

This article was downloaded by:

On: 28 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>

SYNTHÈSE DE MANNOSE 6-PHOSPHONATES, ANALOGUES ISOSTÈRES DU MANNOSE 6-PHOSPHATE

Carole Vidil^a; Sébastien Vidal^a; Alain Morère^a; Jean-Louis Montero^a

^a Laboratoire de Chimie Biomoléculaire CC073, Université Montpellier II, Montpellier cedex 05, France

To cite this Article Vidil, Carole , Vidal, Sébastien , Morère, Alain and Montero, Jean-Louis(2000) 'SYNTHÈSE DE MANNOSE 6-PHOSPHONATES, ANALOGUES ISOSTÈRES DU MANNOSE 6-PHOSPHATE', *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 158: 1, 125 — 139

To link to this Article: DOI: 10.1080/10426500008042080

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/10426500008042080>

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.

SYNTHÈSE DE MANNOSE 6-PHOSPHONATES, ANALOGUES ISOSTÈRES DU MANNOSE 6-PHOSPHATE

**CAROLE VIDIL, SÉBASTIEN VIDAL, ALAIN MORÈRE et
JEAN-LOUIS MONTERO***

*Laboratoire de Chimie Biomoléculaire CC073, Université Montpellier II,
Place Eugène Bataillon, F-34095 Montpellier cedex 05, France*

(soumis le 8 juin, 1999)

Nous décrivons la synthèse de deux phosphonates analogues isostères du Mannose 6-Phosphate (M6P). Ce dernier est un marqueur de reconnaissance présent dans la structure des enzymes lysosomales et est indispensable à leur transport vers les lysosomes. Le phosphonate 1 bioisostère du M6P a été obtenu par une méthode de préparation impliquant l'utilisation du groupement triméthylsilyle comme groupe protecteur des fonctions alcool secondaire du mannose. Seule cette voie de synthèse a permis l'obtention du mannosylphosphonate 2 fonctionnalisé en position anomérique par un groupement paraaminophényle qui est couramment utilisé pour former des liens avec des protéines ou d'autres substrats présentant un intérêt biologique.

The synthesis of two isosteric phosphonate analogs of the M6P recognition marker, present in the lysosomal enzyme structure, is described. The phosphonate 1, a bioisosteric analog of the M6P was obtained via a multistep synthesis using the trimethylsilyl protective group. Only this method allowed the obtention of the mannosylphosphonate 2, functionalized in the anomeric position by a paraaminophenyl group which is commonly use to link proteins or other substrates of biological interest.

Keywords: mannose 6-phosphate; mannose 6-phosphate/insuline-like growth factor II receptor; isosteric analogs; phosphonates; trimethylsilyl protective group

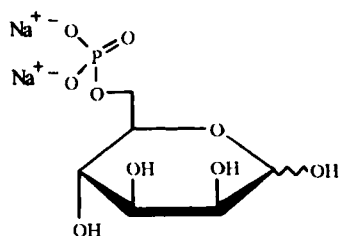
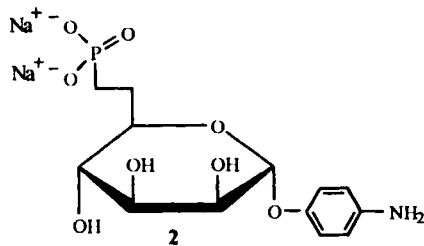
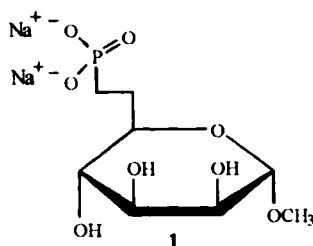
INTRODUCTION

Les récepteurs qui lient le marqueur de reconnaissance mannose 6-phosphate (M6P) occupent une place fondamentale concernant le bon fonctionnement de la cellule. Les résidus M6P sont en effet impliqués dans le

* Correspondant.

transport sélectif des enzymes lysosomales. Ces dernières sont adressées vers les lysosomes *via* la reconnaissance, par les récepteurs M6P, de l'étiquette M6P dont elles sont pourvues. Le pH acide des lysosomes favorise ensuite la dissociation du complexe formé par l'enzyme et le récepteur.^[1] Celui-ci est alors recyclé et retourne soit vers l'appareil de Golgi soit vers la membrane plasmique. Deux récepteurs M6P ont été identifiés^[2,3] : le petit récepteur mannose 6-phosphate et le grand récepteur mannose 6-phosphate que l'on appelle également récepteur M6P/IGFII puisqu'il possède un site de liaison au facteur de croissance IGFII. Tandis que les deux récepteurs sont présents à la membrane plasmique, seul le récepteur M6P/IGFII est capable d'endocyter des protéines extracellulaires possédant le résidu M6P et donc de les diriger vers les lysosomes.^[4] Ainsi, le signal M6P pourrait jouer le rôle d'une clé reconnue par le récepteur M6P/IGFII, dans le but de transporter une molécule biologiquement active à l'intérieur de la cellule et de la cibler vers les lysosomes. Cependant le principal inconvénient des phosphates est leur sensibilité à l'hydrolyse par les phosphatases. C'est pourquoi nous nous intéressons à la synthèse d'analogues du M6P. Afin d'éviter cette hydrolyse, nous avons opté pour la synthèse de phosphonates pour lesquels une liaison P-C, stable vis-à-vis des coupures enzymatiques, remplace la liaison P-O du lien phosphomonoester du M6P.^[5] Une étude récente^[6] nous a permis de mettre en évidence que le phosphonate **1** (schéma 1) analogue isostère du M6P présente une affinité comparable à celle du M6P, vis-à-vis du récepteur M6P/IGFII.

Les résultats biologiques que nous avons obtenus nous ont donc incités à préparer un phosphonate analogue isostère fonctionnalisé en position anomérique afin de permettre des réactions de couplage avec divers substrats d'intérêt biologique. Notre choix s'est porté sur l' α -D-mannopyranoside de paranitrophényle. En effet, ce composé présente les avantages d'être anomériquement pur et de posséder un groupement nitro dont la réduction en fonction amine permet d'envisager la formation de liens stables de type amide, urée ou thiourée. D'autre part, le groupement paranitrophényle constitue un bras espaceur qui permet d'écarter le principe actif de la partie osidique reconnue par les récepteurs. Enfin, il a été démontré que le M6P possédant le groupement paranitrophényle en position anomérique présente une affinité légèrement supérieure à celle du M6P vis-à-vis du récepteur M6P/IGFII.^[7] Cette dernière observation nous permet donc d'espérer qu'il en ira de même pour le mannosyl phosphonate **2** (schéma 1).

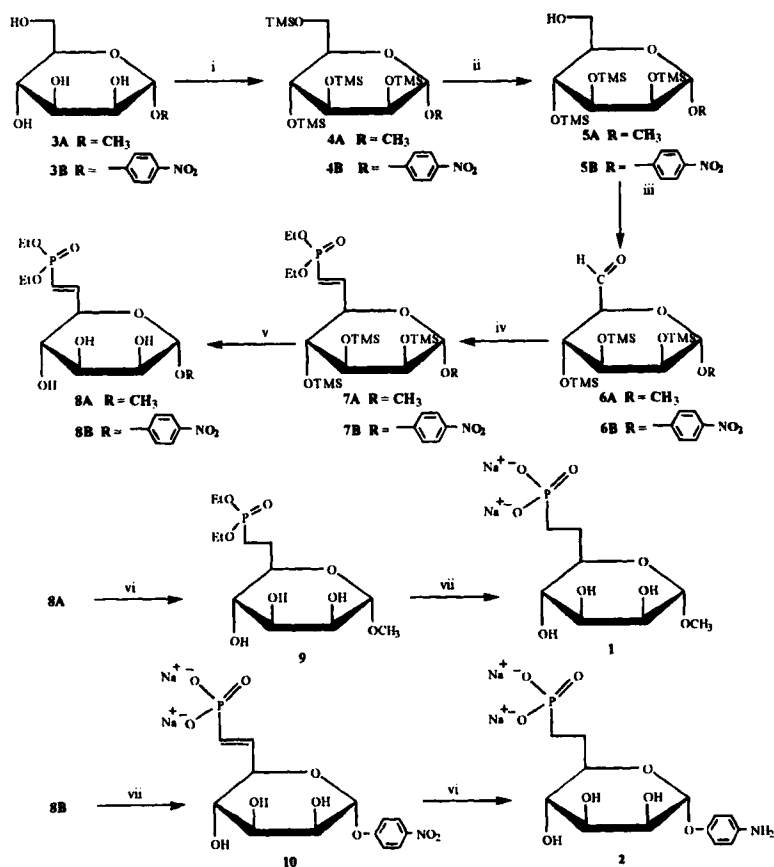
**Mannose 6-Phosphate**

SCHEMA 1 phosphonates analogues isostères du mannose 6-phosphate

RESEULTATS ET DISCUSSION

Afin d'obtenir la molécule cible **2**, nous avons repris la voie de synthèse que nous avons utilisée précédemment,^[6] impliquant des groupements protecteurs de type benzyle pour les alcools secondaires du sucre. Cette procédure ne nous a pas permis d'atteindre avec des rendements satisfaisants le composé **2**, ceci en raison d'une part de problèmes de stabilité du groupement paranitrophényle en milieu basique et d'autre part de problèmes de débenzylation des alcools secondaires. Toutefois, il est impératif de protéger les alcools secondaires par des liens de type éther, de manière à obtenir un rendement global satisfaisant. La protection de type éther silylé, quoique relativement peu utilisée pour la protection des alcools secondaires des monosaccharides, semble être bien appropriée en la circonstance. Notre choix s'est porté sur le groupement triméthylsilyle. L'utilisation de ce groupe masquant est intéressante parce qu'elle n'oblige pas à une protection orthogonale des fonctions alcool secondaire vis-à-vis de l'alcool primaire que nous souhaitons fonctionnaliser. Comme cela a

été décrit en série du glucose par McInnes,^[8,9] il est en effet possible de démasquer sélectivement la position alcool primaire d'un dérivé persilylé. Afin de vérifier la faisabilité de cette approche, dans un premier temps nous avons repris la synthèse du phosphonate **1** (schéma 2).



i : (CH₃)₃SiCl, Et₃N, DMAP*, 20°C, 72h - ii : MeOH, K₂CO₃, 0°C, 10 min - iii : (COCl)₂, DMSO, iPr₂NEt., -60°C, 20 min - iv : MDPT**, NaH, C₆H₆, 20°C, 30 min - v : CH₃CN ou THF, HCl 1 M, 20°C, 10 min - vi : EtOH/H₂O (50 : 50), H₂/Pd/C, 20°C, **8A** : 5h, **2** : 24h - vii : a) CH₃CN, pyridine, (CH₃)₃SiBr, 20°C, 2h; b) H₂O, pyridine, 0°C puis 20°C, 2h; Dowex 50WX2 (Na⁺), 20°C, 5h.

* DMAP : 4-diméthylaminopyridine.

** MDPT : méthylène diphosphonate de tétraéthyle.

SCHEMA 2 synthèses des phosphonates analogues isostères du M6P (**1** et **2**)

Pour cela, l' α -D-mannopyranoside de méthyle est persilylé par le chlorure de triméthylsilyle en présence de triéthylamine et de 4-diméthylaminopyridine pour conduire au composé **4A** avec un rendement de 86%. Ensuite la fonction alcool primaire est déprotégée sélectivement par une réaction d'hydrolyse basique, en milieu méthanol / K_2CO_3 . Le dérivé **5A** obtenu, après purification, sous forme de cristaux blancs avec un rendement de 76%, est alors oxydé en aldéhyde **6A** selon la méthode de Swern.^[10,11,12] Afin d'éviter toute décomposition de ce dernier, le brut réactionnel est aussitôt mis en réaction avec l'anion du méthylène diphosphonate de tétraéthyle afin d'obtenir, *via* une réaction de Wittig-Horner,^[13] le vinylphosphonate **7A**. Celui-ci, après purification, est récupéré sous forme de cristaux blancs, avec un rendement de 50% (à partir de l'alcool **4A**). L'étude RMN du proton confirme la structure du phosphonate obtenu. L'analyse des signaux correspondant aux protons vinyliques H_6 et H_7 indique que la réaction est stéréospécifique puisque seul le stéréoisomère E est obtenu, ($J_{6-7} = 17,2$ Hz). Le proton H_7 résonne à 6,19 ppm sous forme de doublet dédoublé dédoublé (ddd) ($J_{7-p} = 22,0$ Hz, $J_{5-7} = 1,9$ Hz). De la même manière, le proton H_6 résonne à 6,89 ppm sous la forme d'un ddd ($J_{6-p} = 22,8$ Hz, $J_{5-6} = 4,1$ Hz). Le spectre de RMN du phosphore permet de visualiser un signal à 19,8 ppm, qui correspond aux valeurs observées pour les phosphonates (généralement comprises entre 10 et 35 ppm). Le clivage des groupements triméthylsilyle est ensuite réalisé très aisément en milieu HCl 1 M. La double liaison du phosphonate **8A** est alors réduite par hydrogénation catalytique, en présence de Pd/C 10% pour conduire au dérivé **9** avec un rendement quantitatif. Les caractéristiques spectrales du composé **9** corroborent parfaitement avec celles obtenues par la méthode utilisant les groupements benzyle.^[6] L'étape suivante, consistant en la réaction de transestérification du phosphonate de dialkyle par Me_3SiBr ^[14] suivie de l'hydrolyse des liaisons Si-O, permet l'obtention du phosphonate **1**,^[6] analogue isostère du M6P. Nous noterons que le phosphonate **9** est obtenu en 6 étapes quelque soit le groupement protecteur utilisé, benzyle ou triméthylsilyle. Cette méthode de préparation de mannosylphosphonates donnant de bons résultats, nous l'avons étendue à la synthèse du phosphonate **2**, analogue isostère du M6P et fonctionnalisé en position anomérique par le groupement paraaminophényle. La synthèse à partir du α -D-mannopyranoside de paranitrophényle s'effectue selon le même protocole mis au point en série du α -D-mannopyranoside de méthyle. De même, les

caractéristiques spectrales confirment la structure du phosphonate **7B**, d'isomérisation E. En effet, le proton H_7 résonne à 6,03 ppm sous forme de ddd ($J_{7-P} = 21,1$ Hz, $J_{6-7} = 17,2$ Hz, $J_{5-7} = 1,8$ Hz). De la même manière, le proton H_6 résonne à 6,82 ppm sous la forme d'un ddd ($J_{6-P} = 22,7$ Hz, $J_{5-6} = 4,2$ Hz). La RMN du phosphore permet d'observer un signal à 19,2 ppm et la RMN du silicium permet d'observer 3 signaux à 19,33; 19,48 et 20,96 ppm. L'étape suivante de déprotection des alcools secondaires conduit au dérivé **8B** avec un rendement de 94%. Le phosphonate est ensuite déprotégé par traitement avec $Me_3SiBr^{[14]}$ pour conduire à **10** avec 65% de rendement. La dernière étape d'hydrogénation catalytique permet, comme précédemment, la réduction de la double liaison, ainsi que celle du groupement nitro en fonction amine pour conduire au phosphonate **2** avec un rendement de 90%.

CONCLUSION

Le phosphonate **1** analogue isostère du M6P présente une bonne affinité vis-à-vis des récepteurs M6P. Afin de coupler divers substrats à ce type de mannosylphosphonate et d'étudier le devenir biologique de ces molécules adressées vers les RM6P, nous avons préparé le phosphonate **2** analogue isostère du M6P, fonctionnalisé en position anomérique par le groupement paraaminophényle. La stratégie de synthèse envisagée a nécessité tout d'abord une mise au point en série du α -D-mannopyranoside de méthyle. La procédure suivie utilise le groupement triméthylsilyle comme groupe protecteur des fonctions alcool secondaire. Après une séquence de synthèses multi-étapes les mannosylphosphonates **1** et **2** ont été obtenus avec un rendement global respectivement de 20% et de 19%. Notre objectif est à présent de coupler au phosphonate **2** en formant des liens amides, urée ou thiourée, des molécules biologiquement actives afin de faciliter leur pénétration cellulaire. Le couplage de **2** à diverses protéines est en cours de réalisation.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les spectres RMN 1H , ^{29}Si et ^{31}P ont été enregistrés sur un appareil Bruker AC-250 et les spectres RMN ^{13}C sur un appareil Bruker

WP-200-SY. Le solvant est spécifié pour chaque produit. Le TMS sert de référence interne pour les noyaux ^1H et ^{29}Si . L'acide phosphorique à 85% sert de référence externe pour le noyau ^{31}P . Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm.

Les spectres de masse ont été enregistrés sur un appareil DX 300 JEOL en mode FAB+ (sauf indications contraires).

Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés avec un spectromètre Perkin-Elmer 241, en utilisant la raie D du sodium.

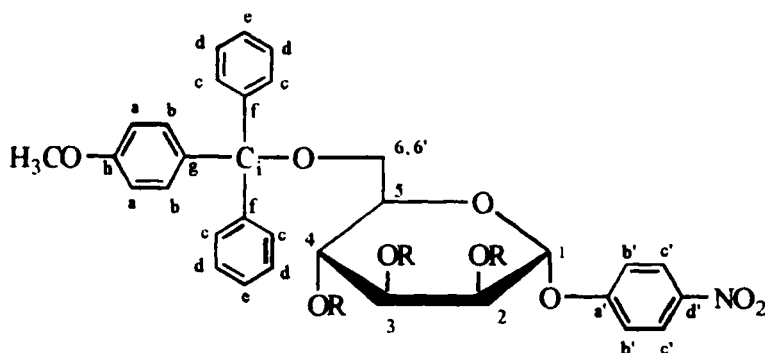
Les réactions sont suivies par chromatographie sur couche mince, sur plaque de silice Merck 60 F 254 et visualisées sous UV et/ou par pulvérisation de H_2SO_4 aqueux (10%). Les aldéhydes sont révélés par pulvérisation d'une solution de rhodanine (5% dans l'éthanol).

Les chromatographies sont effectuées sur support de gel de silice Merck 60H (Art. 9385). Les chromatographies en phase inverse sont effectuées sur support de gel de silice greffée Merck (Lichroprep RP-18 ; 25–40 μm).

La résine échangeuse de cations (50WX2 H^+ Dowex) est lavée par une solution 1 M de soude puis avec de l'eau désionisée.

Les points de fusion non corrigés ont été déterminés en capillaire sur un appareil Büchi 510.

Numérotation utilisée



2,3,4,6-tétra-O-triméthylsilyl- α -D-mannopyranoside de méthyle 4A

Au composé **3A** (3 g ; $15,5 \cdot 10^{-3}$ mol) dissous dans 70 mL de THF, sont additionnés successivement 9,3 équivalents de Et_3N (20 mL ; $1,44 \cdot 10^{-1}$ mol) et 8,2 équivalents de chlorure de triméthylsilyle (16 mL ; $1,27 \cdot 10^{-1}$ mol). Lors de la réaction, un précipité se forme et le mélange réactionnel est laissé sous agitation pendant 72 h. Au bout de trois jours, le solvant ainsi que l'excès de réactifs, sont éliminés par évaporation sous pression réduite. La phase organique est alors extraite par le CH_2Cl_2 , séchée (Na_2SO_4), filtrée et concentrée. Le résidu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane-éther, 80:20). Le produit **4A** (6,40 g) est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 86%. $[\alpha]_D^{20} = +41^\circ$ (c 1,12, CHCl_3) ; $R_f = 0,68$ (hexane-dichlorométhane, 30:70) ; RMN ^1H (CDCl_3) : 0,10–0,20 (m, 36H, 4 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 3,35 (s, 3H, C-1 OCH_3), 3,40–3,50 (ddd, 1H, $J_{4-5} = 8,3$ Hz, $J_{5-6} = 2,2$ Hz, $J_{5-6'} = 5,8$ Hz, H-5), 3,65–3,85 (m, 5H, H-2,3,4,6,6'), 4,50 (d, 1H, $J_{1-2} = 1,7$ Hz, H-1) ; RMN ^{13}C (CDCl_3) : 0,30 ; 0,83 ; 1,02 ; 1,11 (4s, 4 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 54,74 (s, C-1 OCH_3), 63,05 (s, C-6), 68,79 ; 73,12 ; 73,84 ; 75,04 (4s, C-2,3,4,5), 102,06 (s, C-1) ; RMN ^{29}Si (CDCl_3) : 19,02 ; 18,23 ; 17,55 ; 16,83 (4s, 4 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$) ; SM FAB > 0 m/z (matrice : alcool nitrobenzylique) : 505 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$, 4%), 483 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 1%).

2,3,4,6-tétra-O-triméthylsilyl- α -D-mannopyranoside de paranitrophényle 4B

Le composé **4B** est préparé selon le même mode opératoire décrit pour le composé **4A**. Le brut réactionnel est ensuite purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane-éther, 80:20). Le produit **4B** (2,33 g) est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 85%. $[\alpha]_D^{20} = +104^\circ$ (c 1,33, CHCl_3) ; $R_f = 0,53$ (hexane-éther, 60:40) ; RMN ^1H (CDCl_3) : 0,10–0,25 (m, 36H, 4 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 3,46–3,52 (m, 1 H, H-5), 3,68–4,05 (m, 5H, H-2,3,4,6,6'), 5,40 (d, 1H, $J_{1-2} = 2,5$ Hz, H-1), 7,20 et 8,20 (AM_q , $J_{\text{AM}} = 9,3$ Hz, 4H, PhNO_2) ; RMN ^{13}C (CDCl_3) : 0,15 ; 0,45 ; 0,63 (4s, 4 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 61,91 (s, C-6), 68,09 ; 72,80 ; 72,79 ; 76,27 (4s, C-2,3,4,5), 99,28 (s, C-1), 116,65 (s, C-b'), 125,68 (s, C-c'), 142,43 (s, C-d'), 161,62 (s, C-a') ; RMN ^{29}Si (CDCl_3) : 18,50 ; 18,52 ; 18,63 ; 19,90 (4s, 4 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$) ; SM FAB > 0 m/z (matrice : 50/50, v/v, glycérol-thioglycérol) : 613 ($[\text{M} + \text{H} + \text{Na}]^+$, 0,2%).

2,3,4-tri-O-triméthylsilyl- α -D-mannopyranoside de méthyle **5A**

Une solution du composé persilylé **4A** (4 g ; $8,3 \cdot 10^{-3}$ mL), solubilisé dans 27 mL de méthanol anhydre, est refroidie à 0°C. Une quantité catalytique de K_2CO_3 (0,001 équivalent, $4,6 \cdot 10^{-2}$ g ; $3,32 \cdot 10^{-4}$ mol), dissous dans 10 mL de méthanol anhydre, est additionnée goutte à goutte. Le mélange réactionnel est alors agité pendant 30 min à 0°C. La phase organique est ensuite extraite au CH_2Cl_2 , séchée (Na_2SO_4), filtrée et concentrée. Le brut réactionnel est chromatographié sur colonne de gel de silice (hexane-éther, 80:20). Le composé **5A** (2,61 g) est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 77%. $[\alpha]_D^{20} = +46^\circ$ (*c* 1,00, $CHCl_3$) ; Rf = 0,29 (hexane-éther, 70:30) ; RMN 1H ($CDCl_3$) : 0,10–0,20 (m, 27H, 3 $Si(CH_3)_3$), 2,20 (t, 1H, $J_{OH-H6} = J_{OH-H6'} = 6,5$ Hz, CH_2OH), 3,35 (s, 3H, C-1 OCH_3), 3,45–3,60 (ddd, 1H, $J_{4-5} = 8,5$ Hz, $J_{5-6} = 3,1$ Hz, $J_{5-6'} = 4,8$ Hz, H-5), 3,65–3,95 (m, 5H, H-2,3,4,6,6'), 4,50 (d, 1H, $J_{1-2} = 1,5$ Hz, H-1) ; RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 0,76 ; 1,05 ; 1,08 (3s, 3 $Si(CH_3)_3$), 55,04 (s, C-1 OCH_3), 62,65 (s, C-6), 68,50 ; 72,84 ; 73,94 ; 74,14 (4s, C-2,3,4,5), 102,39 (s, C-1) ; RMN ^{29}Si ($CDCl_3$) : 19,62 ; 18,17 ; 17,74 (3 s, 3 $Si(CH_3)_3$) ; SM FAB > 0 m/z (matrice : alcool nitrobenzylique) : 433 ($[M + Na]^+$, 11%).

2,3,4-tri-O-triméthylsilyl- α -D-mannopyranoside de paranitrophényle **5B**

Le composé **5B** est préparé selon le même mode opératoire décrit pour le composé **5A**. Le résidu est chromatographié sur colonne de gel de silice (hexane-éther, 80:20). Le composé **5B** ($8,7 \cdot 10^{-1}$ g) est obtenu sous forme d'une huile incolore avec un rendement de 76%. $[\alpha]_D^{20} = +116^\circ$ (*c* 1,13, $CHCl_3$) ; Rf = 0,40 (hexane-éther, 70:30) ; RMN 1H ($CDCl_3$) : 0,17–0,28 (m, 27H, 3 $Si(CH_3)_3$), 3,58 (m, 1H, H-5), 3,52–3,76 (m, 2H, H-6,6'), 3,91–4,10 (m, 3H, H-2,3,4), 5,48 (d, 1H, $J_{1-2} = 2,3$ Hz, H-1), 7,20 et 7,80 (AMq, 4H, $J_{AM} = 10,4$ Hz, $PhNO_2$) ; RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : 0,41 ; 0,63 ; 0,64 (3s, 3 $Si(CH_3)_3$), 61,56 (s, C-6), 67,66 ; 72,52 ; 72,92 ; 75,70 (4s, C-2,3,4,5), 99,16 (s, C-1), 116,33 (s, C-b'), 125,86 (s, C-c'), 142,60 (s, C-d'), 161,19 (s, C-a') ; RMN ^{29}Si ($CDCl_3$) : 19,19 ; 19,29 ; 20,43 (3 s, 3 $Si(CH_3)_3$) ; SM FAB > 0 m/z (matrice : alcool nitrobenzylique) : 540 ($[M + Na]^+$, 5%).

2,3,4-tri-O-triméthylsilyl-1,5-hexodialdo- α -D-mannopyranoside de méthyle 6A

Dans un ballon bicol et sous un courant d'azote, 1,1 équivalents de $(\text{COCl})_2$ ($4,6 \cdot 10^{-1}$ mL ; $5,37 \cdot 10^{-3}$ mol) sont dissous dans 5,8 mL de THF anhydre. Le mélange réactionnel est refroidi à -60°C . Le DMSO (2,4 équivalents ; $8,32 \cdot 10^{-1}$ mL ; $11,7 \cdot 10^{-3}$ mol) est alors ajouté goutte à goutte. Un dégagement gazeux se produit. Après 10 min d'agitation, le composé **5A** (2 g ; $4,88 \cdot 10^{-3}$ mol) dissous dans 4,8 mL de THF anhydre est ajouté goutte à goutte. Après 15 min d'agitation à -60°C , 5 équivalents de diisopropyléthylamine (4,2 mL ; $24,4 \cdot 10^{-3}$ mol) sont ajoutés goutte à goutte. Après 20 min d'agitation à -60°C le mélange réactionnel est laissé à température ambiante pendant 1h. Du CH_2Cl_2 est ajouté à la solution afin d'extraire la phase organique qui est ensuite séchée (Na_2SO_4), filtrée et concentrée. Une analyse en RMN du proton, effectuée sur le brut réactionnel, montre que l'aldéhyde **6A** est obtenu avec un rendement de 70%. RMN ^1H (CDCl_3) : 9,75 (d, 1H, $J_{\text{H5-CHO}} = 1,7$ Hz, CHO).

2,3,4-tri-O-triméthylsilyl- α -D-manno-hexodialdo-1,5-pyranoside de paranitrophényle 6B

Le composé **6B** est préparé selon le même mode opératoire que le composé **6A**. Une analyse en RMN du proton, effectuée sur le brut réactionnel, montre que l'aldéhyde **6B** est obtenu avec un rendement de 75%. RMN ^1H (CDCl_3) : 0,17–0,27 (m, 27H, 3 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 3,76 (m, 1H, H-5), 3,85–4,31 (m, 3H, H-2,3,4), 5,70 (d, 1H, $J_{1-2} = 7,0$ Hz, H-1), 7,40 et 8,20 (AM_q , 4H $J_{\text{AM}} = 9,2$ Hz, PhNO_2), 9,69 (s, 1H, CHO).

2,3,4-tri-O-triméthylsilyl-6-désoxy-6-diéthoxyphosphinylméthylène- α -D-mannopyranoside de méthyle 7A

Dans un ballon bicol et sous un courant d'azote, 2 équivalents de NaH à 95% ($24,7 \cdot 10^{-2}$ g ; $9,80 \cdot 10^{-3}$ mol) sont ajoutés à 40 mL de benzène anhydre. Le méthylènediphosphonate de tétraéthyle (2,5 équivalents ; 2,92 mL ; $11,7 \cdot 10^{-3}$ mol) est alors ajouté goutte à goutte. Une fois le dégagement d'hydrogène terminé (30 min), le composé **6A** (2,0 g ; $4,88 \cdot 10^{-3}$ mol) dissous dans 3,53 mL de benzène anhydre est ajouté goutte à goutte à 20°C . Après 30 min sous agitation à température ambiante, le

benzène est évaporé. Du CH_2Cl_2 est ajouté pour solubiliser le brut obtenu. De l'eau est ensuite versée sur le mélange réactionnel et la phase organique est extraite par le CH_2Cl_2 , séchée (Na_2SO_4), filtrée et concentrée. Le composé **7A** (1,30 g ; $2,4 \cdot 10^{-3}$ mol) est obtenu, sous forme de cristaux blancs, après chromatographie sur colonne de gel de silice (acétate d'éthyle-éther de pétrole, 90:10 puis 70:30) avec un rendement de 50%. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +52^\circ$ (c 1,00, CHCl_3) ; $R_f = 0,44$ (acétate d'éthyle-éther de pétrole, 50:50) ; $F^\circ = 76-77^\circ\text{C}$; RMN ^1H (CDCl_3) : 0,10–0,20 (m, 27H, 3 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 1,35 (t, 6H, $J_{\text{CH}_3\text{CH}_2} = 7,2$ Hz, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 3,33 (s, 3H, C-1 OCH_3), 3,67 (t, 1H, $J_{3-4} = J_{4-5} = 8,3$ Hz, H-4), 3,78 (dd, 1H, $J_{2-3} = 2,4$ Hz, H-3), 3,80 (dd, 1H, $J_{1-2} = 1,8$ Hz, H-2), 4,00–4,08 (m, 1H, H-5), 4,12 (q, 4H, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 4,54 (d, 1H, H-1), 6,89 (ddd, 1H, $J_{5-6} = 4,1$ Hz, $J_{6-7} = 17,2$ Hz, $J_{6-P} = 22,8$ Hz, H-6), 6,19 (ddd, 1H, $J_{5-7} = 1,9$ Hz, $J_{7-P} = 22,0$ Hz, H-7) ; RMN ^{13}C (CDCl_3) : 0,73 ; 1,03 ; 1,16 (3s, 3 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 16,80 (d, $J_{\text{CH}_3-P} = 6,4$ Hz, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 55,20 (s, C-1 OCH_3), 61,97–62,10 (m, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 71,84 ; 73,74 ; 77,66 (3s, C-2,3,4), 73,37 (d, $J_{5-P} = 20,7$ Hz, C-5), 102,36 (s, C-1), 117,28 (d, $J_{7-P} = 188,9$ Hz, C-7), 149,41 (d, $J_{6-P} = 5,8$ Hz, C-6) ; RMN ^{31}P (CDCl_3) : 19,85 ; RMN ^{29}Si (CDCl_3) : 17,69 ; 18,41 ; 20,28 (3s, 3 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$) ; SM FAB > 0 m/z (matrice : alcool nitrobenzylique) : 565 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$, 3%) ; 543 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 3%).

2,3,4-tri-O-triméthylsilyl-6-désoxy-6-diéthoxyphosphinylméthylène- α -D-mannopyranoside de paranitrophényle **7B**

Le composé **7B** est préparé selon le même mode opératoire que le composé **7A**. Le composé **7B** ($3,5 \cdot 10^{-1}$ g) est obtenu, sous forme d'une huile visqueuse, après chromatographie sur colonne de gel de silice (hexane-éther, 65:35 puis hexane-éther, 50:50) avec un rendement de 70%. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +57^\circ$ (c 1,00, CHCl_3) ; $R_f = 0,47$ (hexane-éther, 50:50) ; RMN ^1H (CDCl_3) : 0,05–0,18 (m, 27H, 3 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 1,15–1,35 (m, 6H, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 3,79 (t, 1H, $J_{3-4} = J_{4-5} = 8,9$ Hz, H-4), 3,95 (dd, 1H, $J_{1-2} = 2,2$ Hz, $J_{2-3} = 8,4$ Hz, H-2), 4,01–4,18 (m, 6H, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$, H-3,5), 5,47 (d, 1H, $J_{1-2} = 2,2$ Hz, H-1), 6,03 (ddd, 1H, $J_{5-6} = 4,2$ Hz, $J_{6-7} = 17,2$ Hz, $J_{6-P} = 22,7$ Hz, H-6), 6,82 (ddd, 1H, $J_{5-7} = 1,8$ Hz, $J_{7-P} = 21,1$ Hz, H-7), 7,15 et 8,22 (AM_q , 4H, $J_{\text{AM}} = 9,3$ Hz, PhNO_2) ; RMN ^{13}C (CDCl_3) : 0,64 ; 0,76 ; 1,05 (3s, 3 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 16,42 (d, $J_{\text{CH}_3-P} = 6,1$ Hz, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 61,71–61,90 (m, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 71,43 ;

72,75 ; 72,84 (3s, C-2,3,4), 74,51 (d, $J_{5-P} = 21,1$ Hz, C-5), 99,16 (s, C-1), 118,09 (d, $J_{7-P} = 189,6$ Hz, C-7), 116,34 (s, C-b'), 125,85 (s, C-c'), 142,66 (s, C-d'), 147,66 (d, $J_{6-P} = 5,9$ Hz, C-6), 161,19 (s, C-a'); RMN ^{29}Si (CDCl_3) : 19,33 ; 19,48 ; 20,96 (3s, 3 $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$) ; RMN ^{31}P (CDCl_3) δ : 19,1 ; SM FAB > 0 m/z (matrice : 50/50, v/v, glycérol-thioglycérol) : 650 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 23%).

6-désoxy-6-diéthoxyphosphinylméthylène- α -D-mannopyranoside de méthyle 8A

Le composé 7A ($5,00 \cdot 10^{-1}$ g ; $9,22 \cdot 10^{-3}$ mol) est dissous dans 12 mL d'une solution d'HCl 1M dans l'acétonitrile. Le mélange réactionnel est agité pendant 15 min à température ambiante. L'acétonitrile est ensuite évaporé sous vide. Le résidu dissous dans 10 mL d'eau est traité par NaHCO_3 additionné par petites fractions jusqu'à pH neutre. La phase aqueuse est alors concentrée et le brut est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (acétate d'éthyle-méthanol, 80:20). Le composé 8A ($2,95 \cdot 10^{-1}$ g) est obtenu sous forme d'une huile visqueuse avec un rendement de 98%. $[\alpha]_D^{20} = +57^\circ$ (c 0,4, CHCl_3) ; Rf = 0,40 (éther-méthanol, 80:20) ; RMN ^1H (DMSO) : 1,25 (t, 6H, $J_{\text{CH}_3\text{CH}_2} = 7,0$ Hz, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 3,27 (s, 3H, C-1 OCH_3), 3,30–3,35 (m, 1H, H-2), 3,45–3,55 (m, 1H, H-5), 3,61–3,68 (m, 1H, H-4), 3,86–4,07 (m, 5H, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$, H-3), 4,61 (d, 1H, $J_{1-2} = 1,4$ Hz H-1), 4,79 (s, 1H, OH), 4,92 (s, 1H, OH), 5,19 (s, 1H, OH), 5,96 (ddd, 1H, $J_{5-7} = 1,8$ Hz, $J_{6-7} = 17,3$ Hz, $J_{7-P} = 21,8$ Hz, H-7), 6,83 (ddd, 1H, $J_{5-6} = 3,4$ Hz, $J_{6-P} = 21,9$ Hz, H-6) ; RMN ^{13}C (DMSO) : 16,33 (d, $J_{\text{CH}_3-P} = 6,6$ Hz, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 55,13 (s, C-1 OCH_3), 62,27 (d, $J_{\text{CH}_2-P} = 5,7$ Hz, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 70,50 ; 70,51 ; 71,77 (3s, C-2,3,4), 71,41 (d, $J_{5-P} = 21,2$ Hz, C-5), 101,31 (s, C-1), 116,30 (d, $J_{7-P} = 188,2$ Hz, C-7), 149,86 (d, $J_{6-P} = 6,4$ Hz, C-6) ; RMN ^{31}P (DMSO) : 19,4 ; SM FAB > 0 m/z (matrice : alcool nitrobenzylique) : 327 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 100%), 349 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$, 28%).

6-désoxy-6-diéthoxyphosphinylméthylène- α -D-mannopyranoside de paranitrophényle 8B

Le composé 8A (1,07 g ; $1,65 \cdot 10^{-3}$ mol) est dissous dans 24 mL d'une solution d'HCl 0,5M dans le THF. Le mélange réactionnel est agité pendant 15 min à température ambiante, puis une solution saturée en NaHCO_3

est ajoutée jusqu'à pH 6–7. Du dichlorométhane est alors ajouté et la phase organique est lavée par une solution aqueuse saturée en NaCl, séchée (Na_2SO_4), filtrée et concentrée sous vide. L'huile obtenue triturée dans l'éther conduit à un solide blanc. Le composé **8B** ($6,72 \cdot 10^{-1}$ g) est obtenu avec un rendement de 94%. $[\alpha]_D^{20} = +64^\circ$ (c, 0,67, MeOH) ; Rf = 0,71 (éther-méthanol, 90:10) ; $F^\circ = 137\text{--}139^\circ\text{C}$; RMN ^1H (CDCl_3) : 1,10–1,29 (m, 6H, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 3,68–3,82 (m, 1H, H-5), 3,85–4,04 (m, 4H, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 5,08–5,45 (m, 3H, H-2,3,4), 5,73 (d, 1H, $J_{1-2} = 1,5$ Hz, H-1), 5,93 (ddd, 1H, $J_{5-7} = 1,9$ Hz, $J_{6-7} = 19,2$ Hz, $J_{7-P} = 21,3$ Hz, H-7), 6,76 (ddd, 1H, $J_{5-6} = 3,5$ Hz, $J_{6-P} = 22,8$ Hz, H-6), 7,27–8,29 (m, 4H, OPhNO_2). RMN ^{13}C (CDCl_3) : 16,05 (m, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 61,15 (d, $J_{\text{CH}_2-P} = 5,6$ Hz, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 69,42 ; 69,43 ; 70,40 (3s, C-2,3,4), 72,74 (d, $J_{6-P} = 20,7$ Hz, C-5), 98,25 (s, C-1), 116,65 (d, $J_{7-P} = 185,2$ Hz, C-7), 116,61 (s, C-b'), 125,69 (s, C-c'), 141,74 (s, C-d'), 148,13 (d, $J_{6-P} = 5,9$ Hz C-6), 160,80 (s, C-a') ; RMN ^{31}P (CDCl_3) : 19,2 ; SM FAB > 0 m/z (matrice : 50/50, v/v, glycérol-thioglycérol) : 434 ($[\text{M} + \text{H}]^+$, 53%).

6-désoxy-6-diéthoxyphosphinylméthyl- α -D-mannopyranoside de méthyle **9**

Le composé **8A** ($2,95 \cdot 10^{-3}$ g ; $9,05 \cdot 10^{-4}$ mol) est dissous dans 20 mL d'un mélange H_2O -éthanol, 50:50. Du Pd/C à 10% ($1,5 \cdot 10^{-1}$ g) est alors ajouté. Le mélange réactionnel est placé sous atmosphère de H_2 et laissé sous agitation pendant 5 h. La solution est ensuite filtrée sur célite puis concentrée et le produit **9** ($2,9 \cdot 10^{-1}$ g ; $8,84 \cdot 10^{-4}$ mol) est obtenu, sous forme d'une huile visqueuse avec un rendement de 98%. $[\alpha]_D^{20} = +54^\circ$ (c 1,47, CHCl_3) ; Rf = 0,42 (acétate d'éthyle-méthanol, 80:20) ; RMN ^1H (CDCl_3) δ (ppm) : 1,35 (t, 6 H, $J_{\text{CH}_3-\text{CH}_2} = 7,2$ Hz, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 1,71–2,25 (m, 4 H, H-6,6',7,7'), 2,41 (s, 1 H, OH), 3,35 (s, 3 H, C-1 OCH_3), 3,41–3,50 (m, 1 H, H-2), 3,51 (t, 1 H, $J_{3-4} = J_{4-5} = 8,9$ Hz, H-4), 3,75 (dd, 1 H, $J_{2-3} = 3,2$ Hz, $J_{3-4} = 8,9$ Hz, H-3), 3,88–3,98 (m, 1 H, H-5), 4,03–4,21 (m, 4 H, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 4,45 (sl, 1H, OH), 4,65 (sl, 1H, OH), 4,72 (d, 1 H, $J_{1-2} = 1,4$ Hz, H-1) ; RMN ^{13}C (CDCl_3) δ (ppm) : 16,42 (d, $J_{\text{CH}_3-P} = 6,0$ Hz, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 20,97 (d, $J_{7-P} = 142,2$ Hz, C-7), 24,16 (s, C-6), 54,85 (s, C-1 OCH_3), 61,83–62,07 (m, 2 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$), 70,61 ; 70,71 ; 71,77 (3s, C-2,3,4), 71,2 (d, $J_{5-P} = 15,7$ Hz, C-5), 101,01 (s, C-1) ; RMN ^{31}P (CDCl_3) δ (ppm) : 34,0 ; SM FAB > 0 m/z (matrice : alcool nitro-benzyle) : 352 ($[\text{M} + \text{Na} + \text{H}]^+$, 6 %), 351 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$, 45 %).

Sel disodique du 6-désoxy-6-dihydroxyphosphinylméthyl- α -D-mannopyranoside de paranitrophényle 10

Le composé **8B** ($8,0 \cdot 10^{-2}$ g ; $1,85 \cdot 10^{-4}$ mol) est dissous dans 5 mL d'acétonitrile anhydre. Le mélange réactionnel est placé sous un courant d'azote. De la pyridine (2,5 équivalents ; $3,7 \cdot 10^{-2}$ mL ; $4,62 \cdot 10^{-4}$ mol) est ajoutée, ainsi que 10 équivalents de Me_3SiBr ($2,4 \cdot 10^{-1}$ mL ; $1,85 \cdot 10^{-3}$ mol). Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 2 h. Ensuite 5 mL d'eau distillée et 2,5 équivalents de pyridine ($3,7 \cdot 10^{-2}$ mL ; $4,62 \cdot 10^{-4}$ mol) sont additionnés à 0°C. Après avoir laissé le mélange réactionnel sous agitation pendant 2h, la phase aqueuse est lavée plusieurs fois avec du CH_2Cl_2 puis elle est concentrée. De l'eau distillée (40 mL) est ajoutée ainsi que 15 g de résine échangeuse de cations (DOWEX 50WX2-Na+). Après 5h d'agitation, la résine est filtrée et lavée plusieurs fois à l'eau distillée. La solution aqueuse est alors concentrée. Le brut réactionnel obtenu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice RP-18 (eau). Les fractions collectées sont concentrées puis lyophilisées. Le composé **10** ($5,07 \cdot 10^{-2}$ g) est obtenu, avec un rendement de 65% sous forme de sel disodique. $[\alpha]_D^{20} = +60^\circ$ (*c* 1,1, CH_3OH) RMN ^1H (D_2O) : 3,65–4,38 (m, 4H, H-2,3,4,5), 5,85 (d, 1H, $J_{1-2} = 1,3$ Hz, H-1), 6,13 (t, 1H, $J_{6-7} = J_{7-P} = 17,2$ Hz, H-7), 6,51 (ddd, 1H, $J_{5-6} = 5,8$ Hz, $J_{6-7} = 17,2$ Hz, $J_{6-P} = 26,4$ Hz, H-6), 7,35 et 8,32 (AM_q , 4H, $J_{\text{AM}} = 9,2$ Hz Ph NO_2) ; RMN ^{13}C (D_2O) : 70,87 ; 71,02 ; 71,31 (3s, C-2,3,4), 77,89 (d, $J_{5-P} = 21,33$ Hz, C-5), 99,12 (s, C-1), 116,91 (s, C-b'), 126,35 (s, C-c'), 127,86 (d, $J_{7-P} = 175,4$ Hz C-7), 141,56 (d, $J_{6-P} = 4,8$ Hz C-6), 142,56 (s, C-d'), 161,15 (s, C-a') ; RMN ^{31}P (D_2O) : 12,4. SM FAB < 0 m/z (matrice : alcool nitro-benzylique) : 420 ($[\text{M} - \text{H}]^-$, 6 %).

Sel disodique du 6-désoxy-6-dihydroxyphosphinylméthyl- α -D-mannopyranoside de paraaminophényle 2

Le composé **10** ($5,07 \cdot 10^{-2}$ g ; $1,30 \cdot 10^{-4}$ mol) est dissous dans 50 mL d'une solution éthanol-eau, 50:50. Du Pd/C à 10% ($3,00 \cdot 10^{-2}$ g) est ajouté et le mélange réactionnel est agité sous atmosphère d'hydrogène pendant 24 h. Le mélange est ensuite filtré sur célite puis concentré. Le phosphonate **2** ($4,2 \cdot 10^{-2}$ g) est obtenu, avec un rendement de 90% sous forme de sel disodique. RMN ^1H (D_2O) : 1,27–2,18 (m, 4H, H-6,6',7,7'), 4,04 (dd, 1H, $J_{2-3} = 3,4$ Hz, $J_{3-4} = 9,0$ Hz, H-3), 3,59–4,23 (m, 3H, H-2,4,5), 5,53

(d, 1H, $J_{1-2} = 1,5$ Hz, H-1), 6,95 et 7,09 (AB_q, 4H, $J_{AB} = 8,8$ Hz, OPhNH₂) ; RMN ¹³C (D₂O) : 24,33 (d, $J_{7-P} = 133,9$ Hz, C-7), 25,53 (s, C-6), 70,31 ; 70,41 ; 70,70 (3s, C-2,3,4), 73,70 (d, $J_{5-P} = 17,4$ Hz, C-5), 99,52 (s, C-1), 118,07 (s, C-b'), 119,05 (s, C-c'), 141,53 (s, C-d'), 149,04 (s, C-a') ; RMN ³¹P (D₂O) : 27,5. SM FAB < 0 m/z (matrice : alcool nitro-benzylique) : 392 ([M - H]⁻, 8 %).

Références

- [1] Y. Nishimura, M. Higaki, K. Kato, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **148**, 335, (1987).
- [2] PY. Tong, S. Kornfeld, *J. Biol. Chem.*, **264**, 7962, (1989).
- [3] PY. Tong, W. Gregory, S. Kornfeld, *J. Biol. Chem.*, **264**, 7970, (1989).
- [4] K. Von Figura, *Curr. Op. Cell. Biol.*, **3**, 642, (1991).
- [5] R. Engel, *Chem. Rev.*, **77**, 349, (1977).
- [6] C. Vidil, A. Morère, M. Garcia, V. Barragan, B. Hamdaoui, H. Rochefort, J-L. Montero, *Eur. J. Org. Chem.*, **2**, 447, (1999).
- [7] JJ. Distler, J. Guo, GW. Jourdain, OP. Srivastava, O. Hindsgaul, *J. Biol. Chem.*, **32**, 21687, (1991).
- [8] AG. McInnes, *Can. J. Chem.*, **43**, 1998, (1965).
- [9] DT. Hurts, AG. McInnes, *Can. J. Chem.*, **43**, 2004, (1965).
- [10] K. Omura, D. Swern, *Tetrahedron*, **34**, 1651, (1978).
- [11] AJ. Mancuso, SL. Huang, D. Swern, *J. Org. Chem.*, **43**, 2480, (1978).
- [12] PJ. Garreg, S. Oscarson, M. Szönyi, *Carbohydr. Res.*, **205**, 125, (1990).
- [13] GH. Jones, EK. Hamamura, JG. Moffatt, *Tetrahedron Lett.*, **55**, 5731, (1968).
- [14] M. BenBari, G. Dewynter, C. Aymard, T. Jei, JL. Montero, *Phosphorus Sulfur and Silicon*, **105**, 129, (1995) ; C. E. McKenna, J. Schmidhauser, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **739**, (1979).