; $20,6$ ($2\times\text{CH}_3$) ; $20,5$ (CH_3).

2-1-2- Protection de l'azote indolique :

2-1-2-1- Indole Boc 29 :



Référence : de Koning C. B. ; Michael J. P. ; Rousseau A. L. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2000**, 11, 1705-1713.

Après dissolution de 4 g d'indole (34,2 mmol ; 1 équiv.) dans 50 mL de CH_2Cl_2 , sont ajoutés 417 mg de 4-diméthylaminopyridine (3,42 mmol ; 0,1 équiv.) et 8,96 g de di-*tert*-butyldicarbonate (41,1 mmol ; 1,2 équiv.). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante durant 24 heures. Le solvant est alors évaporé sous pression réduite et le résidu est purifié par chromatographie sur colonne (éluant : CH_2Cl_2) pour isoler 7,44 g (Rdt= quantitatif).

N-Tert-butoxycarbonylindole.

CAS : 65400-67-8

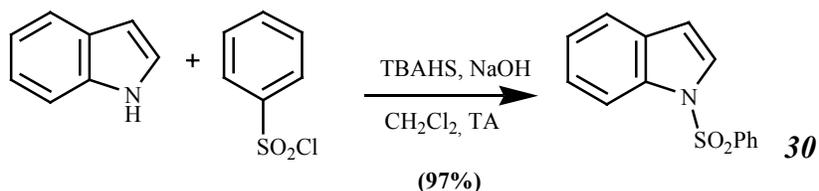
$\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{NO}_2$: MM = 217,3 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

UV: $\lambda_{\text{max}} = 227$; 255 ; 260 ; 284 ; 292 nm.

IR (Film)= 2969 ; 1731 (C=O) ; 1528 ; 1449 ; 1339 ; 1159 ; 850 ; 767 ; 745 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,16$ (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H-7$) ; $7,58$ (d, 1H, $J = 3,6$ Hz, $H-2$) ; $7,54$ (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H-4$) ; $7,27$ (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H-5$) ; $7,20$ (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H-6$) ; $6,54$ (d, 1H, $J = 3,5$ Hz, $H-3$) ; $1,65$ (s, 9H, $3\times\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 149,7$ (NCO_2) ; $135,1$ (C-7a) ; $130,4$ (C-3a) ; $125,8$ (C-2) ; $124,1$ (C-5) ; $122,6$ (C-6) ; $120,9$ (C-4) ; $115,1$ (C-7) ; $107,2$ (C-3) ; $83,5$ ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; $28,1$ ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

2-1-2-2- Benzènesulfonylindole 30 :

Dans 75 mL de dichlorométhane, 6 g (150 mmol ; 3 équiv.) d'hydroxyde de sodium en poudre et 406 mg (1,2 mmol ; 0,025 équiv.) d'hydrogénosulfate de tétrabutylamonium sont mis en suspension. A 0°C, sont successivement additionnés à cette solution, 5,61 g d'indole (47,9 mmol ; 1 équiv.) et, en plusieurs fois, une solution de 10,6 g de chlorure de benzylsulfonium (60 mmol ; 1,25 équiv.) dans 45 mL de CH₂Cl₂. Le mélange réactionnel est agité à la même température durant 2 heures puis filtré sur coton ; le filtrat est lavé à plusieurs reprises par CH₂Cl₂. Les phases organiques sont réunies puis évaporées sous pression réduite. La trituration à chaud dans le méthanol du résidu obtenu, suivi d'un refroidissement et d'une cristallisation à 0°C pendant 8 heures, permet d'isoler 11,9 g (Rdt= 97%) de cristaux incolores.

N-Benzènesulfonylindole.

CAS : 40899-71-6

C₁₄H₁₁NO₂S: MM = 257,3 g.mol⁻¹.

pF: 79°C

UV: λ_{max} = 210 ; 250 ; 282 ; 290 nm.

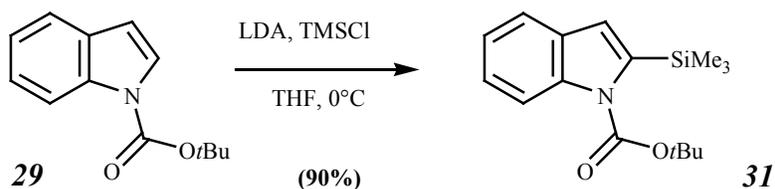
IR (film) = 3066 ; 1581 ; 1445 ; 1370 ; 1172 ; 1128 ; 1093 ; 767 ; 723 ; 652 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,00 (d, 1H, *J*= 8,2 Hz, *H*-7) ; 7,87* (d, 2H, *J*= 7,5 Hz, 2x*CH*-Ph.) ; 7,56 (d, 1H, *J*= 3,6 Hz, *H*-2) ; 7,54-7,37* (m, 4H, 3x*CH*-Ph., *H*-4) ; 7,30 (t, 1H, *J*= 8,0 Hz, *H*-5) ; 7,24 (t, 1H, *J*= 8,0 Hz, *H*-6) ; 6,65 (d, 1H, *J*= 3,6 Hz, *H*-3).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 138,1 (*C*-1-Ph.) ; 134,7 (*C*-7a-ind.) ; 133,7 (*C*-4-Ph.) ; 130,7 (*C*-3a-ind.) ; 129,2* (*C*-3-Ph.) ; 126,6* (*C*-2-ind.) ; 126,2* (*C*-2-Ph.) ; 124,6* (*C*-5-ind.) ; 123,3 (*C*-6-ind.) ; 121,4 (*C*-4-ind.) ; 113,4 (*C*-7-ind.) ; 109,2 (*C*-3-ind.).

SM (IE): 257 [M⁺] ; 218 ; 116.

HRMS (IE) ; 257,0511 (calc: 257,0511 Δ ppm: 0,2 Δ mDa: 0).

2-1-3- Silylation des indoles protégés :**2-1-3-1- *N*-tert-butoxycarbonyl-2-triméthylsilyl-indole 31 :**

Référence : Beak P. ; Lee W. K. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, 1109-1117.

L'indole protégé **29** (1,96 g ; 9,02 mmol) est dissous dans 15 mL de tétrahydrofurane distillé, 1,4 mL (1,2 équiv. ; 10,8 mmol) de chlorure de triméthylsilyle est alors ajouté. La solution est ensuite refroidie à 0°C dans un bain de glace. Une solution préparée *in situ* de lithium diisopropylamide (1,2 équiv. ; 10,8 mmol) dans le THF (15 mL) est ajoutée goutte à goutte, au mélange réactionnel. Après 30 minutes à la même température, 40 mL d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium (5%) sont additionnées au mélange qui est ensuite extrait à trois reprises par 25 mL de CH₂Cl₂. La phase organique est lavée par de l'eau et de la saumure, séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une purification par colonne chromatographique de gel de silice (éluant : cyclohexane) permet d'isoler 2,34 g (Rdt= 90%) de poudre blanche.

N-tert-butoxycarbonyl-2-triméthylsilylindole.

CAS : 146337-49-7.

C₁₆H₂₃NO₂Si: MM = 289,4 g.mol⁻¹.

pF: 87°C.

UV: λ_{max} = 202 ; 230 ; 261 ; 269 ; 286 ; 297 nm.

IR (film)= 2969 ; 1722 (C=O) ; 1467 ; 1366 ; 1243 ; 1159 ; 1071 ; 921 ; 847 ; 767 ; 745 cm⁻¹.

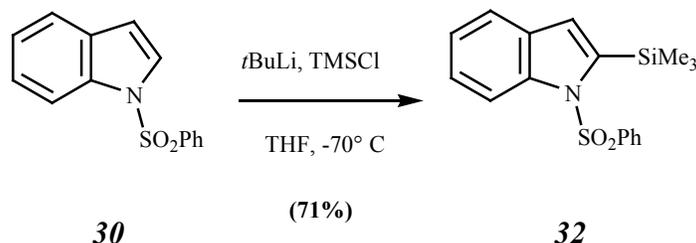
RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,00 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz, *H*-7) ; 7,54 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz, *H*-4) ; 7,27 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz, *H*-5) ; 7,19 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz, *H*-6) ; 6,83 (s, 1H, *H*-3) ; 1,71 (s, 9H, (C(CH₃)₃) ; 0,35 (s, 9H, Si(CH₃)₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 151,0 (NCO₂) ; 142,0 (C-2) ; 137,9 (C-7a) ; 130,9 (C-3a) ; 124,1 (C-5) ; 122,1 (C-6) ; 120,5 (C-4) ; 119,0 (C-3) ; 115,3 (C-7) ; 83,6 (C(CH₃)₃) ; 28,0 (C(CH₃)₃) ; -0,2 (Si(CH₃)₃).

SM (IE): 289 [M⁺] ; 218 ; 174.

HRMS (IE) ; 289,1483 (calc: 289,1498 Δ ppm: -5,2 Δ mDa: -1,5).

2-1-3-2- *N*-Benzènesulfonyl-2-triméthylsilylindole **32** :



A une solution de 4 g (15,6 mmol ; 1 équiv.) d'indole sulfonylé **30** dans 60 mL de tétrahydrofurane distillé placée à -10°C sous atmosphère d'azote, sont additionnés lentement 12 mL (18 mmol ; 1,15 équiv.) de *tert*-butyllithium en solution dans le pentane (1,5M). Une fois amené à -70°C, 4,71 mL (60 mmol ; 3,8 équiv.) de chlorure de triméthylsilyle sont ajoutés au mélange réactionnel. La solution est lentement ramenée à température ambiante et 15 mL d'une

solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium sont ajoutés. Le mélange est extrait par 50 mL d'éther ; la phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant cyclohexane/acétate d'éthyle (20/1)) permet d'isoler 3,63 g (Rdt= 71%) d'une huile légèrement rosée.

N-Benzènesulfonyl-2-triméthylsilylindole.

CAS : 115127-31-6.

$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_2\text{SSi}$: MM = 329,5 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

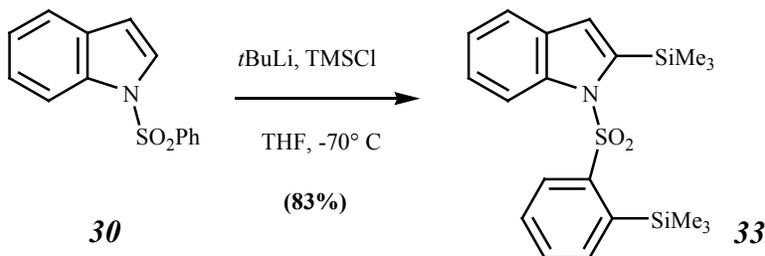
UV: λ_{max} = 216 ; 257 ; 293 nm.

IR (film) = 2951 ; 1361 ; 1247 ; 1229 ; 1172 ; 1132 ; 1093 ; 846 ; 745 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 8,00 (d, 1H, J = 8,2 Hz, H -7) ; 7,87 (d, 2H, J = 8,1 Hz, 2x CH -Ph.) ; 7,50* (m, 2H, CH -Ph., H -4) ; 7,40* (m, 2H, 2x CH -Ph.) ; 7,22 (m, 2H, H -5, H -6) ; 6,96 (d, 1H, J = 3,6 Hz, H -3) ; 0,45 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 143,0 (C -2) ; 139,1* (C -1-Ph.) ; 138,5* (C -7a-ind.) ; 133,3 (C -4-Ph.) ; 130,7 (C -3a-ind.) ; 129,0° (C -3-Ph.) ; 126,3° (C -2-Ph.) ; 124,9 (C -5-ind.) ; 123,3 (C -6-ind.) ; 121,8 (C -4-ind.) ; 121,0 (C -3-ind.) ; 114,0 (C -7-ind.) ; 0,5 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$).

2-1-3-3- 2'-triméthylsilylphénylsulfonyl-2-triméthylsilylindole 33 :



A une solution de 2 g (7,8 mmol ; 1 équiv.) d'indole sulfonylé **30** dans 40 mL de tétrahydrofurane distillé placée à -10°C sous atmosphère d'azote, sont lentement additionnés 10 mL (15 mmol ; 2 équiv.) de *tert*-butyllithium en solution dans le pentane (1,5M). Une fois amené à -70°C , 6,2 mL (78,8 mmol ; 10 équiv.) de chlorure de triméthylsilyle sont ajoutés au mélange réactionnel. La solution est lentement ramenée à température ambiante et 15 mL d'une solution aqueuse de bicarbonate de sodium sont additionnés au mélange réactionnel. Ce dernier est extrait par 40 mL d'éther ; la phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) permet d'isoler 2,61 g (Rdt= 83%) d'une huile incolore.

N-(2-triméthylsilylphénylsulfonyl)-2-triméthylsilyl-indole.

CAS : 79253-73-9.

$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_2\text{SSi}_2$: MM = 401,7 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

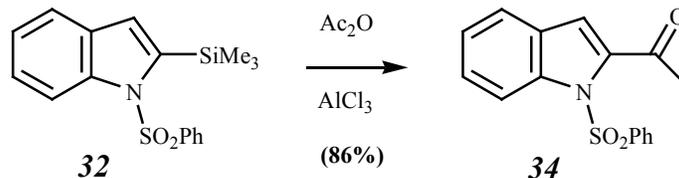
RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 7,90 (d, 1H, $J_{6',5} = 6,9$ Hz, H -6'-Ph.) ; 7,84 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz, H -7-ind.) ; 7,53 (t, 1H, $J = 6,9$ Hz, H -4'-Ph.) ; 7,32 (m, 2H, H -5-ind., H -6-ind.) ; 7,20 (t, 1H, $J = 6,9$

Hz, *H*-5'-Ph.) ; 7,13 (s, 1H, *H*-3-ind.) ; 6,46 (d, 1H, *J*= 6,9 Hz, *H*-3'-Ph.) ; 0,68 (s, 9H, Ph-Si(CH₃)₃) ; 0,45 (s, 9H, ind.-Si(CH₃)₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 146,1 (*C*-1'-Ph.) ; 143,7 (*C*-2-ind.) ; 139,5 (*C*-7a-ind.) ; 139,4 (*C*-2'-Ph.) ; 136,7 (*C*-3'-Ph.) ; 131,6 (*C*-5'-Ph.) ; 130,3 (*C*-3a-ind.) ; 129,3 (*C*-4'-Ph.) ; 125,0 (*C*-6-ind.) ; 124,5 (*C*-6'-Ph.) ; 123,2 (*C*-5-ind.) ; 121,0 (*C*-4-ind.) ; 120,6 (*C*-3-ind.) ; 114,1 (*C*-7) ; 0,91 (Si(CH₃)₃-Ph.) ; 0,5 (Si(CH₃)₃-ind.).

2-1-4- Réaction de l'indole silylé :

2-1-4-1- 2-Acétyl-*N*-benzènesulfonylindole **34** :



Référence : Ketcha D. M. ; Lieurance B. A. ; Homan D. F. J. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 4350-4356.

A une suspension de 1,64 g (12,4 mmol ; 6 équiv.) de trichlorure d'aluminium dans 12 mL de CH₂Cl₂, sont ajoutés 580 µL (6,16 mmol ; 3 équiv.) d'anhydride acétique. Après agitation 15 minutes à température ambiante, une solution de 658 mg (2 mmol ; 1 équiv.) de triméthylsilylphénylsulfonylindole **32** dans 12 mL de CH₂Cl₂ est ajoutée goutte à goutte au mélange réactionnel. Après 1 heure d'agitation à la même température, une dizaine de grammes de glace est ajoutée à la solution. Celle-ci est ensuite lavée successivement par 20 mL d'eau, de saumure, d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium puis d'eau ; la phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (9/1)) permet d'isoler 510 mg (Rdt= 86%) d'une huile légèrement rose.

2-Acétyl-*N*-benzènesulfonylindole.

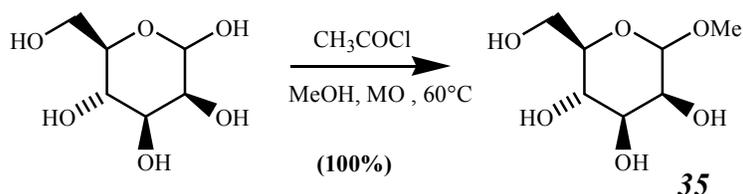
CAS : 117966-22-0.

C₁₆H₁₃NO₃Si. MM = 329,5 g.mol⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,16 (d, 1H, *J*= 8,5 Hz, *H*-7) ; 7,96 (d, 2H, *J*= 7,6 Hz, 2xCH-Ph.) ; 7,53* (m, 5H, 3xCH-Ph., *H*-4, *H*-5) ; 7,22* (t, 1H, *J*= 8,4 Hz, *H*-6) ; 7,14 (s, 1H, *H*-3) ; 2,62 (s, 3H, CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 191,4 (CO) ; 139,7* (*C*-2) ; 138,9* (*C*-1-Ph.) ; 138,2* (*C*-7a-ind.) ; 133,7 (*C*-4-Ph.) ; 128,7° (*C*-3-Ph.) ; 128,2 (*C*-3a-ind.) ; 127,7° (*C*-2-Ph.) ; 127,2° (*C*-5-ind.) ; 124,35° (*C*-6-ind.) ; 122,8° (*C*-4-ind.) ; 117,6 (*C*-3-ind.) ; 115,7 (*C*-7-ind.) ; 29,5 (CH₃).

2-1-5- Préparation des dérivés *O*-benzylés du mannose:
2-1-5-1- 1-*O*-Méthyl- α -D-mannopyrannoside 35 :



A une suspension de 5 g (27,8 mmol ; 1 équiv.) de D-mannose dans 40 mL de méthanol, est ajouté 1 mL (14 mmol ; 0,5 équiv.) de chlorure d'acétyle. Le mélange réactionnel est placé dans un réacteur micro-ondes (CEM Discovery, 65 W, 60°C, 5 minutes de montée en température) pendant 40 minutes. La solution limpide incolore est évaporée sous pression réduite, jusqu'à consistance pâteuse puis triturée par de l'éther et laissée sous agitation pendant une nuit. La filtration sous vide et l'élimination des traces de solvant à la pompe à palettes permettent d'isoler 5,39 g (Rdt= quantitatif) de cristaux blancs.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

1-*O*-Méthyl- α -D-mannopyrannoside.

CAS : 617-04-9.

$C_7H_{14}O_6$: MM = 194,2 g.mol⁻¹.

pF = 190°C.

$[\alpha_D] = +72,0^\circ$ (10 g.L⁻¹, H₂O).

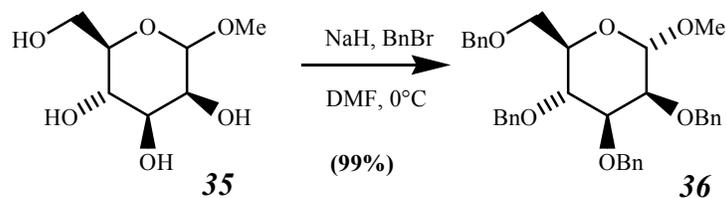
IR (KBr)= 3445 (O-H) ; 3286 (O-H) ; 2934 ; 1128 ; 1022 ; 970 ; 815 ; 719 ; 670 cm⁻¹.

RMN ¹H (D₂O) : $\delta_{ppm} = 4,74$ (d, 1H, $J_{1-2} = 1,6$ Hz, *H*-1) ; 3,92 (dd, 1H, $J_{2-1} = 1,6$ Hz, $J_{2-3} = 3,5$ Hz, *H*-2) ; 3,90 (dd, 1H, $J_{6A-6B} = 1,6$ Hz, $J_{6A-5} = 12,8$ Hz, *H*-6A) ; 3,77-3,71 (m, 2H, *H*-6B, *H*-3) ; 3,64-3,60 (m, 2H, *H*-4, *H*-5) ; 3,40 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (D₂O) : $\delta_{ppm} = 101,5$ (C-1) ; 73,2 (C-5) ; 71,2 (C-3) ; 70,5 (C-2) ; 67,4 (C-4) ; 61,6 (C-6) ; 55,3 (OCH₃).

SM (ESI+): 389,1 [2M+H]⁺.

2-1-5-2- *O*-Méthyl-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside 36 :



Dans un ballon sec contenant 2,46 g (103 mmol ; 6 équiv.) d'hydrure de sodium à 60% dans de l'huile minérale, sont introduits 100 mL de diméthylformamide (DMF) distillé. A ce mélange

sont ajoutés 3,32 g (17,1 mmol ; 1 équiv.) de 1-*O*-méthyl- α -D-mannopyrannoside **35** mis en suspension dans 50 mL de DMF. Après avoir placé la suspension à 0°C, lui sont additionnés successivement 632 mg (1,71 mmol ; 0,1 équiv.) d'iodure de tétrabutylammonium et, sur 30 minutes, 10,6 mL (85,5 mmol ; 5 équiv.) de bromure de benzyle. Après une nuit à température ambiante, de l'eau est ajoutée au mélange réactionnel jusqu'à destruction complète de l'excès d'hydrure. La solution est évaporée sous pression réduite pour éliminer un maximum de DMF, le résidu est repris par 100 mL d'éther puis est lavé à trois reprises par 100 mL d'eau. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite pour isoler 9,38 g (Rdt = 99%) d'une huile incolore.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

1-*O*-Méthyl-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside.

CAS : 61330-62-9.

C₇H₁₄O₆: MM = 554,7 g.mol⁻¹.

[α_D] = + 25,3 ° (10 g.L⁻¹, CHCl₃).

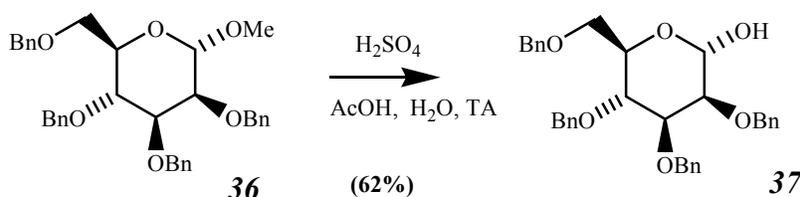
IR (film) = 3392 ; 3030 ; 2907 ; 1699 ; 1581 ; 1493 ; 1449 ; 1269 ; 1102 ; 1067 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 7,40-7,10 (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 4,90 (d, 1H, J = 10,8 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,78 (d, 1H, J_{1-2} = 1,8 Hz, H-1) ; 4,74 (s, 2H, CH₂-Bn.-2) ; 4,67 (d, 1H, J = 12,2 Hz, CH_AH_B-Bn.-6) ; 4,61 (s, 2H, CH₂-Bn.-3) ; 4,56 (d, 1H, J = 12,2 Hz, CH_AH_B-Bn.-6) ; 4,51 (d, 1H, J = 10,8 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 3,97 (dd, 1H, J_{3-4} = 9,1 Hz, J = 8,9 Hz, H-4) ; 3,88 (dd, 1H, J_{2-3} = 2,0 Hz, J_{3-4} = 9,1 Hz, H-3) ; 3,81-3,71 (m, 4H, H-2, H-5, H-6A, H-6B) ; 3,33 (s, 3H, OCH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 138,3-138,1 (4xC-1-Bn.) ; 128,2-127,2 (20xCH-Bn.) ; 98,7 (C-1) ; 82,0 (C-3) ; 74,9 (CH₂-Bn.) ; 74,7 (C-4) ; 74,3 (C-2) ; 73,1 (CH₂-Bn.) ; 72,3 (CH₂-Bn.) ; 71,9 (CH₂-Bn.) ; 71,4 (C-5) ; 69,0 (C-6) ; 54,5 (OCH₃).

SM (ESI+): 577,2 [M+Na]⁺.

2-1-5-3- tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside **37** :



A une solution de 5,54 g (10 mmol ; 1 équiv.) de mannose protégé **36** dans 70 mL d'une solution aqueuse d'acide acétique (80%) sont additionnés, à 90°C, 25 mL (25 mmol ; 2,5 équiv.) d'une solution aqueuse d'acide sulfurique (2N). Le mélange réactionnel est laissé une nuit sous agitation à température ambiante puis est évaporé sous pression réduite ; 300 mL d'éther y sont alors additionnés. La solution obtenue est lavée à trois reprises par 100 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium puis successivement par 100 mL de saumure et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une

chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH₂Cl₂) permet d'isoler 3,35 g (62%) d'une huile incolore.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

2,3,4,6-Tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside.

CAS : 78609-16-2.

C₃₄H₃₆O₆: MM = 540,6 g.mol⁻¹.

[α_D] = +11,8 ° (10 g.L⁻¹, CHCl₃).

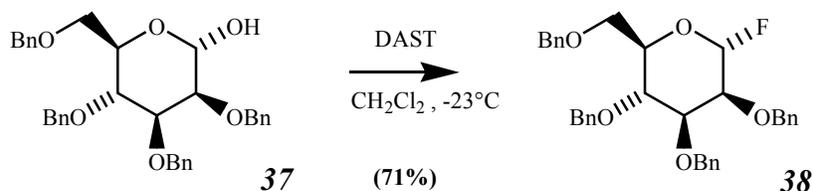
IR (film) = 3409 (O-H) ; 3030 ; 2916 ; 1735 ; 1493 ; 1449 ; 1366 ; 1233 ; 1097 ; 736 ; 696 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 7,40-7,10 (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 5,22 (dd, 1H, J_{1-2} = 2,3 Hz, J = 2,6 Hz, H-1) ; 4,87 (d, 1H, J = 10,9 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,70 (système AB, 2H, 4,73-4,68, J = 12,8 Hz, CH₂-Bn.-2) ; 4,59 (s, 2H, CH₂-Bn.-3) ; 4,53 (système AB, 2H, 4,57-4,50, J = 12,6 Hz, CH₂-Bn.-6) ; 4,47 (d, 1H, J = 10,9 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,05 (m, 1H, H-5) ; 3,94 (dd, 1H, J_{3-2} = 3,1 Hz, J_{3-4} = 9,3 Hz, H-3) ; 3,82 (t, 1H, J = 9,3 Hz, H-4) ; 3,77 (dd, 1H, J = 2,3 Hz, J = 3,1 Hz, H-2) ; 3,70 (dd, 1H, J_{6A-5} = 2,2 Hz, J_{6A-6B} = 11,2 Hz, H-6A,) ; 3,64 (dd, 1H, J_{6B-5} = 6,4 Hz, J_{6B-6A} = 11,2 Hz, H-6B).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 138,3-138,1 (4xC-1-Bn.) ; 128,2-127,2 (20xCH-Bn.) ; 92,7 (C-1) ; 79,7 (C-3) ; 75,2 (C-4) ; 75,0 (CH₂-Bn.-4) ; 74,7 (C-2) ; 73,3 (CH₂-Bn.) ; 72,6 (CH₂-Bn.) ; 72,1 (CH₂-Bn.) ; 71,4 (C-5) ; 69,6 (C-6).

SMHR (ESI): 563,24090 [M+Na]⁺ (calc: 563,24096 ; Δ mDa: 0,06 ; Δ ppm: 0,1).

2-1-5-4- Fluoro-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside **38** :



A une solution de 3,34 g (6,2 mmol ; 1 équiv.) de mannose protégé **37** dans 100 mL de CH₂Cl₂ à -23°C sous atmosphère d'azote, est ajouté goutte à goutte, 1 mL (7,56 mmol ; 1,22 équiv.) de diéthylaminofluorure de soufre. Après 10 minutes d'agitation à -23°C, la solution est placée à température ambiante pendant une heure ; 100 mL d'eau glacée sont alors ajoutés au mélange réactionnel. La phase organique est lavée par 100 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium puis de saumure. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : éther de pétrole) permet d'isoler 2,38 g (71%) d'une huile légèrement jaune.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

1-Fluoro-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside.

CAS : 94898-42-7.

C₃₄H₃₅O₅F: MM = 540,6 g.mol⁻¹.

[α _D] = +24,1 ° (10 g.L⁻¹, CHCl₃).

IR (film) = 3030 ; 2907 ; 2863 ; 1493 ; 1449 ; 1361 ; 1097 ; 956 ; 846 ; 798 ; 736 ; 696 cm⁻¹.

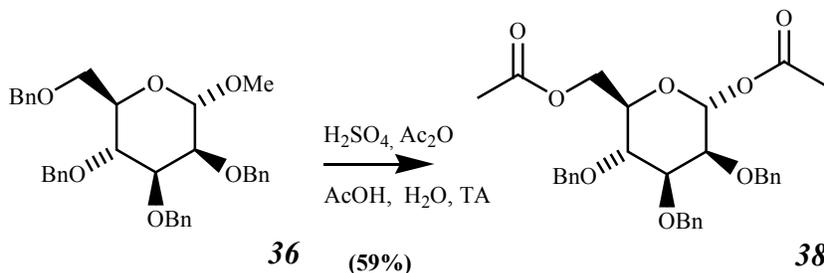
RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 7,40-7,10 (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 5,60 (dd, 1H, J_{1-F} = 50,6 Hz, J_{1-2} = 1,0 Hz, H-1) ; 4,87 (d, 1H, J = 10,8 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,75 (système AB, 2H, 4,81-4,69, J = 12,3 Hz, CH₂-Bn.-2) ; 4,66 (système AB, 2H, 4,69-4,63, J_{gem} = 11,6 Hz, CH₂-Bn.-3) ; 4,60 (système AB, 2H, 4,67-4,53, J = 12,6 Hz, CH₂-Bn.-6) ; 4,53 (d, 1H, J = 10,8 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,07 (t, 1H, J = 9,7 Hz, H-4) ; 4,0-3,9 (m, 3H, H-5, H-3, H-2) ; 3,76 (dd, 1H, J_{6A-5} = 4,3 Hz, J_{6A-6B} = 10,9 Hz, H-6A,) ; 3,64 (dd, 1H, J_{6B-5} = 1,9 Hz, J_{6B-6A} = 10,9 Hz, H-6B).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 138,3-138,1 (4xC-1-Bn.) ; 128,4-127,6 (20xCH-Bn.) ; 106,5 (C-1, J_{C-F} = 222 Hz) ; 79,1 (C-3) ; 75,1 (CH₂-Bn.-4) ; 74,1 (C-4) ; 73,9 (C-5) ; 73,3 (C-2, J_{C-F} = 34,6 Hz) ; 73,3 (CH₂-Bn.-6) ; 72,1 (CH₂-Bn.-2) ; 71,4 (CH₂-Bn.-3) ; 69,6 (C-6).

SM (ESI+) : 565,2 [M+Na]⁺.

2-1-6- Préparation des mannoses benzylés, acétylés en position anomérique :

2-1-6-1- Di-*O*-acétyl-tri-*O*-benzylmannopyrannoside **38** :



A une solution de 8,09 g (14,6 mmol ; 1 équiv.) de mannose protégé **36** dans 15 mL d'acide acétique, sont successivement ajoutés à 0°C, 6 mL (64 mmol ; 4,4 équiv.) d'anhydride acétique et 6,2 mL d'une solution de 1,2 mL (22,5 mmol ; 1,5 équiv.) d'acide sulfurique concentré dans 5 mL d'acide acétique. Le mélange réactionnel est laissé deux heures sous agitation à température ambiante, puis est additionné à 100 g de glace pilée. Le mélange obtenu est extrait à trois reprises par 100 mL de chloroforme. La phase organique est lavée par trois fois par 100 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium puis par 100 mL d'eau, elle est ensuite séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une cristallisation dans le méthanol suivie d'une filtration sous vide et un séchage à la pompe à palettes, permettent d'isoler 4,6 g (Rdt= 59%) de cristaux blancs.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

1,6-Di-*O*-acétyl-2,3,4-tri-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside.

CAS : 65556-30-1.

C₃₁H₃₄O₈: MM = 534,6 g.mol⁻¹.

pF = 98°C

[α_D] = +31,2 ° (10 g.L⁻¹, CHCl₃).

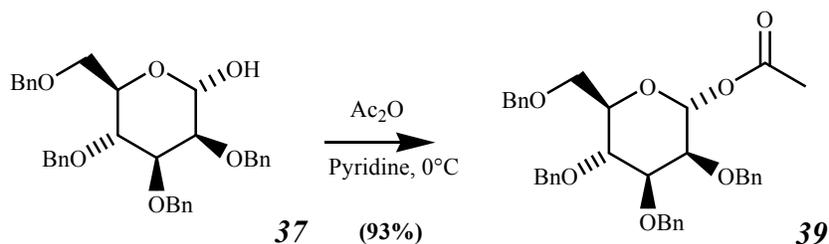
IR (film) = 3031 ; 2872 ; 1745 ; 1493 ; 1454 ; 1366 ; 1238 ; 1154 ; 1093 ; 1022 ; 956 ; 697 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 7,40-7,10 (m, 15H, 15xCH-Bn.) ; 6,19 (d, 1H, J₁₋₂ = 2,0 Hz, H-1) ; 4,95 (d, 1H, J_{gem} = 10,6 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,74 (système AB, 2H, 4,78-4,70, J_{gem} = 12,2 Hz, CH₂-Bn.-2) ; 4,60 (d, 1H, J_{gem} = 10,6 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,58 (s, 2H, CH₂-Bn.-3) ; 4,32 (système AB, 2H, 4,34-4,30, J_{gem} = 12,0 Hz, CH₂-6) ; 3,99 (t, 1H, J = 9,7 Hz, H-4) ; 3,90-3,84 (m, 2H, H-5, H-3) ; 3,74 (m, 1H, H-2) ; 2,05 (s, 3H, CH₃-Ac.-6) ; 2,03 (s, 3H, CH₃-Ac.-1).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 170,9 (CO₂-Ac.-6) ; 168,8 (CO₂-Ac.-1) ; 137,8-137,6 (3xC-1-Bn.) ; 128,5-127,6 (15xCH-Bn.) ; 91,5 (C-1) ; 79,0 (C-3) ; 75,3 (CH₂-Bn.-4) ; 73,7 (C-4) ; 73,1 (C-2) ; 72,3 (CH₂-Bn.-3) ; 72,3 (C-5) ; 72,0 (CH₂-Bn.-2) ; 63,1 (C-6) ; 20,9 (CH₃-Ac.) ; 20,8 (CH₃-Ac.).

SM (ESI): 552 [M+NH₄]⁺.

2-1-6-2- Acétyl-tétra-O-benzylmannopyrannoside 39 :



A une solution de 18,7 g (34,7 mmol ; 1 équiv.) de mannose protégé **37** dans 60 mL de pyridine placée à 0°C, sont ajoutés 16,4 mL (173,5 mmol ; 5 équiv.) d'anhydride acétique. Après 6 heures d'agitation à 0°C, 200 mL d'éther sont additionnés au mélange réactionnel. Après lavages successifs par 100 mL d'une solution aqueuse d'HCl (1N), d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium, d'une solution aqueuse saturée de sulfate de cuivre puis d'eau, la phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH₂Cl₂) permet d'isoler 18,3 g (93%) d'une huile incolore.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

1-O-Acétyl-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-α-D-mannopyrannoside.

CAS : 78609-16-2.

C₃₄H₃₆O₆: MM = 582,7 g.mol⁻¹.

[α_D] = +25 ° (10 g.L⁻¹, CHCl₃).

IR (film) = 3030 ; 2907 ; 2863 ; 1749 (C=O) ; 1493 ; 1449 ; 1366 ; 1225 ; 1093 ; 1022 ; 697 cm⁻¹.

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 7,42-7,15$ (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 6,22 (d, 1H, $J_{1-2} = 1,7$ Hz, H-1) ; 4,89 (d, 1H, $J = 10,6$ Hz, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}$ -Bn.-4) ; 4,75 (système AB, 2H, 4,79-4,70, $J = 12,4$ Hz, CH_2 -Bn.-2) ; 4,65 (d, 1H, $J = 12,1$ Hz, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}$ -Bn.-6) ; 4,57-4,51 (m, 4H, CH_2 -Bn.-3, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}$ -Bn.-6, $\text{CH}_\text{A}\text{H}_\text{B}$ -Bn.-4) ; 4,08 (t, 1H, $J = 9,4$ Hz, H-4) ; 3,87-3,81 (m, 2H, H-5, H-3) ; 3,78-3,69 (m, 3H, H-2, CH_2 -6,) ; 2,01 (s, 3H, CH_3 -Ac.).

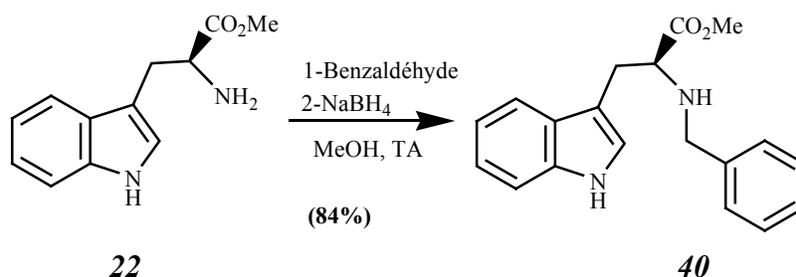
RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 168,9$ (CO_2) ; 138,1-137,7 (4xC-1-Bn.) ; 128,2-127,2 (20xCH-Bn.) ; 91,7 (C-1) ; 79,0 (C-3) ; 75,2 (CH_2 -Bn.-4) ; 74,3 (C-5) ; 74,1 (C-4) ; 73,4 (CH_2 -Bn.-6) ; 73,2 (C-2) ; 72,3 (CH_2 -Bn.-2) ; 72,0 (CH_2 -Bn.-3) ; 68,8 (C-6) ; 21,0 (CH_3).

SM (ESI+): 605,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

2-2- Voie du Pictet et Spengler:

2-2-1- Préparation de tryptophane protégé :

2-2-1-1- *N*-Benzyl-*L*-Tryptophanate de méthyle **40** :



Référence : Yu P. ; Wang T. ; Li J. ; Cook J. M. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 3173-3191.

A une solution de 8,6 g (39,5 mmol ; 1 équiv.) de *L*-tryptophanate de méthyle **22** dans 90 mL de méthanol, sont ajoutés 4,4 mL (43,5 mmol ; 1,1 équiv.) de benzaldéhyde distillé. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est placé à 0°C et 1,65 g (43,5 mmol, 1,1 équiv.) de borohydrure de sodium y est alors ajouté par fraction de 200 mg chaque 30 minutes. Après deux heures d'agitation, 10 mL d'eau glacée sont ajoutés à la solution et le méthanol est évaporé sous pression réduite. Le résidu d'évaporation est repris par 100 mL de CHCl_3 . La phase organique est lavée par 100 mL de saumure puis par 100 mL d'eau ; elle est ensuite séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Le résidu est dissous à chaud dans un minimum d'éthanol. Après 8 heures à -20°C, le solide est filtré sous vide puis lavé par un mélange méthanol/eau (1/1) glacée. L'élimination des traces de solvants par séchage à la pompe à palettes permet l'obtention de 10,2 g (Rdt = 84%) de cristaux blancs.

N-Benzyl-*L*-tryptophanate de méthyle.

CAS : 63229-68-5.

$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$: MM = 308,4 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

pF = 106°C.

$[\alpha]_D$ = -8,3 ° (10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; MeOH).

UV: λ_{max} = 220 ; 282 ; 290 nm.

IR = 3409 ; 2942 ; 2845 ; 1735 (C=O) ; 1458 ; 1344 ; 1203 ; 741 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,10$ (s, 1H, NH) ; 7,57 (d, 1H, $J_{4'-5'} = 7,8$ Hz, $H-4'$ -ind.) ; 7,32 (d, 1H, $J_{7'-6'} = 7,8$ Hz, $H-7'$ -ind.) ; 7,25-7,05 (m, 7H, 5xCH-Ph., $H-6'$ -ind., $H-5'$ -ind.) ; 6,99 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, $H-2'$ -ind.) ; 3,83 (d, 1H, $J = 13,1$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$), 3,73-3,63 (m, 5H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$, CH-2, CH_3) ; 3,19 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-3}$) ; 1,95 (sl, 2H, NH_2).

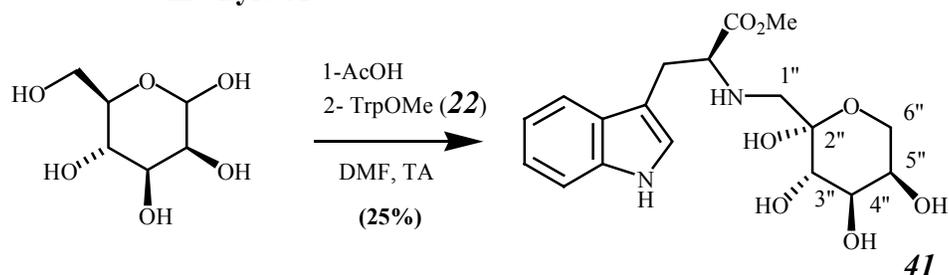
RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 175,5$ (CO_2Me) ; 139,7 (C-1-Ph.) ; 136,3 ($\text{C-7}'\text{a-ind.}$) ; 128,5 (CH-Ph.) ; 128,3 (CH-Ph.) ; 127,5 ($\text{C-3}'\text{a-ind.}$) ; 127,1 (CH-Ph.) ; 123,0 ($\text{C-2}'\text{-ind.}$) ; 122,1 ($\text{C-6}'\text{-ind.}$) ; 119,5 ($\text{C-5}'\text{-ind.}$) ; 118,9 ($\text{C-4}'\text{-ind.}$) ; 111,3 ($\text{C-7}'\text{-ind.}$) ; 111,2 ($\text{C-3}'\text{-ind.}$) ; 61,3 (CH-2) ; 52,2 ($\text{CH}_2\text{-Bn}$) ; 51,9 (OCH_3) ; 29,4 ($\text{CH}_2\text{-3}$).

SM (IE) : 308 [M^+] ; 178 ; 130.

HRMS (IE) ; 308,1525 (calc: 308,1541 Δ ppm: 5,3 Δ mDa: 1,6).

2-2-2- Synthèse avec mannose non protégé :

2-2-2-1- *N*-(1-déoxy- β -D-fructopyranose) tryptophanate de méthyle **41** :



A une solution de 828 mg (4,6 mmol ; 2 équiv.) de D-mannose dans 15 mL d'un mélange d'acide acétique et de diméthylformamide (2/1), sont ajoutés 500 mg (2,3 mmol ; 1 équiv.) de tryptophanate de méthyle **22**. Après 24 heures sous agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est évaporé sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH_2Cl_2 /méthanol (9/1)) permet d'isoler 220 mg (Rdt= 25%) d'une huile légèrement jaune.

(*S*)-2-(1-déoxy- β -D-fructopyranose-1-amino)-3-(1*H*-indol-3-yl)propanoate de méthyle.

N-(1-déoxy- β -D-fructopyranose) tryptophanate de méthyle.

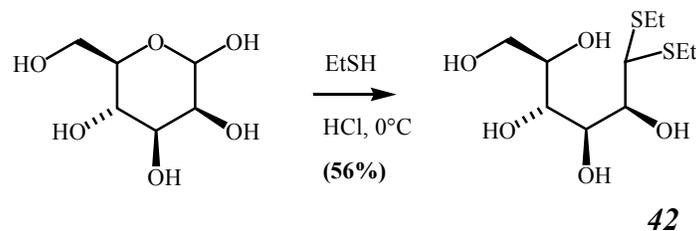
CAS : 135754-32-4.

$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_8$: MM = 380,4 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

RMN ^1H ($\text{DMSO } d_6$) : $\delta_{\text{ppm}} = 10,87$ (s, 1H, NH-ind) ; 7,50 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H-4'$ -ind.) ; 7,35 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H-7'$ -ind.) ; 7,14 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, $H-2'$ -ind.) ; 7,07 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H-5'$ -ind.) ; 6,99 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H-6'$ -ind.) ; 3,70-3,56* (m, 5H) ; 3,54 (s, 3H, OCH_3) ; 3,35* (d, 1H) ; 3,17* (s, 1H) ; 2,98* (d, 2H) ; 2,61 (système AB, 2H, 2,64-2,58, $J_{\text{gem}} = 11,9$ Hz).

RMN ^{13}C ($\text{DMSO } d_6$) : $\delta_{\text{ppm}} = 175,1$ (CO_2) ; 136,3 ($\text{C-7}'\text{a-ind.}$) ; 127,4 ($\text{C-3}'\text{a-ind.}$) ; 123,7 ($\text{C-2}'\text{-ind.}$) ; 121,1* ($\text{C-5}'\text{-ind.}$) ; 118,5* ($\text{C-6}'\text{-ind.}$) ; 118,4* ($\text{C-4}'\text{-ind.}$) ; 111,5 ($\text{C-7}'\text{-ind.}$) ; 110,0 ($\text{C-3}'\text{-ind.}$) ; 97,9 ($\text{C-2}''$) ; 70,0° ($\text{C-3}''$) ; 69,2° ($\text{C-4}''$) ; 69,0° ($\text{C-5}''$) ; 63,2 ($\text{CH}_2\text{-6}''$) ; 62,1 (CH-2) ; 52,6 ($\text{CH}_2\text{-1}''$) ; 51,5 (OCH_3) ; 29,1 ($\text{CH}_2\text{-3}$).

2-2-3- Synthèse d'aldéhyde de mannoses protégés :
2-2-3-1- Diéthylthioacétal du D-mannose 42 :



A une suspension de 10 g (55,5 mmol ; 1 équiv.) de D-mannopyrannoside dans 10 mL d'une solution aqueuse de HCl concentré (35%) sont ajoutés 8,2 mL (111 mmol, 2 équiv.) d'éthane thiol. Le mélange réactionnel est placé à 0° C et est agité vigoureusement (manuellement) jusqu'à prise en masse ; à ce stade le mélange ne doit pas développer de coloration rose. Après ajout de 10 mL d'eau, le mélange est placé à 60°C jusqu'à solubilisation. Le produit cristallise lors du retour à température ambiante. Les cristaux sont filtrés sous vide, lavés par de l'éther de pétrole puis séchés sous vide pendant 1 nuit, pour isoler 8,93 g (Rdt = 56%) de paillettes blanches.

Diéthylthioacétal de D-mannose.

CAS : 6748-69-2.

$\text{C}_{10}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$: MM = 286,4 g.mol⁻¹.

pF = 132°C.

$[\alpha_D] = +16,9^\circ$ (10 g.L⁻¹, MeOH).

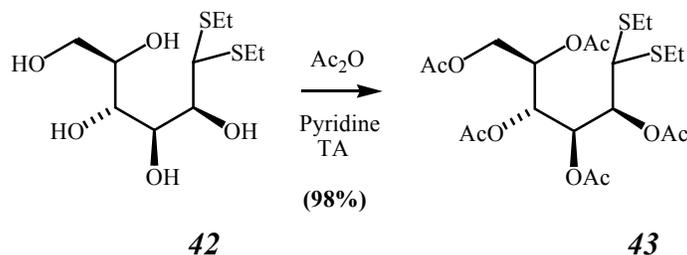
IR (KBr) = 3313 ; 1445 ; 1396 ; 1238 ; 1031 ; 956 ; 868 cm⁻¹.

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) : $\delta_{\text{ppm}} = 4,92$ (d, $J_{2'-2} = 5,5$ Hz, OH-2') ; 4,45 (d, $J_{5'-5} = 5,3$ Hz, OH-5') ; 4,40 (t, $J_{6'-6} = 5,4$ Hz, OH-6') ; 4,30 (d, $J_{3'-3} = 7,0$ Hz, OH-3') ; 4,22 (s, 1H, H-1) ; 4,14 (d, 1H, $J_{4'-4} = 7,5$ Hz, OH-4') ; 3,81 (m, 2H, H-2, H-3) ; 3,59 (m, 2H, H-5, H-6A) ; 3,45 (m, 2H, H-4, H-6B) ; 2,63 (m, 4H, 2xSCH₂) ; 1,20 (m, 6H, 2xCH₂CH₃).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) : $\delta_{\text{ppm}} = 73,9$ (C-2) ; 71,6 (C-5) ; 70,0 (C-4) ; 69,6 (C-3) ; 64,2 (C-6) ; 55,3 (C-1) ; 25,1 (S-CH₂) ; 25,0 (S-CH₂) ; 15,0 (2xCH₃).

SM (ESI+): 573,2 [2M+H]⁺, 859,3 [3M+H]⁺.

2-2-3-2- Penta-O-acétate-diéthylthioacétal du D-mannose 43 :



A une solution de 5 g (17,5 mmol ; 1 équiv.) de diéthylthioacétal du D-mannose **42** dans 18 mL de pyridine à 0°C, sont lentement additionnés 35,6 mL (360 mmol ; 20 équiv.) d'anhydride acétique. Après une nuit d'agitation à 0°C, la solution est reprise par 1 L d'eau et extraite deux fois par 100 mL d'acétate d'éthyle. Les phases organiques sont réunies et lavées successivement par 100 mL d'eau, d'une solution aqueuse d'acide citrique (5%) puis d'eau. La phase organique est ensuite séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. L'élimination des traces de solvants par séchage à la pompe à palettes permet l'obtention de 8,46 g (Rdt = 98%) d'une huile incolore.

2,3,4,5,6 Penta-*O*-acétate-diéthylthioacétal du D-mannose.

CAS : 7226-25-7.

C₂₀H₃₂O₁₀S₂: MM = 496,6 g.mol⁻¹.

[α_D] = + 61,4 ° (10 g.L⁻¹, CHCl₃).

IR (film) = 2960 ; 2925 ; 1749 (C=O) ; 1436 ; 1370 ; 1216 ; 1044 ; 965 cm⁻¹.

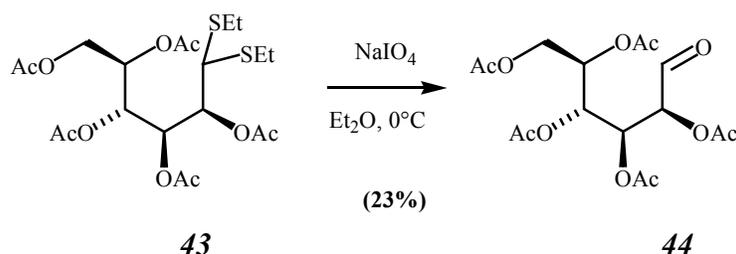
RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 5,75 (dd, 1H, J₃₋₄ = 1,7 Hz, J₃₋₂ = 7,3 Hz, H-3) ; 5,50 (dd, 1H, J₄₋₃ = 1,7 Hz, J₄₋₅ = 9,1 Hz, H-4) ; 5,30 (dd, 1H, J₂₋₁ = 5,4 Hz, J₂₋₃ = 7,3 Hz, H-2) ; 5,09 (m, 1H, H-5) ; 4,21 (dd, J_{6A-5} = 2,7 Hz, J_{6A-6B} = 12,5 Hz, H-6A) ; 4,08 (dd, J_{6B-5} = 5,0 Hz, J_{6B-6A} = 12,5 Hz, H-6B) ; 3,90 (d, 1H, J₁₋₂ = 5,4 Hz, H-1) ; 2,67 (m, 4H, 2xS-CH₂) ; 2,1 (s, 12H, 4xCH₃-Ac.) ; 2,06 (s, 3H, CH₃-Ac.) ; 1,25 (m, 6H, 2xCH₂CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 170,5 (CO-Ac.) ; 169,8 (2xCO-Ac.) ; 169,6 (2xCO-Ac.) ; 70,9 (C-2) ; 68,9* (C-5) ; 68,0* (C-3) ; 67,1 (C-4) ; 61,7 (C-6) ; 51,3 (C-1) ; 25,3 (S-CH₂) ; 25,0 (S-CH₂) ; 20,8 (2xCH₃-Ac.) ; 20,7 (2xCH₃-Ac.) ; 20,8 (CH₃-Ac.) ; 14,1 (CH₂CH₃) ; 14,0 (CH₂CH₃).

SM (IE): 496 [M⁺⁺] ; 435 ; 375 ; 333 ; 204 ; 161.

HRMS (IE) ; 496,1429 (calc: 496,1437 Δ ppm: -1,6 Δ mDa: -0,8).

2-2-3-3- Penta-*O*-acétate de D-mannose **44** :



Référence : Shi X.X. ; Khanapure S. P. ; Rokach J. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 25, 4331-4334.

Après dissolution de 1 g (2,02 mmol ; 1 équiv.) de penta-*O*-acétate-diéthylthioacétal de D-mannose **43** dans 10 mL d'éther à 0°C, est ajoutée sur une période de 3 minutes une solution de 864 mg (4,04 mmol ; 2 équiv.) de periodate de sodium dans 10 mL de tétrahydrofuranne. Après 6 minutes d'agitation à température ambiante, 50 mL d'une solution aqueuse de sulfite de sodium sont additionnés à la solution. Le mélange réactionnel est extrait deux fois par 50 mL d'éther. Les phases organiques sont réunies, lavées par 100 mL d'eau, séchées par MgSO₄, filtrées puis

éaporées sous pression réduite. L'aldéhyde ainsi obtenu doit être utilisé sans autre traitement. En effet une chromatographie sur colonne de silice (éluant cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) ne permet d'isoler que 181 mg (Rdt= 23%) d'une huile incolore.

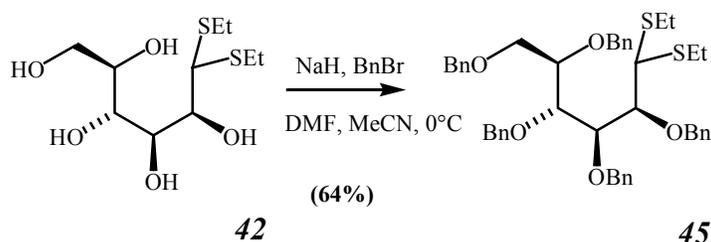
2,3,4,5,6-Penta-*O*-acétate de D-mannose.

CAS : 66888-27-5.

C₁₆H₂₂O₁₁: MM = 390,4 g.mol⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 9,43 (s, 1H, *H*-1) ; 5,49 (m, 2H, *H*-3, *H*-2) ; 5,16 (m, 1H, *H*-5), 5,04 (d, 1H, *J*₄₋₅= 8,2 Hz, *H*-4) ; 4,23 (dd, *J*_{5-6A}= 2,4 Hz, *J*_{6B-6A}= 12,5 Hz, *H*-6A) ; 4,13 (dd, *J*_{6B-5}= 5,7 Hz, *J*_{6B-6A}= 12,5 Hz, *H*-6B) ; 2,18 (s, 3H, CH₃-Ac.) ; 2,10 (s, 3H, CH₃-Ac.) ; 2,08 (s, 3H, CH₃-Ac.) ; 2,06 (s, 3H, CH₃-Ac.).

2-2-3-4- Penta-*O*-benzyl-diéthylthioacétal de D-mannose 45 :



A une solution de 3 g (10,5 mmol ; 1 équiv.) de diéthylthioacétal de D-mannose **42** dans 30 mL d'acétonitrile, sont ajoutés 20 mL de diméthylformamide (DMF) et 4,2 g (105 mmol, 10 équiv.) d'hydru de sodium à 60% dans de l'huile minérale, Après 1 heure d'agitation à température ambiante, le mélange est placé à 0°C et 9 mL (72,6 mmol ; 7 équiv.) de bromure de benzyle sont additionnées. Après 3 heures d'agitation à 0°C, la solution est évaporée sous pression réduite ; le résidu est repris par 50 mL d'éther, lavé quatre fois par 50 mL d'eau, séché par MgSO₄, filtré puis évaporé sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : de cyclohexane à cyclohexane/acétate d'éthyle (95/5)) permet d'isoler 4,96 g (Rdt = 64%) d'une huile incolore.

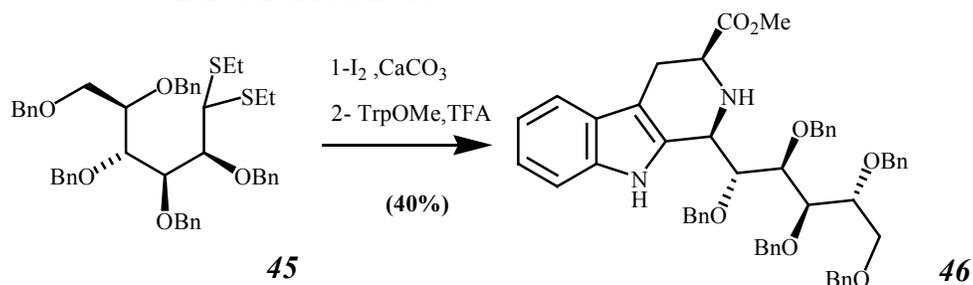
2,3,4,5,6-Penta-*O*-benzyl-diéthylthioacétal de D-mannose.

C₄₅H₅₂O₅S₂: MM = 737,0 g.mol⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 7,40-7,10 (m, 25H, 25xCH-Bn.) ; 5,03 (d, 1H, *J*= 11,3 Hz, CH_AH_B-Bn.) ; 4,75-4,42 (m, 9H, 4xCH₂-Bn., CH_AH_B-Bn.) ; 4,23 (d, 1H, *J*₁₋₂= 1,4 Hz, *H*-1) ; 4,17-4,09 (m, 3H, *H*-2, *H*-3, *H*-4) ; 4,29 (m, 1H, *H*-5) ; 3,91 (dd, *J*_{5-6A}= 2,4 Hz, *J*_{6A-6B}= 10,5 Hz, *H*-6A) ; 3,72 (dd, *J*_{5-6B}= 5,7 Hz, *J*_{6A-6B}= 10,5 Hz, *H*-6B) ; 2,60 (m, 4H, 2xS-CH₂) ; 1,20 (m, 6H, 2xCH₂CH₃).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 138,8 (C-1-Ph.) ; 138,7 (C-1-Ph.) ; 138,6 (C-1-Ph.) ; 138,3 (C-1-Ph.) ; 83,0 (C-2) ; 79,5* (C-5) ; 79,2* (C-3) ; 77,4* (C-4) ; 74,1 (CH₂-Bn.) ; 74,0 (CH₂-Bn.) ; 73,4 (CH₂-Bn.) ; 73,2 (CH₂-Bn.) ; 71,6 (CH₂-Bn.) ; 70,0 (C-6) ; 53,7 (C-1) ; 26,8 (S-CH₂) ; 25,0 (S-CH₂) ; 14,5 (CH₂CH₃) ; 14,3 (CH₂CH₃).

2-2-4- Réaction de Pictet-Spengler avec le mannose protégé uniformément :
2-2-4-1- Produit 46 :



Après dissolution de 1,47 g (2 mmol ; 1 équiv.) de penta-*O*-benzyl-diéthylthioacétal de *D*-mannose **45** dans 10,5 mL de tétrahydrofurane et 4,5 mL d'eau, sont successivement ajoutés à cette solution 1,01g (4 mmol ; 2 équiv.) d'iode et 400 mg (4,8 mmol, 2,4 équiv.) de carbonate de calcium. Après une nuit à température ambiante, la suspension est extraite par 30 mL de CH₂Cl₂. La phase organique est ensuite lavée par 30 mL d'eau, séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Le résidu est repris par 20 mL de CH₂Cl₂ distillé, 436 mg (2 mmol ; 1 équiv.) de tryptophanate de méthyle, 2 g de tamis moléculaire 4 Å activés et 300 µL (4 mmol ; 2 équiv.) d'acide trifluoroacétique sont alors successivement ajoutés au mélange réactionnel sous atmosphère d'azote. Après une nuit sous agitation à température ambiante, la suspension est filtrée sur Célite® ; celle-ci est lavée à trois reprises par 20 mL de CH₂Cl₂. La phase organique est lavée par 50 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium puis d'eau. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) permet d'isoler 656 mg (Rdt= 40%) d'une huile incolore.

Un seul isomère :

(1*R*,3*S*)-1-((1*R*,2*R*,3*R*,4*R*)-1,2,3,4,5-penta(benzyloxy)pentyl)-2,3,4,9-tétrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indole-3-carboxylate de méthyle.

C₅₃H₅₄O₇: MM = 831,0 g.mol⁻¹.

UV: λ_{max} = 210 ; 275 ; 284 ; 291 nm.

IR (film)= 3436 (N-H) ; 3348 ; 3022 ; 2863 ; 1735 (C=O) ; 1493 ; 1449 ; 1348 ; 1326 ; 1264 ; 1211 ; 1093 ; 1071 ; 736 ; 696 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,90 (s, 1H, NH-ind) ; 7,46 (m, 1H, H-4'-ind.) ; 7,40-7,20 (m, 25H, 25xCH-Bn.) ; 7,20-7,05 (m, 2H, H-5'-ind., H-6'ind.) ; 6,79 (m, 1H, H-7'ind.) ; 4,86 (s, 2H, CH₂-Bn.) ; 4,75 (système AB, 2H, 4,81-4,69, *J* = 10,9 Hz, CH₂-Bn.) ; 4,67 (système AB, 2H, 4,71-4,62, *J*=10,9 Hz, CH₂-Bn.) ; 4,59 (d, 1H, *J* = 10,9 Hz, CH_AH_B-Bn.) ; 4,52 (s, 2H, CH₂-Bn.) ; 4,30 (m, 1H, CH-1'') 4,23 (m, 3H, H-3'', H-2'', CH_AH_B-Bn.) ; 3,92 (m, 3H, H-4'', H-5'', H-6''A) ; 3,74 (m, 4H, OCH₃, H-6''B) ; 3,60 (dd, *J*_{2-3A} = 3,9 Hz, *J*_{2-3B} = 12,8 Hz, CH-2) ; 3,09 (dd, 1H, *J*_{3A-2} = 3,9 Hz, *J*_{3A-3B} = 10,9 Hz, CH_AH_B-3) ; 2,80 (dd, 1H, *J*_{3B-3A} = 10,9 Hz, *J*_{3B-2} = 12,8 Hz, CH_AH_B-3) ; 2,46 (sl, 1H, NH).

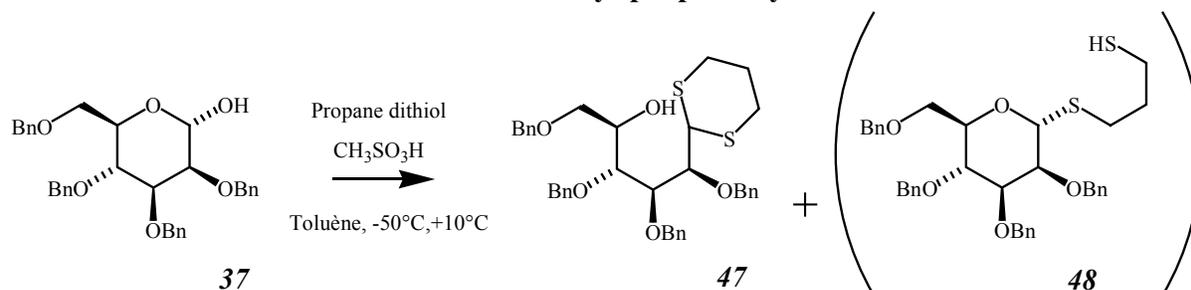
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 173,3 (CO₂) ; 138,6 (CH₂-Bn.) ; 138,0 (3xC-1-Bn.) ; 137,8 (C-1-Bn.) ; 136,0 (C-7'a-ind.) ; 135,2 (C-2'-ind.) ; 128,7-127,6 (25xCH-Bn.) ; 126,8 (C-3'a-ind.) ; 121,0 (C-5'-ind.) ; 118,6 (C-6'-ind.) ; 117,5 (C-4'-ind.) ; 110,7 (C-7'-ind.) ; 107,7 (C-3'-ind.) ; 83,4 (C-2'') ; 80,3* (C-3'') ; 80,2* (C-4'') ; 78,1 (C-5'') ; 75,3 (CH₂-Bn.) ; 74,5 (CH₂-Bn.) ; 73,3 (CH₂-

Bn.) ; 72,7 (CH₂-Bn.) ; 71,6 (CH₂-Bn.) ; 69,0 (CH₂-6'') ; 56,3 (CH-2) ; 54,0 (CH-1'') ; 51,8 (OCH₃) ; 25,5 (CH₂-3).

SM (ESI+): 831,5 [M+H]⁺.

2-2-5- Réaction de Pictet Spengler avec un mannose non uniformément protégé:

2-2-5-1- Tétra-O-benzyl-propanedioldithioacétal de D-mannose 47:



A une solution de 1 g (1,85 mmol ; 1 équiv.) de mannose protégé **37** dans 7 mL de toluène refroidis à -50°C, sont successivement ajoutés 700 µL (6,85 mmol ; 3,7 équiv.) de propanedithiol et 215 µL (3,3 mmol ; 1,65 équiv.) d'acide méthanesulfonique. Après retour à 10°C sur 4 heures et 10 heures d'agitation à cette même température, 20 mL de CH₂Cl₂ sont additionnés au mélange réactionnel qui est ensuite successivement lavé par 30 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium, de saumure et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane puis cyclohexane/acétate d'éthyle(8/2)) permet d'isoler 808 mg (Rdt = 70%) de dithioacétal.

1-(1,3-Propanedioldithioacétal)-2,3,4,6-tétra-O-benzyl de D-mannose **47**.

C₃₇H₄₂O₅S₂: MM = 630,9 g.mol⁻¹.

IR (film) = 3022 ; 2907 ; 2854 ; 1493 ; 1449 ; 1207 ; 1093 ; 736 ; 696 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 7,37-7,18 (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 5,14 (d, 1H, J= 10,9 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,83 (système AB, 2H, 4,89-4,77, J= 12,0 Hz, CH₂-Bn.-2) ; 4,60 (d, 1H, J= 1,3 Hz, H-1) ; 4,52-4,40 (m, 5H, 2xCH₂-Bn., CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,14 (dd, 1H, J= 2,3 Hz, J= 7,9 Hz, H-4) ; 4,03 (m, 1H, H-5) ; 3,94 (dd, 1H, J= 1,3 Hz, J= 8,3 Hz, H-2) ; 3,86 (dd, 1H, J= 2,3 Hz, J= 8,3 Hz, H-3) ; 3,66 (dd, 1H, J_{5-6A}= 3,0 Hz, J_{6A-6B}= 9,8 Hz, H-6A) ; 3,59 (dd, 1H, J_{6B-5}= 4,9 Hz, J_{6B-6A}= 9,8 Hz, H-6B) ; 2,83-2,52 (m, 4H, CH₂-1', CH₂-3') ; 2,10-1,79 (m, 2H, CH₂-2').

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 138,7-137,9 (4xC-1-Bn.) ; 128,4-127,5 (20xCH-Bn.) ; 81,6 (C-2) ; 78,5* (C-3) ; 78,3* (C-4) ; 74,6 (CH₂-Bn.) ; 73,5 (2xCH₂-Bn.) ; 73,2 (CH₂-Bn.) ; 71,0 (C-6) ; 70,0 (C-5) ; 51,3 (C-1) ; 32,5 (CH₂-1') ; 30,3 (CH₂-3') ; 26,9 (CH₂-3').

SM (ESI+): 631,2 [M+H]⁺.

Présent à l'état de trace dans ce protocole **48**:

1-(3-Mercaptopropyl)thio-2,3,4,6-tétra-O-benzyl-α-D-mannopyrannoside.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

$C_{37}H_{42}O_5S_2$: MM = 630,9 g.mol⁻¹.

$[\alpha_D] = +57^\circ$ (10 g.L⁻¹, CHCl₃).

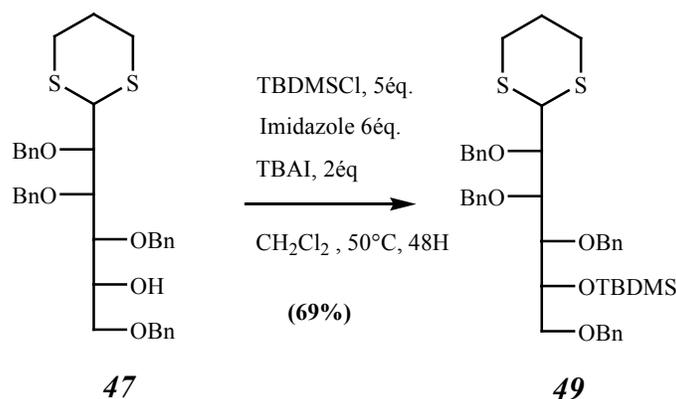
IR (film) = 3057 ; 3022 ; 2889 ; 2863 ; 1493 ; 1449 ; 1207 ; 1093 ; 736 ; 696 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{ppm} = 7,37-7,18$ (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 4,87 (d, 1H, $J = 10,9$ Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,72 (système AB, 2H, 4,75-4,69, $J = 12,8$ Hz, CH₂-Bn.-2) ; 4,65-4,46 (m, 6H, 2xCH₂-Bn., CH_AH_B-Bn.-4, H-1) ; 4,10 (m, 1H, H-5) ; 4,00 (t, 1H, $J = 9,3$ Hz, H-4) ; 3,83-3,77 (m, 2H, H-3, H-6A) ; 3,73 (d, 1H, $J = 1,6$ Hz, H-2) ; 3,68 (d, 1H, $J_{6A-6B} = 9,0$ Hz, H-6B) ; 2,78-2,61 (m, 2H, CH₂-2') ; 2,63-2,46 (m, 2H, CH₂-3') ; 1,91-1,79 (m, 2H, CH₂-1').

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta_{ppm} = 138,3-138,0$ (4xC-1-Bn.) ; 128,3-127,5 (20xCH-Bn.) ; 82,4 (C-1) ; 80,2 (C-3) ; 76,27 (C-2) ; 75,1 (CH₂-Bn.-4) ; 74,9 (C-4) ; 73,3 (CH₂-Bn.) ; 72,2 (C-5) ; 72,2 (CH₂-Bn.) ; 69,1 (C-6) ; 33,3 (CH₂-2') ; 29,7 (CH₂-1') ; 23,3 (CH₂-3').

SM (ESI+) : 653 [M+Na]⁺.

2-2-5-2- Propanedioldithioacétal-tétra-*O*-benzyl de D-mannose 5-*O*-silylé 49:



A une solution de 760 mg (1,2 mmol ; 1 équiv.) de mannose protégé 47 dans 10 mL de CH₂Cl₂, sont successivement ajoutés 493 mg (7,24 mmol ; 6 équiv.) d'imidazole et 546 mg (3,62 mmol ; 3 équiv.) de chlorure de *tert*-butyl-diméthylsilyle. Après 48 heures à température ambiante, 364 mg (2,41 mmol ; 2 équiv.) de chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle et 890 mg (2,4 mmol ; 2 équiv.) d'iodure de tétrabutylammonium sont de nouveau ajoutés. Après 10 heures d'agitation à 50°C, 50 mL d'éther sont ajoutés au mélange qui est alors lavé successivement par 50 mL d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (3N), de saumure et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : éther de pétrole à éther de pétrole/CH₂Cl₂ (3/1)) permet d'isoler 614 mg (Rdt= 69%) d'une huile incolore.

1-(cyclic-1,3-propanedioldithioacétal)-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl-5-*tert*-butyldiméthylsilyl-D-mannose.

$C_{43}H_{56}O_5S_2Si$: MM = 745,1 g.mol⁻¹.

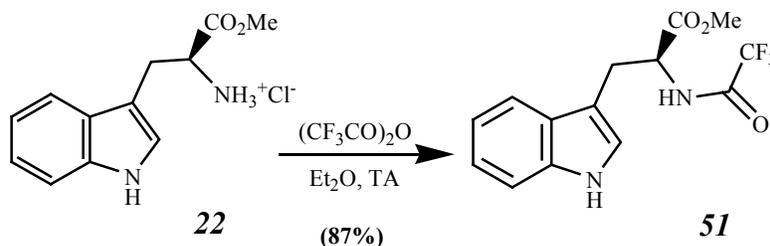
RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 7,37\text{-}7,20$ (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 5,01 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$) ; 4,76 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn.-}2$) ; 4,69 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$) ; 4,60 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz, $H\text{-}1$) ; 4,48 (d, 1H, $J = 11,6$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$) ; 4,40 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 4,37 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$) ; 4,13 (m, 1H, $H\text{-}5$) ; 3,97 (dd, 1H, $J = 3,7$ Hz, $J = 7,2$ Hz, $H\text{-}4$) ; 3,87 (m, 2H, $H\text{-}2$, $H\text{-}3$) ; 3,80 (dd, 1H, $J_{5\text{-}6A} = 2,9$ Hz, $J_{6A\text{-}6B} = 10,1$ Hz, $H\text{-}6A$) ; 3,58 (dd, 1H, $J_{6B\text{-}5} = 4,0$ Hz, $J_{6B\text{-}6A} = 10,1$ Hz, $H\text{-}6B$) ; 2,83-2,68 (m, 4H, $\text{CH}_2\text{-}1'$, $\text{CH}_2\text{-}3'$) ; 2,10-1,79 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}2'$) ; 0,88 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; 0,08 (s, 3H, CH_3) ; 0,04 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 138,7\text{-}137,9$ ($4\times\text{C-}1\text{-Bn.}$) ; 128,1-127,1 ($20\times\text{CH-Bn.}$) ; 81,7* ($\text{C-}3$) ; 81,4* ($\text{C-}3$) ; 79,2* ($\text{C-}4$) ; 74,2 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 74,1 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 73,6* ($\text{C-}5$) ; 73,3 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 72,9 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 72,1 ($\text{C-}6$) ; 50,8 ($\text{C-}1$) ; 32,0 ($\text{CH}_2\text{-}1'$) ; 30,2 ($\text{CH}_2\text{-}3'$) ; 26,2 ($\text{CH}_2\text{-}3'$) ; 25,8 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$) ; -3,8 (CH_3) ; -4,8 (CH_3).

2-3- Voie de la réaction de McMurry :

2-3-1- Préparation de kynurénines protégées :

2-3-1-1- *N*-Trifluoroacétyl-L-tryptophanate de méthyle **51** :



A une suspension de 5,86 g (23 mmol ; 1 équiv.) de chlorure de L-tryptophanate de méthyle **22** dans 50 mL d'éther, sont ajoutés 6,4 mL (46 mmol, 2 équiv.) d'anhydride trifluoroacétique. Après 1 heure sous agitation à température ambiante, le solvant est évaporé sous pression réduite ; le résidu obtenu est repris par 50 mL de CH_2Cl_2 . La solution est lavée successivement par 100 mL de solution aqueuse de HCl (1N), d'eau, de solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. L'élimination des traces de solvants à la pompe à palettes permet d'isoler 6,27 g (Rdt= 87%) de cristaux blanc.

N-Trifluoroacétyl-L-tryptophanate de méthyle.

CAS : 1604-49-5

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$: MM = 314,3 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

pF = 106°C

$[\alpha_D] = + 35,3$ ° (10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; CHCl_3)

UV: $\lambda_{\text{max}} = 220$; 282 ; 290 nm.

IR (KBr) = 3400 (N-H) ; 1713 (C=O) ; 1546 ; 1454 ; 1436 ; 1207 ; 1172 ; 740 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,13$ (s, 1H, NH-ind.) ; 7,49 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 7,37 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 7,25 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 7,13 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 7,04 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 6,95 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 6,86 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 6,77 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 6,68 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 6,59 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 6,50 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 6,41 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 6,32 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 6,23 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 6,14 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 6,05 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 5,96 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 5,87 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 5,78 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 5,69 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 5,60 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 5,51 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 5,42 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 5,33 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 5,24 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 5,15 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 5,06 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 4,97 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 4,88 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 4,79 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 4,70 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 4,61 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 4,52 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 4,43 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 4,34 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 4,25 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 4,16 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 4,07 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 3,98 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 3,89 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 3,80 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 3,71 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 3,62 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 3,53 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 3,44 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 3,35 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 3,26 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 3,17 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 3,08 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 2,99 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 2,90 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 2,81 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 2,72 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 2,63 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 2,54 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 2,45 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 2,36 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 2,27 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 2,18 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 2,09 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 2,00 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 1,91 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 1,82 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 1,73 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 1,64 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 1,55 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 1,46 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 1,37 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 1,28 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 1,19 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 1,10 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 1,01 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 0,92 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 0,83 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 0,74 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 0,65 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 0,56 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 0,47 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; 0,38 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; 0,29 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 0,20 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; 0,11 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; 0,02 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -0,07 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -0,16 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -0,25 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -0,34 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -0,43 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -0,52 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -0,61 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -0,70 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -0,79 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -0,88 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -0,97 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -1,06 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -1,15 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -1,24 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -1,33 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -1,42 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -1,51 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -1,60 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -1,69 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -1,78 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -1,87 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -1,96 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -2,05 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -2,14 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -2,23 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -2,32 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -2,41 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -2,50 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -2,59 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -2,68 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -2,77 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -2,86 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -2,95 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -3,04 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -3,13 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -3,22 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -3,31 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -3,40 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -3,49 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -3,58 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -3,67 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -3,76 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -3,85 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -3,94 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -4,03 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -4,12 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -4,21 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -4,30 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -4,39 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -4,48 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -4,57 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -4,66 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -4,75 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -4,84 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -4,93 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -5,02 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -5,11 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -5,20 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -5,29 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -5,38 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -5,47 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -5,56 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -5,65 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -5,74 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -5,83 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -5,92 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -6,01 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -6,10 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -6,19 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -6,28 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -6,37 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -6,46 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -6,55 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -6,64 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -6,73 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -6,82 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -6,91 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -7,00 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -7,09 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -7,18 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -7,27 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -7,36 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -7,45 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -7,54 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -7,63 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -7,72 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -7,81 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -7,90 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -7,99 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -8,08 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -8,17 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -8,26 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -8,35 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -8,44 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -8,53 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -8,62 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -8,71 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -8,80 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -8,89 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -8,98 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -9,07 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -9,16 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -9,25 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -9,34 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -9,43 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -9,52 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -9,61 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -9,70 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -9,79 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -9,88 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -9,97 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -10,06 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -10,15 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -10,24 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -10,33 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -10,42 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -10,51 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -10,60 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -10,69 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -10,78 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -10,87 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -10,96 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -11,05 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -11,14 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -11,23 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -11,32 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -11,41 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -11,50 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -11,59 (d, 1H, $J_{7\text{-}6} = 7,8$ Hz, $H\text{-}7'\text{-ind.}$) ; -11,68 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}6'\text{-ind.}$) ; -11,77 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}5'\text{-ind.}$) ; -11,86 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, $H\text{-}4'\text{-ind.}$) ; -11,95 (d, 1H, $J_{4\text{-}5} = 7$

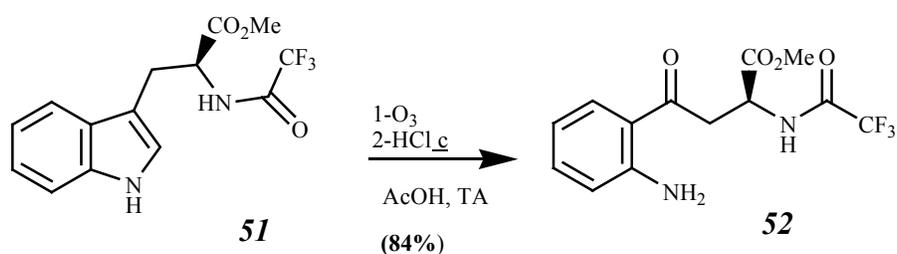
ind.) ; 6,98 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, $H-2'$ -ind.) ; 6,87 (dl, 1H, $J = 4,8$ Hz, CONH) ; 4,93 (m, 1H, CH-2) ; 3,73 (s, 3H, OCH₃) ; 3,29 (d, 2H, $J = 5,1$ Hz, CH₂-3).

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta_{\text{ppm}} = 170,8$ (CO₂Me) ; 156,7 (COCF₃, $J = 37,5$ Hz) ; 136,2 (C-7'a-ind.) ; 127,4 (C-3'a-ind.) ; 123,0 (C-2'-ind.) ; 122,6 (C-6'-ind.) ; 120,4 (C-5'-ind.) ; 118,3 (C-4'-ind.) ; 115,6 (CF₃, $J = 286$ Hz) ; 111,5 (C-7'-ind.) ; 108,8 (C-3'-ind.) ; 53,6* (CH-2) ; 53,0* (OCH₃) ; 27,2 (CH₂-3).

SM (IE) : 314 [M⁺] ; 218 ; 130.

HRMS (IE) : 314,0854 (calc: 314,0878 Δ ppm: -7,7 Δ mDa: -2,4).

2-3-1-2- *N*_α-trifluoroacetamido-*O*-méthyl-kynurénine 52 :



Référence : Gellerman G. ; Rudi A. ; Kashman Y. *Tetrahedron*, **1994**, 45, 12959-12972.

Une solution de 2 g (6,36 mmol ; 1 équiv.) de tryptophane protégé **51** dans 23 mL d'acide acétique sous agitation à température ambiante, est traversée par un flux d'ozone (ozoniseur MPG, FLAM et Cie) jusqu'à disparition de la matière première (5 minutes) ; 1,54 mL d'une solution aqueuse concentré de HCl (35%) sont alors ajoutés. Après 24 heures à température ambiante, la solution est placée à 0°C et est neutralisée par une solution aqueuse d'ammoniaque concentrée (35%). La solution obtenue est extraite à trois reprises par 50 mL de CH₂Cl₂ ; la phase organique est lavée successivement par 100 mL de saumure et d'eau, séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) permet d'isoler 1,70 g (Rdt = 84%) de cristaux jaunes.

2-(*S*)-(2,2,2-trifluoroacetamido)-4-(2-aminophényl)-4-oxobutanoate de méthyle.

CAS : 160724-56-1.

C₁₃H₁₃F₃N₂O₄: MM = 318,2 g.mol⁻¹.

pF = 94° C.

[α_D] = +163,7° (10 g.L⁻¹, MeOH).

UV λ_{max} = 205 ; 227 ; 257 ; 368 nm.

IR (Film) = 3462 (N-H) ; 3339 (N-H) ; 1722 (C=O) ; 1643 (C=O) ; 1612 ; 1581 ; 1546 ; 1484 ; 1211 ; 1159 ; 1044 ; 978 ; 749 cm⁻¹.

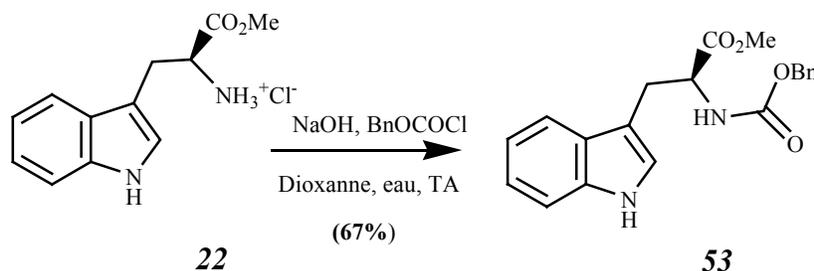
RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{\text{ppm}} = 7,66$ (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,0$ Hz, $H-3'$) ; 7,55 (dl, 1H, $J = 7,0$ Hz, CF₃CONH) ; 7,31 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H-5'$) ; 6,67 (m, 2H, $H-4'$, $H-6'$) ; 6,26 (sl, 2H, NH₂) ; 4,93 (m, 1H, CH-2) ; 3,86 (dd, 1H, $J_{3A-2} = 3,8$ Hz, $J_{3A-3B} = 18,1$ Hz, CH_AH_B-3) ; 3,79 (s, 3H, OCH₃) ; 3,55 (dd, 1H, $J_{3B-2} = 3,9$ Hz, $J_{3B-3A} = 18,1$ Hz, CH_AH_B-3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 198,4$ (CO-4) ; $170,1$ (CO_2CH_3) ; $156,7$ (COCF_3 , $J = 37,5$ Hz) ; $150,5$ ($\text{C-1}'$) ; $135,2$ ($\text{C-5}'$) ; $130,7$ ($\text{C-3}'$) ; $118,2$ ($\text{C-4}'$) ; $116,3$ ($\text{C-2}'$) ; $115,9$ ($\text{C-6}'$) ; $115,5$ (COCF_3) ; $52,9$ (OCH_3) ; $48,7$ (C-2) ; $39,9$ ($\text{CH}_2\text{-3}$).

SM (IE) : 318 [M^{+}] ; 294 ; 161.

HRMS (IE) ; 318,0817 (calc: 318,0827 Δ ppm: -1,0 Δ mDa: -3,3).

2-3-1-3- *N*-Benzyloxycarbonyl-L-tryptophanate de méthyle **53**:



A 15 mL d'une solution aqueuse de NaOH (1N) à température ambiante, sont ajoutés 3,18 g (12,5 mmol ; 1 équiv.) de chlorure de L-tryptophanate de méthyle **22** et 15 mL de dioxanne. Après 10 minutes d'agitation à température ambiante, la solution est placée à 0°C puis 2,13 mL (15 mmol ; 1,2 équiv.) de chloroformiate de benzyle sont lentement additionnés au mélange réactionnel qui est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 20 minutes. Après dilution dans 50 mL d'acétate d'éthyle, le mélange obtenu est lavé successivement par 50 mL de solution aqueuse de HCl (1N), de saumure et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) permet d'isoler 2,94 g (Rdt= 67%) d'une huile incolore.

N-Benzyloxycarbonyl-L-tryptophanate de méthyle.

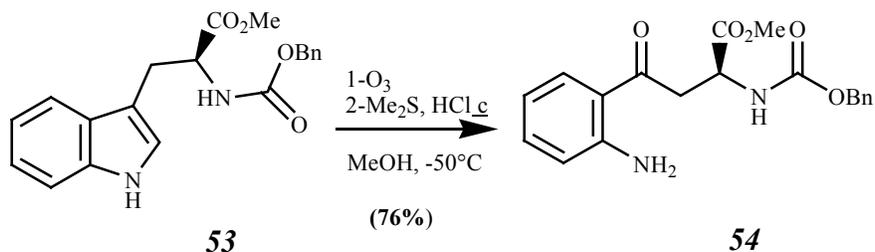
CAS : 2717-76-2.

$\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_4$: MM = 352,4 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,09$ (sl, 1H, *NH*-ind.) ; $7,52$ (d, 1H, $J_{4'-5'} = 7,8$ Hz, *H-4'*-ind.) ; $7,34$ (m, 6H, *CH*-Bn., *H-7'*-ind.) ; $7,18$ (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, *H-6'*-ind.) ; $7,07$ (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, *H-5'*-ind.) ; $6,95$ (d, 1H, $J = 2,3$ Hz, *H-2'*-ind.) ; $5,31$ (dl, 1H, $J = 8,1$ Hz, CONH) ; $5,10$ (système AB, 2H, 5,12-5,07, $J_{\text{gem}} = 12,2$ Hz, *CH}_2\text{-Bn.}*) ; $4,71$ (m, 1H, *CH-2*) ; $3,67$ (s, 3H, *OCH}_3*) ; $3,31$ (d, 2H, $J = 5,4$ Hz, *CH}_2*).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 172,2$ (CO_2Me) ; $155,6$ (CONH) ; $135,9$ (*C-1-Ph.*) ; $135,9$ (*C-7'a*-ind.) ; $128,8$ (*CH-Ph.*) ; $128,3$ (*CH-Ph.*) ; $127,9$ (*CH-Ph.*) ; $127,3$ (*C-3'a*-ind.) ; $122,6$ (*C-2'*-ind.) ; $122,0$ (*C-6'*-ind.) ; $119,5$ (*C-5'*-ind.) ; $118,4$ (*C-4'*-ind.) ; $111,0$ (*C-7'*-ind.) ; $109,6$ (*C-3'*-ind.) ; $66,7$ (*CH}_2\text{-Bn.}*) ; $54,3^*$ (*CH-2*) ; $52,2^*$ (*OCH}_3*) ; $27,7$ (*CH}_2\text{-3}*).

2-3-1-4- *N* α -Benzyloxycarbonyl-*O*-méthyl-kynurénine **54**:



Une solution de 2,9 g (8,24 mmol ; 1 équiv.) de tryptophane protégé **53** dans 100 mL de méthanol sous agitation à -50°C , est traversée par un flux d'ozone (ozoniseur MPG, FLAM et Cie) jusqu'à disparition de la matière première (60 minutes). Sont alors ajoutés 5 mL de sulfure de diméthyle et 5 mL d'une solution aqueuse concentrée de HCl (35%). Après 24 heures d'agitation à température ambiante, la solution est évaporée sous pression réduite ; le résidu obtenu est repris par 100 mL de CH_2Cl_2 . La solution est lavée successivement par 100 mL de solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium, d'eau, d'une solution aqueuse de HCl (1N), et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) permet d'isoler 2,24 g (Rdt = 76%) d'une huile jaune (une cristallisation de 72 heures à température ambiante dans le solvant d'éluant permet d'isoler 1,41 g d'aiguilles jaunes).

2- (*S*)-(Benzyloxycarbonyl)amino-4-(2-aminophényl)-4-oxobutanoate de méthyle.

$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5$; MM = 356,4 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

pF = 86°C .

$[\alpha]_D$ = $+123,7^{\circ}$ (10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, CHCl_3).

UV : λ_{max} = 229 ; 257 ; 367 nm.

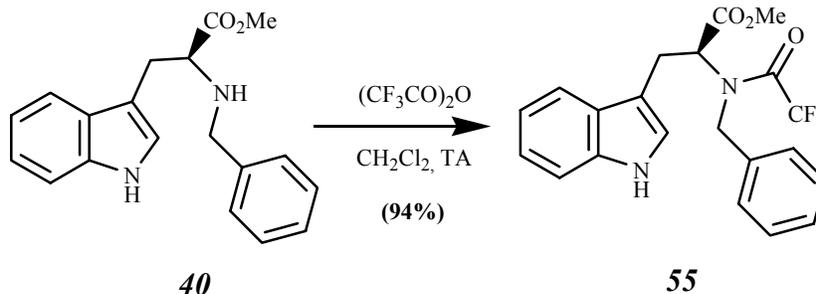
IR (Film) = 3453 (N-H) ; 3348 (N-H) ; 1718 (C=O) ; 1643 (C=O) ; 1616 ; 1581 ; 1546 ; 1502 ; 1211 ; 1057 ; 1035 ; 749 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 7,66 (d, 1H, $J_{3',4'} = 8,0$ Hz, $H_{-3'}$) ; 7,35-7,24 (m, 6H, 5xCH-Bn., $H_{-5'}$) ; 6,64 (m, 2H, $H_{-4'}$, $H_{-6'}$) ; 6,23 (sl, 2H, NH_2) ; 5,88 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, CO_2NH) ; 5,11 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 4,73 (m, 1H, CH-2) ; 3,76 (dd, 1H, $J_{2-3A} = 4,0$ Hz, $J_{3A-3B} = 17,9$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-3}$) ; 3,74 (s, 3H, OCH_3) ; 3,52 (dd, 1H, $J_{3B-2} = 3,9$ Hz, $J_{3B-3A} = 18,1$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-3}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 199,0 (CO-4) ; 172,0 (CO_2CH_3) ; 156,1 (CO_2NH) ; 150,5 (C-1') ; 136,1 (C-Ph.) ; 134,9 (C-5') ; 130,9 (C-3') ; 128,4 (CH-Ph.) ; 128,1 (CH-Ph.) ; 128,0 (CH-Ph.) ; 117,3 (C-4') ; 116,9 (C-2') ; 115,8 (C-6') ; 66,9 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 52,6 (OCH_3) ; 50,0 (CH-2) ; 41,2 ($\text{CH}_2\text{-3}$).

SM (ESI+) : 357,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2-3-1-5- *N*-Benzyl-*N*-Trifluoroacétyl-*L*-tryptophanate de méthyle 55 :



A une solution de 5 g (16,2 mmol ; 1 équiv.) de *L*-tryptophane protégé **40** dans 60 mL de CH_2Cl_2 , placée à 0°C , sont successivement ajoutés 6,8 mL (48,6 mmol, 3 équiv.) de triéthylamine et 4,52 mL (32,5 mmol ; 2 équiv.) d'anhydride trifluoroacétique. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est lavé successivement par 50 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium et 50 mL d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Le résidu est cristallisé avec du méthanol ; la filtration et le séchage à la pompe à palettes permettent d'isoler 6,18 g (Rdt= 94%) de cristaux blancs.

N-Benzyl-*N*-trifluoroacétyl-*L*-tryptophanate de méthyle.

$\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$; MM = 404,4 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

pF = 154-159°C.

$[\alpha_D]$ = -134,1° (10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; CHCl_3)

UV: λ_{max} = 217 ; 282 ; 291 nm.

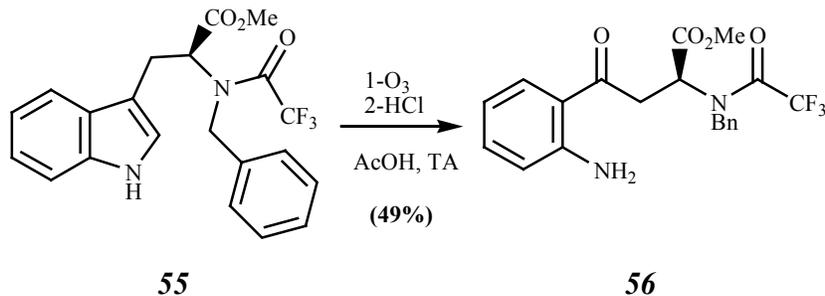
IR (KBr) = 3400 (N-H) ; 1744 (C=O) ; 1687 (C=O) ; 1454 ; 1432 ; 1203 ; 1146 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 8,29 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,40 (d, 1H, $J_{7'-6'} = 8,0$ Hz, *H*-7'-ind.) ; 7,37 (d, 1H, $J_{4'-5'} = 8,0$ Hz, *H*-4'-ind.) ; 7,26 (m, 4H, *H*-6'-ind., 3xCH-Bn.) ; 7,11 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, *H*-5'-ind.) ; 6,99 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz, *H*-2'-ind.) ; 6,91 (d, 2H, $J = 7,1$ Hz, 2xCH-Bn.) ; 4,52 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 15,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn}$) ; 4,09 (dd, 1H, $J_{2-3A} = 6,0$ Hz, $J_{2-3B} = 9,4$ Hz, CH-2) ; 3,66 (s, 3H, OCH_3) ; 3,56 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-3}$) ; 3,46 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 15,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 169,2 (CO_2Me) ; 156,7 (COCF_3 , $J = 36,7$ Hz) ; 136,2 (*C*-7'a-ind.) ; 133,2 (*C*-1-Bn.) ; 128,6 (CH-Bn.) ; 128,4 (CH-Bn.) ; 127,8 (CH-Bn.) ; 127,8 (*C*-3'a-ind.) ; 123,3 (*C*-2'-ind.) ; 122,3 (*C*-6'-ind.) ; 119,7 (*C*-5'-ind.) ; 118,2 (*C*-4'-ind.) ; 116,3 (CF_3 , $J = 286$ Hz) ; 111,4 (*C*-7'-ind.) ; 110,8 (*C*-3'-ind.) ; 60,3 (CH-2) ; 52,9 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 52,4 (OCH_3) ; 27,2 ($\text{CH}_2\text{-3}$).

SM (IE) : 404,1 $[\text{M}^+]$; 201,1 (100) ; 130,0 (75).

SMHR (IE): 404,1310 (calc: 404,1348 ; Δ mDa = -3,8 ; Δ ppm = -9,3).

2-3-1-6- *N* α -Benzyl-*N* α -trifluoroacétyl-*O*-méthyl-kynurénine **56**:

Référence : Gellerman G. ; Rudi A. ; Kashman Y. *Tetrahedron*, **1994**, *45*, 12959-12972.

Une solution de 4,04 g (10 mmol ; 1 équiv.) de tryptophane **55** dans un 50 mL d'un mélange méthanol/CH₂Cl₂ (4/1), sous agitation, à température ambiante, est traversée par un flux d'ozone (ozoniseur MPG, FLAM et Cie) jusqu'à disparition de la matière première (2 heures). Au mélange réactionnel sont alors ajoutés 1 mL de sulfure de diméthyle et 1 mL d'une solution aqueuse concentré de HCl (35%). Après 2 heures à température ambiante, la solution est évaporée sous pression réduite ; le résidu est repris avec 30 mL de chloroforme et est lavé successivement par 100 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium puis d'eau. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une cristallisation dans le méthanol, suivie d'une filtration sous vide et de l'élimination des traces de solvant à la pompe à palette permet d'isoler 2,00 g (Rdt = 49%) de cristaux orangés.

2-(S)-(N-Benzyl-2,2,2-trifluoroacétamido)-4-(2-aminophényl)-4-oxobutanoate de méthyle.
 C₂₀H₁₉F₃N₂O₄: MM = 408,4 g.mol⁻¹.

pF = 107° C.

[α_D] = -79,1° (10 g.L⁻¹, CHCl₃).

UV λ_{max} = 226 ; 257 ; 369 nm.

IR (Film) = 3462 (N-H) ; 3348 (N-H) ; 1744 (C=O) ; 1691 (C=O) ; 1647 (C=O) ; 1616 ; 1586 ; 1550 ; 1449 ; 1203 ; 1150 ; 745 ; 701 cm⁻¹.

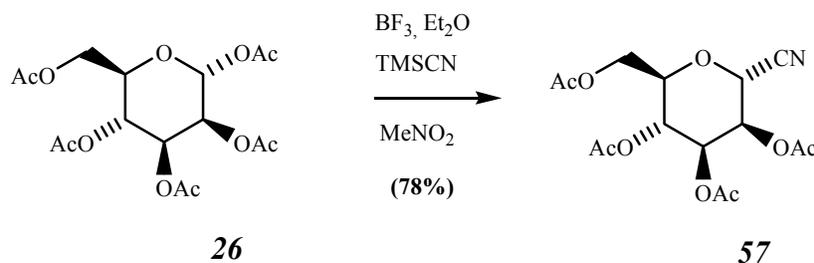
RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 7,65 (d, 1H, $J_{3'-4'} = 8,6$ Hz, H-3') ; 7,43-7,2 (m, 6H, H-5', 5xCH-Bn.) ; 6,67 (m, 2H, H-4', H-6') ; 6,22 (sl, 2H, NH₂) ; 4,15 (système AB, 2H, 4,83-4,72, $J_{gem} = 15,6$ Hz, CH₂-Bn.), 4,72 (t, 1H, $J = 6,1$ Hz, CH-2) ; 4,04 (dd, 1H, $J_{3A-2} = 6,1$ Hz, $J_{3A-3B} = 18,0$ Hz, CH_AH_{B-3}) ; 3,62 (s, 3H, OCH₃) ; 3,27 (dd, 1H, $J_{3B-2} = 6,1$ Hz, $J_{3B-3A} = 18,0$ Hz, CH_AH_{B-3}).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 197,8 (CO-4) ; 169,3 (CO₂CH₃) ; 156,7 (COCF₃) ; 150,4 (C-1') ; 134,7 (C-5') ; 133,7 (C-1-Bn.) ; 131,0 (C-3') ; 128,9 (CH-Bn.) ; 128,7 (CH-Bn.) ; 128,6 (CH-Bn.) ; 117,2 (C-4') ; 117,1 (C-2') ; 116,1 (COCF₃, $J = 285$ Hz) ; 115,9 (C-6') ; 56,0 (C-2) ; 52,7 (CH₂-Bn.) ; 52,6 (OCH₃) ; 38,7 (CH₂-3).

SM (IE) : 408,1 [M⁺] ; 146 ; 120 ; 91.

SMHR (IE) : 408,13353 (calc: 408,12969 ; Δ mDa: 3,84 ; Δ ppm: 9,41).

2-3-2- Préparation des homologues du mannose en série acétyle:
2-3-2-1- Cyanure de tétra-*O*-acétyl- α -D-mannopyranosyle 57 :



Référence : Kini G. D. ; Petrie C. R. ; Hennen W. J. ; Dalley N. K. ; Wilson B. E. ; Robins R. K. *Carbohydr. Res.* **1987**, *159*, 81-94.

A une solution de 3,16 g (8,1 mmol ; 1 équiv.) de penta-*O*-acétyl-D-mannopyranoside **26** dans 30 mL de nitrométhane, sont ajoutés successivement : 3,24 mL (24,3 mmol ; 3 équiv.) de cyanure de triméthylsilyle et, goutte à goutte, 1,1 mL (8,9 mmol ; 1,1 équiv.) d'éthérate de trifluorure de bore. Après 10 heures sous agitation à température ambiante, le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est repris par 30 mL de CH_2Cl_2 . Le mélange réactionnel est lavé par 30 mL d'eau ; la phase organique est ensuite séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH_2Cl_2) permet d'isoler 2,24 g (Rdt = 78%) d'une huile incolore.

Ratio α/β (déterminé par RMN): l'anomère β n'est pas détectable par RMN.

2,6-Anhydro-3,4,5,7-tétra-*O*-acétyl-D-glycéro-D-talo-heptonitrile.

(2,3,4,6-Tétra-*O*-acétyl- α -D-mannopyranosyle cyanide).

CAS : 84856-51-9.

$\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{NO}_9$: MM = 357,3 g.mol⁻¹.

$[\alpha_D] = +33^\circ$ (10 g.L⁻¹; CHCl_3).

IR (Film)= 1749 (C=O) ; 1432 ; 1370 ; 1225 ; 1123 ; 1084 ; 1053 cm⁻¹.

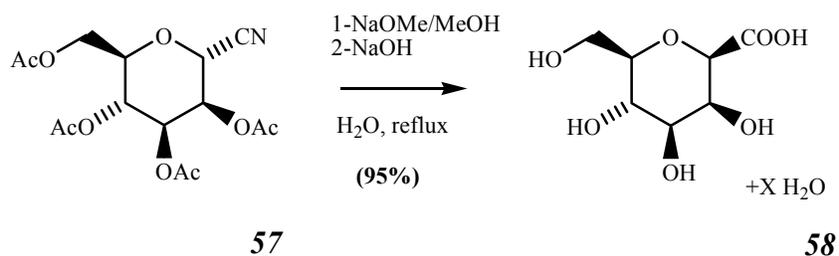
RMN ¹H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 5,44$ (dd, 1H, $J_{2-1} = 2,4$ Hz, $J_{2-3} = 2,6$ Hz, *H*-2) ; 5,39-5,27 (m, 2H, *H*-3, *H*-4) ; 4,92 (d, 1H, *H*-1) ; 4,33 (dd, 1H, $J_{6A-5} = 5,3$ Hz, $J_{6A-6B} = 12,5$ Hz, *H*-6A) ; 4,17 (dd, 1H, $J_{5-6B} = 2,0$ Hz, $J_{6A-6B} = 12,5$ Hz, *H*-6B) ; 4,08 (m, 1H, *H*-5) ; 2,19* (s, 3H, CH_3 -Ac.-3) ; 2,12 (s, 3H, CH_3 -Ac.-6) ; 2,09 (s, 3H, CH_3 -Ac.-4) ; 2,04* (s, 3H, CH_3 -Ac.-2).

RMN ¹³C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 170,5$ (CO) ; 169,6 (CO) ; 169,5 (CO) ; 169,5 (CO) ; 113,4 (CN) ; 74,2 (*C*-5) ; 68,8* (*C*-3) ; 68,6* (*C*-2) ; 65,5 (*C*-1) ; 64,9 (*C*-4) ; 61,6 (*C*-6) ; 20,8 (CH_3) ; 20,6 (2x CH_3) ; 20,5 (CH_3).

SM (IE) : 357 [M^+] ; 315 ; 315 ; 298 ; 195.

HRMS (IE) : 357,1046 (calc: 357,1060 Δ ppm: -3,9 Δ mDa: -1,4).

2-3-2-2- Acide C-(β -D-mannopyranosyl)formique 58 :



Référence : Myers R. W. ; Lee Y. C. *Carbohydr. Res.* **1986**, 152, 143-158.

Une solution de 5,57 g (15,6 mmol ; 1 équiv.) de sucre homologué **57** dans 150 mL de méthanol est ajustée à pH 11 grâce à une solution de méthanolate de sodium dans le méthanol (25%). Après 4 heures d'agitation à température ambiante, le solvant est évaporé sous pression réduite. Le résidu obtenu est repris par 150 mL d'eau ; 625 mg (13,1 mmol ; 1 équiv.) d'hydroxyde de sodium sont ajoutés à la solution. Après 30 heures de reflux, la solution est refroidie et acidifiée par de la résine Dowex™ H⁺ jusqu'à pH= 1, puis diluée dans 600 mL d'eau puis le produit est fixé sur une résine alcaline. Cette dernière est lavée par 300 mL d'eau. Le produit est récupéré par un lavage à l'acide acétique (2N, 500 mL). L'eau est évaporée sous pression réduite ; des entraînements azéotropiques successifs au toluène et au tétrachlorure de carbone permettent d'éliminer respectivement l'eau et l'acide acétique. L'élimination des dernières traces de solvants à la pompe à palettes permet d'isoler 3,35 g (Rdt= 95% basé sur X=1) de cristaux blancs.

Ratio α/β (déterminé par RMN): l'anomère α n'est pas détectable par RMN.

Acide 2,6-anhydro-D-glycéro-D-galacto-hepturonique.

(Acide C-(β -D-mannopyranosyl)formique)

CAS : 219537-38-9.

C₇H₁₂O₇: MM = 208,2 g.mol⁻¹.

pF = >250°C.

[α D] = - 2,0° (10 g.L⁻¹, MeOH).

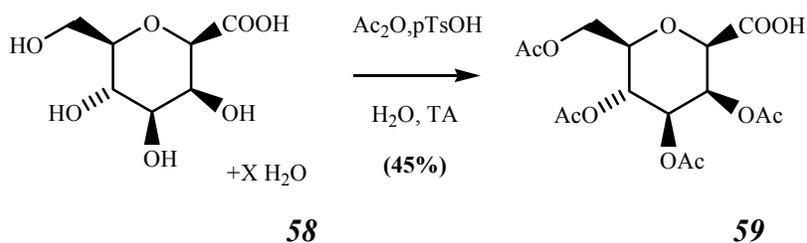
IR (Film) = 3427 ; 1616 (C=O) ; 1423 ; 1093 ; 868 cm⁻¹.

RMN ¹H (D₂O) : δ_{ppm} = 4,24 (dd, 1H, J_{1-2} = 1,1 Hz, J_{2-3} = 3,3 Hz, H-2) ; 4,05 (d, 1H, J_{1-2} = 1,1 Hz, H-1) ; 3,92 (dd, 1H, J_{6A-5} = 2,8 Hz, J_{6A-6B} = 12,1 Hz, H-6A) ; 3,73 (dd, 1H, J_{6B-5} = 6,4 Hz, J_{6B-6A} = 12,1 Hz, H-6B) ; 3,68 (dd, 1H, J_{3-2} = 3,3 Hz, J_{3-4} = 9,6 Hz, H-3) ; 3,56 (t, 1H, J = 9,6 Hz, H-4) ; 3,37 (ddd, 1H, J_{5-6A} = 3,4 Hz, J_{5-6B} = 6,4 Hz, J_{5-4} = 9,6 Hz, H-5).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 172,4 (CO) ; 80,4 (C-1) ; 80,0 (C-5) ; 75,5 (C-3) ; 72,0 (C-2) ; 68,3 (C-4) ; 62,6 (C-6).

SM (ESI-) : 207,0 [M-H]⁻.

2-3-2-3- Acide C-(tétra-O-acétyl-β-D-mannopyranosyl)formique 59 :



Référence : Myers R.W. ; Lee Y.C. *Carbohydr. Res.* **1986**, *152*, 143-158.

A une solution de 3,29 g (14,6 mmol, calcul basé sur le monhydrate : X=1 ; 1 équiv.) d'acide **58** dans 15 mL (159 mmol ; 11 équiv.) d'anhydride acétique, sont ajoutés 3,25 g (17,1 mmol ; 1,2 équiv.) d'acide para-toluène sulfonique monohydraté. Après vingt-quatre heures à température ambiante, le mélange réactionnel est additionné à 200 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium, le pH de la solution est ajusté à 11 par du bicarbonate de sodium en poudre. La solution est lavée par du chloroforme, la phase aqueuse est alors acidifiée par une solution aqueuse d'acide sulfurique (2M) jusqu'à pH 1 puis extraite par quatre fois 50 mL de chloroforme. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. L'élimination des traces de solvants par séchage à la pompe à palettes permet l'obtention de 2,46 g (Rdt = 45%) d'un solide amorphe blanc.

Ratio α/β (déterminé par RMN): l'anomère α n'est pas détectable par RMN.

Acide 3,4,5,7-tétra-O-acétyl-2,6-anhydro-D-glycero-D-galacto-hepturonique.

(Acide C-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl-β-D-mannopyranosyl)formique)

C₁₅H₂₀O₁₁: MM = 376,3 g.mol⁻¹.

pF = 83°C

[α_D] = +83° (c= 10 g.L⁻¹, MeOH).

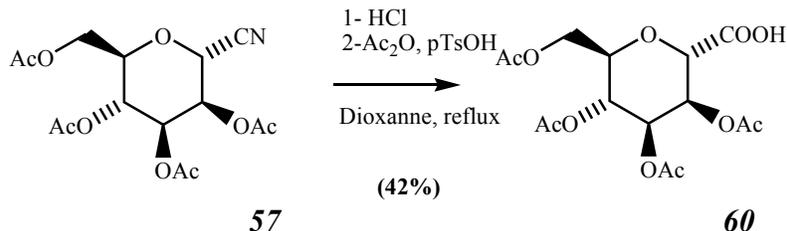
IR (film) = 1744 (C=O) ; 1432 ; 1370 ; 1225 ; 1123 ; 1053 ; 754 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,43 (sl, 1H, CO₂H), 5,75 (dd, 1H, J_{2-1} = 1,1 Hz, J_{2-3} = 3,4 Hz, H-2) ; 5,21 (t, 1H, J = 10,0 Hz, H-4) ; 5,12 (dd, 1H, J_{3-2} = 3,4 Hz, J_{3-4} = 10,0 Hz, H-3) ; 4,39 (d, 1H, J_{1-2} = 1,1 Hz, H-1) ; 4,27 (dd, 1H, J_{6A-5} = 5,6 Hz, J_{6A-6B} = 12,5 Hz, CH_AH_B-6) ; 4,17 (dd, 1H, J_{6B-5} = 2,0 Hz, J_{6B-6A} = 12,5 Hz, CH_AH_B-6) ; 3,74 (m, 1H, H-5) ; 2,10 (s, 3H, CH₃-Ac.-2) ; 2,08 (s, 3H, CH₃-Ac.-6) ; 2,03 (s, 3H, CH₃-Ac.-4) ; 1,96 (s, 3H, CH₃-Ac.-3).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 171,1 (CO₂H) ; 170,2 (CO-Ac.) ; 170,0 (CO-Ac.) ; 169,7 (CO-Ac.) ; 168,9 (CO-Ac.) ; 76,1 (C-5) ; 75,3 (C-1) ; 71,4 (C-3) ; 68,4 (C-2) ; 65,3 (C-4) ; 62,4 (C-6) ; 20,7 (2xCH₃-Ac) ; 20,5 (CH₃-Ac) ; 20,4 (CH₃-Ac).

SM (ESI-) : 375,1 [M-H]⁻.

2-3-2-4- Acide C-(tétra-O-acétyl- α -D-mannopyranosyl)formique 60 :



A une solution de 3,7g (10,3 mmol ; 1 équiv.) de mannose homologué **57** dans 70 mL de dioxanne, sont ajoutés 5 mL de HCl concentré (35%). Après 15 heures d'agitation à reflux, 15 mL (159 mmol ; 15 équiv.) d'anhydride acétique et 3 g (mmol ; équiv.) d'acide para-toluène sulfonique sont ajoutés successivement au mélange réactionnel. Après vingt-quatre heures à température ambiante, la solution est neutralisée par addition d'une solution saturée de bicarbonate de sodium. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) permet d'isoler 1,23 g (Rdt = 32%) d'une huile incolore.

Ratio α/β (déterminé par RMN): 1/0,26.

Acide 3,4,5,7-tétra-O-acétyl-2,6-anhydro-D-glycéro-D-talo-hepturonique.

(Acide C-(2,3,4,6-tétra-O-acétyl- α -D-mannopyranosyl)formique)

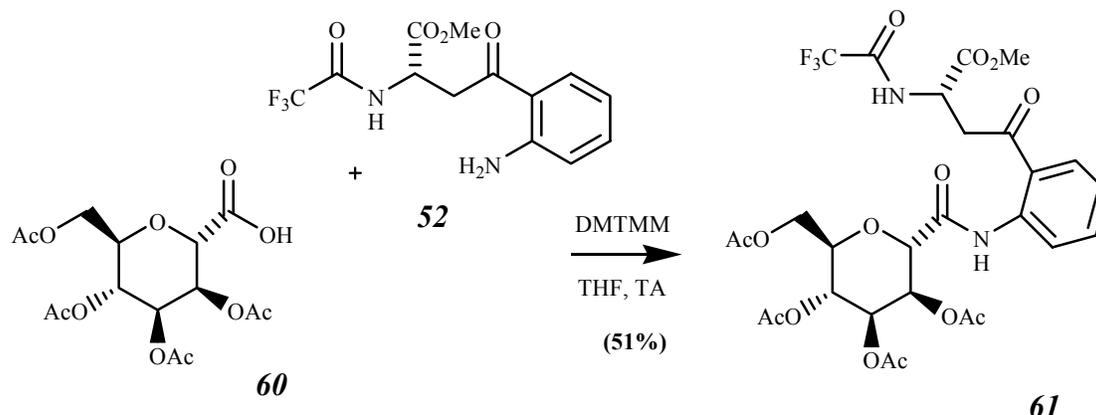
$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$: MM = 376,3 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 6,29 (sl, 1H, CO_2H), 5,74 (dd, 1H, $J_{2-1} = 1,9$ Hz, $J_{2-3} = 3,3$ Hz, H-2) ; 5,21 (t, 1H, $J = 9,9$ Hz, H-4) ; 5,12 (dd, 1H, $J_{3-2} = 3,3$ Hz, $J_{3-4} = 9,9$ Hz, H-3) ; 4,39 (d, 1H, $J_{1-2} = 1,9$ Hz, H-1) ; 4,27 (dd, 1H, $J_{6A-5} = 4,9$ Hz, $J_{6A-6B} = 12,5$ Hz, CH_AH_B-6) ; 4,21 (m, 2H, CH_AH_B-6 , H-5) ; 2,20 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac.}$) ; 2,13 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac.}$) ; 2,05 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac.}$) ; 2,00 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac.}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 171,0* (CO_2H) ; 171,0* (CO-Ac.) ; 170,9* (CO-Ac.) ; 170,2* (CO-Ac.) ; 169,8* (CO-Ac.) ; 74,8 (C-5) ; 73,1* (C-1) ; 69,6* (C-3) ; 69,0* (C-2) ; 65,5 (C-4) ; 61,6 (C-6) ; 20,9 (2x $\text{CH}_3\text{-Ac.}$) ; 20,7 ($\text{CH}_3\text{-Ac.}$) ; 20,6 ($\text{CH}_3\text{-Ac.}$).

SM (ESI-) : 375,1 [M-H] $^-$.

2-3-3- Couplage sucre-kynurénine:
2-3-3-1 Amide 61 :



A une solution de 290 mg (0,93 mmol ; 1 équiv.) d'aniline **52** dans 8 mL de tétrahydrofurane, sont ajoutés 350 mg (0,93 mmol ; 1 équiv.) d'acide **60**. Après 10 minutes d'agitation à température ambiante, 280 mg (1,02 mmol ; 1,1 équiv.) de diméthoxytriazinéméthyl morpholinium (DMTMM) sont additionnés au mélange réactionnel. Après 3 heures d'agitation à la même température, la solution est diluée dans 20 mL de CH_2Cl_2 et lavée par successivement 20 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium, d'une solution d'HCl (1N), puis d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) permet d'isoler 320 mg (Rdt = 51%) de cristaux blancs.

Ratio α/β (déterminé par RMN): l'anomère β n'est pas détectable par RMN.

(S)-méthyl 2-(2,2,2-trifluoroacétamido)-4-(2-(3,4,5,7-tétra-O-acétyl-2,6-anhydro-) D-glycéro-D-talo-heptonamidophényl)-4-oxobutanoate.

$\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_{14}$: MM = 676,5 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

pF = 63-64° C.

$[\alpha_D]$ = -13° (0,6 g. 100 mL^{-1} , CHCl_3).

UV λ_{max} = 202 ; 231 ; 261 ; 268 ; 325 nm.

IR (Film) = 3295 (N-H) ; 2951 ; 1749 (C=O) ; 1661 (C=O) ; 1581 ; 1524 ; 1449 ; 1366 ; 1225 ; 1167 ; 1053 ; 762 ; 732 cm^{-1} .

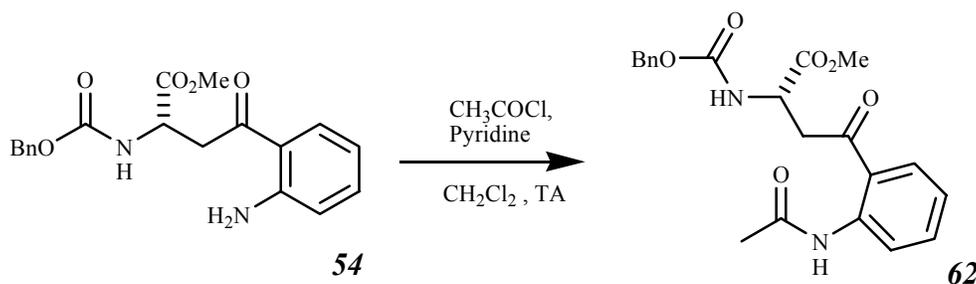
RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 12,06 (s, 1H, Man.-CONH) ; 8,72 (d, 1H, $J_{6'-5'} = 8,0$ Hz, $H-6'$) ; 8,16 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz, CF_3CONH) ; 7,91 (d, 1H, $J_{3'-4'} = 8,0$ Hz, $H-3'$) ; 7,59 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H-5'$) ; 7,20 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H-4'$) ; 5,93 (dd, 1H, $J_{1''-2''} = 1,1$ Hz, $J_{2''-3''} = 3,4$ Hz, $H-2''$) ; 5,40 (t, 1H, $J = 10,0$ Hz, $H-4''$) ; 5,19 (dd, 1H, $J_{3''-2''} = 3,4$ Hz, $J_{3''-4''} = 10,0$ Hz, $H-3''$) ; 4,95 (m, 1H, $H-2$) ; 4,55 (dd, 1H, $J_{6A''-5''} = 1,9$ Hz, $J_{6A''-6B''} = 12,5$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B-6''$) ; 4,37 (dd, 1H, $J_{6B''-5''} = 4,5$ Hz, $J_{6B''-6A''} = 12,5$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B-6''$) ; 4,39 (d, 1H, $J_{1-2} = 1,1$ Hz, $H-1''$) ; 3,92 (dd, 1H, $J_{3A-2} = 4,9$ Hz, $J_{3A-3B} = 18,5$ Hz, CH_AH_B-3) ; 3,84 (m, 1H, $H-5''$) ; 3,79 (s, 3H, OCH_3) ; 3,70 (dd, 1H, $J_{2-3B} = 3,6$ Hz, $J_{3A-3B} = 18,5$ Hz, CH_AH_B-3) ; 2,14 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac.-6''}$) ; 2,10 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac.-4''}$) ; 2,02 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac.-2''}$) ; 2,01 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-Ac.-3''}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 200,2 (CO-4) ; 170,9* (CO_2CH_3) ; 170,0* ($2\times\text{CO-Ac.}$) ; 169,6* ($2\times\text{CO-Ac.}$) ; 165,4 (CON-1''a) ; 157,3 (COCF_3 , $J= 37,5$ Hz) ; 139,4 (C-1') ; 135,7 (C-5') ; 130,7 (C-3') ; 124,4 (C-4') ; 121,5 (C-2') ; 120,8 (C-6') ; 115,5 (COCF_3 , $J= 286$ Hz) ; 76,8° (C-5'') ; 76,3° (C-1'') ; 71,8 (C-3'') ; 68,0 (C-2'') ; 65,4 (C-4'') ; 62,1 (C-6'') ; 53,0 (OCH_3) ; 48,7 (C-2) ; 40,7 (CH_2 -3) ; 20,6 ($2\times\text{CH}_3$ -Ac.) ; 20,5 ($2\times\text{CH}_3$ -Ac.).

SM (IE) : 676 [M^{+}] ; 478 ; 267.

HRMS (IE) ; 676,1713 (calc: 676,1727 Δ ppm: -2,1 Δ mDa: -1,4).

2-3-3-2 Acétamide 62 :



A une solution de 720 mg (2,02 mmol ; 1 équiv.) de dérivé d'aniline **54** dans 20 mL de CH_2Cl_2 , sont ajoutés 160 μL (2,24 mmol ; 1,1 équiv.) de chlorure d'acétyle et 1 mL (12,6 mmol ; 6 équiv.) de pyridine. Après 30 minutes d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est lavé successivement par 20 mL de bicarbonate de sodium et d'eau. Après séchage par MgSO_4 , filtration puis évaporation sous pression réduite, une cristallisation dans l'éther permet d'isoler 540 mg (Rdt = 68%) de cristaux blancs.

2-(*S*)-(Benzyloxycarbonyl)amino-4-(2-acétamidophényl)-4-oxobutanoate de méthyle.

$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$; MM = 398,4 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

pF = 156° C.

$[\alpha_D]$ = +79,5° (10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, CHCl_3).

UV λ_{max} = 205 ; 230 ; 260 ; 267 ; 328 nm.

IR (Film) = 3312 (N-H) ; 2951 ; 1753 (C=O) ; 1652 (C=O) ; 1581 ; 1520 ; 1449 ; 1366 ; 1300 ; 1220 ; 1049 ; 754 cm^{-1} .

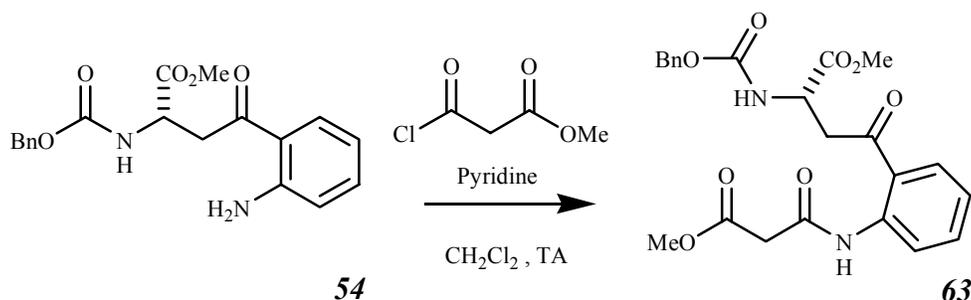
RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 11,43 (s, 1H, CH_3CONH) ; 8,74 (d, 1H, $J_{6'-5'}= 8,0$ Hz, $H-6'$) ; 7,88 (d, 1H, $J_{3'-4'}= 8,0$ Hz, $H-3'$) ; 7,58 (t, 1H, $J= 8,0$ Hz, $H-5'$) ; 7,53 (m, 5H, CH-Ph.) ; 7,12 (t, 1H, $J= 8,0$ Hz, $H-4'$) ; 5,87 (d, 1H, $J= 8,3$ Hz, CONH) ; 5,12 (s, 2H, CH_2 -Bn.) ; 4,77 (m, 1H, CH-2) ; 3,84 (dd, 1H, $J_{3A-2}= 4,1$ Hz, $J_{3A-3B}= 18,2$ Hz, CH_AH_B-3) ; 3,77 (s, 3H, OCH_3) ; 3,63 (dd, 1H, $J_{3B-2}= 4,0$ Hz, $J_{3B-3A}= 18,2$ Hz, CH_AH_B-3) ; 2,22 (CH_3-1'').

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 201,6 (CO-4) ; 171,5* (CO_2CH_3) ; 169,6* (CON-amide) ; 156,0 (CO_2NH) ; 141,3 (C-1') ; 135,9 (C-Ph.) ; 135,7 (C-5') ; 130,8 (C-3') ; 128,5 (CH-Ph.) ; 128,3 (CH-Ph.) ; 128,1 (CH-Ph.) ; 122,4° (C-4') ; 120,8° (C-6') ; 120,6 (C-2') ; 67,2 (CH_2 -Bn.) ; 52,8° (OCH_3) ; 49,9° (CH-2) ; 42,0 (CH_2 -3) ; 25,6 (CH_3-1'').

SM (IE): 398 [M^{++}]; 358; 205, 146.

SMHR (IE); 398,1468 (calc: 398,1478 Δ ppm: -2,5 Δ mDa: -1,0).

2-3-3-3 Malonamide de kynurénine **63** :



A une solution de 820 mg (2,3 mmol ; 1 équiv.) de dérivé du tryptophane **54** dans 20 mL de CH_2Cl_2 soumise à une agitation à température ambiante, sont successivement ajoutés 296 μ L (2,76 mmol ; 1,2 équiv.) et 1 mL (12,6 mmol ; 5,5 équiv.) de pyridine. Après 20 minutes d'agitation à température ambiante, le mélange réactionnel est lavé successivement par 20 mL de bicarbonate de sodium, d'une solution saturée de sulfate de cuivre et d'eau. La phase organique est séchée par $MgSO_4$, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH_2Cl_2) permet d'isoler 912 mg (Rdt = 87%) d'un solide amorphe légèrement jaune.

2-(S)-(Benzyloxycarbonyl)amino-4-((2-(methyl-2-carbamoylacetyl)phényl)-4-oxobutanoate de méthyle.

$C_{23}H_{24}N_2O_8$: MM = 456,4 $g \cdot mol^{-1}$.

pF = 76° C.

$[\alpha_D]$ = +65,8° (10 $g \cdot L^{-1}$, $CHCl_3$).

UV : λ_{max} = 205 ; 230 ; 260 ; 268 ; 328 nm.

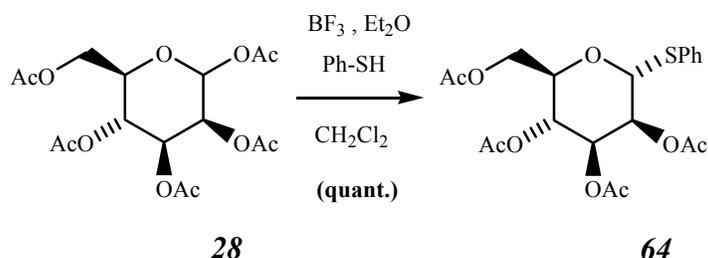
IR (Film) = 3330 (N-H) ; 2951 (N-H) ; 1742 (C=O) ; 1732 (C=O) ; 1661 (C=O) ; 1603 ; 1581 ; 1524 ; 1449 ; 1335 ; 1211 ; 1057 ; 754 cm^{-1} .

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ_{ppm} = 11,67 (s, 1H, CH_3CONH) ; 8,72 (d, 1H, $J_{6'-5'} = 8,0$ Hz, $H-6'$) ; 7,88 (d, 1H, $J_{3'-4'} = 8,0$ Hz, $H-3'$) ; 7,58 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H-5'$) ; 7,53 (m, 5H, $CH-Ph.$) ; 7,16 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H-4'$) ; 5,87 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, CO_2NH) ; 5,12 (s, 2H, $CH_2-Bn.$) ; 4,78 (m, 1H, $CH-2$) ; 3,86-3,60 (m, 7H, CH_2-3 , $CH_2-Mal.$, CO_2CH_3) ; 3,51 (s, 3H, $OCH_3-Mal.$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ_{ppm} = 201,6 ($CO-4$) ; 171,5 (CO_2CH_3-1) ; 167,6 ($CO_2CH_3-Mal.$) ; 164,3 ($CONH-amide$) ; 156,0 (CO_2NH) ; 140,3 ($C-1'$) ; 135,9 ($C-Ph.$) ; 135,6 ($C-5'$) ; 130,7 ($C-3'$) ; 128,5 ($CH-Ph.$) ; 128,2 ($CH-Ph.$) ; 128,1 ($CH-Ph.$) ; 123,1° ($C-4'$) ; 121,5 ($C-2'$) ; 121,2° ($C-6'$) ; 67,2 ($CH_2-Bn.$) ; 52,8⁺ (OCH_3) ; 52,6⁺ (OCH_3) ; 49,9⁺ ($CH-2$) ; 44,8 ($CH_2-Mal.$) ; 42,1 (CH_2-3).

2-3-4- Préparation des homologues du mannose en série benzyle:

2-3-4-1- Phényl-2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyrannoside **64**:



Référence : Charbonnier F. ; Penadés S. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3650-3656.

A une solution de 20,8 g (53,3 mmol ; 1 équiv.) de penta-*O*-acétyl-D-mannopyrannoside **28** dans 200 mL de dichlorométhane, sont successivement additionnés 8,17 mL (80 mmol ; 1,5 équiv.) de thiophénol et 20,7 mL (160 mmol ; 3 équiv.) d'étherate de trifluorure de bore. Après une nuit d'agitation à température ambiante, la solution violette obtenue est lavée successivement par 200 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium puis d'eau. La phase organique est ensuite séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. L'élimination des traces de solvants à la pompe à palettes permet d'obtenir 26,6 g (Rdt quantitatif déterminé par RMN) d'un produit brut utilisable sans autre purification. Il peut toutefois être cristallisé dans le méthanol à température ambiante pour donner des aiguilles incolores.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

Phényl-2,3,4,6-tétra-*O*-acétyl-1-thio- α -D-mannopyrannoside.

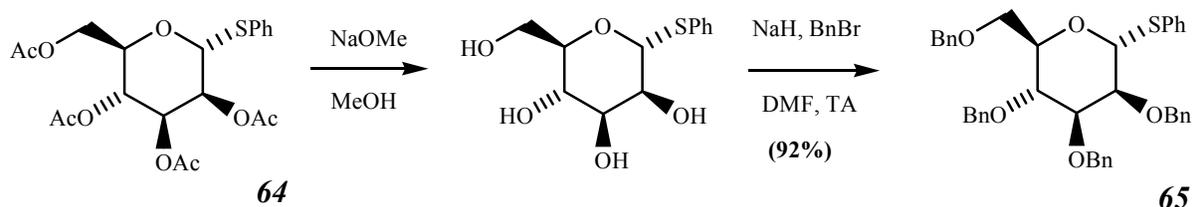
CAS : 108032-93-5.

$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_9\text{S}$: MM = 440,5 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 7,55-7,20 (m, 5H, 5xCH-Ph.) ; 5,50 (m, 2H, $H-1$, $H-3$) ; 5,35 (m, 2H, $H-2$, $H-4$) ; 4,28 (m, 1H, $H-5$) ; 4,31 (dd, 1H, $J_{6A-5} = 5,9$ Hz, $J_{6A-6B} = 12,2$ Hz, CH_AH_B-6) ; 4,11 (dd, 1H, $J_{6B-5} = 2,3$ Hz, $J_{6A-6B} = 12,2$ Hz, CH_AH_B-6) ; 2,16 (s, 3H, CH_3) ; 2,08 (s, 3H, CH_3) ; 2,05 (s, 3H, CH_3) ; 2,02 (s, 3H, CH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 170,3 (CO) ; 169,7 (CO) ; 169,6 (CO) ; 169,6 (CO) ; 132,4 (C-1-Ph.) ; 131,8 (2xCH-Ph.) ; 128,9 (2xCH-Ph.) ; 127,9 (CH-Ph.) ; 85,5 (C-1) ; 71,6* (C-5) ; 70,7* (C-4) ; 70,4* (C-2) ; 66,1* (C-3) ; 62,2 (C-6) ; 20,7 (CH_3) ; 20,5 (2x CH_3) ; 20,4 (CH_3).

**2-3-4-2-Phényl-2,3,4,6-tétra-O-benzyl-1-thio- α -D-mannopyrannoside
65:**



Référence : Charbonnier F. ; Penadés S. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3650-3656.

A une solution de 26,6 g (53,3 mmol ; 1 équiv.) du brut de la réaction précédente (**64**) dans 100 mL de méthanol, sont additionnés 2,61 g (48,3 mmol ; 0,9 équiv.) de méthanolate de sodium dissous dans 50 mL de méthanol. Après une nuit d'agitation à température ambiante, la solution obtenue est neutralisée par addition de résine Amberlite™ H+. Le mélange est filtré et le méthanol est évaporé à sec sous pression réduite. Le résidu est repris par 100 mL de diméthylformamide (DMF) distillé ; la solution qui en résulte est lentement additionnée à 0°C, à une suspension de 15 g (373 mmol ; 7 équiv.) d'hydrure de sodium à 60% dans de l'huile minérale, dans 100 mL de diméthylformamide. Après 2 heures d'agitation à température ambiante, la solution est refroidie à 0°C et 2 g (5,33 mmol, 0,1 équiv.) d'iodure de tétrabutyle ammonium et 31,9 mL (266 mmol ; 5 équiv.) de bromure de benzyle sont successivement ajoutés au mélange réactionnel. Après une nuit sous agitation à température ambiante, du méthanol est ajouté au mélange réactionnel jusqu'à destruction complète de l'excès d'hydrure. La solution est évaporée sous pression réduite pour éliminer au maximum le DMF ; le résidu est repris par 100 mL d'éther puis est lavé par trois fois par 100 mL d'eau. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : éther de pétrole à CH₂Cl₂) permet d'isoler 31 g (Rdt = 92% sur 2 réactions) d'une huile incolore.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

Phényl-2,3,4,6-tétra-O-benzyl-1-thio- α -D-mannopyrannoside.

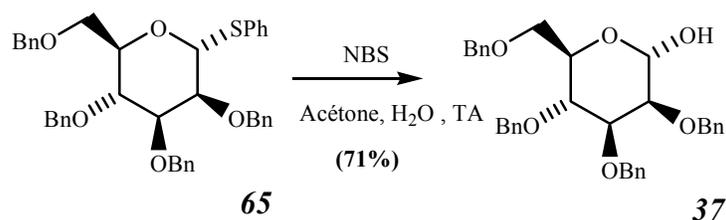
CAS : 116501-53-2.

C₄₀H₄₀O₅S: MM = 632,8 g.mol⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 7,55-7,20 (m, 25H, 25xCH-Ph.) ; 5,62 (d, 1H, J_{1-2} = 1,6 Hz, H-1) ; 4,61 (d, 1H, J = 10,8 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,73 (d, 1H, J = 12,4 Hz, CH_AH_B-Bn.) ; 4,64 (système AB, 2H, 4,66-4,62, J_{gem} = 8,0 Hz CH₂-Bn.) ; 4,60 (s, 2H, CH₂-Bn.) ; 4,53 (d, 1H, J = 10,8 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,48 (d, 1H, J = 12,4 Hz, CH_AH_B-Bn.) ; 4,29 (ddd, 1H, J = 1,9 Hz, J = 4,9 Hz, J = 9,8 Hz, H-5) ; 4,07 (t, 1H, J = 9,8 Hz, H-4) ; 4,00 (dd, 1H, J_{2-1} = 1,6 Hz, J_{2-3} = 3,0 Hz, H-2) ; 3,87 (dd, 1H, J = 3,0 Hz, J = 9,8 Hz, H-3) ; 3,84 (dd, 1H, J_{6A-5} = 4,9 Hz, J_{6A-6B} = 11,0 Hz, CH_AH_B-6) ; 3,75 (dd, 1H, J_{6B-5} = 1,9 Hz, J_{6A-6B} = 11,0 Hz, CH_AH_B-6).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 138,3-137,8 (4C-1-Bn.) ; 132,4 (C-1-Ph.) ; 131,5 (2xCH-Ph.) ; 128,9-127,3 (20xCH-Bn., 3xCH-Ph.) ; 85,7 (C-1) ; 80,1* (C-3) ; 76,1* (C-5) ; 75,2 (CH₂-Bn.) ; 74,9* (C-4) ; 73,2 (CH₂-Bn.) ; 72,7* (C-2) ; 72,0 (CH₂-Bn.) ; 71,8 (CH₂-Bn.) ; 69,1 (C-6).

2-3-4-3- 2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside 37:



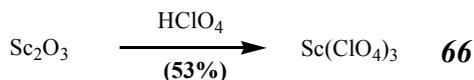
Référence : Charbonnier F. ; Penadés S. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3650-3656.

A une solution de 29,3 g (46,4 mmol ; 1 équiv.) de mannose protégé **63** dans 300 mL d'acétone placée à -25°C à l'abri de la lumière, sont successivement additionnés 9,9 g (55,6 mmol ; 1,2 équiv.) de *N*-bromosuccinimide et 2,75 mL (153 mmol ; 3,3 équiv.) d'eau. Après 3 heures d'agitation à -25°C , le mélange est ramené à température ambiante. Après 45 minutes, 150 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium sont ajoutés à la solution qui est ensuite évaporée sous pression réduite pour éliminer l'acétone. La solution obtenue est extraite par 300 mL d'acétate d'éthyle ; la phase organique est lavée par 300 mL d'eau. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : éther de pétrole à CH_2Cl_2) permet d'isoler 18,8 g (Rdt = 71%) d'une huile incolore.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable en RMN.

2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyrannoside (*vide supra* page 116).

2-3-4-4- Perchlorate de scandium 66:



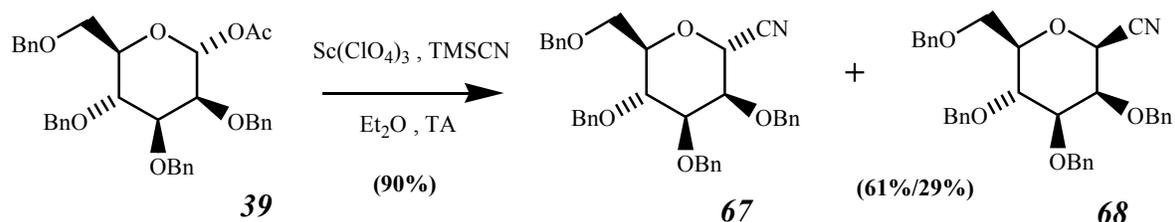
Référence : Hachiya I. ; Kobayashi S. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 3319-3320.

A 3,2 mL d'une solution aqueuse d'acide perchlorique (50%), sont ajoutés 496 mg (3,6 mmol) d'oxyde de scandium. La suspension est chauffée à reflux pendant 4 heures. Après retour à température ambiante, la suspension est filtrée sous vide et le résidu est lavé par 5 mL d'eau déminéralisée. Le filtrat est évaporé sous vide, les cristaux obtenus sont séchés sous vide à 100°C pendant 10 heures puis 130°C pendant 24 heures. Ils sont pulvérisés puis replacés sous vide et séché à 130°C pendant 24 heures. Ce traitement permet d'isoler 1,31 g (Rdt=53%) de cristaux blancs particulièrement hygroscopiques.

Perchlorate de scandium.

$\text{Sc}(\text{ClO}_4)_3$: MM = $343,5 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

2-3-4-5- Cyanure de mannoses benzylés 67 et 68:



A une solution de 5,47 g (9,4 mmol ; 1 équiv.) de mannose protégé **39** dans 60 mL d'éther, sont ajoutés 340 mg (0,99 mmol ; 0,1 équiv.) de perchlorate de scandium préalablement dissous dans 10 mL d'éther. Le mélange réactionnel est maintenu à 0°C et 2,5 mL (18,8 mmol ; 2 équiv.) de cyanure de triméthylsilyle sont additionnés goutte à goutte. Après trois heures sous agitation à température ambiante, la solution est successivement lavée par 60 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium et par de l'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) permet d'isoler 3,17 g (Rdt = 61%) de l'anomère α et 1,5 g (Rdt = 29%) de l'anomère β .

Ratio α/β : 2,1/1 (déterminé par les masses isolées).

2,6-Anhydro-3,4,5,7-tétra-O- benzyl-D-glycéro-D-talo-heptonitrile. **67**

CAS : 188819-43-4.

$\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{NO}_5$: MM = 549,6 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

$[\alpha_D] = +32,5^\circ$ (10 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, CHCl_3).

IR (film) = 3022 ; 2854 ; 1493 ; 1449 ; 1361 ; 1207 ; 1111 ; 1027 ; 736 ; 697 cm^{-1} .

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 7,42\text{-}7,15$ (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 4,86 (d, 1H, $J = 10,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-}4$) ; 4,76 (d, 1H, $J = 2,6$ Hz, $H\text{-}1$) ; 4,66 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn.-}2$) ; 4,63 (système AB, 2H, 4,66-4,60, $J_{\text{gem}} = 11,7$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.-}3$) ; 4,58 (système AB, 2H, 4,64-4,51, $J_{\text{gem}} = 12,2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.-}6$) ; 4,53 (d, 1H, $J = 10,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-}4$) ; 3,99 (t, 1H, $J = 8,9$ Hz, $H\text{-}4$) ; 3,89 (dd, 1H, $J = 2,8$ Hz, $J = 8,9$ Hz, $H\text{-}3$) ; 3,84 (dd, 1H, $J = 2,6$ Hz, $J = 2,8$ Hz, $H\text{-}2$) ; 3,83-3,79 (m, 1H, $H\text{-}5$) ; 3,77 (dd, 1H, $J_{6A-5} = 4,5$ Hz, $J_{6A-6B} = 10,6$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-}6$) ; 3,77 (dd, 1H, $J_{6B-5} = 1,5$ Hz, $J_{6B-6A} = 10,6$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-}6$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 137,9\text{-}136,9$ (4xC-1-Bn.) ; 128,6-127,5 (20xCH-Bn.) ; 115,4 (CN-1a) ; 79,8 (C-3) ; 77,0 (C-5) ; 75,2 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-}4$) ; 74,6 (C-2) ; 73,7 (C-4) ; 73,4 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-}6$) ; 72,8 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-}3$) ; 72,6 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-}2$) ; 68,3 (C-6) ; 65,3 (C-1).

SM (ESI+): 550 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

2,6-Anhydro-3,4,5,7-tétra-O- benzyl-D-glycéro-D-galacto-heptonitrile. **68**

CAS : 188819-44-5.

$\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{NO}_5$: MM = 549,6 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

$[\alpha_D] = -12,8^\circ$ (10 g.L⁻¹, CHCl₃).

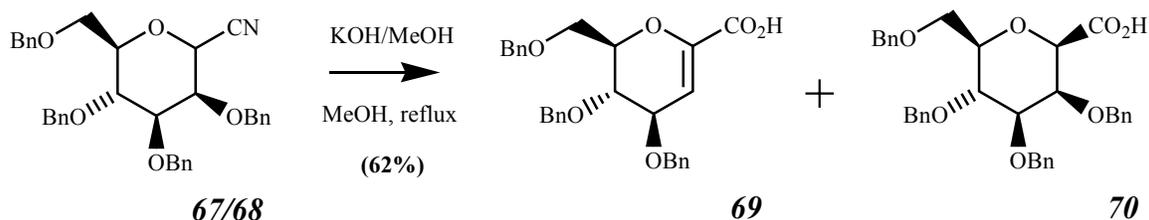
IR (film) = 3022 ; 2854 ; 1493 ; 1449 ; 1361 ; 1207 ; 1111 ; 1027 ; 736 ; 697 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta_{ppm} = 7,42-7,15$ (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 6,22 (d, 1H, $J_{1-2} = 1,7$ Hz, H-1) ; 4,89 (d, 1H, $J = 10,6$ Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,75 (système AB, 2H, 4,79-4,70, $J = 12,4$ Hz, CH₂-Bn.-2) ; 4,65 (d, 1H, $J = 12,1$ Hz, CH_AH_B-Bn.-6) ; 4,57-4,51 (m, 4H, CH₂-Bn.-3, CH_AH_B-Bn.-6, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,08 (t, 1H, $J = 9,4$ Hz, H-4) ; 3,87-3,81 (m, 2H, H-5, H-3) ; 3,78-3,69 (m, 3H, H-2, CH₂-6) ; 2,01 (s, 3H, CH₃-Ac.).

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta_{ppm} = 168,9$ (CO₂) ; 138,1-137,7 (4xC-1-Bn.) ; 128,2-127,2 (20xCH-Bn.) ; 91,7 (C-1) ; 79,0 (C-3) ; 75,2 (CH₂-Bn.-4) ; 74,3 (C-5) ; 74,1 (C-4) ; 73,4 (CH₂-Bn.-6) ; 73,2 (C-2) ; 72,3 (CH₂-Bn.-2) ; 72,0 (CH₂-Bn.-3) ; 68,8 (C-6) ; 21,0 (CH₃).

SM (ESI+): 550 [M+H]⁺.

2-3-4-6- Acides dérivés du mannose benzylés **69** et **70**:



A une solution de 500 mg (0,91 mmol ; 1 équiv.) du mélange de mannose homologué **67** et **68**, dans 8 mL de méthanol, sont ajoutés 4 mL (14,3 mmol ; 16 équiv.) d'une solution méthanolique de KOH (20%). Après 3 heures d'agitation à température ambiante, 50 mL de CH₂Cl₂ sont additionnés au mélange réactionnel. La solution obtenue est lavée successivement par 50 mL d'une solution aqueuse d'HCl (1N), de saumure et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : de CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH (2%)) permet d'isoler 350 mg d'un mélange de deux acides. Une chromatographie liquide haute performance permet de les séparer :

Appareillage : - P680 HPLCPump DIONEX[®]. (pompe)

- ASI-100 DIONEX[®]. (injecteur)

- UVD 70 U DIONEX[®]. (détecteur)

Logiciel : - Chromeleon[®].

Colonne : - THERMO[®], Hypersil HS, C-18, 150-10 mm ; 5 μ m.

Éluant : Isocratique : eau/acétonitrile/méthanol (35/55/10).

Temps de rétention en minute :

6,75 - Acide tri-*O*-benzylé **69**: 60 mg de (Rdt= 14%) de cristaux blancs.

11,3 - Acide tétra-*O*-benzylé **70**: 250 mg (Rdt= 48%) d'une incolore.

Acide 4,5,7-tri-*O*-benzyl-2,6-anhydro-3-déoxy-D-glycero-D-galacto-hept-2-énonique. **69**

C₂₈H₂₈O₆: MM = 460,5 g.mol⁻¹.

UV: $\lambda_{max} = 209$; 239 nm.

IR (film) = 3022 ; 2863 ; 1718 (C=O) ; 1643 ; 1449 ; 1251 ; 1203 ; 1101 ; 736 ; 696 cm⁻¹.

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 7,32\text{-}7,20$ (m, 15H, $15\times\text{CH-Bn.}$) ; 6,21 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz, $H\text{-}2$) ; 4,81 (d, 1H, $J = 11,3$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$ -4) ; 4,66 (système AB, 2H, 4,69-4,63, $J_{\text{gem}} = 11,7$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.}$ -3) ; 4,62-4,53 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-Bn.}$ -6, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$ -4) ; 4,28 (dd, 1H, $J_{3-2} = 3,0$ Hz, $J_{3-4} = 6,0$ Hz, $H\text{-}3$) ; 4,20 (m, 1H, $H\text{-}5$) ; 3,91 (dd, 1H, $J_{4-3} = 6,0$ Hz, $J_{4-5} = 7,7$ Hz, $H\text{-}4$) ; 3,82 (d, 2H, $J = 3,8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-}6$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 165,2$ (CO_2H) ; 143,2 ($\text{C-}1$) ; 137,7-137,6 ($3\times\text{C-}1\text{-Bn.}$) ; 128,5-127,7 ($15\times\text{CH-Bn.}$) ; 109,9 ($\text{C-}2$) ; 77,8 ($\text{C-}5$) ; 75,2 ($\text{C-}3$) ; 73,8* ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 73,4* ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$ -6) ; 73,4 ($\text{C-}4$) ; 71,1* ($\text{CH}_2\text{-Bn}$) ; 67,7 ($\text{C-}6$).

SM (ESI-): 459 $[\text{M-H}]^-$.

Acide 3,4,5,7-tétra-*O*-benzyl-2,6-anhydro-D-glycéro-D-galacto-hepturonique **70**.
(Acide *C*-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- β -D-mannopyranosyl)formique).

Ratio α/β : L'anomère α n'est pas détectable par RMN.

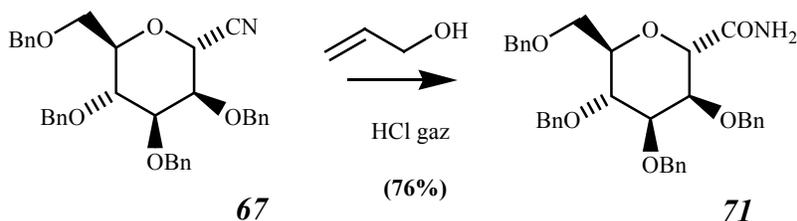
$\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{O}_5$: MM = 568,7 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 9,35$ (sl, 1H, CO_2H) ; 7,36-7,13 (m, 20H, $20\times\text{CH-Bn.}$) ; 4,89 (d, 1H, $J = 10,9$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$ -2) ; 4,88 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$ -4) ; 4,70 (système AB, 2H, 4,75-4,65, $J_{\text{gem}} = 10,7$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.}$ -3) ; 4,65 (d, 1H, $J = 10,9$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$ -2) ; 4,49 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.}$ -4) ; 4,47 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn.}$ -6) ; 4,38 (d, 1H, $J = 1,3$ Hz, $H\text{-}2$) ; 4,04 (s, 1H, $H\text{-}1$) ; 3,89 (t, 1H, $J = 9,4$ Hz, $H\text{-}4$) ; 3,72-3,70 (dd, 1H, $J = 2,3$ Hz, $J = 11,0$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-}6$) ; 3,68-3,62 (m, 1H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-}6$, $H\text{-}3$) ; 3,52-3,47 (m, 1H, $H\text{-}5$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 170,2$ (CO_2H) ; 137,9-136,9 ($4\times\text{C-}1\text{-Bn.}$) ; 128,5-127,0 ($20\times\text{CH-Bn.}$) ; 83,3 ($\text{C-}3$) ; 78,4 ($\text{C-}5$) ; 77,2 ($\text{C-}1$) ; 75,3 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$ -4) ; 75,0 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$ -2) ; 74,9 ($\text{C-}2$) ; 73,9 ($\text{C-}4$) ; 73,3 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$ -6) ; 72,1 ($\text{CH}_2\text{-Bn.}$ -3) ; 68,7 ($\text{C-}6$).

SM (ESI-): 567 $[\text{M-H}]^-$.

2-3-4-7- Amide dérivé du mannose benzylés **71**:



Une solution de 300 mg (0,546 mmol ; 1 équiv.) de mannose homologué **67** dans 10 mL d'alcool allylique maintenue à 0°C, est traversée par un courant de HCl gazeux jusqu'à saturation. Après 5 heures d'agitation à température ambiante, 50 mL de CH_2Cl_2 sont ajoutés au mélange qui est alors lavé successivement par 100 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium puis 50 mL d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée et évaporée sous pression réduite.

Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH₂Cl₂ à CH₂Cl₂/MeOH (5%)) permet d'isoler 235 mg (Rdt = 76%) d'une huile incolore.

3,4,5,7-tétra-*O*-benzyl-2,6-anhydro-D-glycero-D-talo-hepturonamide.

(*C*-(2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyranosyl)formamide).

Ratio α/β : L'anomère β n'est pas détectable par RMN.

C₃₅H₃₇NO₆: MM = 567,7 g.mol⁻¹.

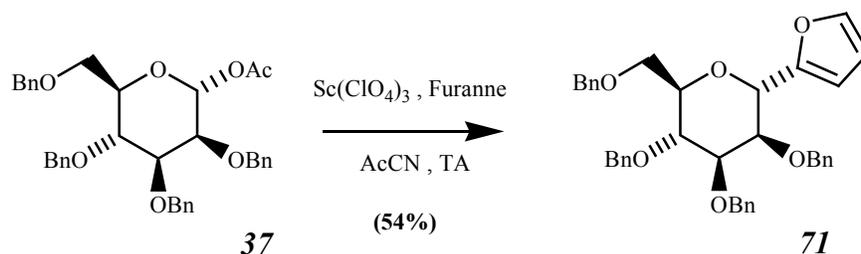
IR (film)= 3462 (N-H) ; 3321 (N-H) ; 3030 ; 2916 ; 2863 ; 1687 (C=O) ; 1586 ; 1493 ; 1449 ; 1361 ; 1088 ; 741 ; 696 cm⁻¹.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 7,37-7,14 (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 6,54 (s, 1H, NH_AH_B) ; 5,49 (s, 1H, NH_AH_B) ; 4,85 (d, 1H, J = 11,0 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 4,72 (s, 2H, CH₂-Bn.-2) ; 4,60 (système AB, 2H, 4,65-4,55, J_{gem} = 12 Hz, CH₂-Bn.-3) ; 4,55 (s, 2H, CH₂-Bn.-6) ; 4,54-4,52 (m, 2H, H-1, H-2) ; 4,47 (d, 1H, J = 11,0 Hz, CH_AH_B-Bn.-4) ; 3,82 (t, 1H, J = 9,0 Hz, H-4) ; 3,78-3,59 (m, 4H, CH₂-6, H-5, H-3).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 171,5 (CONH₂) ; 138,1-138,0 (C-1-Bn.) ; 128,4-127,6 (CH-Bn.) ; 80,4 (C-3) ; 76,6 (C-5) ; 75,8 (C-1) ; 74,9 (CH₂-Bn.-4) ; 74,0 (C-4) ; 73,4 (CH₂-Bn.-6) ; 73,3 (C-2) ; 72,5 (CH₂-Bn.-2) ; 71,8 (CH₂-Bn.-3) ; 67,7 (C-6).

SM (ESI+): 568 [M+H]⁺.

2-3-4-8-*C*-Furannyl-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside 72:



A une solution de 1 g (1,72 mmol ; 1 équiv.) de mannose protégé **37** dans 15 mL d'acétonitrile sous atmosphère d'argon, sont successivement ajoutés 3 g de tamis moléculaires activés 4 Å et 1,26 mL (17,2 mmol ; 10 équiv.) de furanne. Après 1 heure d'agitation à température ambiante, 59 mg (0,17 mmol ; 0,1 équiv.) de perchlorate de scandium sont additionnés au mélange réactionnel. La solution est laissée à la même température pendant 3 heures, puis 50 mL de CH₂Cl₂ y sont ajoutés. Le mélange réactionnel est ensuite filtré sur Célite[®] puis lavé successivement par 50 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO₄, filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH₂Cl₂) permet d'isoler 546 mg (Rdt = 54%) d'une huile incolore.

Ratio α/β : l'anomère β n'est pas détectable par RMN.

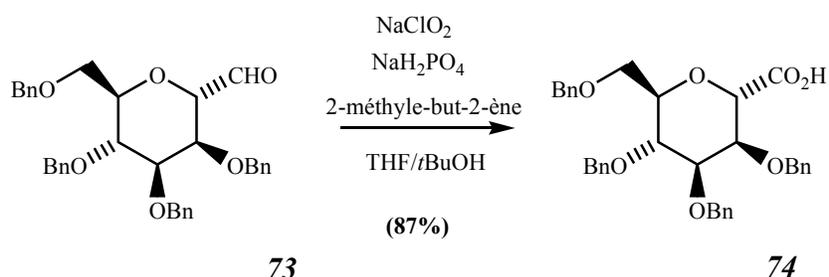
1-(2-*C*-Furannyl)-2,3,4,6-tétra-*O*-benzyl- α -D-mannopyranoside.

CAS : 114925-97-2.

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 9,81$ (s, 1H, CHO) ; 7,36-7,15 (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 4,82 (d, 1H, $J = 10,5$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4}$) ; 4,67 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn.-2}$) ; 4,61 (système AB, 2H, 4,64-4,57, $J_{\text{gem}} = 12$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.-6}$) ; 4,56 (système AB, 2H, 4,59-4,53, $J_{\text{gem}} = 12$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.-3}$) ; 4,50 (d, 1H, $J = 10,5$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4}$) ; 4,40 (d, 1H, $J_{1-2} = 3,4$ Hz, H-1) ; 4,21 (dd, 1H, $J_{2-1} = 3,4$ Hz, $J_{2-3} = 3,0$ Hz, H-2) ; 3,93 (t, 1H, $J = 8,5$ Hz, H-4) ; 3,79-3,71 (m, 3H, $\text{CH}_2\text{-6}$, H-5) ; 3,46 (dd, 1H, $J_{3-2} = 3,0$ Hz, $J_{3-4} = 8,5$ Hz, H-3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 202,5$ (COH) ; 138,0-137,6 (4xC-1-Bn.) ; 129,0-127,6 (20xCH-Bn.) ; 79,9 (C-1) ; 79,7 (C-3) ; 77,2 (C-5) ; 74,8 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-4}$) ; 73,9 (C-4) ; 73,4 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-6}$) ; 72,5 (C-2) ; 72,1* ($\text{CH}_2\text{-Bn.-2}$) ; 72,0* ($\text{CH}_2\text{-Bn.-3}$) ; 69,2 (C-6).

**2-3-4-10-Acide C-(tétra-O-benzyl- α -D-mannopyranoside)-formique
74:**



A une solution de 100 mg (0,18 mmol ; 1 équiv.) de mannose homologué **73** dans 4 mL d'un mélange de tétrahydrofuranne (THF) et *tert*-butanol (1/3), sont successivement ajoutés 0,45 mL (0,9 mmol ; 5 équiv.) de 2-méthylbut-2-ène en solution dans le THF (2M), 70 mg (0,72 mmol ; 4 équiv.) du chlorite de sodium et 124 mg (0,9 mmol ; 5 équiv.) de dihydrogénophosphate de sodium monohydraté ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) préalablement dissout dans 1 mL d'eau. Après une heure d'agitation à température ambiante, 30 mL de solution aqueuse saturée de NaH_2PO_4 , sont ajoutés au mélange réactionnel qui est alors extrait par 3 fois par 20 mL d'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée et évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : de cyclohexane/acétate d'éthyle 8/2) permet d'isoler 90 mg (Rdt=87%) d'une huile incolore.

Acide 3,4,5,7-tétra-O-benzyl-2,6-anhydro-D-glycéro-D-talo-hepturonique **74**.
(Acide C-(2,3,4,6-tétra-O-benzyl- α -D-mannopyranosyl)formique).

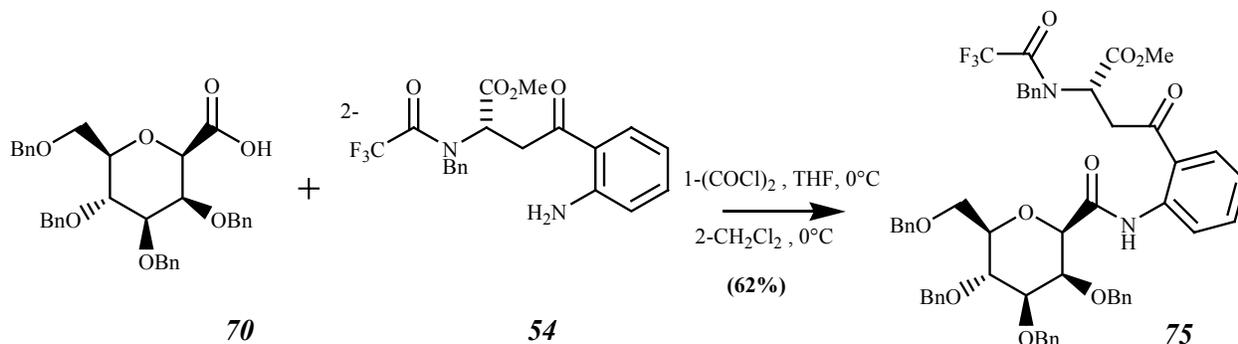
Ratio α/β : L'anomère β n'est pas détectable par RMN.
 $\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{O}_5$: MM = 568,7 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 7,43$ -7,10 (m, 20H, 20xCH-Bn.) ; 4,85 (d, 1H, $J = 11$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4}$) ; 4,69 (système AB, 2H, 4,72-4,66, $J_{\text{gem}} = 10,7$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.-2}$) ; 4,63 (m, 2H, H-1, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-6}$) ; 4,53 (d, 2H, $J = 2,6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.-3}$) ; 4,53 (d, 1H, $J = 12$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-6}$) ; 4,49 (d, 1H, $J = 11$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4}$) ; 4,47 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn.-6}$) ; 4,27 (t, 1H, $J_{2-3} = 2,6$ Hz, H-2) ; 3,89 (m, 2H, H-4, H-5) ; 3,74 (d, 2H, $J = 3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-6}$) ; 3,59 (dd, 1H, $J_{3-2} = 2,6$ Hz, $J_{3-4} = 8,2$ Hz, H-3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 173,5$ (CO_2H) ; 137,9-137,0 ($4\times\text{C-1-Bn.}$) ; 128,4-127,6 ($20\times\text{CH-Bn.}$) ; 80,1 (C-3) ; 76,0 (C-5) ; 75,0 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-4}$) ; 74,0 (C-1) ; 73,9 (C-4) ; 73,8 (C-2) ; 73,2 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-6}$) ; 72,1 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-2}$) ; 71,8 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-3}$) ; 69,2 (C-6).

SM (ESI-): 567 [M-H] $^-$.

2-3-5- Couplage des mannoses homologués aux kynurénines: 2-3-5-1- Dérivé 75 :



A une solution de 386 mg (0,68 mmol ; 1 équiv.) d'acide **70** dans 4 mL de tétrahydrofurane distillé placée à 0°C, sont successivement ajoutés 50 μL de diméthylformamide et 88 μL (1,02 mmol ; 1,5 équiv.) de chlorure d'oxalyle. Après 30 minutes d'agitation à 0°C, le mélange est évaporé sous pression réduite jusqu'à consistance huileuse ; il est alors repris par 2 mL de CH_2Cl_2 distillé. Le mélange obtenu est additionné goutte à goutte à une solution de 305 mg (0,75 mmol ; 1,1 équiv.) d'aniline **54** refroidie à 0°C et 105 μL (0,75 mmol ; 1,1 équiv.) de triéthylamine dissous dans 2 mL de CH_2Cl_2 . Après 1 heure d'agitation à température ambiante, la solution est lavée par successivement 20 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium, d'HCl (1N), puis d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) suivie d'une cristallisation dans le méthanol permet d'isoler 403 mg (Rdt = 62%) de cristaux blancs.

Ratio α/β (déterminé par RMN): l'anomère α n'est pas détectable par RMN.

(S)-Méthyl 2-(N-benzyl-2,2,2-trifluoro-acétamido)-4-(2-(3,4,5,7-tétra-O-benzyl-2,6-anhydro-) D-glycéro-D-galacto-heptonamidophényl)-4-oxobutanoate.

$\text{C}_{55}\text{H}_{53}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_{10}$: MM = 959,0 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

pF = 63-64° C.

UV λ_{max} = 210 ; 236 ; 259 ; 328 nm.

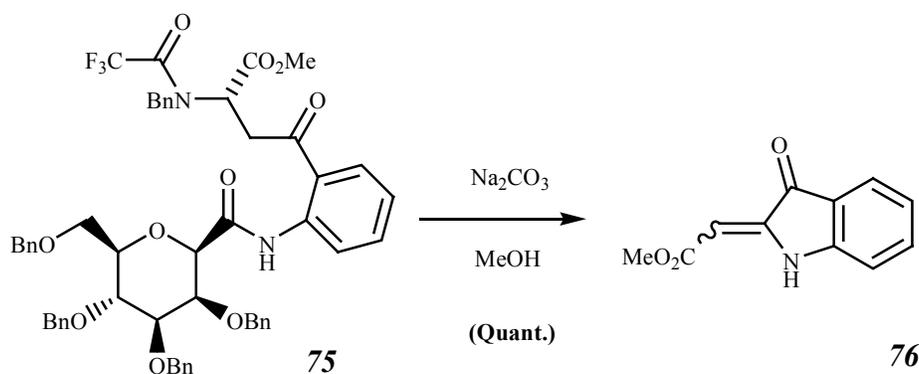
RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 11,99$ (s, 1H, Man.-CONH) ; 8,74 (d, 1H, $J_{6'-5'} = 8,0$ Hz, $H-6'$) ; 7,82 (d, 1H, $J_{3'-4'} = 8,0$ Hz, $H-3'$) ; 7,59 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H-5'$) ; 7,38-7,02 (m, 26H, $H-4'$, 25xCH-Bn.) ; 4,89 (d, 1H, $J = 10,9$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4''}$) ; 4,86 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-2''}$) ; 4,73 (système AB, 2H, 4,78-4,68, $J = 11,3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.-3''}$) ; 4,66 (s, 2H, N- $\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 4,60 (système

AB, 2H, 4,66-4,53, $J = 11,9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.-6''}$); 4,59 (d, 1H, $J = 10,9$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4''}$); 4,59 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-2''}$); 4,53 (m, 2H, $H\text{-2, } H\text{-2''}$); 4,04 (dd, 1H, $J_{3A-2} = 6,4$ Hz, $J_{3A-3B} = 18,1$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-3}$); 4,04 (m, 1H, $H\text{-1''}$); 4,04 (t, 1H, $J = 9,5$ Hz, $H\text{-4''}$); 3,96 (dd, 1H, $J_{6A''-5''} = 4,9$ Hz, $J_{6A''-6B''} = 10,6$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-6''}$); 3,87 (d, 1H, $J_{6B''-6A''} = 10,6$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-6''}$); 3,72 (dd, 1H, $J_{3''-2''} = 2,6$ Hz, $J_{3''-4''} = 9,5$ Hz, $H\text{-3''}$); 3,61 (dd, 1H, $J = 4,2$ Hz, $J = 9,5$ Hz, $H\text{-5''}$); 3,51 (s, 3H, OCH_3); 3,16 (dd, 1H, $J_{3A-2} = 5,9$ Hz, $J_{3A-3B} = 18,1$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-3}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 199,1$ (CO-4); 168,7* (CO_2CH_3); 168,5 (CON-1''a); 157,0 (COCF_3); 139,5 (C-1'); 138,4-138,0 ($4\times\text{C-1-Bn.}$); 135,0 (C-5'); 133,5 (C-1-Bn.); 130,6 (C-3'); 128,8-127,2 ($25\times\text{CH-Bn.}$); 123,0 (C-4'); 122,2 (C-2'); 121,2 (C-6'); 116,1 (COCF_3 , $J = 285$ Hz); 83,7 (C-3''); 79,6 (C-5''); 78,7 (C-2''); 75,4 (C-1''); 75,3 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-4''}$); 74,9 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-2''}$); 74,5 (C-4''); 73,5 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-6''}$); 71,9 ($\text{CH}_2\text{-Bn.-3''}$); 69,8 (C-6''); 56,3 (C-2); 52,7 ($\text{NCH}_2\text{-Bn.}$); 52,7 (OCH_3); 39,3 ($\text{CH}_2\text{-3}$).

SM (ESI+) = 959 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

**2-3-5-2- 1,3-dihydro-3-oxo-2H-indol-2-ylidene acétate de méthyle
76 :**



A une solution de 50 mg (0,052 mmol ; 1 équiv.) de l'amide **75** dans 1 mL de méthanol, sont ajoutés 11 mg (0,1 mmol ; 2 équiv.) de carbonate de sodium anhydre. Après 1 heure d'agitation à reflux, 10 mL d'éther sont ajoutés au mélange réactionnel et la solution est successivement lavée par 10 mL de HCl (1N) et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle 8/2) permet d'isoler 10 mg (Rdt = quantitatif) d'une huile légèrement jaune.

1,3-dihydro-3-oxo-2H-indol-2-ylidène acétate de méthyle

CAS : 23847-80-5

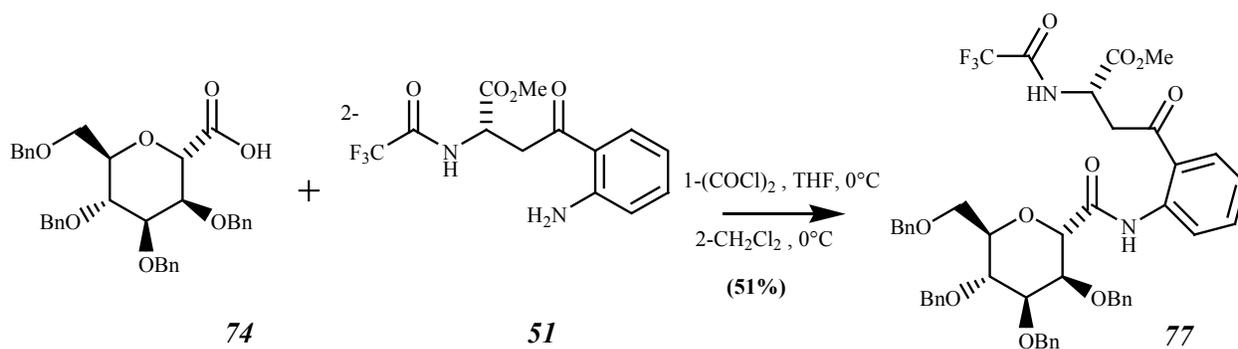
$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NO}_3$: MM = 203,2 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

UV λ_{max} = 201 ; 230 ; 269 ; 464 nm.

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,83$ (s, 1H, NH); 7,67 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H\text{-4}$); 7,49 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H\text{-6}$); 6,98 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H\text{-5}$); 6,92 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, $H\text{-7}$); 5,86 (s, 1H, CHCO_2); 3,81 (s, 3H, OCH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 185,5 (CO) ; 169,2 (CO_2CH_3) ; 155,6* (C-7a) ; 145,8* (C-2) ; 137,4 (C-6) ; 125,5 (C-4) ; 124,6 (C-5) ; 120,2 (C-3'a) ; 111,6 (C-7) ; 118,1 (C-4') ; 92,6 (CHCO_2) ; 52,1 (OCH_3).

2-3-5-3- Dérivé 77:



A une solution de 780 mg (1,37 mmol ; 1 équiv.) d'acide **74** dans 10 mL de tétrahydrofurane distillé maintenue à 0°C, sont successivement ajoutés 50 μL de diméthylformamide et 177 μL (2,06 mmol ; 1,5 équiv.) de chlorure d'oxalyde. Après 30 minutes d'agitation à 0°C, le mélange est évaporé sous pression réduite jusqu'à consistance huileuse ; il est alors repris par 4 mL de CH_2Cl_2 distillé. Le mélange obtenu est additionné goutte à goutte, à 0°C, à une solution de 436 mg (1,37 mmol ; 1 équiv.) d'aniline **51** et 192 μL (1,37 mmol ; 1 équiv.) de triéthylamine dissout dans 4 mL de CH_2Cl_2 . Après 1 heure d'agitation à température ambiante, la solution est lavée par successivement 20 mL d'une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium, d'HCl (1N), puis d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (9/1)) permet d'isoler 606 mg (Rdt = 51%) de cristaux légèrement jaunes.

Ratio α/β (déterminé par RMN): l'anomère β n'est pas détectable par RMN.

(S)-Méthyl 2-(2,2,2-trifluoro-acétamido)-4-(2-(3,4,5,7-tétra-O-benzyl-2,6-anhydro)-D-glycero-D-talo-heptonamidophényl)-4-oxobutanoate.

$\text{C}_{55}\text{H}_{53}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_{10}$: MM = 959,0 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

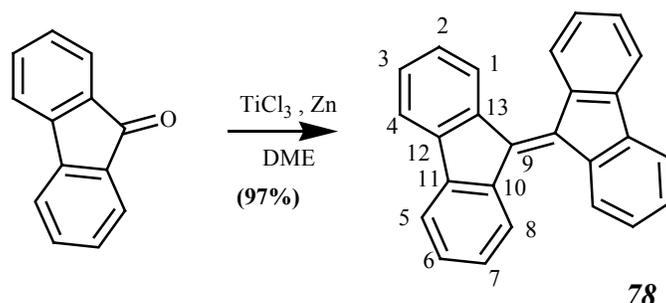
RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 12,2 (s, 1H, Man.-CONH) ; 8,74 (d, 1H, $J_{6'-5'} = 8,3$ Hz, H-6') ; 7,86 (d, 1H, $J_{3'-4'} = 7,6$ Hz, H-3') ; 7,59 (t, 1H, $J = 8,3$ Hz, H-5') ; 7,38-7,02 (m, 21H, H-4', 20xCH-Bn.) ; 4,91 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-6''}$) ; 4,88 (d, 1H, $J = 10,6$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4''}$) ; 4,85 (m, 1H, H-2), 4,77 (s, 3H, H-1'', $\text{CH}_2\text{-Bn.-2''}$) ; 4,67 (m, 1H, H-2'') ; 4,60 (système AB, 2H, 4,65-4,55, $J = 11,3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.-3''}$) ; 4,59 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-6''}$) ; 4,48 (d, 1H, $J = 10,9$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4''}$) ; 4,32 (t, 1H ; $J = 9,5$ Hz, H-4'') ; 3,93 (système AB, 2H, 3,98-3,89, $J = 10,2$ Hz, $\text{CH}_2\text{-6''}$) ; 3,86 (dd, 1H, $J_{3A-2} = 4,2$ Hz, $J_{3A-3B} = 13,5$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-3}$) ; 3,66 (dd, 1H, $J_{3B-2} = 3,7$ Hz, $J_{3B-3A} = 13,5$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-3}$) ; 3,61 (m, 2H, H-5'', H-3'') ; 3,59 (s, 3H, OCH_3).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ_{ppm} = 200,7 (CO-4) ; 169,4* (CO_2CH_3) ; 168,9 (CON-1''a) ; 156,9 (COCF_3 , $J = 37,5$ Hz) ; 140,1 (C-1') ; 138,3-138,1 (4xC-1-Bn.) ; 136,1 (C-5') ; 130,9 (C-3') ; 128,2-127,5

(20xCH-Bn.) ; 125,1 (C-4') ; 120,8 (C-2') ; 120,7 (C-6') ; 115,5 (COCF₃, *J*= 285 Hz) ; 83,6 (C-3'') ; 76,9 (C-1'') ; 76,4 (C-5'') ; 75,1 (CH₂-Bn.-4'') ; 73,6 (CH₂-Bn.-6'') ; 72,9 (C-4'', C-2'') ; 72,1 (CH₂-Bn.-2'') ; 71,5 (CH₂-Bn.-3'') ; 68,2 (C-6'') ; 53,0 (OCH₃) ; 48,4 (C-2) ; 40,7 (CH₂-3).

2-3-6- Réactions de type McMurry:

2-3-6-1- Bis(flourénylidène) 78 :



A une suspension de 308 mg (2 mmol ; 2 équiv.) de trichlorure de titane et 327 mg (5 mmol ; 5 équiv.) de zinc en poudre fine dans 20 mL de diméthoxyéthane (DME), sont ajoutés 639 μL (5 mmol ; 5 équiv.) de chlorure de triméthylsilyle. Le mélange réactionnel est placé à reflux sous agitation. Après quelques minutes, la solution devient bleue. Sont alors ajoutés 180 mg (1 mmol ; 1 équiv.) de fluorénone dissous dans 2 mL de DME. Après 3 heures de reflux, la suspension est filtrée sur silice ; celle-ci est ensuite lavée par 100 mL d'éther. L'évaporation des phases organiques rassemblées, sous pression réduite, permet d'isoler 318 mg (Rdt = 97%) de cristaux oranges.

9,9'-Bis(flourénylidène).

CAS : 746-47-4.

C₂₆H₁₆: MM = 328,1 g.mol⁻¹.

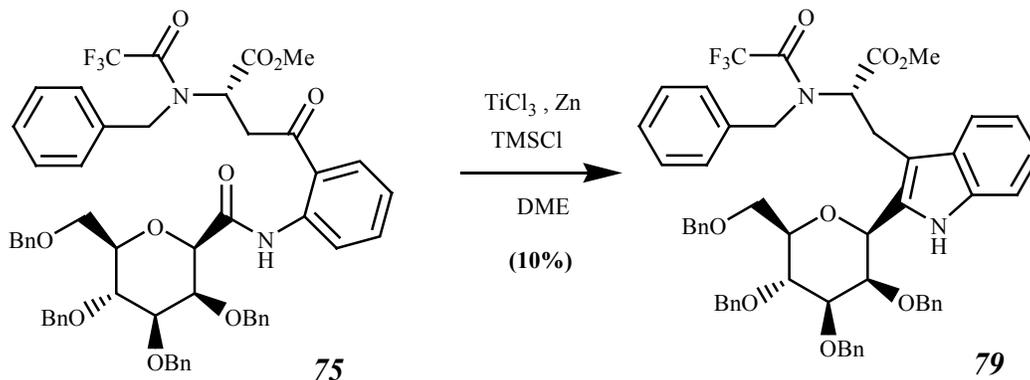
UV : λ_{max} = 207 ; 242 ; 256 ; 269 ; 303 ; 454 nm.

RMN ¹H (CDCl₃) : δ_{ppm} = 8,37 (d, 4H, *J*= 7,6 Hz, 2xH-4, 2xH-5) ; 7,69 (d, 4H, *J*= 7,6 Hz, 2xH-4, 2xH-5) ; 7,32 (t, 4H, *J*= 7,6 Hz, 2xH-3, 2xH-6) ; 7,20 (t, 4H, *J*= 7,6 Hz, 2xH-1, 2xH-8).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ_{ppm} = 141,2 (2xC-11, 2xC-12) ; 140,9 (2xC-9) ; 138,2 (2xC-10, 2xC-13) ; 129,1 (2xC-3, 2xC-6) ; 126,8 (2xC-2, 2xC-7) ; 126,7 (2xC-1, 2xC-8) ; 119,8 (2xC-4, 2xC-5).

SM (IE): 328 [M⁺] (85) ; 165 (60) ; 149 (100).

SMHR (IE) : 328,1223 (calc= 328,1252 ; Δ mDa= -2,9 ; Δ ppm = -8,8).

2-3-6-2- β -C-2-mannosyltryptophane protégé **79** :

A une solution de 62 mg (0,4 mmol ; 2 équiv.) de trichlorure de titane, 66 mg (1 mmol ; 5 équiv.) de poudre de zinc dans le diméthoxyéthane (DME) maintenue sous atmosphère inerte sont additionnés 130 μL (1 mmol ; 5 équiv.) de chlorure de triméthylsilyle. La suspension est placée à reflux jusqu'à l'apparition d'une coloration bleue ; 192 mg de l'aniline **75** dissous dans 2 mL de diméthoxyéthane sont alors ajoutés au mélange. Après 24 heures d'agitation à reflux, 260 μL (2 mmol ; 10 équiv) de chlorure de triméthylsilyle sont additionnés au mélange. Après 2 heures, le mélange réactionnel est filtré sur silice, cette dernière est ensuite lavée par de l'éther. La solution est successivement lavée par 30 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : CH_2Cl_2) permet d'isoler 18 mg (Rdt = 10%) d'une huile légèrement jaune.

Ratio α/β (déterminé par RMN): l'anomère α n'est pas détectable par RMN.

2-(S)-2-(N-Benzyl-2,2,2-trifluoro-acétamido)-3-(2-(3,4,5,7-tétra-O-benzyl- β -D-manopyranosyl)-1H-indol-3yl)-4-propanoate de méthyle.

N-(Benzyl-2,2,2-trifluoro-acétamido)-2-(3,4,5,7-tétra-O-benzyl- β -D-manopyranosyl) tryptophanate de méthyle.

$\text{C}_{55}\text{H}_{53}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_8$: MM = 927,0 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

UV λ_{max} = 228 ; 230 ; 284 ; 292 nm.

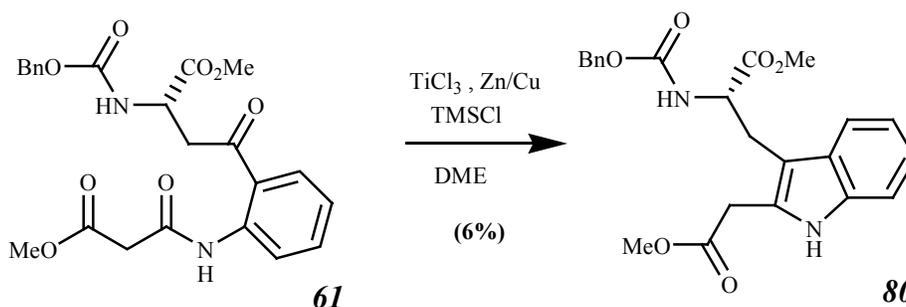
RMN ^1H (CDCl_3) : δ_{ppm} = 8,86 (s, 1H, NH-ind.) ; 7,36-6,85 (m, 29H, 4xCH-ind., 25xCH-Bn.) ; 4,95 (d, 1H, $J = 10,9$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4''}$) ; 4,75 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Bn.-3''}$) ; 4,72 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 11,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-2''}$) ; 4,68 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 11,5$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-6''}$) ; 4,64 (d, 1H, $J = 0,8$ Hz, H-1'') ; 4,63 (d, 1H, $J = 10,9$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-4''}$) ; 4,53 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 15,9$ Hz, N- $\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; 4,51 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 11,5$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-6''}$) ; 4,19 (t, 1H, $J = 9,3$ Hz, H-4'') ; 4,14 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-Bn.-2''}$) ; 4,13 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-2) ; 3,92 (m, 1H, H-2'') ; 3,88 (m, 1H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-6''}$) ; 3,84 (dd, 1H, $J_{3''\cdot 2''} = 3,0$ Hz, $J_{3''\cdot 4''} = 9,3$ Hz, H-3'') ; 3,72 (dd, 1H, $J_{6\text{B}''\cdot 5''} = 1,6$ Hz, $J_{6\text{B}''\cdot 6\text{A}''} = 10,6$ Hz, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-6''}$) ; 3,65 (s, 3H, OCH_3) ; 3,47 (m, 1H, $\text{CH}_A\text{H}_B\text{-3}$) ; 3,42 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 15,9$ Hz, N- $\text{CH}_2\text{-Bn.}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 169,2$ (CO_2CH_3) ; $156,8$ (COCF_3 $J= 36,5$ Hz) ; $138,4$ - $138,0$ ($4\times\text{C-1-Bn.}$) ; $135,3^*$ ($\text{C-7}'\text{a}$) ; $133,8$ (C-1-Bn.) ; $133,1^*$ ($\text{C-2}'$) ; $128,8$ - $127,5$ ($20\times\text{CH-Bn.}$) ; $126,7$ ($\text{C-3}'\text{a}$) ; $122,2^\circ$ ($\text{C-6}'$) ; $119,3^\circ$ ($\text{C-5}'$) ; $118,1$ ($\text{C-4}'$) ; $114,3$ (COCF_3) ; $11,4$ ($\text{C-7}'$) ; $105,7$ ($\text{C-3}'$) ; $84,5$ ($\text{C-3}''$) ; $79,5$ ($\text{C-5}''$) ; $77,6$ ($\text{C-2}''$) ; $75,2$ ($\text{CH}_2\text{-Bn.-4}''$) ; $74,9$ ($\text{CH}_2\text{-Bn.-2}''$) ; $74,4$ ($\text{C-4}''$) ; $73,4$ ($\text{CH}_2\text{-Bn.-6}''$) ; $72,5$ ($\text{CH}_2\text{-Bn.-3}''$) ; $72,3$ ($\text{C-1}''$) ; $69,1$ ($\text{C-6}''$) ; $59,7$ (C-2) ; $53,2$ ($\text{NCH}_2\text{-Bn.}$) ; $52,4$ (OCH_3) ; $23,0$ ($\text{CH}_2\text{-3}$).

SM (ESI+) = $927,4$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, $949,4$ [$\text{M}+\text{Na}$] $^+$, $965,4$ [$\text{M}+\text{K}$] $^+$,

SMHR (ESI+) = $927,3815$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$ (calc= $927,3832$ $\Delta\text{mDa} = -1,8$; $\Delta\text{ppm} = -1,9$)

2-3-6-3- Préparation de **80** :



A une solution de 31 mg (0,2 mmol ; 0,66 équiv.) de trichlorure de titane, 33 mg (0,5 mmol ; 1,66 équiv.) de poudre de couple zinc/cuivre dans 5 mL de diméthoxyéthane (DME) sous atmosphère inerte sont additionnés 65 μL (0,5 mmol ; 1,66 équiv.) de chlorure de triméthylsilyle. La suspension est placée à reflux jusqu'à l'apparition d'une coloration bleue ; 130 mg (0,3 mmol ; 1 équiv.) de l'aniline **61** dissous dans 2 mL de DME sont alors ajoutés au mélange. Après 30 minutes d'agitation à reflux, le mélange réactionnel est filtré sur silice, cette dernière est ensuite lavée par de l'éther. La solution obtenue est successivement lavée par 10 mL d'une solution saturée de bicarbonate de sodium et d'eau. La phase organique est séchée par MgSO_4 , filtrée puis évaporée sous pression réduite. Une chromatographie sur colonne de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle (8/2)) permet d'isoler 7 mg (Rdt = 6%) d'une huile incolore.

2-(S)-2-(*N*-Benzyloxycarbonylamino)-3-(2-(methoxycarbonyl)méthyl)-1*H*-indol-3yl)-4-propanoate de méthyle.

N-(Benzyloxycarbonylamino)-2-(acétate de méthyle) tryptophanate de méthyle

$\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$: MM = $424,4$ $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 8,61$ (s, 1H, *NH*-ind.) ; $7,47$ (d, 1H, $J_{4-5} = 7,8$ Hz, *H-4'*-ind.) ; $7,37$ - $7,26$ (m, 6H, *H-7'*-ind., $5\times\text{CH-Bn.}$) ; $7,16$ (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, *H-6'*-ind.) ; $7,07$ (t, 1H, $J = 7,8$ Hz, *H-5'*-ind.) ; $5,46$ (dl, 1H, $J = 8$ Hz, CONH) ; $5,09$ (système AB, 2H, $5,12$ - $5,07$, $J_{\text{gem}} = 12$ Hz, $\text{CH}_2\text{-Bn.}$) ; $4,69$ (m, 1H, *CH-2*) ; $3,73$ (s, 3H, OCH_3) ; $3,66$ (m, 5H, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$) ; $3,26$ (d, 2H, $J = 5,7$ Hz, CH_2).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta_{\text{ppm}} = 172,2$ et $170,9$ ($2\times\text{CO}_2\text{Me}$) ; $155,6$ (CONH) ; $136,2$ (*C-1-Ph.*) ; $135,6$ (*C-7'a*-ind.) ; $128,8$; $128,3$; $127,9$ ($5\times\text{CH-Ph.}$) ; $128,3$ (*C-3'a*-ind.) ; $122,2$ (*C-6'*-ind.) ; $119,7$ (*C-*

5'-ind.) ; 118,4 (C-4'-ind.) ; 110,8 (C-7'-ind.) ; 107,4 (C-3'-ind.) ; 66,9 (CH₂-Bn.) ; 54,4 (CH-2) ; 52,2 (OCH₃) ; 31,5 (CH₂CO₂Me) ; 27,7 (CH₂-3).

BIBLIOGRAPHIE

1. HORNEBECK W, EMONARD H, MONBOISSE JC, BELLON G.
Matrix-directed regulation of pericellular proteolysis and tumor progression.
Semin Cancer Bio 2002; 12: 231-241.
2. FOLKMAN J.
Tumor angiogenesis: therapeutic implications.
N. Engl. J. Med. 1971; 285: 1182-1186.
3. ROCHE®
Antikörpertherapie [Consulté le 19/02/2006]
Disponible à partir de : URL :
<http://www.roche.de/pharma/indikation/onkologie/darmkrebs/therapie/antikoerpertherapie/index.html?sid=acd9e86b2e99c796b697f6b7194ad8c6>
4. ROY R, ZHANG B, MOSES MA.
Making the cut : Protease-mediated regulation of angiogenesis.
Exp Cell Res 2006; 312: 608-622.
5. HUANG Z, BAO SD.
Roles of main pro- and anti-angiogenic factors in tumor angiogenesis.
World J Gastroenterol 2004; 10: 463-470.
6. CONWAY EM, COLLEN D, CARMELIET P.
Molecular mechanisms of blood vessel growth.
Cardiovasc Res 2001; 49: 507-521.
7. FERRARA N, GERBER HP, LECOUTER J.
The biology of VEGF and its receptors.
Nat Med 2003; 6: 669-676.
8. KROLL J, WALTENBERG J.
The vascular endothelial growth factor receptor KDR activates multiple signal transduction pathways in porcine aortic endothelial cells.
J Biol Chem 1997; 272: 32521-32527.
9. PEPPER MS.
Angiogenèse et morphogenèse de l'arbre vasculaire : de la biologie cellulaire à la clinique.
Med Sci (Paris) 2000; 16: 1378-1386.
10. LAWLER J.
Thrombospondin-1 as an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth.
J Cell Mol Med 2002; 6: 1-12.
11. DE FAIRPONT F, NICHOLSON AC, FEIGE JJ, VAN MEIR EG.
Thrombospondines and tumor angiogenesis.
Trends Mol Med 2001; 7: 401-407.
12. ARMSTRONG LC, BORNSTEIN P.
Thrombospondins 1 and 2 function as inhibitors of angiogenesis.
Matrix Biol 2003; 22: 63-71.

13. REN B, YEE KO, LAWLER J, KHOSRAVI-FAR R.
Regulation of tumor angiogenesis by thrombospondin-1.
Biochim Biophys Acta- Rev Cancer 2006; 1765: 178-188.
14. TUCKER RP.
The thrombospondin type 1 repeat superfamily.
Int J Biochem Cell Bio 2004; 36: 969-974.
15. YOUNG GD, MURPHY-ULLRICH JE.
The tryptophan-rich motifs of the thrombospondin type 1 repeats bind VLAL motifs in the latent transforming growth factor-beta complex.
J Biol Chem 2004; 279: 47633-47642.
16. BEIN K. ; SIMONS M.
Thrombospondin Type 1 Repeats Interact with Matrix Metalloproteinase 2.
J Bio Chem 2000; 275: 32167-32173.
17. GUPTA K, GUPTA P, WILD R, RAMAKRISHNAN S, HEBBEL RP.
Binding and displacement of vascular growth factor (VEGF) by thrombospondin: effect on human microvascular endothelial cell proliferation and angiogenesis.
Angiogenesis 1999; 3: 147-158.
18. HOFSTEENGE J, HUWILER KG, MACEK B, HESS D, LAWLER J, MOSHER DF, *et al.*
C-Mannosylation and O-Fucosylation of the thrombospondin Type 1 Module.
J Biol Chem 2001; 276: 6485-6498.
19. DOUCEY MA, HESS D, CACAN R, HOFSTEENGE J.
Protein C-Mannosylation is enzyme-catalysed and uses dolichyl-phosphate-mannose as a precursor.
Mol Bio Cell 1998; 9: 291-300.
20. MILKIEWICZ M, ISPANOVIC E, DOYLE JL, HAAS TL.
Regulators of angiogenesis and strategies for their therapeutic manipulation.
Int J Biochem Cell Bio 2006; 38: 333-357.
21. LEGROS L, PAGES G.
Anti-angiogenic properties of imatinib mesylate.
Hematol 2004; 6: 464-467.
22. National Cancer Institute.
Clinical trials [Consulté le 26/02/2006]
Disponible à partir de : URL :
<http://www.cancer.gov/clinicaltrials>
23. HOEKSTRA R, DE VOS FYFL, ESKENS FALM, DE VRIES EGE, UGES DRA, KNIGHT R. *et al.*
Phase I study of the thrombospondin-1-mimetic angiogenesis inhibitor ABT-510 with 5-fluorouracil and leucovorin :
A safe combination.
Eur J Cancer 2006 ; 42 : 467-472.
24. HAVIV F, BRADLEY MF, KALVIN DM, SCHNEIDER AJ, DAVIDSON DJ, MAJEST SM, *et al.*
Thrombospondin-1 Mimetic Peptide Inhibitors of Angiogenesis and Tumor Growth: Design, Synthesis, and Optimization of Pharmacokinetics and Biological Activities.
J Med Chem 2005; 48: 2838-2846.

25. ALTIKA.
Disponible à partir de : URL : [Consulté le 26/02/2006]
<http://www.altika.com/services/IP/GIG%20Patents/pdf/deigin.pdf>
26. Business Wire.
Cytran Announces Preliminary Results of Phase III KS Trial [Consulté le 28/02/2006]
Disponible à partir de : URL :
<http://www.aegis.com/news/bw/2001/BW010806.html>
27. DEPLANQUE G, MADHUSUDAN S, JONE PH, WELLMANN S, CHRISTODOULOS K, TALBOT DC, *et al.*
Phase II trial of the antiangiogenic agent IM862 in metastatic renal cell carcinoma.
Br J Cancer 2004; 91: 1645-1650.
28. MOROZOV VG, KHAVINSON VKH.
Natural peptides as therapeutics for immune dysfunction.
Int J Immunopharmac 1997; 19: 501-505.
29. DEIGIN VI, POVERENNY AM, SEMINA OV, SEMENETS TN.
Reciprocal effect of optical isomerism of EW-dipeptides on immune response.
Immunol Lett 1999; 67: 41-46.
30. FERRARIO A, VON TIEHL KF, RUCKER N, SCHWARZ MA, GILL PS, GOMER CJ.
Antiangiogenic Treatment Enhances Photodynamic Therapy Responsiveness in a mouse Mammary Carcinoma.
Cancer Res 2000; 60: 4066-4069.
31. TULPULE A, SCADDEN DT, ESPINA B, CABRIALES S, HOWARD W, SHEA K, *et al.*
Results of a Randomized Study of IM862 Nasal Solution in the Traitement of AIDS-Related Kaposi's Sarcoma. *J Clin Oncol* 2000 ; 18 : 716-724.
32. NOY A, SCADDEN DT, LEE J, DEZUBE BJ, ABOULAFIA D, TULPULE A, *et al.*
Angiogenesis Inhibitor IM862 Is Ineffective Against AIDS-Kaposi's Sarcoma in a Phase III trial, but Demonstrates Sustained, Potent Effect of Highly Active Antiretroviral Therapy: From the AIDS Malignancy Consortium and IM862 Study Team.
J Clin Oncol 2004; 23: 990-998.
33. JEANNIN L, NAGY T, VASSILEVA E, SAPI J, LARONZE JY.
A general Preparation of β -substitued Tryptophan Esters.
Tetrahedron Lett 1995; 36: 2057-2058.
34. NEMES C, JEANNIN L, SAPI J, LARONZE M, SEGHIR H, AUGÉ F, *et al.*
A convenient Synthesis of conformationally Constrained β -substitued Tryptophans.
Tetrahedron 2000; 56: 5479-5492.
35. JEANNIN Laurent.
Préparation de dérivés non naturels du Tryptophane. Utilisation dans la préparation de 1-oxo-1,2,3,4-tétrahydro- β -carbolines et de dérivés peptidiques actifs sur les récepteurs de la cholécystokinine.
Thèse 3 Cycle : Pharm : Reims : 1996; 209.
36. KUNISHIMA M, KAWACHI C, MORITA J, TERAOKA K, IWASAKI F, TANI S.
4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methyl-morpholinium Chloride: An Efficient Condensing Agent Leading to the Formation of Amides and Esters.
Tetrahedron 1999; 55: 13159-13170.
37. PEKARY AE, SATTIN A, MEYERHOFF JL, CILINGAR M.
Valproates modulates TRH receptor, TRH and TRH-like peptide levels in rat brain.
Peptides 2004; 25: 647-658.

38. TYLER-MCMAHON BM, BOULES M, RICHELSON R.
Neurotensin : peptide of the next millennium.
Regul Pept 2000; 93: 125-136.
39. SCHILLING S, HOFFMANN T, MANHART S, HOFFMANN M, DEMUTH HU.
Glutaminyl cyclases unfold glutamyl cyclase activity under mild acidic conditions.
FEBS Lett 2004; 563: 191-196.
40. ROBINET Arnaud.
Régulation de l'expression et/ou de l'activation de la gélatinase A par deux peptides issus de la thrombospondine et de l'élastine : implication dans l'invasion tumorale et l'angiogenèse.
Thèse 3 cycle : Med : Reims : 2003 ; 208.
41. VAIHLHE B, VITTET D, FEIGE JJ.
In vitro models of vasculogenesis and angiogenesis.
Lab Invest 2001; 81: 439-452.
42. FUSTER MM, ESKO JD.
The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets.
Nature Rev Cancer 2005; 5: 526-542.
43. SPIRO RG.
Protein glycosylation : nature, distribution, enzymatic formation, and disease implications of glycopeptide bonds.
Glycobiology 2002; 12: 43R-56R.
44. SHAROM FJ, LEHTO MT.
Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins: structure, function, and cleavage by phosphatidylinositol-specific phospholipase C.
Biochem Cell Bio 2002; 80: 535-549.
45. HOFSTEENGE J, MÜLLER DR, DE BEER T, LÖFFLER A, RICHTER WJ, Vliegenthart J.
New type of linkage between a carbohydrate and a protein: C-glycosylation of a specific tryptophan residue in human RNase Us.
Biochem 1994; 33: 13524-13530.
46. DE BEER T, Vliegenthart J, LÖFFLER A, HOFSTEENGE J.
The hexopyranosyl residue that is C-glycosidically linked to the side chain of tryptophan-7 in human RNase Us is α -mannopyranose.
Biochem 1995; 34: 11785-11789.
47. GARCIA A, LENIS LA, JIMENEZ C, DEBITUS C, QUIÑO A E, RIGUERA R.
The Occurrence of the Human Glycoconjugate C2- α -D-Mannopyranosyl-L- tryptophan in Marine Ascidians. Org Lett 2000; 18: 2765-2767.
48. ADAMS JC, TUCKER RP.
The thrombospondin Type 1 repeats (TSR) Superfamily: Diverse Proteins With Related Roles in Neuronal Development.
Dev Dyn 2000; 218: 280-299.
49. FURMANEK A, HOFSTEENGE J.
Protein C-mannosylation : Facts and questions.
Acta Biochim Pol 2000; 3: 781-789.
50. HOFSTEENGE J, HUWILERS KG, MACEK B, HESS D, LAWLER J, MOSHERS DF, *et al.*
C-Mannosylation and O-Fucosylation of the Thrombospondin Type 1 Module.
J Biol Chem 2001; 276: 6485-6498.

51. JASPARD E.

La glycosylation [Consulté le 4/04/2006]

Disponible à partir de : URL :

<http://ead.univ-angers.fr/~jaspard/Page2/COURS/7RelStructFonction/2Biochimie/2ModifPOSTraduc/8Glycosylation/1Glycosylation.htm>

52. KRIEG J, HARTMANN S, VICENTINI A, GLÄSNER W, HESS D, HOFSTEENGE J.

Recognition signal for C-Mannosylation of Trp-7 in RNase Consists of Sequence Trp-X-X-Trp.

Mol Biol Cell 1998; 9: 301-309.

53. NISHIKAWA T, KAJII S, SATO C, YASUKAWA Z, KITAJIMA K, ISOBE M.

α -C-2-Mannosyltryptophan is not recognized by conventional mannose-binding lectins.

Bioorg Med Chem 2004; 12: 2343-2348.

54. IHARA Y, MANABE S, KANDA M, KAWANO H, NAKAYAMA T, SEKINE I, *et al.*

Increased expression of protein C-mannosylation in the aortic vessels of diabetic Zucker rats.

Glycobiology 2005;15: 383-392.

55. NISHIKAWA T, ISHIKAWA M, ISOBE M.

Synthesis of a α -C-Mannosyltryptophan Derivative, Naturally Occurring C-glycosyl Amino Acid Found in Human Ribonuclease.

Synlett 1999; 123-125.

56. NISHIKAWA T, ISHIKAWA M, WADA K, ISOBE M.

Total Synthesis of a α -C-Mannosyltryptophan, a Naturally Occurring C-glycosyl Amino Acid.

Synlett 2001; SI: 945-947.

57. KATO S, HARADA H, MORIE T.

Efficient synthesis of (6R)-6-amino-1-methyl-4-(3-methylbenzyl)-hexahydro-1H-1,4-diazepine from methyl (2R)- and (2S)-1-benzyloxycarbonylaziridine-2-carboxylates.

J Chem Soc Pekin Trans 1 1997; 3219-3225.

58. NISHIKAWA T, KOIDE Y, KAJII S, ISHIKAWA M, ISOBE M.

Stereocontrolled syntheses of a α -C-Mannosyltryptophan and its analogues.

Org Biomol Chem 2005; 3: 687-700.

59. MANABE S, ITO Y.

Total Synthesis of Novel Subclass of Glyco-amino Acid Structure Motif: C²- α -D-C-Mannosylpyranosyl-L-tryptophan.

J Am Chem Soc 1999; 121: 9754-9755.

60. MANABE S, MARUI Y, ITO Y.

Total Synthesis of Mannosyl Tryptophan and Its Derivatives.

Chem Eur J 2003; 9: 1435-1447.

61. MORONI F.

Tryptophan metabolism and brain function: focus on kynurénine and other indole metabolites.

Eur J Pharmacol 1999; 375: 87-100.

62. LAROCK RC.

Palladium-catalysed annulation.

J Organomet Chem 1999; 576: 111-124.

63. NISHIKAWA T, WADA K, ISOBE M.
Synthesis of Novel α -C-Glycosylamino Acids and reverse Regioselectivity in Larock's Heteroannulation for the Synthesis of the Indole Nucleus.
Biosci Biotechnol Biochem 2002; 66: 2273-2278.
64. LAROCK RC, YUM EK, REFIK MD.
Synthesis of 2,3-disubstituted indole via palladium-catalysed annulation of internal alkynes.
J Org Chem 1998; 63: 7652-7662.
65. MYERS RW, LEE YC.
Improved preparations of some per-O-acetylated aldohexopyranosyl cyanides.
Carbohydr Res 1986; 154: 145-163.
66. MCDEVITT P, LANSBURY PTJ.
Glycosamino Acids: New Building Blocks for Combinatorial Synthesis.
J Am Chem Soc 1996; 118: 3818-3828.
67. TOLSTIKOV GA, MUSTAFIN GA, YGHIBAEVA GK, GATAULLIN RR, SPIRIKLIN LV, SULTANOVA VS, *et al.*
N- and C-Glycosylation of 6,7-Difluoro-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline Carboxylic Acid Ethyl Ester.
Mendeleev Com 1993; 3: 194.
68. TAKESHI K, SAYAKO G, YUMIKO M, MASAYUKI S, ITO K, SATOH S.
Bis C-Glycosylated Diphenylmethanes for stable Glycopeptide Mimetics.
Synlett 1999; 737-740
69. YIM AM, VIDAL Y, VIALLEFONT P, MARTINEZ J.
Diastereoselective radical addition to dehydroalanine derivatives of pantolactone.
Tetrahedron Asymmetry 2002; 13: 503-510.
70. BACIOCCHI E, MURAGLIA E, SLEITER G.
Homolytic Substitution Reactions of Electron-Rich Pentatomic Heteroatoms by Electrophilic Carbon-Centered Radicals. Synthesis of α -Heteroarylacetic Acids.
J Org Chem 1992; 57: 6817-6820.
71. KETCHA DM, LIEURANCE BA, HOMAN DFJ, GRIBBLE GW.
Synthesis of Alkyl-Substituted N-Protected Indoles via Acylation and Reductive Deoxygenation.
J Org Chem 1989; 54: 4350-4356.
72. ZHANG X, LI X, LANTER JC, SUI Z.
Silicon-Directed Oxa-Pictet-Spengler Cyclization and an Unusual Dimerization of 2-Trimethylsilyl Tryptophols.
Org Lett 2005; 7: 2043-2046.
73. TOLSTIKOV GA, PROKHOROVA NA, SPIVAK AY, KHALILOV LM, SULTANMURATOVA VR.
Synthesis of C-glucoopyranosides on the basis of the reaction of organoaluminium compounds with a 2,3,4,6-tetra-O-benzyl- α -D-Glucoopyranoside.
J Org Chem USSR 1991; 27: 1858-1863.
74. MACDONALD SJF, HUIZINGA WB, MCKENZIE TC.
Retention of Configuration in the Coupling of Aluminated Heterocycles with Glycopyranosyl Fluorides.
J Org Chem 1988; 53: 3371-3373.
75. BILILIGN T, GRIFFITH BR, THORSON JS.
Structure, activity, synthesis and biosynthesis of aryl-C-glycosides.
Nat Prod Rep 2005; 22: 742-760.

76. GUTCHE B, GRUN C, SCHEUTZOW D, HERDERICH M.
Tryptophan glycoconjugate in food and human urine.
Biochem J 1999; 343: 11-19.
77. DWORKIN JP, MILLER SL.
A kinetic estimate of the free aldehyde content of aldoses.
Carbohydr Res 2000; 329: 359-365.
78. SIWICKA A, WOJTASIEWICZ K, ROSIEK B, LENIEWSKI A, MAURIN JK, CZARNOCKI Z.
Diastereodivergent synthesis of 2,5-diketopiperazine derivatives of β -carboline and isoquinoline from L-amino acids.
Tetrahedron Asymmetry 2005; 16: 975-993.
79. PONGLUX D, WONGSERIPATANA S, SUDHADHIRASAKUI S, TAKAYAMA H, YOKOTA M, OGATA K, *et al.*
Studies on the indole alkaloids of Gelsemium Elegans (Thailand): Structure elucidation and proposal of biogenetic route.
Tetrahedron 1988; 44: 5075-5094.
80. KAPIL RS, BROWN RT.
Monoterpene alkaloid glycosides.
In: The Alkaloids Vol. XVII.
Ed. Manske R. H. F.
New-York : Academic Press, Inc ; 1979 : 545-588.
81. TAYLOR WL.
The Iboga and Voacanga alkaloids.
In: The Alkaloids Vol.VIII.
Ed. Manske R. H. F.
New-York : Academic Press, Inc ; 1965 : 203-235.
82. FLEMING I, HARLEY-MASON J.
A synthesis of 2-Alkyltryptamine and of 3,4-Dihydro- β -carboline.
J Chem Soc C 1966; (4): 425.
83. CHRZANOWSKA M, ROZWADOWSKA MD.
Asymmetric Synthesis of Isoquinoline Alkaloids.
Chem Rev 2004; 104: 3341-3370.
84. CHARLET-FAGNÈRE C, JIANG WQ, LARONZE JY.
Syntheses of Large-Ring Bis-Indolic Dilactams.
Tetrahedron Lett 1999; 40: 1685-1688.
85. TAKAYAMA H, TOMINAGA Y, KITAJIMA M, AIMI N, SAKAI SI.
First Synthesis of the Novel Gelsemium Alkaloids, Gelselegine, Gelsenicine, and Gelsedine, Using a Biomimetic Approach.
J Org Chem 1994; 59: 4381-4385.
86. RÖNNER B, LERCHE H, BERGMÜLLER W, FREILLINGER C, SEVERIN T, PIESCHETRIEDER M.
Formation of Tetrahydro- β -carbolines and β -Carbolines during the Reaction of L-Tryptophan with D-Glucose.
J Agric Food Chem 2000; 48: 2111-2116.
87. HOU Y, WU X, XIE W, BRAUNSCHWEIGER PG, WANG PG.
The synthesis and cytotoxicity of fructose-1-SNAP, a novel fructose conjugated S-nitroso nitric oxide donor.
Tetrahedron Lett 2001; 42: 825-829.

88. LOPEZ MG, GRUENWEDEL DW.
Synthesis of aromatic Amadori compounds.
Carbohydr Res 1991; 212: 37-45.
89. WILLARD NP, DORLAND E, PANDIT UK.
Pyridindolol analogues. Synthesis of 3-hydroxy-methyl-1-(polyhydroxyalkyl)- β -carbolines.
Heterocycles 1987; 26: 1549-1553.
90. MARYANOFF BE, NORTEY SO, INNERS RR, CAMPBELL SA, REITZ AB.
Synthesis of C-arabinofuranosyl Coumpounds. Phosphonate and carbohydrate isosteres of D-arabinose 1,5-bis-phosphate.
Carbohydr Res 1987; 171: 259-278.
91. FRANKOWSKI A, DEREDAS D, DUBOST E, GESSIER F, JANKOWSKI S, NEUBURGER M, *et al.*
Stereocontrolled synthesis of imidazolo[1,5]hexopiperidinoses and imidazol-4(5)-yl-C-glycosides. Tetrahedron 2003; 59: 6503-6520.
92. SIGAUT F, DIDIERDEFRESSE B, LÉVY J.
Indole as a Tool in Synthesis. Algorithmic Construction of a Family of Compounds with all Ring Sizes Ranging from 10 to 16.
Tetrahedron 2000; 56: 9641-9646.
93. FÜRSTNER A, JUMBAM DN.
Titanium-Induced Syntheses of Furans, Benzofurans and Indoles.
Tetrahedron 1992; 48: 5991-6010.
94. FÜRSTNER A, HUPPERTS A, PTOCK A, JANSSEN E.
"Site Selective" Formation of Low-Valent titanium Reagents: An "Instant" Procedure for the Reductive Coupling of Oxo Amides to Indoles.
J Org Chem 1994; 59: 5215-5229.
95. FÜRSTNER A, HUPPERTS A.
Carbonyl Coupling Reactions Catalytic in Titanium and the Use of Commercial Titanium Powder for Organic Synthesis.
J Am Chem Soc 1995; 117: 4468-4475.
96. GELLERMAN G, RUDI A, KASHMAN Y.
The Biomimetic Synthesis of Marine Alkaloid Related Pyrido- and Pyrrolo[2,3,4-k]acridines.
Tetrahedron 1994; 50: 12959-12972.
97. BAILEY PS.
Ozonation in organic chemistry, Volume II, Nonolefinic Compounds.
New-York : Academic Press, Inc ; 1982 : 155-200.
98. KINI GD, PETRIE CR, HENNEN WJ, DALLEY NK, WILSON BE, ROBINS RK.
Improved and large-scale synthesis of certain glycosyl cyanides. Synthesis of 2,5-anhydro-5-thio-D-allonitrile.
Carbohydr Res 1987; 159: 81-94.
99. WONG CH, MORIS-VARAS F, HUNG SC, MARRON TG, LIN CC, GONG KW, *et al.*
Small Molecules as Structural and functional Mimics of sialyl Lewis X Tetrasaccharide in Selectin Inhibition: A remarkable Enhancement of Inhibition by Additional Negative Charge and/or Hydrophobic Group.
J Am Chem Soc 1997; 119: 8152-8158.

100. WONG CH, HUNG SC.
Samarium Diiodide Mediated Coupling of Glycosyl Phosphates with Carbon Radical or Anion Acceptors- Synthesis of C-Glycosides.
Angew Chem Int Ed Engl 1996; 35: 2671-2674.
101. MYERS RW, LEE YC.
Synthesis of diazomethyl β -D-galactopyranosyl and β -D-glucopyranosyl ketones. Potential affinity-labeling reagents for carbohydrate-binding proteins.
Carbohydr Res 1986; 152: 143-158.
102. LICHTENTHALER FW, KLOTZ J, NAKAMURA K.
(-)-Daucic acid: Proof of D-lyxo configuration, synthesis of its D-ribo, D-xylo, L-arabino and L-lyxo analogs, and biosynthetic implications.
Tetrahedron Asymmetry 2003; 14: 3973-3986.
103. DUUS JØ, GOTFREDSEN CH, BOCK K.
Carbohydrate Structural Determination by NMR Spectroscopy: Modern Methods and Limitations.
Chem Rev 2000; 100: 4589-4614.
104. LARONZE M, BOISBRUN M, LÉONCE S, PFEIFFER B, RENARD P, LOZACH O, *et al.*
Synthesis and anticancer activity of new pyrrolocarbazoles and pyrrolo-b-carbolines.
Bioorg Med Chem 2005; 13: 2263-2283.
105. MCMURRY JE, RICO JG.
Synthesis of 1,2-cycloalkanediols by intramolecular titanium-induced pinacol coupling.
Tetrahedron Lett 1989; 30: 1169-1172.
106. CHARBONNIER F, PENADÈS S.
A Straightforward Synthesis of 1-Adamantylmethyl Glycosides, and Their Binding to Cyclodextrins.
Eur J Org Chem 2004; 3650-3656.
107. HACHIYA I, KOBAYASHI S.
Scandium (III) Perchlorate ($\text{Sc}(\text{ClO}_4)_3$). A novel Catalyst in the α -C- and N-Glycosylation Reactions. Tetrahedron Lett 1994; 35: 3319-3320.
108. MÉROUR JY, CHICHEREAU L, DESARBRE E, GADONNEIX P.
Synthesis and Reactivity of (3-Oxo-2,3-dihydro-1H-ylidene)acetic Acid Alkyl Esters in Diels-Alder Reactions. Synthesis 1996; 519-524
109. MANDREFINI S, VERTUANI S, PAVAN B, VITALI F, SCAGLIANTI M, BORTOLOTTI F, *et al.*
Design, synthesis and in vitro evaluation on HRPE cells of ascorbic and 6-bromoascorbic acid conjugates with neuroactive molecules.
Bioorg Med Chem 2004; 12: 5453-5463.
110. MALAPEL-ANDRIEU B, MÉROUR JY.
Réactions of ([Trifluorométhyl]sulfonyl]oxy)-1H-indole Derivatives With Diamines and Carbon nucleophiles. Synthesis of 6H-Indolo[2,3-b]quinoxaline Dérivatives.
Tetrahedron 1998; 54: 11095-11110.
111. HERMES AR, GIROLAMI GS, ANDERSEN RA.
An active form of titanium(III) chloride.
Inorg Synth 1998; 32: 309-310.

112. GOKO N, UEHARA Y.

Process for preparing solid titanium trichloride useful for the polymerization of an α -olefin.

Mitsubishi Chemical Industries, Ltd.

USA

Brevet, 1985, 4,534,953.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
L'ANGIOGENESE ET SON CONTROLE.....	4
1- L'angiogenèse :.....	5
1-1- Généralités :.....	5
1-2- Mécanisme de l'angiogenèse :.....	5
2- Contrôle de l'angiogenèse :.....	9
2-1- Les VEGF et VEGFR (récepteurs) :.....	10
2-2- Les thrombospondines (TSP) :.....	11
2-3- L'angiogenèse comme cible thérapeutique :.....	13
2-3-1- Anti-VEGF ou antagonistes des VEGF-R :.....	13
2-3-2- Inhibiteur de l'angiogenèse basé sur la thrombospondine.....	16
3- Conclusions.....	16
SYNTHESES D'ANALOGUES DE L'IM862.....	17
1- Historique de l'IM862 :.....	18
2- Mécanisme d'action de l'IM862 :.....	19
3- Synthèse d'analogues de l'IM862:.....	20
3-1- Synthèse de l'IM862 :.....	20
3-2- Synthèses d'analogues portant des tryptophanes β -substitués :.....	22
3-3- Analogue pyroglutamique :.....	23
4- Tests biologiques :.....	24
4-1- Matériel et méthode :.....	25
4-2- Résultats :.....	25
5- Conclusion :.....	26
α-C-2-MANNOPYRANNOsyl-TRYPTOPHANE	27
1- Introduction :.....	28
2- Synthèses du α-C-2-mannopyrannosyle tryptophane :.....	31
2-1- Synthèses publiées dans la littérature :.....	31
2-1-1- Travaux de Minoru Isobe :.....	31
2-1-2- Travaux de Yukishige Ito :.....	33
2-2- Objectifs :.....	35
2-3- Voie de synthèse de type Larock :.....	36
2-4- La voie directe :.....	37
2-5- Voie de la réaction de Pictet-Spengler :.....	45
2-5-1 Réactions biogénétiques possibles aboutissant à la glycosylation du tryptophane :46	
2-5-2- Synthèses effectuées dans le cadre de la voie du type Pictet-Spengler :.....	51
2-6- Voie des kynurénines ; utilisation de réactions titano-catalysées de type McMurry : ..	58
2-6-1- Préparation de la kynurénine :.....	62
2-6-2- Préparation de l'homologue du mannose en série acétyle:.....	64

2-6-3- Essais préliminaires de couplage et de réaction de McMurry en série mannosyle peracétylé :	68
2-6-4- Préparation de l'homologue du mannose en série benzyle:	70
2-6-5- Couplage des mannoses benzylés aux kynurénines :	73
2-6-6- Cyclisation par réaction de type McMurry :	75
3- Conclusions :	77
PARTIE EXPERIMENTALE	80
1-Synthèse de l'IM862 et de ces analogues :	85
1-1- Synthèse de l'IM862 :	85
1-1-1- Synthèse du tryptophanate de <i>tert</i> -butyle 5 :	85
1-1-1-1- <i>N</i> -Benzyloxycarbonyl-L-tryptophane 3:	85
1-1-1-2- <i>N</i> -Benzyloxycarbonyl-L-tryptophanoate de <i>tert</i> -butyle 4:	86
1-1-1-3- L-Tryptophanate de <i>tert</i> -butyle 5:	87
1-1-2 Synthèse du dérivé protégé de l'acide glutamique 9 :	87
1-1-2-1 Acide <i>N</i> -Benzyloxycarbonyl-L-glutamique 7 :	87
1-1-2-2- Oxazolidine dérivée de l'acide glutamique 8:	88
1-1-2-3- Acide <i>N</i> -Benzyloxycarbonyl- γ - <i>tert</i> -butyl-L-glutamique 9:	89
1-1-3- Couplage peptidique et déprotection :	90
1-1-3-1- <i>N</i> -Benzyloxycarbonyl- γ - <i>O</i> - <i>tert</i> -butyl-L- α -glutamyl- <i>O</i> - <i>tert</i> -butyl-L-tryptophane 10 :	90
1-1-3-2- Glu-Trp, IM862 1 :	91
1-2- Synthèses des analogues portant des tryptophanes β -substitués:	92
1-2-1- Préparation des tryptophane β -substitués :	92
1-2-1-1- Acide de Meldrum 11:	92
1-2-1-2 Condensation trimoléculaire:	93
1-2-1-3- Ouverture de l'adduit:	94
1-2-1-4- Réaction de Curtius :	95
1-2-1-5- Déprotection :	96
1-2-1-6- Couplages peptidiques :	97
1-2-2- Préparation de l'analogue pyroglutamique :	103
1-2-2-1- Acide pyroglutamique 21:	103
1-2-2-2- Tryptophanate de méthyle 22:	103
1-2-2-3- L-pyroglutamyl-L-tryptophanate de méthyle 23 :	104
1-2-2-4- L-pyroglutamyl-L-tryptophane 24:	105
1-2-3- Composés destinés aux tests biologiques :	106
1-2-3-1- Dipeptide β -substitué déprotégé en série cyclohexyle 25:	106
2-Synthèse de l'α-C-2-mannosyltryptophane :	107
2-1- Voie directe :	107
2-1-1- Protection et halogénéation du mannose :	107
2-1-1-1- Mannose penta- <i>O</i> -acétylé 26 :	107
2-1-1-2- 1-Chloro-tétra- <i>O</i> -acétylmannose 27 :	108
2-1-1-3- 1-Bromo-tétra- <i>O</i> -acétylmannose 28 :	109
2-1-2- Protection de l'azote indolique :	110
2-1-2-1- Indole Boc 29 :	110
2-1-2-2- Benzènesulfonylindole 30 :	111

2-1-3- Silylation des indoles protégés :.....	111
2-1-3-1- <i>N-tert</i> -butoxycarbonyl-2-triméthylsilyl-indole 31 :.....	111
2-1-3-2- <i>N</i> -Benzènesulfonyl-2-triméthylsilylindole 32 :.....	112
2-1-3-3- 2'-triméthylsilylphénylsulfonyl-2-triméthylsilylindole 33 :.....	113
2-1-4- Réaction de l'indole silylé :.....	114
2-1-4-1- 2-Acétyle- <i>N</i> -benzènesulfonylindole 34 :.....	114
2-1-5- Préparation des dérivés <i>O</i> -benzylés du mannose:.....	115
2-1-5-1- 1- <i>O</i> -Méthyl- α -D-mannopyrannoside 35 :.....	115
2-1-5-2- <i>O</i> -Méthyl-tétra- <i>O</i> -benzyl- α -D-mannopyrannoside 36 :.....	115
2-1-5-3- tétra- <i>O</i> -benzyl- α -D-mannopyrannoside 37 :.....	116
2-1-5-4- Fluoro-tétra- <i>O</i> -benzyl- α -D-mannopyrannoside 38 :.....	117
2-1-6- Préparation des mannoses benzylés, acétylés en position anomérique :.....	118
2-1-6-1- Di- <i>O</i> -acétyle-tri- <i>O</i> -benzylmannopyrannoside 38 :.....	118
2-1-6-2- Acétyle-tétra- <i>O</i> -benzylmannopyrannoside 39 :.....	119
2-2- Voie du Pictet et Spengler:.....	120
2-2-1- Préparation de tryptophane protégé :.....	120
2-2-1-1- <i>N</i> -Benzyl-L-Tryptophanate de méthyle 40 :.....	120
2-2-2- Synthèse avec mannose non protégé :.....	121
2-2-2-1- <i>N</i> -(1-déoxy- β -D-fructopyrannose) tryptophanate de méthyle 41 :.....	121
2-2-3- Synthèse d'aldéhyde de mannoses protégés :.....	122
2-2-3-1- Diéthyl-dithioacétal du D-mannose 42 :.....	122
2-2-3-2- Penta- <i>O</i> -acétate-diéthyl-dithioacétal du D-mannose 43 :.....	122
2-2-3-3- Penta- <i>O</i> -acétate de D-mannose 44 :.....	123
2-2-3-4- Penta- <i>O</i> -benzyl-diéthyl-dithioacétal de D-mannose 45 :.....	124
2-2-4- Réaction de Pictet-Spengler avec le mannose protégé uniformément :.....	125
2-2-4-1- Produit 46 :.....	125
2-2-5- Réaction de Pictet Spengler avec un mannose non uniformément protégé:.....	126
2-2-5-1- Tétra- <i>O</i> -benzyl-propanediyl-dithioacétal de D-mannose 47:.....	126
2-2-5-2- Propanediyl-dithioacétal-tétra- <i>O</i> -benzyl de D-mannose 5- <i>O</i> -silylé 49:.....	127
2-3- Voie de la réaction de McMurry :.....	128
2-3-1- Préparation de kynurénines protégées :.....	128
2-3-1-1- <i>N</i> -Trifluoroacétyle-L-tryptophanate de méthyle 51 :.....	128
2-3-1-2- <i>N</i> α -trifluoroacétamido- <i>O</i> -méthyl-kynurénine 52 :.....	129
2-3-1-3- <i>N</i> -Benzyloxycarbonyl-L-tryptophanate de méthyle 53:.....	130
2-3-1-4- <i>N</i> α -Benzyloxycarbonyl- <i>O</i> -méthyl-kynurénine 54:.....	131
2-3-1-5- <i>N</i> -Benzyl- <i>N</i> -Trifluoroacétyle-L-tryptophanate de méthyle 55 :.....	132
2-3-1-6- <i>N</i> α -Benzyl- <i>N</i> α -trifluoroacétyle- <i>O</i> -méthyl-kynurénine 56:.....	133
2-3-2- Préparation des homologues du mannose en série acétyle:.....	134
2-3-2-1- Cyanure de tétra- <i>O</i> -acétyle- α -D-mannopyranosyle 57 :.....	134
2-3-2-2- Acide C-(β -D-mannopyranosyl)formique 58 :.....	135
2-3-2-3- Acide C-(tétra- <i>O</i> -acétyle- β -D-mannopyranosyl)formique 59 :.....	136
2-3-2-4- Acide C-(tétra- <i>O</i> -acétyle- α -D-mannopyranosyl)formique 60 :.....	137
2-3-3- Couplage sucre-kynurénine:.....	138
2-3-3-1 Amide 61 :.....	138
2-3-3-2 Acétamide 62 :.....	139
2-3-3-3 Malonamide de kynurénine 63 :.....	140

2-3-4- Préparation des homologues du mannose en série benzyle:	141
2-3-4-1- Phényl-2,3,4,6-tétra- <i>O</i> -acétyl-1-thio- α -D-mannopyrannoside 64:	141
2-3-4-2- Phényl-2,3,4,6-tétra- <i>O</i> -benzyl-1-thio- α -D-mannopyrannoside 65:	142
2-3-4-3- 2,3,4,6-tétra- <i>O</i> -benzyl- α -D-mannopyrannoside 37:	143
2-3-4-4- Perchlorate de scandium 66:	143
2-3-4-5- Cyanure de mannoses benzylés 67 et 68:	144
2-3-4-7- Amide dérivé du mannose benzylés 71:	146
2-3-4-8- <i>C</i> -Furannyl-tétra- <i>O</i> -benzyl- α -D-mannopyrannoside 72:	147
2-3-4-9- <i>C</i> -(Tétra- <i>O</i> -benzyl- α -D-mannopyrannoside)formaldéhyde 73:	148
2-3-4-10- Acide <i>C</i> -(tétra- <i>O</i> -benzyl- α -D-mannopyrannoside)-formique 74:	149
2-3-5- Couplage des mannoses homologués aux kynurénines:	150
2-3-5-1- Dérivé 75 :	150
2-3-5-2- 1,3-dihydro-3-oxo-2 <i>H</i> -indol-2-ylidene acétate de méthyle 76 :	151
2-3-5-3- Dérivé 77:	152
2-3-6- Réactions de type McMurry:	153
2-3-6-1- Bis(fluorénylidène) 78 :	153
2-3-6-2- β - <i>C</i> -2-mannosyltryptophane protégé 79 :	154
2-3-6-3- Préparation de 80 :	155
BIBLIOGRAPHIE	157
TABLE DES MATIERES	167