

This article was downloaded by:

On: 29 January 2011

Access details: *Access Details: Free Access*

Publisher *Taylor & Francis*

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



## Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713618290>

### Synthese de derives phosphonyles de l'acide aspartique inhibiteurs potentiels de l'atcase

Mohamed Ben-bari<sup>ab</sup>; Georges Dewynter<sup>a</sup>; Christian Aymard<sup>a</sup>; Taib Jeij<sup>b</sup>; Jean-Louis Monterom<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de Chimie Biomoléculaire (URA 1111 CNRS) cc 073, Université de Montpellier-11, Montpellier Cedex 05, France <sup>b</sup> Département de Chimie, Faculte des Sciences Ben M'sik, Université Hassan II, Casablanca, Morocco

**To cite this Article** Ben-bari, Mohamed , Dewynter, Georges , Aymard, Christian , Jeij, Taib and Monterom, Jean-Louis(1995) 'Synthese de derives phosphonyles de l'acide aspartique inhibiteurs potentiels de l'atcase', Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 105: 1, 129 – 144

**To link to this Article:** DOI: 10.1080/10426509508042056

**URL:** <http://dx.doi.org/10.1080/10426509508042056>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

## SYNTHESE DE DERIVES PHOSPHONYLES DE L'ACIDE ASPARTIQUE INHIBITEURS POTENTIELS DE L'ATCase

MOHAMED BEN-BARI,<sup>†,‡</sup> GEORGES DEWYNTER,<sup>†</sup>  
 CHRISTIAN AYMARD,<sup>†</sup> TAIB JEI<sup>‡</sup> et JEAN-LOUIS MONTERO<sup>\*,†</sup>  
<sup>†</sup>Laboratoire de Chimie Biomoléculaire (URA 1111 CNRS) cc 073, Université de  
 Montpellier-II, Sciences et Techniques du Languedoc Place E. Bataillon, 34095  
 Montpellier Cedex 05, France; <sup>‡</sup>Département de Chimie, Faculté des Sciences  
 Ben M'sik, Université Hassan II, Casablanca, Morocco

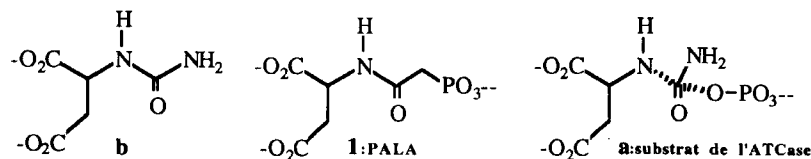
(Received January 31, 1995; in final form April 18, 1995)

New derivatives and analogues of N-phosphonoacetyl-L-aspartate (PALA) were synthesized starting from the aspartic acid and evaluated for the enzymatic inhibition of the ATCase.

De nouveaux dérivés et analogues du N-phosphonoacétyl-L-aspartate (PALA), résultant de l'aménagement fonctionnel sélectif de l'acide aspartique ont été synthétisés et leur activité inhibitrice de l'ATCase a été mesurée.

**Key words:** ATCase inhibitors, PALA, aspartic acid, Arbuzov reaction, Wittig reaction.

L'aspartate transcarbamylase (EC 2.1.3.2, ATCase), enzyme précoce de la biosynthèse *de novo* des pyrimidines, catalyse la condensation entre le L-aspartate et le phosphate de carbamyle pour conduire au N-carbamyl-L-aspartate **b**.



Le N-phosphonoacétyl-L-aspartate (PALA) **1**, qui possède une liaison C-P non hydrolysable, est un inhibiteur compétitif de l'ATCase en raison de son analogie structurale avec l'état de transition **a** de l'enzyme. Ce type d'inhibiteur présente un intérêt tant dans le domaine agronomique que pharmaceutique.<sup>1</sup>

Toutes les modifications<sup>2–4</sup> effectuées sur le squelette du PALA **1** ont pour objet d'améliorer l'analogie structurale avec l'état de transition **a**. Ainsi récemment des dérivés fluorés ont été synthétisés<sup>5</sup>; ces analogues N-difluorométhylène-phosphonate-L-aspartates, plus électrophiles, peuvent réagir avec une molécule d'eau et donner un hydrate dont la structure est semblable à celle de l'intermédiaire réactionnel tétraédrique **a**. Ces dérivés fluorés sont des inhibiteurs de l'ATCase, mais à des concentrations plus élevées.

Notre but a été de préparer des dérivés du PALA **1** pouvant présenter des interactions fortes avec le site actif de l'enzyme. Nous avons ainsi modifié l'un ou l'autre des carboxyles en position  $\alpha$  et  $\beta$  du PALA en aldéhyde afin d'obtenir des inhibiteurs susceptibles de réagir de façon covalente avec, par exemple, une lysine

\*Auteur à qui toute correspondance doit être adressée.

du site actif de l'ATCase. Nous avons également, à partir de l'un de ces dérivés carbonylés, allongé la chaîne principale de l'acide aminé en introduisant un groupement vinyl-phosphonate pouvant réagir avec un résidu basique du site actif ou à proximité de ce site. Nous avons ensuite remplacé la fonction amide du PALA 1 par un groupement thioamide, ceci dans le but de créer une liaison covalente avec l'enzyme par attaque de l'atome de soufre sur un centre électrophile du site actif de l'enzyme. Nous avons enfin réalisé un test d'inhibition des composés synthétisés, *in vitro*, sur l'ATCase.

## SYNTHÈSES

L'aménagement fonctionnel en aldéhyde a été réalisé par oxydation des alcools correspondants selon Moffatt-Pfitzner,<sup>6-8</sup> méthode généralement utilisée en série nucléosidique. Les composés hydroxylés sont obtenus par réduction, à l'aide du borohydrure de sodium, des  $\alpha$ -esters ou  $\beta$ -anhydrides mixtes de l'acide aspartique.<sup>9</sup> Cet agent réducteur est décrit comme non racémisant en série peptidique.

Les synthèses du PALA 1 et de ses homologues utilisent généralement pour l'introduction du groupement phosphonoacétyle (éventuellement substitué), une condensation entre l'acide correspondant ou sa forme activée, et l'amine de l'acide aminé.<sup>5,10</sup> De notre part, nous avons envisagé l'introduction du groupement phosphonate par réaction d'Arbuzov<sup>28</sup> sur les dérivés N-chloroacétylés correspondants.

### Aménagement Fonctionnel en $\beta$

Deux méthodes ont été envisagées pour l'obtention du PALA  $\beta$ -aldéhydique 12 (Schéma I): soit la phosphonation du dérivé aldéhydique N-chloroacétylé (produit de l'étape c, voie A), soit la création de la fonction aldéhyde sur le PALA protégé (produit de l'étape e, voie B).

Ces deux voies (A et B) utilisent un précurseur commun: le N-chloroacétyl-L-aspartate de  $\beta$ -benzyle et d' $\alpha$ -tertiobutyle 5 (Schéma II) obtenu par réaction du composé 4 avec l'anhydride chloroacétique. L'intermédiaire 4 est synthétisé à partir de l'aspartate de  $\beta$ -benzyle 3<sup>11</sup> par estérification classique utilisant l'isobutylène.

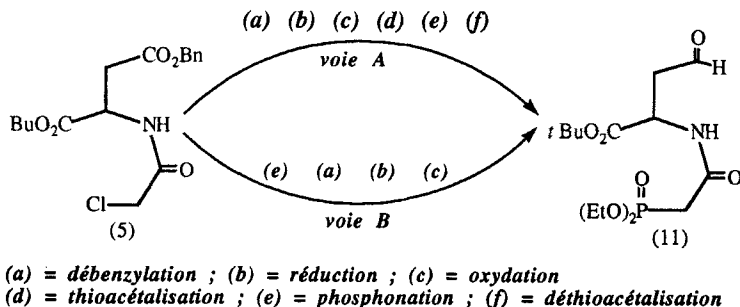


SCHÉMA I

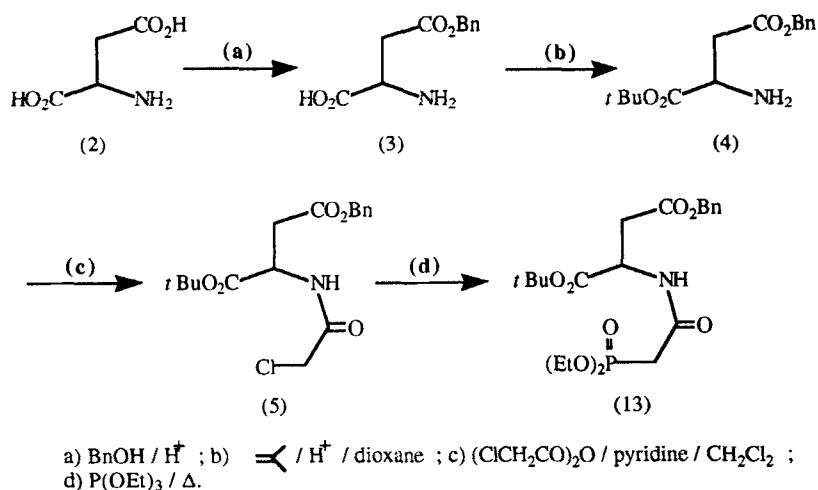


SCHÉMA II

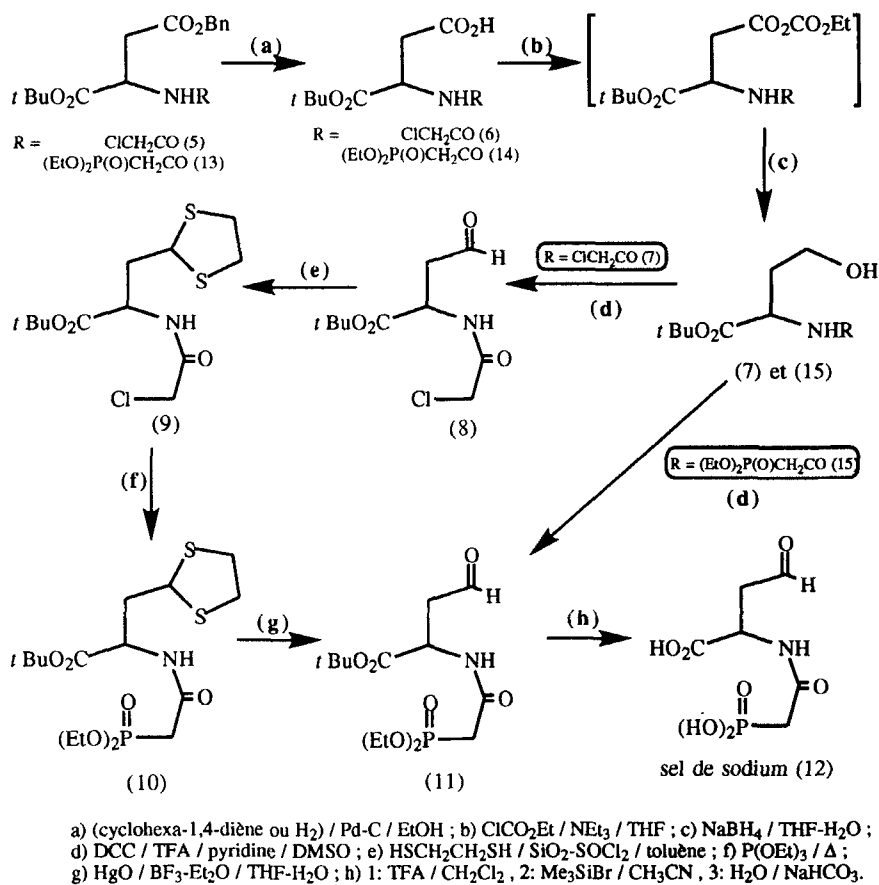


SCHÉMA III

Les dérivés de l'homosérine, produits des étapes de réduction (b) dans les voies A et B (Schéma I), ont été obtenus en réduisant sélectivement les  $\beta$ -anhydrides mixtes correspondants à l'aide du borohydrure de sodium.<sup>9</sup>

Dans la voie A (Schéma III), l'acide **6** est obtenu par hydrogénolyse (Pd-C en présence de cyclohexa-1,4-diène ou d'hydrogène moléculaire). Après traitement par le chloroformiate d'éthyle, l'anhydride mixte non-isolé est réduit par le borohydrure de sodium. L'aldéhyde **8** obtenu par oxydation selon Moffatt-Pfitzner est protégé sous forme de thioacétal **9**; il est ensuite phosphonylé selon Arbuzov en phosphonate de diéthyle **10**.

De tous les réactifs de déprotection du groupement aldéhyde ( $\text{SOCl}_2/\text{silice}$ ,  $\text{HgCl}_2$ ,  $\text{PbO}_2$ ), seul l'oxyde de mercure ( $\text{HgO}$ ) a permis de régénérer la fonction aldéhyde, avec un rendement relativement modeste. Les fonctions esters carboxylique et phosphoniques de l'aldéhyde **11** obtenu sont ensuite respectivement clivées par l'acide trifluoroacétique et le bromotriméthylsilane pour conduire au PALA  $\beta$ -aldéhydique **12**.

Cette voie de synthèse permet la phosphonation *in fine*, ce qui autorise l'utilisation d'un phosphite silylé donnant des esters phosphoniques facilement hydrolysables. Cependant, le faible rendement de la déthioacétalisation nous a contraint à utiliser la voie B (Schéma III); le composé **5** est alors phosphonylé selon Arbuzov à l'aide du phosphite de triéthyle pour conduire au phosphonate **13** (tétraester du PALA) qui est hydrogénolysé en acide **14**. Par réduction et réoxydation puis déprotection, similaires à celle utilisées dans la voie A, nous avons obtenu le produit final PALA  $\beta$ -aldéhydique **12**.

La voie B est plus appropriée et nécessite moins d'étapes que la voie A, mais elle ne permet pas l'utilisation d'un phosphite silylé qui conduirait à des esters phosphoniques instables dans les conditions de réduction et d'oxydation donnant la fonction aldéhyde. Nous avons surmonté cette limitation par l'emploi de phosphonates d'alkyle facilement hydrolysables par les halogénosilanes.<sup>12-14</sup>

### *Aménagement Fonctionnel en $\alpha$*

Les travaux concernant la synthèse des  $\alpha$ -aminoacides<sup>15,16-19</sup> font état de problèmes liés en général à la fragilité des groupements protecteurs nécessaires lors des étapes de réduction en aminoalcools ou directement en aminoaldéhydes.

La facilité d'obtention du N-chloroacétyl-L-aspartate d' $\alpha$ -méthyle **17**, (facilement réduit par le borohydrure de sodium) (Schéma IV) nous a conduit à la méthode de réduction et réoxydation pour l'obtention des dérivés  $\alpha$ -aldéhydiques.

L'action du méthanol sur l'anhydride **16** conduit sélectivement à l' $\alpha$ -ester **17**<sup>20</sup> qui, après estérification en  $\beta$  donne le diester mixte **18** précurseur commun aux PALA  $\alpha$ -aldéhydique **22** et PALA  $\alpha$ -phosphonovinylé **28**. La phosphonation suivie de la réduction sélective de l'ester méthylique puis oxydation selon Moffatt-Pfitzner conduit à l'aldéhyde **21** (Schéma V). Le PALA  $\alpha$ -aldéhydique **22** est alors obtenu après déprotection des fonctions acides.

Dans la synthèse du PALA  $\alpha$ -phosphonovinylé **28** (Schéma VI), le précurseur **18** est réduit puis réoxydé en aldéhyde **24** qui, après condensation selon Wittig-Horner<sup>21-25</sup> avec le méthylène diphosphonate de tétraéthyle **25**<sup>26</sup> conduit au dérivé phosphonovinylé **26**. Le spectre de RMN du proton de **26** indique que la confi-

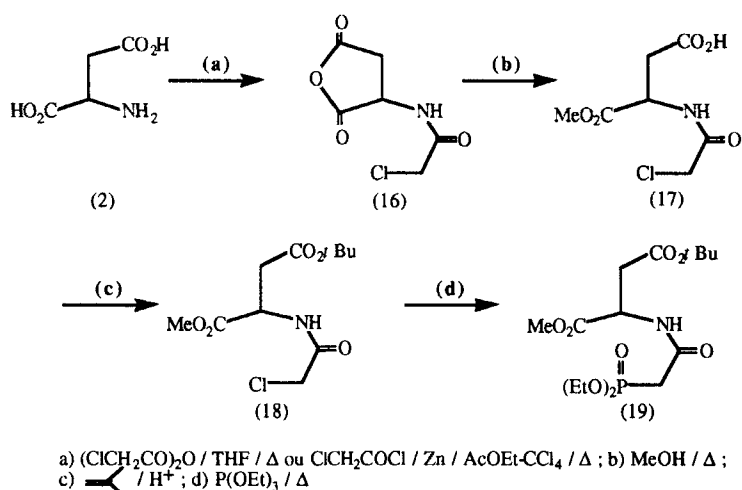


SCHÉMA IV

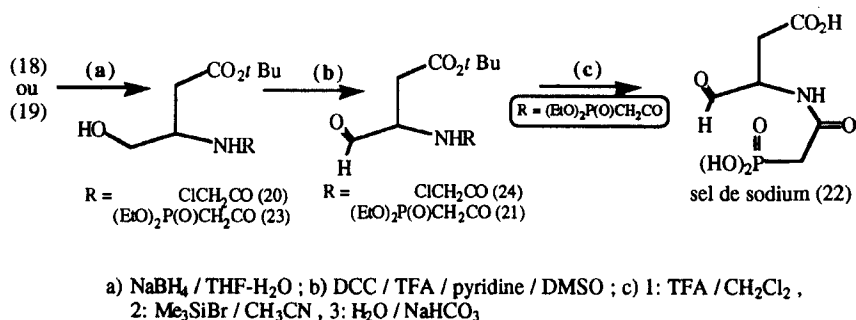


SCHÉMA V

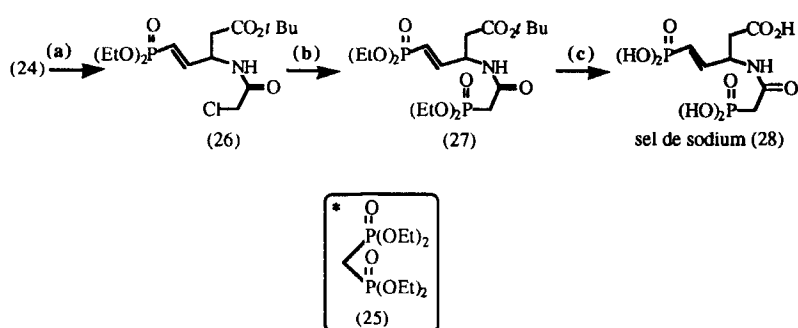


SCHÉMA VI

guration de la double liaison est trans ( $J_{\text{H-Pcis}} = 18,9 \text{ Hz}$ ;  $J_{\text{H-Htrans}} = 17,2 \text{ Hz}$ ), ce qui est généralement observé pour les réactions utilisant des ylures stabilisés. Le PALA  $\alpha$ -phosphonovinylé **28** est ensuite obtenu par phosphonation et déprotection des fonctions acides.

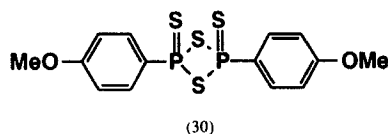
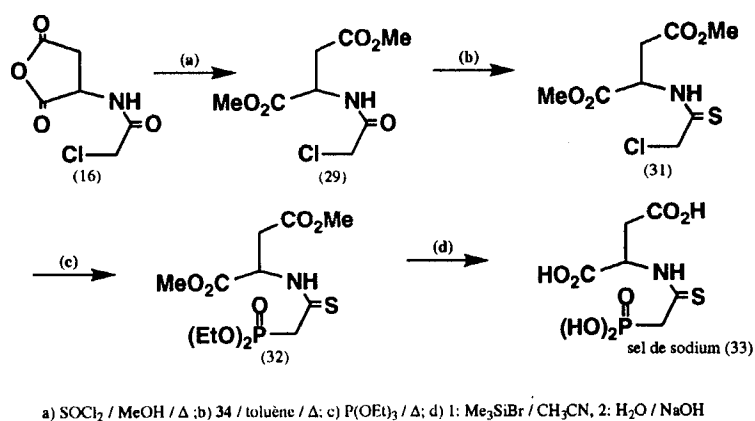


SCHÉMA VII

### Dérivé Thioamidique

Nous avons obtenu la fonction thioamide en utilisant le réactif de Lawesson **30**,<sup>29</sup> généralement utilisé pour la transformation des groupements amides en thioamides. L'action du méthanol sur l'anhydride **16**, à chaud et en présence du chlorure de thionyle, conduit au diester **29**; ce dernier est traité par le réactif de Lawesson **30** pour donner le composé **31** (Schéma VII). La phosphonation puis la déprotection du phosphonate obtenu **32** conduit au dérivé thioamidique **33**.

### Pouvoir Inhibiteur des Composés Synthétisés vis à vis de l'ATCase

Les tests ont été conduits pour apprécier le pouvoir effecteur vis-à-vis de l'ATCase, relativement au PALA.

L'activité ATCase a été évaluée en présence ou en l'absence de chacun des composés synthétisés, par suivi cinétique de l'apparition du carbamylaspartate, produit de réaction (CAA, dosé par colorimétrie selon Prescott et Jones<sup>27</sup>).

a) *Activité de l'ATCase.* Afin de déterminer les paramètres de l'activité ATCase, nous avons suivi l'évolution de l'apparition du CAA en fonction de la concentration en aspartate. Ceci nous a permis de choisir arbitrairement un temps tel que la teneur en CAA soit significative et la vitesse obtenue assez proche de la vitesse initiale réelle. Nous avons aussi pu déterminer un  $K_m$  de 12 mM pour l'aspartate (20 mM en théorie), un  $V_M$  de 7,14  $\mu\text{mol}/\text{mn} \cdot \text{l}$  pour l'ATCase et une concentration de 0,028 UI/ml pour la solution enzymatique de départ.

b) *Résultats.* Les pourcentages d'inhibition (I%) de l'activité enzymatique pour les composés testés ont été calculés à partir des vitesses initiales de réaction respectivement en l'absence et en présence de l'effecteur (Tableau I).

TABLEAU I  
Pouvoir inhibiteur du PALA et des analogues synthétisés

composé	I (%)
PALA <b>1</b>	36
PALA $\beta$ -aldéhydique <b>12</b>	73
PALA thioamidique <b>33</b>	72
PALA $\alpha$ -phosphonovinylé <b>28</b>	17

## DISCUSSION ET CONCLUSION

Dans le but de synthétiser des composés homologues du PALA **1** susceptibles d'inhiber l'ATCase, nous avons envisagé des modifications fonctionnelles de la partie aminoacide du PALA **1** en introduisant des groupements pouvant réagir avec l'enzyme dans son site actif ou à proximité, de manière covalente ou non.

Nous avons, à partir de l'acide aspartique, synthétisé le PALA  $\beta$ -aldéhydique **12** selon deux voies de synthèse différentes utilisant pour la création de la fonction aldéhyde la réduction puis la réoxydation du carboxyle en  $\beta$ . Elles diffèrent par la séquence d'introduction du groupement aldéhyde et de phosphonation. Dans un second temps, nous avons synthétisé deux dérivés  $\alpha$ -aldéhydiques, l'un N-phosphonoacétylé donnant le PALA  $\alpha$ -aldéhydique **22**, et l'autre N-chloroacétylé servant pour l'obtention du PALA  $\alpha$ -phosphonovinylé **28** par condensation de Wittig-Horner et phosphonation. Nous avons ensuite synthétisé le dérivé thioamidique **33** en modifiant le groupement amide du PALA **1** en une fonction thioamide à l'aide du réactif de Lawesson.

Les composés finaux et certains intermédiaires sont originaux et les stratégies de leurs synthèses utilisent des réactions classiques en conditions douces et avec des traitements simples.

L'étude enzymologique préliminaire effectuée, si elle ne nous autorise pas à donner des résultats définitifs, nous permet cependant d'avancer des hypothèses intéressantes.

Dans les conditions de test adoptées, les dérivés  $\beta$ -aldéhydique **12** et thioamidique **33** donnent un pourcentage d'inhibition double par rapport au PALA **1**. Une liaison imine pourrait donc être créée entre une lysine du site actif et la fonction aldéhyde. De plus, cette dernière à la place d'un carboxylate diminuera la polarité de la molécule, ce qui facilitera la pénétration membranaire. En ce qui concerne le dérivé thioamidique **33**, il se pourrait qu'en plus de l'échange acidobasique entre l'histidine 134 et l'amide du PALA **1**, il y ait un site électrophile susceptible de subir l'attaque nucléophile de l'atome de soufre.

En revanche, il semble que le remplacement d'un carboxyle par un groupement vinylphosphonate ne permette pas d'augmenter les interactions avec des zones polaires externes au site actif de l'enzyme. La diminution d'environ 50% du taux d'inhibition par rapport au PALA pourrait provenir de la taille trop importante de ce groupement vinylphosphonate. Ce criblage préliminaire a cependant permis la mise en évidence des potentialités de ces molécules en tant qu'inhibiteurs d'activités ATCasiques. L'évaluation biologique des propriétés oncostatiques et antivirales est actuellement en cours.



## PARTIE EXPÉRIMENTALE

## Chimie

**Conditions générales:** Les chromatographies sur couche mince (c.c.m) ont été réalisées sur plaques de silice 60 F254 (Merck Art. 5554). La visualisation des produits est réalisée soit par pulvérisation de la ninhydrine et chauffage, soit par le réactif au bleu de molybdène pour la détection des produits phosphorés, soit par visualisation à l'iode ou par le test de Belstein pour les dérivés halogénés. Les chromatographies sur colonne de gel de silice ont été effectuées avec de la silice 60 H (Merck Art. 9385). Les points de fusion non corrigés ont été déterminés en capillaire sur un appareil Electrothermal. Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés avec un polarimètre Perkin-Elmer 241 réglé sur la raie D du sodium. Les spectres de masse ont été enregistrés sur un appareil Jeol JMS-DX 300 par les méthodes Impact Electronique (EI) et FAB positif; deux matrices ont été utilisées dans cette dernière: un mélange glycérol-thioglycérol/50–50:v–v (GT) et alcool 3-nitrobenzylique (NOBA). La présence du chlore dans les ions chlorés a été confirmée par les rapports isotopiques de cet élément. La masse indiquée pour chaque ion a été calculée à partir de l'isotope prépondérant:  $^{35}\text{Cl}$ . Les spectres de RMN du proton ont été enregistrés à température ambiante sur des appareils Bruker AC 250, AM 300 ou Varian EM 360 A. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont exprimés en p.p.m. par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS) pris comme référence interne pour la RMN du proton, et par rapport au signal de l'acide phosphorique pris comme référence externe pour la RMN du phosphore. Les constantes de couplage sont représentées par la lettre majuscule J. La multiplicité des signaux est indiquée par une ou plusieurs lettres minuscules: m (multiplet), q (quadruplet), qd (quadruplet dédoublé), t (triplet), td (triplet dédoublé), d (doublet), dd (doublet dédoublé), s (singulet).

**L-aspartate de  $\beta$ -benzyle (3):** L'alcool benzylique (360 ml) est ajouté à une solution d'acide sulfurique concentré (36 ml) dans l'éther anhydre (360 ml), l'éther est ensuite évaporé et l'acide aspartique (48 g; 0,36 mol) est ajouté au mélange en quatre fractions, la solution est alors laissée sous agitation à température ambiante durant 26 h. Après dilution par l'éthanol 95% (720 ml), le mélange est neutralisé par la pyridine (180 ml) et est ensuite gardé en chambre froide pendant une nuit. Le précipité blanc obtenu est filtré et lavé plusieurs fois à l'éther puis recristallisé dans l'eau contenant quelques gouttes de pyridine. Après filtration, le composé **6** est séché sous vide à température ambiante (43,6 g; 54%).

$F = 210^{\circ}\text{C} - 211^{\circ}\text{C}$ .

$[\alpha]_{\text{D}} = +25^{\circ}\text{C}$  ( $c = 1$ ; HCl 1N).

RMN<sup>1</sup>H (DMSO- $\text{D}_2\text{O}$ ),  $\delta$  (ppm): 2,9 (m, 2H,  $\beta$ - $\text{CH}_2$ ); 4,9 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 5 (s, 2H,  $\text{CH}_2\Phi$ ); 7,25 (s, 5H,  $\Phi$ ).

Spectre de masse (matrice GT), FAB  $> 0$ : 316 ( $\text{M} + \text{G} + \text{H}$ )<sup>+</sup>; 224 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>; 91 ( $\text{C}_7\text{H}_7$ )<sup>+</sup>.

**L-aspartate de  $\beta$ -benzyle et  $\alpha$ -tertiobutyle (4):** Le composé **3** (11,5 g; 50 mmol) est solubilisé dans le dioxane (100 ml); l'acide sulfurique (10 ml) est ensuite ajouté à la solution. Après ajout de l'isobutylène (75 g; 1,34 mol) la solution est agitée dans un appareillage équipé d'une réfrigération à  $-35^{\circ}\text{C}$ , à température ambiante et pendant 20 h; elle est ensuite refroidie à  $0^{\circ}\text{C}$  puis neutralisée à l'aide d'un mélange d'acétate d'éthyle (150 ml) et une solution de soude 0,25 N (200 ml), le pH est ensuite ajusté entre 8 et 9 par une solution de soude 2 N. Après extraction de la phase aqueuse par l'acétate d'éthyle (2 fois 250 ml) et séchage des phases organiques sur sulfate de sodium, le solvant est évaporé pour conduire au composé **4** (10,83 g; 78%) sous forme d'huile incolore.

$R_f = 0,35/\text{AcOEt}$ .

$[\alpha]_{\text{D}} = +7^{\circ}$  ( $c = 1$ ; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 1,47 (s, 9H,  $t\text{Bu}$ ); 1,75 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 2,7 (dd, 2H,  $\beta$ - $\text{CH}_2$ ); 3,6 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 5,05 (s, 2H,  $\text{CH}_2\Phi$ ); 7,3 (s, 5H,  $\Phi$ ).

Spectre de masse (matrice GT), FAB  $> 0$ : 280 ( $\text{M} + \text{H}$ )<sup>+</sup>; 224 ( $\text{M} + \text{H} - \text{C}_4\text{H}_8$ )<sup>+</sup>; 178 ( $\text{M} + \text{H} - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{H}_2\text{O} - \text{CO}$ )<sup>+</sup>; 134 ( $\text{M} + \text{H} - \text{C}_4\text{H}_8 - \text{C}_7\text{H}_6$ )<sup>+</sup>.

**N-chloroacétyl-L-aspartate de  $\beta$ -benzyle et  $\alpha$ -tertiobutyle (5):** Le composé **4** (38,41 g; 0,14 mol) est solubilisé dans le dichlorométhane (710 ml) et la pyridine (59,2 ml; 0,73 mol) est ensuite ajoutée à la solution; celle-ci est refroidie à  $0^{\circ}\text{C}$  pour recevoir, en quatre fractions, l'anhydride chloroacétique (48,38 g; 0,28 mol). Après retour à la température ambiante, le mélange est agité durant 1 h. La solution est ensuite lavée avec l'eau glacée (2 fois 315 ml) puis séchée sur sulfate de sodium. L'évaporation du solvant et la chromatographie du résidu sur gel de silice élué à l'acétate d'éthyle, conduisent au composé **5** (36,68 g; 75%) sous forme d'huile incolore.

Rf = 0,65/AcOEt.

$[\alpha]_D = +26^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,45 (s, 9H, *t* Bu); 2,95 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 4 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,7 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 5,1 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Φ); 7,3 (s, 5H, Φ); 7,4 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 356 (M + H)<sup>+</sup>; 322 (M + 2H-Cl)<sup>+</sup>; 300 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 266 (M + 2H-Cl-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup> et (M + H-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>)<sup>+</sup>; 210 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>)<sup>+</sup>; 192 ("210"-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 164 ("192"-CO)<sup>+</sup>; 91 (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>)<sup>+</sup>.

*N-chloroacétyl-L-aspartate d'α-tertiobutyle (6)*: Méthode de transfert d'hydrogène: Le composé 5 (460 mg; 1,4 mmol) est solubilisé dans l'éthanol absolu (6 ml); le palladium sur charbon 10% (770 mg) et le cyclohexa-1,4-diène (1,67 ml; 17,9 mmol) sont ensuite ajoutés, puis la solution est agitée à température ambiante durant 6 h. Après filtration du catalyseur et évaporation du solvant, le composé 6 (328 mg; 96%) est obtenu sous forme d'huile.

Méthode utilisant l'hydrogène moléculaire: Le composé 5 (34,5 g; 97,1 mmol) est solubilisé dans l'éthanol absolu (240 ml) puis le palladium sur charbon 10% (4,1 g) est ajouté à la solution. Le mélange est ensuite agité à température ambiante sous atmosphère d'hydrogène durant 8 h. Après filtration du catalyseur et évaporation du solvant, le composé 6 (29,2 g; ~100%) est obtenu sous forme d'huile.

$[\alpha]_D = +9^\circ$  (c = 0,5; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,45 (s, 9H, *t* Bu); 2,95 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 4,05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,65 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,55 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 266 (M + H)<sup>+</sup>; 232 (M + 2H-Cl)<sup>+</sup>; 210 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 192 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 176 (M + 2H-Cl-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 164 ("192"-CO)<sup>+</sup>.

*N-chloroacétyl-L-homosérinate de tertibutyle (7)*: L'acide 6 (29,05 g; 109 mmol) est solubilisé dans le THF (485 ml), la triéthylamine (17,53 ml; 126 mmol) et le chloroformiate d'éthyle (11,98 ml; 126 mmol) sont ensuite ajoutés à la solution refroidie à -17°C. Après agitation durant une demie heure, le chlorhydrate de triéthylamine est filtré. Le filtrat est ensuite ajouté goutte à goutte, à -10°C, à une solution de NaBH<sub>4</sub> (14,34 g; 378 mmol) dans un mélange THF-H<sub>2</sub>O/4-1 (164 ml), puis le mélange est agité à température ambiante durant 5 h. Après neutralisation à l'aide d'une solution de HCl 0,05 N (400 ml) et extraction par l'acétate d'éthyle (3 fois 350 ml), les phases organiques sont lavées par une solution de soude 2 N (180 ml), l'eau (3 × 240 ml) et une solution saturée en NaCl (240 ml), puis séchées sur sulfate de sodium. Le solvant est ensuite évaporé et le résidu chromatographié sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/1-3 pour conduire au composé 7 (14,46 g; 52%) sous forme d'huile incolore.

Rf = 0,45/AcOEt.

$[\alpha]_D = -9^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,5 (s, 9H, *t* Bu); 1,1-2,2 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 3,6 (m,  $\gamma$ CH<sub>2</sub>); 4,05 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,55 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,5 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice NOBA) FAB > 0: 503 (2M + H)<sup>+</sup>; 252 (M + H)<sup>+</sup>; 196 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 178 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 150 ("178"-CO)<sup>+</sup>.

*2-(N-chloroacétyl)amino-4-oxobutyrate de tertibutyle (8)*: Le composé 7 (780 mg; 3 mmol) est solubilisé dans le DMSO (10 ml) et dans l'ordre sont ajoutés la pyridine (0,26 ml; 3,2 mmol), l'acide trifluoroacétique (0,13 ml; 1,6 mmol) et le DCC (1,95 g; 9,3 mmol); la solution est ensuite agitée à température ambiante durant 18 h. Après filtration de la DCU, dilution avec l'eau (40 ml) et extraction à l'aide de l'AcOEt, la phase organique est lavée par une solution d'HCl 1N (30 ml) et l'eau (30 ml); puis séchée sur sulfate de sodium. Le solvant est ensuite évaporé et la DCU est éliminée par précipitations répétées à l'aide d'acétate d'éthyle et d'hexane. Le résidu obtenu après évaporation est chromatographié sur gel de silice à l'aide du mélange éther-hexane/2-1 pour conduire au composé 8 (471 mg; 61%) sous forme d'huile.

Rf = 0,55/AcOEt.

$[\alpha]_D = +11^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,45 (s, 9H, *t* Bu); 3,05 (dd, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 4 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,65 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,3 (d, 1H, NH); 9,65 (s, 1H, CHO).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 250 (M + H)<sup>+</sup>; 216 (M + 2H-Cl)<sup>+</sup>; 194 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 176 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 160 ("216"-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 148 ("176"-CO)<sup>+</sup>.

*3-(1,3-dithiolan-2-yl)-2-(N-chloroacétyl)aminopropanoate de tertibutyle (9)*: Préparation de la silice activée: La silice (2 g) est mise en suspension dans le dichlorométhane (4 ml); le chlorure de thionyle (2 g) est ensuite ajouté goutte à goutte, en agitant fortement, à température ambiante puis le solvant est évaporé après une heure d'agitation.

**Synthèse du thioacétal:** L'aldéhyde **8** (8,46 g; 33,8 mmol) est solubilisé dans le toluène (250 ml) puis la silice activée (7 g) et l'éthane-1,2-dithiol (3 ml; 35,9 mmol) sont ajoutés pour ensuite laisser le mélange en agitation pendant 3 h à température ambiante. Après filtration de la silice et lavage à l'éther, le filtrat est lavé par une solution de soude 0,05 N (2 fois 80 ml) et l'eau (80 ml), la phase organique est ensuite séchée sur sulfate de magnésium et le solvant est évaporé. Le composé **9** (5,7 g; 52%) est obtenu après chromatographie sur gel de silice à l'aide du mélange éther-hexane/2-1.

Rf = 0,4/Ether-Hexane—2-1.

$[\alpha]_D = -7^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,45 (s, 9H, *t* Bu); 2,25 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 3,2 (s, 4H, SCH<sub>2</sub>); 4 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,5 (m, 2H,  $\alpha$ -CH et SCHS); 7,1 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 326 (M + H)<sup>+</sup>; 270 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 236 (M + 2H-Cl-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 105 (cycle C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>S<sub>2</sub>)<sup>+</sup>.

**3-(1,3-dithiolan-2-yl)-2-(O,O-diéthyl-N-phosphonoacétyl)aminopropanoate de tertibutyle (10):** Le thioacétal **9** (3,67 g; 11,3 mmol) et le phosphite de triéthyle (19 ml, 109,8 mmol) sont chauffés durant une heure et demie, dans un appareil de distillation; l'excès de phosphite est ensuite éliminé par distillation sous vide et le résidu est chromatographié sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-Hexane/2-1 pour aboutir au composé **10** (3,61 g; 75%), ce dernier est recristallisé à l'aide d'acétate d'éthyle et d'hexane et est obtenu sous forme de cristaux blancs (3,02 g; 63%).

F = 89°C–90°C.

Rf = 0,11/AcOEt-Hexane—2-1.

$[\alpha]_D = -11^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,35 (td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,45 (s, 9H, *t* Bu); 2,15 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 2,85 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P, *J* = 21 Hz); 3,2 (s, 4H, SCH<sub>2</sub>); 4,1 (qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 4,5 (m, 2H,  $\alpha$ -CH et SCHS); 7,1 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 372 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 196 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>; 179 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 105 (cycle C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>S<sub>2</sub>)<sup>+</sup>.

**O,O-diéthyl-N-phosphonoacétyl-L-aspartate de  $\beta$ -benzyle et d' $\alpha$ -tertiobutyle (13):** Le composé **5** (14,22 g; 40 mmol) est traité par le phosphite de triéthyle (76 ml; 439 mmol) de façon identique à l'obtention du composé **10** pour aboutir au phosphonate **13** (13,43 g; 73%).

Rf = 0,07/AcOEt-Hexane 2-1.

$[\alpha]_D = +17^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,3 (td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,4 (s, 9H, *t* Bu); 2,8 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P, *J* = 21 Hz); 2,85 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 4,05 (qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 4,6 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 5 (2, 2H, CH<sub>2</sub>Φ); 7,2 (d, 1H, NH); 7,25 (s, 5H, Φ).

Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 458 (M + H)<sup>+</sup>; 402 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 312 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>)<sup>+</sup>; 179 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 91 (C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>)<sup>+</sup>.

**O,O-diéthyl-N-phosphonoacétyl-L-aspartate d' $\alpha$ -tertiobutyle (14): Méthode de transfert d'hydrogène:** Le phosphonate **13** (500 mg; 1,1 mmol) est traité de la même manière que dans l'obtention du composé **6** par transfert d'hydrogène. L'acide **14** (425 mg; 96%) est obtenu sous forme d'huile qui cristallise à froid.

**Méthode utilisant l'hydrogène moléculaire:** Le composé **13** (14,2 g; 31,5 mmol) est traité de manière identique à l'obtention de l'acide **6** sous atmosphère d'hydrogène pour conduire au composé **14** (11,9 g; 97%) sous forme d'huile qui cristallise à froid.

F = 101°C–103°C.

$[\alpha]_D = +15^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,25 (td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,35 (s, 9H, *t* Bu); 2,4–3,1 (m, 4H, CH<sub>2</sub>P et  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 4,1 (qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 4,65 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,15 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 368 (M + H)<sup>+</sup>; 312 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 294 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 266 ("294"-CO)<sup>+</sup>; 179 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**O,O-diéthyl-N-phosphonoacétyl-L-homosérinate de tertibutyle (15):** L'acide **14** (520 mg; 1,4 mmol) est traité de la même façon que dans l'obtention du composé **7**. Après lavage et évaporation du solvant, le résidu est chromatographié sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-MeOH/9-1 pour conduire à l'alcool **15** (272 mg; 54%) sous forme d'huile incolore.

Rf = 0,28/AcOEt-MeOH—9-1.

$[\alpha]_D = -5^\circ$  (c = 0,5; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm): 1,3 (td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,45 (s, 9H, *t* Bu); 1,2–2,2 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 2,85 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P,  $J$  = 21 Hz); 3,55 (m,  $\gamma$ CH<sub>2</sub>); 4,1 (qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 4,55 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,25 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 354 (M + H)<sup>+</sup>; 298 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 280 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 179 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**2-(O,O-diéthyl-N-phosphonoacétyl)amino-4-oxobutyrate de tertibutyle (11):** A partir du composé **15**: L'alcool **15** (4,01 g; 11,4 mmol) est traité de la même manière que pour l'obtention de l'aldéhyde **8**. Le résidu de l'évaporation est chromatographié sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-MeOH/9-1 pour aboutir à l'aldéhyde **11** (2,1 g; 52%) sous forme d'huile.

Rf = 0,39/AcOEt-MeOH—9-1.

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> = +5° (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm): 1,35 (td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,45 (s, 9H, *t* Bu); 2,8 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P,  $J$  = 21 Hz); 3 (d, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 4,15 (qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 4,75 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,3 (d, 1H, NH); 9,7 (s, 1H, CHO).

Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 352 (M + H)<sup>+</sup>; 296 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 278 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 250 ("278"-CO)<sup>+</sup>; 196 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>; 179 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**A partir du thiacétal 10:** Le composé **10** (100 mg; 0,25 mmol) est solubilisé dans un mélange THF-H<sub>2</sub>O/8,5–1,5 (2 ml); à la solution sont ajoutés ensuite HgO (138 mg; 0,63 mmol) et BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O (0,08 ml; 0,63 mmol). La réaction est complète au bout de 3 h à température ambiante. Le mélange est ensuite dilué par l'acétate d'éthyle (6 ml) et la phase organique est lavée par HCl 1N (3 ml) et l'eau (3 ml) puis séchée sur sulfate de sodium. Après évaporation le résidu est chromatographié sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-MeOH/9-1 pour conduire au composé **11** avec un faible rendement (10 mg).

**2-(N-phosphonoacétyl)amino-4-oxobutyrate de sodium (PALA  $\beta$ -aldéhydrique) (12): Préparation du monoacide 11a:** Le composé **11** (50 mg; 0,14 mmol) est solubilisé dans le dichlorométhane à 30% d'acide trifluoroacétique (1 ml) et la solution est laissée en agitation durant 3 h à température ambiante; les composés volatils sont ensuite évaporés et coévaporés à l'éther puis l'huile résiduelle est séchée sous vide pour conduire au monoacide **11a**. Le sel de sodium **11b** du monoacide **11a** est obtenu après saponification de ce dernier dans un mélange d'acétate d'éthyle (0,2 ml) et une solution 1N de NaHCO<sub>3</sub> (0,15 mmol); la phase aqueuse étant lyophilisée à la fin.

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  (ppm): 1,3 (td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2,8 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 2,9 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P,  $J$  = 21 Hz); 4,05 (qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 4,65 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,55 (d, 1H, NH); 9,75 (s, 1H, CHO).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 296 (M + H)<sup>+</sup>; 278 (M + H-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 250 (M + H-H<sub>2</sub>O-CO)<sup>+</sup>; 196 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>; 179 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**Préparation du PALA  $\beta$ -aldéhydrique 12:** Le composé **11a** obtenu ci-dessus est dissous dans l'acétonitrile (1 ml); le bromotriméthylsilane (0,075 ml; 0,78 mmol) est ajouté à la solution pour la laisser en agitation à température ambiante durant 24 h. Les composés volatils sont ensuite évaporés et le résidu est séché sous vide puis hydrolysé par l'eau (2 ml) pendant une demie heure. La solution aqueuse est alors lavée par l'éther puis saponifiée par NaHCO<sub>3</sub> (24 mg; 0,3 mmol). Le composé **12** est obtenu sous forme solide après lyophilisation.

Le composé **12** est dessalé sur résine échangeuse d'ions DOWEX 50WX8.

**Anhydride N-chloroacétyl-L-aspartique (16): Méthode utilisant le chlorure du chloroacétyle:** L'acide aspartique (8,3 g; 62,4 mmol) est mis en suspension dans un mélange d'acétate d'éthyle (500 ml) et de tétrachlorure de carbone (80 ml); le zinc granulé (225 mg) et le chlorure du chloroacétyle (19 ml; 0,24 mol) sont ensuite additionnés. Au bout de 4 h et demie de réaction à reflux, les solvants sont évaporés et le résidu est trituré dans le 1,2-dichloroéthane (40 ml); le solide est ensuite filtré puis mis en agitation durant une demie heure à température ambiante dans l'anhydride acétique (60 ml). Le chloroforme (60 ml) et l'éther de pétrole (160 ml) sont ensuite ajoutés pour précipiter le produit. Après filtration, lavage à l'éther et séchage sous vide le composé **16** (9,05 g; 76%) est obtenu sous forme de solide blanc.

F = 138°C–142°C.

**Méthode utilisant l'anhydride chloroacétique:** L'anhydride chloroacétique (41 g; 0,24 mol) est solubilisé dans le THF (100 ml); l'acide aspartique (10 g; 75,2 mmol) est ensuite ajouté. Le mélange réactionnel est porté à reflux durant 4 h. La solution est concentrée; le solide est ensuite filtré sous azote puis lavé à l'éther. Le composé **16** est alors recueilli sous forme de cristaux blancs (12,97 g; 90%).

F = 156°C–161°C.

$[\alpha]_D = -44^\circ$  (c = 1; DMSO).

RMN<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$  (ppm): 3,05 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 4,2 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,8 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 9 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 192 (M + H)<sup>+</sup>.

*N-chloroacétyl-L-aspartate d' $\alpha$ -méthyle (17)*: L'anhydride **16** (52 g, 0,27 mmol) est mis en suspension dans le méthanol (840 ml); le mélange est ensuite chauffé à reflux durant 4 h. Après évaporation du solvant, le résidu est solubilisé dans l'éther (90 ml) et le composé **17** est précipité par l'éther de pétrole, filtré puis recristallisé dans le dichlorométhane et l'éther de pétrole (4:1) (38,1 g; 63%).

F = 105°C–108°C.

$[\alpha]_D = +34^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 3 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 3,8 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,1 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,8 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,6 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 224 (M + H)<sup>+</sup>; 190 (M + 2H-Cl)<sup>+</sup>; 178 (M + H-H<sub>2</sub>O-CO)<sup>+</sup>; 164 (M + H-MeOH-CO)<sup>+</sup>; 130 (M + 2H-Cl-MeOH-CO)<sup>+</sup>.

*N-chloroacétyl-L-aspartate de  $\beta$ -tertiobutyle et  $\alpha$ -méthyle (18)*: Le monoester **17** (36 g; 0,16 mol) est traité de façon identique à l'obtention du diester **4**, cependant la neutralisation par la soude est faite jusqu'au pH 7. Après extraction par l'acétate d'éthyle (3 fois 350 ml) et séchage de la phase organique sur sulfate de sodium, l'évaporation du solvant conduit à une huile; celle-ci est filtrée sur silice à l'aide de l'acétate d'éthyle pour conduire au composé **18** (28,6 g) qui pourra être phosphonylé sans purification supplémentaire. Le composé **18** est purifié par chromatographies répétées sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-Hexane/1-1 pour sa caractérisation et son utilisation comme précurseur dans la synthèse du dérivé  $\alpha$ -phosphonovinylé.

Rf = 0,35/AcOEt-Hexane—1-1.

$[\alpha]_D = +17^\circ$  (c = 0,5; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,45 (s, 9H, t, Bu); 2,8 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 3,7 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,1 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,7 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,4 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 280 (M + H)<sup>+</sup>; 224 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>.

*O,O-diéthyl-N-phosphonoacétyl-L-aspartate de  $\beta$ -tertiobutyle et  $\alpha$ -méthyle (19)*: Le composé **18** (28,5 g) est traité par le phosphite de triéthyle (71 ml) de manière similaire à l'obtention du phosphonate **10**. Après chromatographie sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-Hexane/2-1, le composé **19** (29 g) est obtenu sous forme d'huile.

Rf = 0,11/AcOEt-Hexane—2-1.

$[\alpha]_D = +25^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,3 (td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,4 (s, 9H, t, Bu); 2,7 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 2,8 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P, J = 21 Hz); 3,7 (s, 3H, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4,1 (qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 4,7 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,3 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 382 (M + H)<sup>+</sup>; 326 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 298 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)<sup>+</sup>; 266 ("326"-MeOH-CO)<sup>+</sup>; 179 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

*3-(O,O-diéthyl-N-phosphonoacétyl)amino-4-hydroxybutyrate de tertibutyle (23)*: Le composé **19** (4,4 g; 11,55 mmol), dissous dans le THF (50 ml), est ajouté goutte à goutte à une solution de NaBH<sub>4</sub> (1,58 g, 39,27 mmol) dans un mélange de THF-H<sub>2</sub>O/4-1 (27 ml). Après agitation du mélange à température ambiante durant 3 h, celui-ci est acidifié par une solution d'HCl 1N puis extrait par l'acétate d'éthyle (3 fois 180 ml). La phase organique est ensuite lavée par une solution saturée en NaCl (180 ml) et l'eau (180 ml) puis séchée sur sulfate de sodium. Le résidu obtenu après évaporation du solvant est alors chromatographié sur gel de silice à l'aide du mélange CHCl<sub>3</sub>-MeOH/9-1 pour conduire à l'alcool **23** (2,3 g; 56%) sous forme d'huile.

Rf = 0,35/CHCl<sub>3</sub>-MeOH—9-1.

$[\alpha]_D = -2^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$  (ppm): 1,35 (td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,45 (s, 9H, t, Bu); 2,5 (dd, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 2,8 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P, J = 21 Hz); 3,6 (m,  $\beta'$ -CH<sub>2</sub>); 4,1 (m, 5H,  $\alpha$ -CH et POCH<sub>2</sub>); 7,2 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 376 (M + Na)<sup>+</sup>; 354 (M + H)<sup>+</sup>; 320 (M + Na-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 298 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 280 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 270 ("298"-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)<sup>+</sup>; 252 ("280"-CO)<sup>+</sup>; 196 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>; 179 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

*3-(O,O-diéthyl-N-phosphonoacétyl)amino-4-oxobutyrate de tertiobutyle (21)*: Le composé **23** (200 mg; 0,57 mmol) est traité de la même manière que pour l'obtention du composé **11**. Une chromatographie rapide sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-MeOH/9-1 conduit au composé **21** (92 mg; 46%).

Rf = 0,32/AcOEt-MeOH—9-1.

$[\alpha]_D = -3^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ (ppm): 1,3(td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,42(s, 9H, t Bu); 2,8(m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 2,95(d, 2H, CH<sub>2</sub>P, J = 21 Hz); 4,1(qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 4,6(m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,5(d, 1H, NH); 9,65(s, 1H, CHO). Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 352 (M + H)<sup>+</sup>; 296 (M + H - C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 278 (M + H - C<sub>4</sub>H<sub>8</sub> - H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 196 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup>; 179[(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

*3-(N-phosphonoacétyl)amino-4-oxobutyrate de sodium (22) (PALA  $\alpha$ -aldéhydrique)*: Le composé **21** est traité de la même façon que pour l'obtention du composé **12** conduisant ainsi au composé **22** sous forme solide.

Le composé **22** est dessalé sur résine échangeuse de cations DOWEX 50WX8.

*3-(N-chloroacétyl)amino-4-hydroxybutyrate de tertiobutyle (20)*: Le composé **18** (45 mg; 0,16 mmol) est traité de la même façon que dans l'obtention de l'alcool **23**. Après évaporation des phases organiques, le résidu est chromatographié sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-Hexane/2-1 pour conduire au composé **20** (26 mg, 64%) sous forme d'huile.

Rf = 0,14/AcOEt-Hexane—2-1.

$[\alpha]_D = -6^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ (ppm): 1,45(s, 9H, t Bu); 2,5(d, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 3,65(m,  $\beta'$ -CH<sub>2</sub>); 4(s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,2(m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,2(d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 252 (M + H)<sup>+</sup>; 218 (M + 2H-Cl)<sup>+</sup>; 196 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 178 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 162 (M + 2H-Cl-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 144 ("162"-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 120 ("196"-ClCHCO)<sup>+</sup> et/ou ("162"-CH<sub>2</sub>CO)<sup>+</sup>.

*3-(N-chloroacétyl)amino-4-oxobutyrate de tertiobutyle (24)*: L'alcool **20** (1,3 g; 5,1 mmol) est traité de manière similaire à l'obtention de l'aldéhyde **8** (durée de réaction 3h). Le résidu de l'évaporation est chromatographié rapidement sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-Hexane/3-2 pour conduire à l'aldéhyde **24** (678 mg; 53%) sous forme d'huile.

Rf = 0,71/AcOEt.

$[\alpha]_D = +2^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ (ppm): 1,45(s, 9H, t Bu); 2,9(m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 4,05(s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,65(m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,6(d, 1H, NH); 9,65(s, 1H, CHO).

Spectre de masse (matrice GT), FAB > 0: 250 (M + H)<sup>+</sup>; 216 (M + 2H-Cl)<sup>+</sup>; 194 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 176 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 160 (M + 2H-Cl-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 142 ("160"-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>; 118 ("194"-ClCHCO)<sup>+</sup> et/ou ("160"-CH<sub>2</sub>CO)<sup>+</sup>.

*5-O,O-diéthylphosphono-4-ène-3-(N-chloroacétyl)aminopentanoate de tertiobutyle (26)*: Le méthyl-ènediphosphonate **25** (0,2 ml; 0,8 mmol) est ajouté à 0°C à une suspension de NaH 80% (29 mg; 0,8 mmol) dans le benzène (2 ml); après une demie heure d'agitation à température ambiante, le mélange est ajouté goutte à goutte à une solution du composé **24** (200 mg; 0,8 mmol) dans le benzène (2 ml). Au bout d'une heure et demie de réaction à température ambiante, le mélange est traité par l'eau (2 ml) et la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium puis le solvant est évaporé. Le composé **26** (166 mg; 54%) est obtenu après chromatographie du résidu sur gel de silice à l'aide de l'acétate d'éthyle.

Rf = 0,25/AcOEt.

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ (ppm): 1,3(td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,45(s, 9H, t Bu); 2,65(d, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 4,1(m, 6H, CH<sub>2</sub>Cl et POCH<sub>2</sub>); 4,98(m, 1H,  $\alpha$ -CH); 5,9(ddd, 1H, H<sub>2</sub>, J<sub>H<sub>2</sub>P</sub> = 17,9 Hz; J<sub>H<sub>2</sub>H<sub>1</sub></sub> = 17,2 Hz; J<sub>H<sub>2</sub>H</sub> = 1,9 Hz); 6,7(ddd, 1H, H<sub>1</sub>, J<sub>H<sub>1</sub>P</sub> = 21,7 Hz; J<sub>H<sub>1</sub>H<sub>2</sub></sub> = 17,2 Hz; J<sub>H<sub>1</sub>H</sub> = 4,3 Hz); 7,6(d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 767 (2M + H)<sup>+</sup>; 384(M + H)<sup>+</sup>; 328 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>)<sup>+</sup>; 310 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>.

*5-O,O-diéthylphosphono-4-ène-3-(O,O-diéthyl-N-phosphonoacétyl) aminopentanoate de tertiobutyle (27)*: Le composé **26** (207 mg; 0,54 mmol) et le phosphite de triéthyle (0,4 ml; 2,3 mmol) sont chauffés à 160°C durant 3 heures et demie dans un appareil à distiller; l'excès de phosphite est ensuite éliminé par distillation et le résidu est trituré dans l'hexane, filtré puis recristallisé dans le mélange AcOEt-Hexane pour conduire au composé **27** (194 mg; 74%) sous forme de cristaux blancs.

F = 77°C–78°C.

Rf = 0,42/AcOEt-MeOH—9-1.

$[\alpha]_D = +1^\circ$  (c = 1; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ (ppm): 1,3 (m, 12H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1,45 (s, 9H, *t* Bu); 2,6 (d, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 2,9 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P, *J* = 21 Hz); 4,05 et 4,15 (qd, 4H, qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 4,98 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 5,9 (ddd, 1H, H<sub>2</sub>, *J*<sub>H<sub>2</sub>P</sub> = 18,9 Hz; *J*<sub>H<sub>2</sub>H<sub>1</sub></sub> = 17,2 Hz; *J*<sub>H<sub>2</sub>H\*</sub> = 1,9 Hz); 6,7 (ddd, 1H, H<sub>1</sub>; *J*<sub>H<sub>1</sub>P</sub> = 21,8 Hz; *J*<sub>H<sub>1</sub>H<sub>2</sub></sub> = 17,2 Hz; *J*<sub>H<sub>1</sub>H\*</sub> = 4,1 Hz); 7,32 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 486 (M + H)<sup>+</sup>; 458 (M + H-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)<sup>+</sup>; 430 (M + H-C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>)<sup>+</sup>; 402 (M + H-C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>-C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>)<sup>+</sup>; 235 [<sup>430</sup>-(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 196 [EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 179 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>CO]<sup>+</sup>; 151 [(EtO)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>; 123 [HO(EtO)P(O)CH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

**5-phosphono-4-ène-3-(N-phosphonoacétyl)aminopentanoate de sodium (PALA  $\alpha$ -phosphonovinylé) (28):** Le composé **27** (100 mg; 0,21 mmol) est mis en agitation dans une solution de dichlorométhane à 20% d'acide trifluoroacétique (1 ml) durant 3h et demie à température ambiante. Après évaporation des composés volatils, coévaporation à l'aide de l'éther et séchage sous vide, le résidu est solubilisé dans l'acétonitrile (0,4 ml) et le bromotriméthylsilane (0,19 ml; 1,47 mmol) est additionné. Au bout de 19h de réaction à température ambiante, les composés volatils sont évaporés et le résidu est hydrolysé dans l'eau (2 ml). La solution aqueuse est ensuite lavée par l'éther (3 fois 1 ml) puis basifiée par une solution de soude 2N jusqu'au pH 8,5 pour conduire après lyophilisation au composé **28** sous forme de solide blanc.

Le produit est caractérisé après passage sur résine échangeuse de cations (DOWEX 50WX8).

$[\alpha]_D = +2^\circ$  (c = 1; H<sub>2</sub>O; forme acide).

RMN<sup>1</sup>H(D<sub>2</sub>O),  $\delta$ (ppm): 2,65 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 2,8 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P, *J* = 21 Hz); 4,8 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 5,9 (ddd, 1H, H<sub>2</sub>, *J*<sub>H<sub>2</sub>P</sub> = 19 Hz; *J*<sub>H<sub>2</sub>H<sub>1</sub></sub> = 17,3 Hz; *J*<sub>H<sub>2</sub>H\*</sub> = 1,8 Hz); 6,45 (ddd, 1H, H<sub>1</sub>; *J*<sub>H<sub>1</sub>P</sub> = 21,7 Hz; *J*<sub>H<sub>1</sub>H<sub>2</sub></sub> = 17,3 Hz; *J*<sub>H<sub>1</sub>H\*</sub> = 4,2 Hz).

**N-chloroacétyl-L-aspartate de diméthyle (29):** Le composé **16** (1g; 5,23 mmol) est mis en suspension dans le méthanol (15 ml), le mélange est porté à reflux durant 4h; après l'avoir refroidi à 0°C, le chlorure de thionyle (0,4 ml; 5,7 mmol) est ajouté goutte à goutte. La solution est ensuite agitée à température ambiante durant 3h puis à 40°C durant 2h. Après évaporation, le résidu est repris par le dichlorométhane (15 ml); la solution est ensuite lavée à l'eau glacée (6 g), séchée sur sulfate de sodium puis évaporée à sec. Le résidu est dissous dans le minimum d'acétate d'éthyle et filtré sur gel de silice pour conduire au composé **29** (762 mg; 62%) sous forme d'huile incolore.

Rf = 0,7/AcOEt

$[\alpha]_D = +15^\circ$  (c = 0,5; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ (ppm): 2,98 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 3,72 et 3,8 (s, 3H, s, 3H, CO<sub>2</sub>Me); 4,18 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 4,87 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 7,58 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 238 (M + H)<sup>+</sup>; 206 (M + H-MeOH)<sup>+</sup>; 178 (<sup>206</sup>-CO)<sup>+</sup>; 113 (<sup>206</sup>-ClCH<sub>2</sub>C(O)NH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>; 102 (<sup>178</sup>-ClCHCO)<sup>+</sup>.

**N-chlorométhylthionyl-L-aspartate de diméthyle (31):** Le composé **29** (5,2 g; 22 mmol) est solubilisé dans le toluène (50 ml), le réactif de Lawesson **30** (5,55 g; 14 mmol) est ensuite ajouté, le mélange est alors agité à 75°C pendant 6h. Après filtration et évaporation, le résidu est chromatographié sur gel silice à l'aide du mélange toluène-AcOEt/8-2. Le composé **31** est enfin obtenu sous forme d'huile jaune (2,83 g; 51%).

Rf = 0,46/toluène-AcOEt/8-2.

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ (ppm): 3,1 (d, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 3,7 et 3,8 (s, 3H, s, 3H, CO<sub>2</sub>Me); 4,5 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Cl); 5,4 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 9,12 (d, 1H, NH).

Spectre de masse, EI > 0: 253 (M)<sup>+</sup>; 222 (M-OMe)<sup>+</sup>; 217 (M-HCl)<sup>+</sup>; 194 (M-COOMe)<sup>+</sup>; 160 (M-SCCH<sub>2</sub>Cl)<sup>+</sup>; 93 (SCCH<sub>2</sub>Cl)<sup>+</sup>.

**O,O-diéthyl-N-phosphonométhylthionyl-L-aspartate de diméthyle (32):** Le composé **31** (1g; 4 mmol) et le phosphite de triéthyle (3 ml; 6 mmol) sont chauffés à 135°C durant 2h et demie dans un appareil de distillation; l'excès de phosphite est ensuite distillé sous vide (16 mm Hg) et le résidu est chromatographié sur gel de silice à l'aide du mélange AcOEt-toluène/8,3-1,7. Le composé **32** est alors obtenu sous forme d'huile jaune (0,82 g; 59%).

Rf = 0,12/AcOEt-toluène—8,3-1,7.

$[\alpha]_D = +20^\circ$  (c = 0,5; AcOEt).

RMN<sup>1</sup>H(CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ (ppm): 1,3 (td, 6H, POCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3,1 (d, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 3,4 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P, *J* = 21 Hz); 3,7 et 3,8 (s, 3H, s, 3H, CO<sub>2</sub>Me); 4,15 (qd, 4H, POCH<sub>2</sub>); 5,4 (m, 1H,  $\alpha$ -CH); 9,2 (d, 1H, NH).

Spectre de masse (matrice NOBA), FAB > 0: 378 (M + Na)<sup>+</sup>; 356 (M + H)<sup>+</sup>; 324 (M + H-MeOH)<sup>+</sup>; 296 (M + H-MeOH-CO)<sup>+</sup>.

*N*-phosphonométhylthionyl-L-aspartate de sodium (**33**): Le composé **32** (35 mmol) est solubilisé dans l'acétonitrile (30 ml), le bromotriméthylsilane (22 ml; 175 mmol) est ensuite ajouté goutte à goutte et le mélange est agité à température ambiante durant 20 h. Après évaporation à sec et séchage sous vide, le résidu est agité dans l'eau (10 ml) à température ambiante durant une demie heure puis lavé à l'éther. Une solution de soude 2N (69 ml) est ensuite ajoutée en gardant le pH < 11,5. L'acide thio-PALA est ensuite obtenu sous forme de solide blanc après dessalage sur résine Dowex 50 W-X8 puis lyophilisation. Cet acide est ensuite saponifié, dans 50 ml d'eau, par une solution de soude 2N jusqu'à pH 8,5.

RMN<sup>1</sup>H(D<sub>2</sub>O),  $\delta$ (ppm): 3,2 (d, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub>); 3,5 (d, 2H, CH<sub>2</sub>P,  $J$  = 21 Hz); 5,5 (m, 1H,  $\alpha$ -CH).

#### Mesure de l'Inhibition de l'Activité ATCasique

**Réaction de coloration:** Le carbamylaspartate, produit de la réaction enzymatique, se condense avec l'antipyrine par l'intermédiaire de son groupement uréide, en présence d'acide sulfurique et de diacétylmonooxime. Le composé formé présente un maximum d'absorption à 466 nm. La réaction enzymatique (1 ml) est arrêtée par addition d'1 ml du mélange de coloration. Les tubes sont placés à l'obscurité à 60°C pendant 2 heures afin de s'assurer que la réaction est totale. Les mesures ont été faites avec un spectrophotomètre SAFAS 170 DES double faisceau doté d'un logiciel multitâche.

**Activité ATCasique:** L'activité enzymatique a été évaluée par suivi cinétique de l'apparition du produit de réaction CAA dosé par spectrophotométrie ( $\lambda$  = 466 nm) selon Prescott et Jones.<sup>27</sup> Le milieu réactionnel était constitué de: Tris-acétate (50 mM); CAP (5 mM); ATCase (7.10<sup>-3</sup> UI/ml); Asp (40 à 7 mM) (40,20,13,10 et 7 mM); temps d'incubation à 37°C; référence (sans enzyme); pH (8, 5).

**Inhibition:** Les pourcentages d'inhibition (I%) ont été calculés pour le PALA et chacun des composés étudiés, tous testés à la même concentration (2 mM), à partir des vitesses initiales de réaction mesurées respectivement en l'absence (V<sub>0</sub>) et en présence (V<sub>i</sub>) de l'effecteur.

TABLEAU II  
Taux d'inhibition de l'ATCase en fonction de la concentration des inhibiteurs

Inhibiteur	[CAA] ( $\mu$ M)	[CAA] <sub>moy</sub> ( $\mu$ M)	V <sub>0</sub> ( $\mu$ mol/mn.l)	I%
—	46 41 39 37 37	40	8	00
PALA 1	30 27 26 24 21	25,6	5,12	36
PALA $\beta$ -ald 12	13 12 11 10 8	10,8	2,15	73
PALA-thio 33	18 13 10 9 6	11	2,2	72
PALA $\alpha$ -vinyl-P 28	36 34 33 33 30	33,3	6,65	17



$$I\% = 100 [(V_0 - V_1)/V_0]$$

Le milieu réactionnel était constitué de: Tris-acétate (50 mM); CAP (5 mM); ATCase ( $14.10^{-3}$  UI/ml); Asp (40 mM); inhibiteur (2 mM); temps d'incubation à 37°C (5 mn); référence (sans enzyme); pH (8,5) (Tableau II).

## BIBLIOGRAPHIE

1. (a) P. Borger, *J. Pesticide Sci.*, **12**, 749 (1987); (b) G. R. Starck and P. A. Bartlett, *Pharmac. Ther.*, **23**, 45 (1983).
2. J. J. Goodson, C. J. Wharton and R. Wrigglesworth, *J. Chem. Soc. Perkin I*, 2721 (1980).
3. J. L. Montero, A. Ahibo and J. L. Imbach, *Ann. Univ. Abidjan Série C Sciences*, **17**, 97 (1981).
4. G. K. Farrington, A. Kumar and F. Wedler, *J. Med. Chem.*, **28**, 1668 (1985).
5. S. D. Lindell and R. M. Turner, *Tetrahedron Lett.*, **31**, 5381 (1990).
6. K. E. Pfitzner and J. G. Moffatt, *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 3027 (1963).
7. K. E. Pfitzner and J. G. Moffatt, *J. Amer. Chem. Soc.*, **87**, 5661 (1965).
8. K. E. Pfitzner and J. G. Moffatt, *J. Amer. Chem. Soc.*, **87**, 5670 (1965).
9. K. Ishizumi, K. Koga and S. Yamada, *Chem. Pharm. Bull.*, **16**, 492 (1968).
10. K. D. Collins and G. R. Stark, *J. Biol. Chem.*, **246**, 6599 (1971).
11. L. Benoiton, *Can. J. Chem.*, **40**, 570 (1962).
12. R. Rabinowitz, *J. Org. Chem.*, **28**, 2975 (1963).
13. C. E. McKenna, H. T. Higa, N. H. Higa and M. McKenna, *Tetrahedron Lett.*, 155 (1977).
14. T. Morita, Y. Okamoto and H. Sakurai, *Tetrahedron Lett.*, 2523 (1978).
15. H. Seki, K. Koga, H. Matsuo, S. Ohki, I. Matsuo and S. Yamada, *Chem. Pharm. Bull.*, **13**, 995 (1965).
16. A. Ito, R. Takahashi and Y. Baba, *Chem. Pharm. Bull.*, **23**, 3081 (1975).
17. K. Kawamura, S. Kondo, K. Maeda and H. Umezawa, *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 1902 (1969).
18. H. Seki, K. Koga and S. Yamada, *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 361 (1972).
19. H. Suda, T. Takita, T. Aoyagi and H. Umezawa, *Journal of Antibiotics*, **29**, 600 (1976).
20. M. Lapidus and M. Sweeney, *J. Med. Chem.*, **16**, 163 (1973).
21. T. L. Hular, *Tetrahedron Lett.*, **49**, 4921 (1967).
22. N. Lalinde, B. E. Tropp and R. Engel, *Tetrahedron*, **39**, 2369 (1983).
23. H. P. Albrecht, J. H. Jones and J. G. Moffatt, *Tetrahedron*, **40**, 79 (1984).
24. Y. Vo-Quang, A. M. Gravey, R. Simonneau, L. Vo-Quang, A. M. Lacoste and F. LeGoffic, *Tetrahedron Lett.*, **28**, 6167 (1987).
25. K. Yoshino, T. Kohno, T. Morita and G. Tsukamoto, *J. Med. Chem.*, **32**, 1528 (1989).
26. G. M. Kosolapoff, *J. Amer. Chem. Soc.*, **75**, 1500 (1953).
27. L. M. Prescott and M. E. Jones, *Anal. Biochem.*, **32**, 408 (1969).
28. (a) A. E. Arbuzov, *J. Russ. Phys. Chem. Soc.*, **38**, 687 (1906); (b) J. L. Montero and J. L. Imbach, *Eur. J. Med. Chem.*, **17**, 97 (1982).
29. S. Scheibye, B. S. Pedersen and S. O. Lawesson, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **87**, 229 (1978).