



HAL
open science

Conception, synthèse et évaluations biologiques de prodrogues du paclitaxel et du docetaxel activées par voie enzymatique dans le cadre des stratégies de chimiothérapie anticancéreuse ADEPT et PMT

Emmanuel Bouvier

► **To cite this version:**

Emmanuel Bouvier. Conception, synthèse et évaluations biologiques de prodrogues du paclitaxel et du docetaxel activées par voie enzymatique dans le cadre des stratégies de chimiothérapie anticancéreuse ADEPT et PMT. Médicaments. Université René Descartes - Paris V, 2003. Français. NNT: . tel-00009862

HAL Id: tel-00009862

<https://theses.hal.science/tel-00009862>

Submitted on 6 Sep 2005

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE PARIS V RENE DESCARTES

Année 2003

Pharmacie : Série :

**THESE
DE DOCTORAT
spécialité : Chimie Thérapeutique**

présentée pour obtenir le grade de

**DOCTEUR EN SCIENCES DE L'UNIVERSITE
PARIS V RENE DESCARTES**

par

Emmanuel BOUVIER

**Conception, synthèse et évaluations biologiques de prodrogues
du paclitaxel et du docetaxel activées par voie enzymatique dans le cadre
des stratégies de chimiothérapie anticancéreuse ADEPT et PMT**

Soutenu le 14 octobre 2003

Membres du Jury :

M. H. BOUCHARD	Rapporteur
M. Y. CHAPLEUR	Rapporteur
M. P. COUVREUR	Examineur
M. F. TILLEQUIN	Examineur
M. C. MONNERET	Examineur
M. F. SCHMIDT	Examineur

A Monsieur le Docteur Alain COMMERÇON
Chemistry Department
Centre de Recherche de Paris
Aventis Pharma S.A.

A Monsieur le Docteur Yves CHAPLEUR
Directeur de l'UMR 7565 CNRS
Université Henri Poincaré Nancy I

qui ont bien voulu être rapporteurs de cette thèse

A Monsieur le Professeur François TILLEQUIN
Professeur à l'Université René Descartes Paris V
Faculté de Pharmacie

A Monsieur le Professeur Patrick COUVREUR
Directeur de l'UMR 8612 CNRS
Université Paris-Sud

A Monsieur le Docteur Claude MONNERET
Directeur de l'UMR 176 CNRS
Institut Curie, Section de Recherche

A Monsieur le Docteur Frédéric SCHMIDT
Directeur de Recherche au CNRS
Institut Curie, Section de Recherche

qui ont accepté de juger ce travail

Avec toute ma reconnaissance et mes remerciements les plus sincères

Je tiens à dédier cette thèse à ma famille, notamment mes parents qui m'ont toujours soutenu, aussi bien moralement que financièrement, dans la voie que j'ai choisie, et également ma grand-mère et ma grand-tante Guidevaux pour tout ce qu'elles m'ont apporté et qu'elles continuent à me donner encore chaque jour.

Ce document qui finalise trois années de dur labeur n'aurait sans doute pas vu le jour sans le soutien de tous mes amis ; les parisiens Alex, Krim, Jeannot ..., les Rennais batch one Vince, Tonio, Vincenzo ..., les Rennais batch two Francky, Juregeint, Dave ..., les Irlandais Dave, Mike, Eoin et tout le Paris Gaels ..., les chimistes Yves, Bob, Dan, JBB ...

Je tiens à mentionner spécialement Jean-Pierre Buisson qui a lu et relu ce document pour y traquer les imprécisions, erreurs, inexactitudes en tout genre. Celles qui restent sont de mon unique fait.

Résumé :

Le paclitaxel (Taxol[®]) et son analogue hémisynthétique le docetaxel (Taxotere[®]) appartiennent à une famille d'agents antitumoraux dont l'originalité réside dans leur structure tétracyclique inusuelle et complexe, et surtout dans leur mécanisme d'action. Ils ont en effet pour cible principale une protéine constitutive du fuseau mitotique, la tubuline.

Bien que très utilisés en clinique (cancers du sein, de l'ovaire, du poumon), ils présentent un inconvénient majeur pour leur emploi : leur grande toxicité et leur mode d'administration induisent de graves effets secondaires. De plus, des phénomènes de résistance apparaissent également.

Une méthode efficace d'amélioration de ces composés est de les transformer en prodrogues moins cytotoxiques et plus hydrosolubles. L'intérêt prépondérant de cette transformation apparaît dans la possibilité de délivrer ces produits de manière mieux ciblée, plus spécifique des tumeurs. Elles pourront alors être utilisées dans le cadre du concept PMT (Prodrug Mono Therapy) ou dans une stratégie immunociblée de type ADEPT (Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy).

Dans cette optique, des prodrogues glucuronylées du paclitaxel et du docetaxel ont été conçues et synthétisées. L'espaceur employé est un espaceur double, reliant un carbamate de *p*-hydroxybenzyle à une chaîne diamine. Ces prodrogues ont été évaluées biologiquement (stabilité, cytotoxicité, hydrolyse enzymatique) pour valider cette approche. L'utilisation du nouvel espaceur a donné des résultats satisfaisants, en particulier pour les hydrolyses enzymatiques qui ont été améliorées par rapport à celles des prodrogues décrites précédemment. La conception et la synthèse de différents espaceurs applicables à la préparation d'autres prodrogues sont également présentées.

Mots-clefs : paclitaxel ; docetaxel ; chimiothérapie ; prodrogues ; espaceurs ; β -D-Glucuronidase ; ciblage ; ADEPT ; PMT.

Laboratoire : Institut Curie, Section de Recherche
Laboratoire de Pharmacochimie
UMR 176 CNRS-IC
26 rue d'Ulm
75248 Paris cedex 05

Sum up :

Paclitaxel (Taxol[®]), and its semisynthetic analog docetaxel (Taxotere[®]), belong to a family of antitumoral agents whose original features include an unusual tetracyclic core and an innovative mechanism of action. Indeed, they target tubulin, a protein of the mitotic spindle.

Though they are widely used in clinic (breast, ovary and lung cancers), yet they display a major drawback : their acute toxicity and way of administration induct severe side-effects. Also, some problems of drug resistance appear as well.

An efficient way of improving these compounds is to transform them in less cytotoxic more hydrophilic prodrugs. This allows a more target-directed delivery, more specific for tumors. These prodrugs could be then used in such strategies as PMT (Prodrug Mono Therapy) or an immuno-targeted one like ADEPT (Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy).

To this end, glucuronated prodrugs of paclitaxel and docetaxel have been designed and synthesized. The spacer used is a double one, connecting a *p*-hydroxybenzyl carbamate with a diamine tether. In order to validate this approach, these prodrugs have been biologically evaluated (stabilities, cytotoxicities, enzymatic hydrolyses). The double spacer showed good results, especially efficient release of the drug from the prodrug when incubated with the proper enzyme. Compared to former spacers used, it showed improved properties. The design and synthesis of other spacers suitable for the preparation of such prodrugs are also described.

Key words : paclitaxel ; docetaxel ; chemotherapy ; prodrugs ; spacers ; β -D-Glucuronidase ; targeting ; ADEPT ; PMT.

Laboratory : Institut Curie, Section de Recherche
Laboratoire de Pharmacochimie
UMR 176 CNRS-IC
26 rue d'Ulm
75248 Paris cedex 05

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
PARTIE I : CANCER et PACLITAXEL.....	5
I) Cancer et cibles thérapeutiques	5
1) <u>Nouvelles cibles thérapeutiques</u>	6
2) <u>Cibles thérapeutiques classiques</u>	7
a) <i>Les agents alkylants ou électrophiles</i>	8
b) <i>Les antimétabolites</i>	8
c) <i>Agents intercalants et/ou anti-topoisomérases I et II</i>	9
d) <i>Poisons du fuseau</i>	10
II) Système tubuline-microtubule et cycle cellulaire.....	12
1) <u>Le système tubuline-microtubule</u>	12
a) <i>Description</i>	12
b) <i>Dynamique des microtubules</i>	13
2) <u>Le cycle cellulaire</u>	14
3) <u>Mécanisme d'action des taxoïdes</u>	16
III) Le Paclitaxel.....	18
1) <u>Généralités sur les taxoïdes</u>	18
2) <u>Isolement du Paclitaxel</u>	19
3) <u>Approvisionnement en paclitaxel</u>	20
a) <i>Synthèse totale</i>	21
b) <i>Hémisynthèse</i>	21
c) <i>Études SAR</i>	23
1- <i>La chaîne latérale</i>	23
2- <i>L'hémisphère sud</i>	23
3- <i>L'hémisphère nord</i>	24
4- <i>Le cycle oxétane</i>	24
PARTIE II : CIBLAGE de CONJUGUES.....	27
I) Immunoconjugués	28
II) Stratégies anticancéreuses de type TAP (Tumor Activated Prodrug).....	31
1) <u>Principe</u>	31
2) <u>Prodrogues utilisant une spécificité tumorale intrinsèque. Cas de la PMT</u>	32
a) <i>Expression enzymatique sélective dans les cellules tumorales</i>	32
b) <i>Tumeur hypoxique</i>	36

c) Différence de pH.....	39
d) Conclusion.....	39
3) <u>Emploi d'une enzyme exogène</u>	40
a) GDEPT.....	40
b) VDEPT.....	41
III) La stratégie ADEPT	42
1) <u>Principe</u>	42
2) <u>Choix de l'antigène : l'ACE</u>	44
3) <u>Choix de l'anticorps monoclonal</u>	45
4) <u>Sélection de l'enzyme</u>	47
5) <u>Choix du moyen de vectorisation de l'enzyme</u>	51
6) <u>Caractéristiques de la prodrogue</u>	53
7) <u>Avantages et inconvénients de la stratégie ADEPT</u>	53
CHAPITRE I	57
INTRODUCTION	57
I) Choix de l'espaceur	57
II) Formylation de l'aromatique	61
1) <u>Formylation du phénol</u>	61
a) <i>Bibliographie</i>	61
b) <i>Résultats</i>	62
2) <u>Passage par le 4-fluoroanisole</u>	64
a) <i>Bibliographie</i>	64
b) <i>Résultats</i>	65
III) Synthèse des intermédiaires	66
1) <u>Préparation de l'aminophénol 56 par amination réductrice</u>	66
a) <i>Bibliographie</i>	66
b) <i>Résultats</i>	68
2) <u>Protection de l'aminophénol 56</u>	70
a) <i>Protection de 56 par un BOC</i>	70
b) <i>Protection de 56 par un TFA</i>	71
IV) Couplage glycosidique entre acide glucuronique et aminophénol	72
1) <u>Bibliographie</u>	72
a) <i>Introduction</i>	72
b) <i>Préparation des intermédiaires nécessaires</i>	74

c) Avec le bromosucrose 55	75
d) Avec le tétra-acétyle 78	78
e) Avec l'hydroxyle en 1 (79).....	79
f) Méthode au trichloroacétimide 80	80
2) <u>Résultats</u>	81
V) Glycosylation de 103	82
1) <u>Synthèse de 103</u>	82
2) <u>Amination réductrice de 103</u>	83
3) <u>Protection de 107</u>	84
4) <u>Glucuronylation de 107</u>	84
VI) Amine à partir du benzaldéhyde couplé 57	85
1) <u>Synthèse de 57</u>	85
2) <u>Amination réductrice de 57</u>	86
3) <u>Synthèse d'un synthon pivaloylé</u>	87
4) <u>Conclusion</u>	88
VII) Synthèse de l'amine 115	88
1) <u>Réduction de 57</u>	89
2) <u>Conversion de 116 en azido puis réduction en amine</u>	89
a) <u>Bibliographie</u>	89
1- Formation d'un azido à partir d'un alcool.....	89
2- Réduction d'un azido en amine.....	91
b) <u>Synthèse de l'amine 115</u>	93
VIII) Synthèse d'une prodrogue de moutarde	95
1) <u>Synthèse de la moutarde à l'azote protégée</u>	96
2) <u>Synthèse de 135</u>	96
3) <u>Déprotections</u>	99
CHAPITRE II	103
INTRODUCTION	103
I) Choix de l'espaceur	104
1) <u>Espaceur à cascade électronique</u>	104
2) <u>Cascade d'espaceurs</u>	106
3) <u>Espaceur choisi</u>	107
II) Considérations sur les groupements protecteurs de l'acide glucuronique	108

1) Ester benzylique	109
2) Ethers de silyles.....	111
III) Synthèse de l'intermédiaire avancé 181	111
1) Préparation de l'intermédiaire 168	112
2) Essais sur 168	113
3) Accès à 181 par déprotection unique.....	114
a) Préparation de l'intermédiaire 186	114
b) Désilylation sélective.....	115
1- Bibliographie	116
2- Résultats	118
4) Accès à 181 par déprotection séquentielle	118
a) Désacétylation.....	119
b) Groupements silyles indifférenciés.....	119
c) Groupements silyles différenciés	120
1- Introduction du groupement TPS	121
2- Silylation de 190	121
3-Préparation de 192 par transestérification.....	121
d) Désilylation sélective de l'intermédiaire 192	123
1- Bibliographie	123
2- Résultats	124
IV) Synthèse du chlorure de carbamoylé 218.....	126
1) Introduction de la chaîne diamine	126
a) Par activation de l'amine	126
b) Par activation de l'alcool.....	127
2) Hydrolyse du BOC de 204 et synthèse de 218	128
a) Hydrolyse d'un BOC en présence de TBS.....	129
1-Bibliographie	129
2- Résultats	130
b) Activation de l'amine 217 par le phosgène	130
V) Synthèse et évaluation biologique de la prodrogue 221.....	131
1) Couplage de 1 et 218	131
2) Déprotections de 219	133
a) Désilylation de 219	133
b) Hydrogénolyse de 220	133
3) Etudes biologiques de 221	136
a) Stabilité.....	136
b) Cytotoxicité.....	136
c) Hydrolyse enzymatique.....	138

d) Comparaison entre 158 et 221 et conclusion	140
VI) Synthèse et évaluations biologiques des prodrogues 225 et 226 du docetaxel.....	141
1) <u>Schéma de synthèse</u>	141
2) <u>Préparation de 2 et 228</u>	143
3) <u>Synthèse de 225</u>	144
4) <u>Synthèse de 226</u>	147
5) <u>Evaluations biologiques des prodrogues 225 et 226</u>	149
a) <u>Stabilité</u>	149
b) <u>Cytotoxicité</u>	149
c) <u>Hydrolyse enzymatique</u>	149
d) <u>Comparaison des prodrogues 221, 225 et 226</u>	151
 CHAPITRE III	153
 INTRODUCTION	153
 I) Bibliographie et rétrosynthèse	154
1) <u>Bibliographie</u>	154
2) <u>Rétrosynthèse de 236</u>	156
 II) Protection du paclitaxel	157
1) <u>Bibliographie</u>	157
2) <u>Protection par le TBS</u>	159
3) <u>Protection par le TES</u>	160
 III) Préparation de l'intermédiaire 240	160
1) <u>Préparation de l'intermédiaire 246</u>	160
2) <u>Changement de groupements protecteurs</u>	162
 IV) Couplage	163
1) <u>Activation du paclitaxel</u>	163
2) <u>Couplage avec l'amine activée</u>	164
3) <u>Déprotections de 253</u>	165
 CONCLUSION ET PERSPECTIVES	167
 PARTIE EXPÉRIMENTALE	171
 BIBLIOGRAPHIE	283

A

Ac	acétyle
ACE	Antigène Carcino Embryonnaire
ACS	acide camphorsulfonique
ADN	acide désoxyribonucléique
ADEPT	Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy
ADP	adénosine 5'-diphosphate
Anh.	anhydre
Aq.	aqueux
ATP	adénosine 5'-triphosphate
Ar	aryle

B

Bn	benzyle
BOC	<i>tert</i> -butyloxycarbonyle
Bu	butyle
<i>tert</i> -Bu	<i>tert</i> -butyle
Bz	benzoyle

C

cat.	catalytique
CCM	chromatographie sur couche mince
CSA	acide camphorsulfonique
Cyc	cyclohexane

D

δ	déplacement chimique
DCC	1,3-dicyclohexylcarbodiimide
DCE	1,2-dichloroéthane
DEAD	azodicarboxylate de diéthyle

Abréviations

DIAD	azodicarboxylate de di- <i>iso</i> -propyle
DIBALH	hydrure de di- <i>iso</i> -butylaluminium
DMAP	4- <i>N,N</i> -diméthylaminopyridine
DMF	diméthylformamide
DMPU	<i>N,N'</i> -diméthylpropylèneurée
DMSO	diméthylsulfoxyde

E

éq.	équivalent
Et	éthyle

F

FAB	Fast Atom Bombarding (bombardement rapide par des atomes)
-----	---

G

GDP	guanosine diphosphate
GTP	guanosine triphosphate

H

h	heure
Hz	hertz
HMPA	hexaméthylphosphorotriamide
HMTA	hexaméthylènetétramine
HPLC	high powered liquid chromatography

I

IC	ionisation chimique
Ig	immunoglobuline

K

kDa	kilo daltons
-----	--------------

L

LCMS liquid chromatography masse spectrum

M

M mol.L⁻¹

mAb anticorps monoclonal

Me méthyle

mn minute

Ms méthylsulfonyle

MsA acide méthylesulfonique

N

n normal(e)

NBS *N*-bromosuccinimide

ND non déterminé(e)

Nu nucléophile

P

Ph phényle

Piv pivaloyle *ie tert*-butylcarbonyle

PMT Prodrug Mono Therapy

PPA acide polyphosphorique

ppm partie par million

PPTS *p*-toluènesulfonate de pyridinium

i-Pr *iso*-propyle

Pyr pyridine

Q

quant. quantitati(f)(ve)

R

Rd^t. rendement

Abréviations

RMN	résonance magnétique nucléaire
S	
sat	saturé(e)
SM	spectroscopie de masse
T	
T °C	température en degré Celsius
TA	température ambiante
TAP	Tumor Activated Prodrug
TAS-F	<i>tris</i> (diméthylamino)sulfonium difluorotriméthylsilicate
TBAB	bromure de tétrabutylammonium
TBAF	fluorure de tétrabutylammonium
TBAI	iodure de tétrabutylammonium
TBS	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
TEA	triéthylamine
Tf	trifluorométhanesulfonate ou triflate
TFA	acide trifluoroacétique
THF	tétrahydrofurane
TM	tamis moléculaire
TMG	tétraméthylguaninidine
TMS	triméthylamine
TPS	<i>tert</i> -butyldiphénylsilyle
Troc	2,2,2-trichloroéthoxycarbonyle
Ts	<i>p</i> -toluènesulfonyle ou tosyle
X	
xs	excès

INTRODUCTION

Depuis l'Antiquité, la nature constitue la source et la base de la médecine traditionnelle. Les premiers rapports faisant état de l'utilisation de plantes dans un but médicinal proviennent de Mésopotamie et sont datés de 2600 av. J.C. environ. Bien que les médecines chinoise et égyptienne relatent l'emploi de plantes comme médicament, cette médecine traditionnelle s'est largement développée sous l'impulsion gréco-romaine.

L'isolement de certaines substances responsables d'effet(s) thérapeutique(s) observé(s) a été permis par l'évolution des connaissances et des techniques. Ainsi des composés tels que la strychnine, l'atropine, la morphine ou encore la colchicine ont été isolés au début du XVIII^e siècle. Ceci a par exemple permis la commercialisation de la morphine par E. Merck en 1826, ou encore la production et la vente par Bayer du premier médicament semi-synthétique obtenu à partir d'un composé naturel : l'aspirine.

De nos jours, de nombreux médicaments commerciaux sont découverts ou dérivent de l'isolement de composés issus de plantes ou d'animaux ; une analyse des prescriptions médicales, menée aux Etats-Unis entre 1959 et 1980, a montré que 25% d'entre elles contenaient un principe issu du règne végétal. C'est donc tout naturellement que la diversité chimique offerte par le monde végétal s'est révélée une aide précieuse dans la lutte contre un des grands fléaux de notre époque : "le cancer".

Le cancer constitue l'une des principales causes de décès dans l'ensemble des pays développés puisqu'il représente la deuxième cause de mortalité après les maladies cardiovasculaires. De par l'importance du nombre de personnes qu'il atteint, il constitue un problème majeur de santé publique. En effet, en France on dénombre 278 000 nouveaux cas de cancers diagnostiqués et 150 000 décès chaque année (données 2000 consolidées).

Le cancer appartient au groupe des maladies néoplasiques, c'est-à-dire liées à une prolifération cellulaire anormale de type anarchique. Ce dérèglement de la division de quelques-unes des milliards de cellules qui constituent l'organisme humain échappe donc au mécanisme normal du contrôle par les cellules voisines et par l'ensemble de l'organisme. Si les cellules se divisent sans besoin, il y a apparition d'une masse de tissus excédentaires nommée tumeur.

Aujourd'hui plus de cent types de cancers, dont les causes, les évolutions et les

conséquences s'avèrent très diverses, ont été décrits. Ils peuvent être répartis en deux groupes principaux : les tumeurs solides et les maladies hématologiques malignes. Ces dernières affectent le sang et le système lymphatique ; par conséquent, les cellules malignes sont disséminées dans l'organisme dès leur apparition. Quant aux tumeurs solides, elles se localisent dans un tissu ou un organe. Deux cas se présentent :

- ◆ Si cette prolifération se fait sans envahissement destructif des tissus environnants ni dissémination, la tumeur est dite bénigne.
- ◆ Si, au contraire, la tumeur s'accroît aux dépens des tissus adjacents, il s'agit d'une tumeur maligne. Il y a un phénomène de métastase lorsque des cellules cancéreuses se détachent de la tumeur primaire et sont transportées par le sang ou le système lymphatique vers un autre organe ou des tissus plus éloignés où elles vont pouvoir se diviser pour former une tumeur secondaire. Ceci constitue l'une des principales difficultés dans le traitement du cancer.

Dans cette optique, le paclitaxel **1** (Taxol[®]), issu de l'if, et son analogue semi-synthétique, le docetaxel **2** (Taxotere[®]), représentent deux anticancéreux (Figure 1) très importants qui, ces dernières années, ont permis de nettes améliorations dans le traitement de certains cancers.

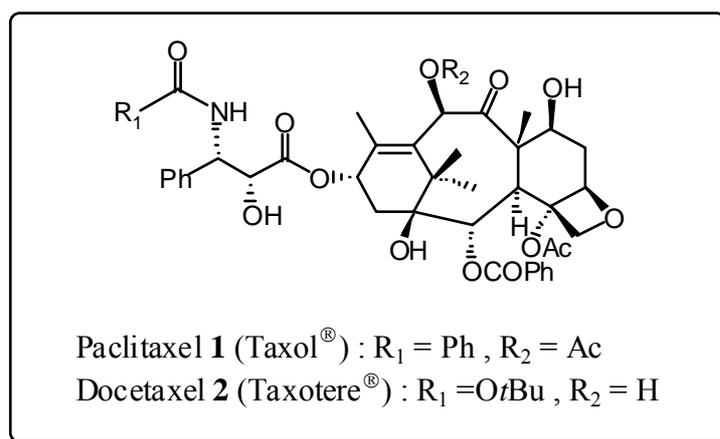


Figure 1

Ces deux composés appartiennent à une famille de diterpènes connus sous le nom de "taxoïdes" ou "taxanes". Les propriétés remarquables du paclitaxel ont fait de cette famille un sujet de recherche parmi les plus étudié depuis 1970 dans le domaine du cancer. Les très nombreux travaux réalisés (synthèse totale, hémi- et bio-synthèse, analogues structuraux) ont

mis en exergue de précieux renseignements sur les relations structure-activité (SAR) ainsi que sur la chimie de ces composés.

Comme la majorité des antitumoraux, ces composés ne sont pas utilisés aux doses optimales par suite d'effets secondaires indésirables dus à leur cytotoxicité propre ou à leur mode d'administration. L'amélioration de la sélectivité des agents anticancéreux vis-à-vis des cellules tumorales représente en effet un objectif majeur en chimiothérapie anticancéreuse. Pour augmenter la solubilité et la sélectivité, une méthode consiste à transformer en prodrogue ce type de composé oncostatique. Une technique efficace de ciblage consiste à utiliser une stratégie de type ADEPT (Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy). Ce type de stratégie vise à modifier la distribution d'un agent cytotoxique en le générant sélectivement au niveau de la tumeur après vectorisation d'une enzyme à la surface de la cellule tumorale.

L'objet de cette thèse s'inscrit dans cette optique d'amélioration de l'efficacité des antitumoraux paclitaxel et docetaxel. Les objectifs sont donc de synthétiser différentes prodrogues de ces agents anticancéreux dans le cadre de stratégies thérapeutiques améliorant leurs performances curatives.

La première partie de ce manuscrit présentera d'abord de façon générale la famille des taxoïdes (notamment leur mécanisme d'action) et plus particulièrement son représentant phare, le paclitaxel. En second point seront abordées les stratégies ADEPT et PMT (Prodrogue MonoTherapy) dont les tenants et les aboutissants seront discutés en détails.

Dans un deuxième temps, l'ensemble des résultats des travaux personnels de cette thèse seront exposés. Les points clefs seront la conception, la synthèse et les études biologiques *in vitro* des prodrogues obtenues.

PARTIE I : CANCER et PACLITAXEL

I) Cancer et cibles thérapeutiques

Le cancer est un mot d'origine grecque signifiant crabe ; ainsi Galien, médecin grec de l'époque romaine, le définissait-il par ces mots : "Une tumeur qui s'étend des deux côtés par des prolongements anormaux qui envahissent les tissus adjacents. Cela ressemble aux pattes d'un crabe qui sont elles aussi présentes tout le long de la tête et du corps de l'animal".

Actuellement, un cancer sur deux en moyenne (toutes localisations confondues) peut être guéri à condition d'être traité précocement. De manière générale, les traitements antitumoraux combattent la croissance incontrôlée de la tumeur, l'invasion des tissus sains et la formation des métastases.

La première thérapie utilisée dans la lutte contre le cancer, en particulier pour les tumeurs solides, est la **chirurgie**. Malheureusement, celle-ci ne garantit pas l'élimination des extensions microscopiques souvent associées au cancer. La chirurgie s'intègre donc maintenant dans des stratégies pluridisciplinaires. Chirurgiens, chimiothérapeutes et radiothérapeutes décident ensemble de la chronologie de leurs différentes interventions. Le médecin a le choix entre différents protocoles et choisira le plus adapté selon plusieurs critères : le type et la taille de la tumeur, la tumeur localisée ou non, l'existence ou non de l'atteinte d'un autre organe, savoir si le patient a déjà reçu ou non de la chimiothérapie, selon les résultats des prises de sang et des examens complémentaires.

La **radiothérapie**, comme la chirurgie, est un traitement local utilisant l'effet des radiations ionisantes délivrées sur une zone définie, donc sur les tissus biologiques atteints, en préservant le plus possible les tissus sains. Souvent, la dose qui serait efficace ne peut être délivrée, car elle entraînerait des effets secondaires au niveau des tissus avoisinants.

Le cas de l'**immunothérapie**, qui représente une nouvelle approche du traitement des cancers et fait l'objet de nombreux travaux de recherche récents, sera traité dans la partie II ci-après.

A l'heure actuelle, la **chimiothérapie anticancéreuse**, indispensable pour le traitement des leucémies et des métastases, reste très utilisée grâce à ses indications de plus en plus étendues, les produits disponibles étant également de plus en plus nombreux et performants. L'objectif de cet outil thérapeutique est de traiter le malade par des molécules capables de réduire la prolifération des cellules cancéreuses. Il s'agit donc de l'absorption de médicaments qui pénètrent les vaisseaux sanguins pour détruire les cellules cancéreuses, soit directement dans le sang, soit en étant distribués vers les organes touchés par le cancer. Cette méthode présente l'avantage de pouvoir traiter des cancers localisés tout autant que des **cancers circulants**.

Parmi les composés anticancéreux, il convient de distinguer les produits dits cytotoxiques (destruction de la cellule *in fine*) interagissant avec les cibles dites "classiques", et les cytostatiques (réduction de la prolifération cellulaire en bloquant facteurs de croissances ou oncogènes) en interaction avec de nouvelles cibles thérapeutiques mises en évidence récemment.

1) Nouvelles cibles thérapeutiques

Ces nouvelles cibles potentielles décrites pour la recherche de molécules anticancéreuses mettent en jeu des mécanismes pouvant être rassemblés dans l'une des catégories suivantes :

- Transduction du signal : les différents facteurs de croissance et leurs récepteurs ou les sérines/thréonines kinases intervenant dans les cascades de transduction cellulaire sont fortement impliqués dans la prolifération cellulaire; leur surexpression a été observée dans nombre de cancers.
- Cycle cellulaire : faisant suite à cette transduction du signal, des protéines kinases dépendantes des cyclines (par ex. cdk2) interviennent dans l'initiation du cycle cellulaire ; ces protéines sont également surexprimées dans la plupart des cancers.
- Apoptose : la surexpression d'oncoprotéines anti-apoptotiques telle Bcl-2, ou bien Mdm2 inhibitrice du gène suppresseur de tumeur p53, est aussi constatée dans la majorité des cancers

- Angiogenèse, métastases et matrice extra-cellulaire : il apparaît essentiel, en parallèle à la lutte contre la division cellulaire, d'empêcher la progression et l'extension de la maladie vers d'autres zones de l'organisme que la tumeur initiale. L'inhibition de l'angiogenèse permet ainsi de limiter la vascularisation des tumeurs (point critique lorsqu'elles croissent) et diminue leur pouvoir métastatique.

2) Cibles thérapeutiques classiques

De façon générale, l'emploi de médicaments aujourd'hui en chimiothérapie anticancéreuse met à profit l'une des caractéristiques les plus spécifiques des cellules tumorales ; il s'agit de leur reproduction anarchique et **rapide**. Les médicaments ont pour but de bloquer la reproduction du cycle cellulaire, leur phase d'action dépendant de leur mécanisme d'action (Figure 2 et cf. § II.2 Cycle cellulaire). Ces médicaments sont classés en fonction de leur mode d'action cellulaire. On compte ainsi **quatre grandes familles d'anticancéreux** : les agents alkylants, les antimétabolites, les substances interagissant avec l'ADN et/ou les complexes ADN-enzymes (les antibiotiques) et les poisons du fuseau.

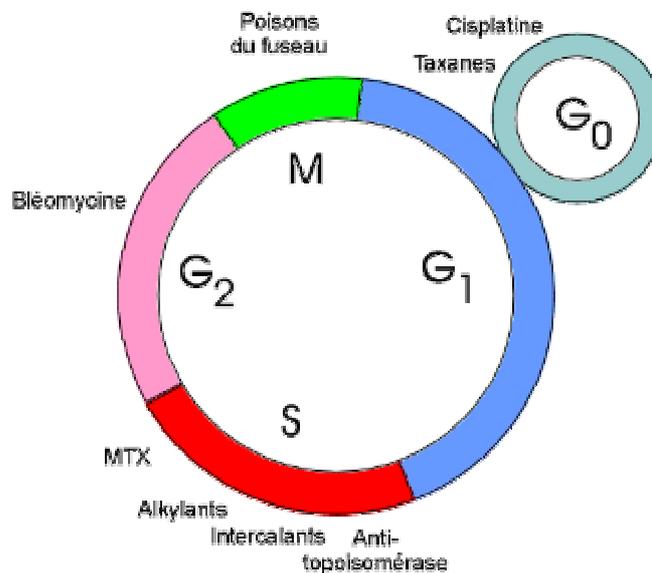


Figure 2

Si l'arsenal thérapeutique s'est enrichi au fil des années, il faut cependant remarquer que la plupart des médicaments antitumoraux récents plus actifs ont principalement permis d'améliorer la tolérance et l'efficacité de la chimiothérapie, comparativement aux anciennes molécules.

a) Les agents alkylants ou électrophiles

Les **agents alkylants** agissent sur la duplication de l'ADN ou sur sa transcription en formant des ponts intramoléculaires entre deux bases appartenant au même brin ou à des brins opposés de l'ADN. Ces alkylations (lien chimique covalent fort) sur les brins d'ADN ont pour conséquence d'interdire leur duplication, de créer des altérations immédiates ou des mutations géniques et, éventuellement, de bloquer la mitose.

Historiquement, les moutardes à l'azote (MBA **3** et cyclophosphamide **4**) furent les premiers représentants de cette classe. Le cis-platine **5**, utilisé contre un large éventail de tumeurs solides, entre également dans cette catégorie (Figure 3).

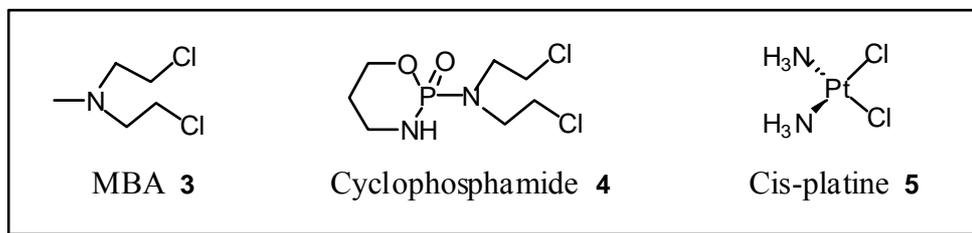


Figure 3

b) Les antimétabolites

Les **antimétabolites** inhibent la synthèse des acides nucléiques en se substituant aux bases puriques et pyrimidiques indispensables à cette synthèse. La synthèse des acides nucléiques étant la première étape nécessaire à la reproduction cellulaire, les antimétabolites sont donc responsables de la mort de la cellule incapable de se reproduire. Ces substances possèdent une structure similaire à celle de composants métaboliques intermédiaires indispensables et sont acceptées comme substrat leurre bloquant au final la synthèse de l'ADN.

Un exemple ancien et bien connu est le méthotrexate **6** (Figure 4), un analogue de l'acide folique, qui inhibe la dihydrofolate-réductase (DHFR) provoquant ainsi l'arrêt de la synthèse de la thymine, de la méthionine et des bases puriques.

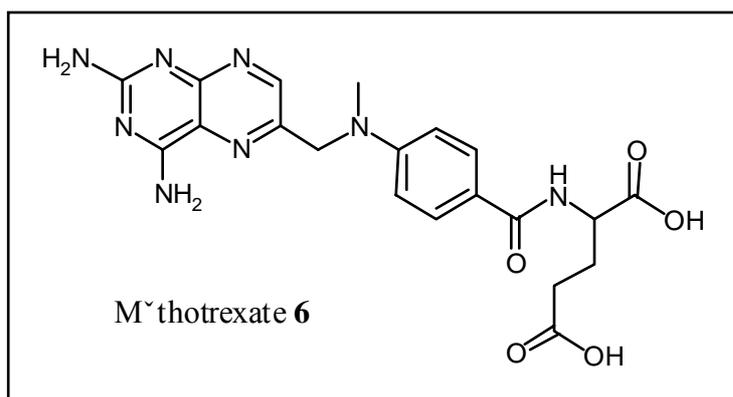


Figure 4

c) Agents intercalants et/ou anti-topoisomérases I et II

Les substances intercalantes forment le groupe le plus important de molécules interagissant avec l'ADN. Ces molécules, présentant une structure plane toujours constituée de noyaux aromatiques condensés, s'insèrent dans la double hélice de l'ADN entre plateaux de bases, plus parfois une interaction supplémentaire avec petit ou grand sillon, induisant ainsi allongement et distorsion.

Les nombreux dérivés de l'acridine **7** et de l'ellipticine **8** (Figure 5) sont des composés aux propriétés intercalantes connues.

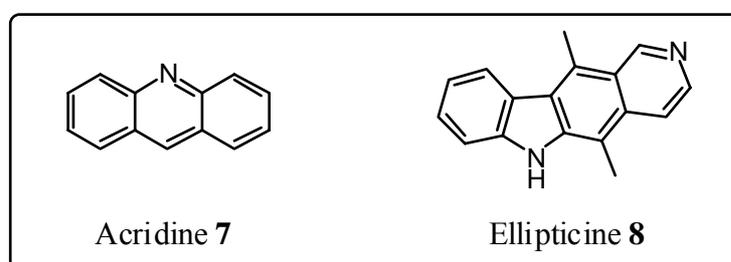


Figure 5

Cependant ce phénomène ne suffit pas à expliciter la toxicité de ces agents. Un des éléments essentiels est en effet leur rôle d'inhibiteur des ADN-topoisomérases I et II.

Les ADN-topoisomérases I et II gèrent les contraintes topologiques de l'ADN lors des processus de réplication, transcription, réparation, condensation des chromosomes et leur ségrégation lors de la mitose. Pour ce faire, elles rompent un seul brin (topoisomérase I) ou deux brins (topoisomérase II) de la double hélice, les décroisent puis les relient ensuite immédiatement. Les inhibiteurs empêchent cette religation, entraînant des cassures qui, si elles sont trop nombreuses, font entrer la cellule en apoptose.

La camptothécine **9** et ses dérivés sont des inhibiteurs de la topoisomérase I, de même que la β -lapachone **11** ou la ménéadione (vitamine K₃) **12** (Figure 6).

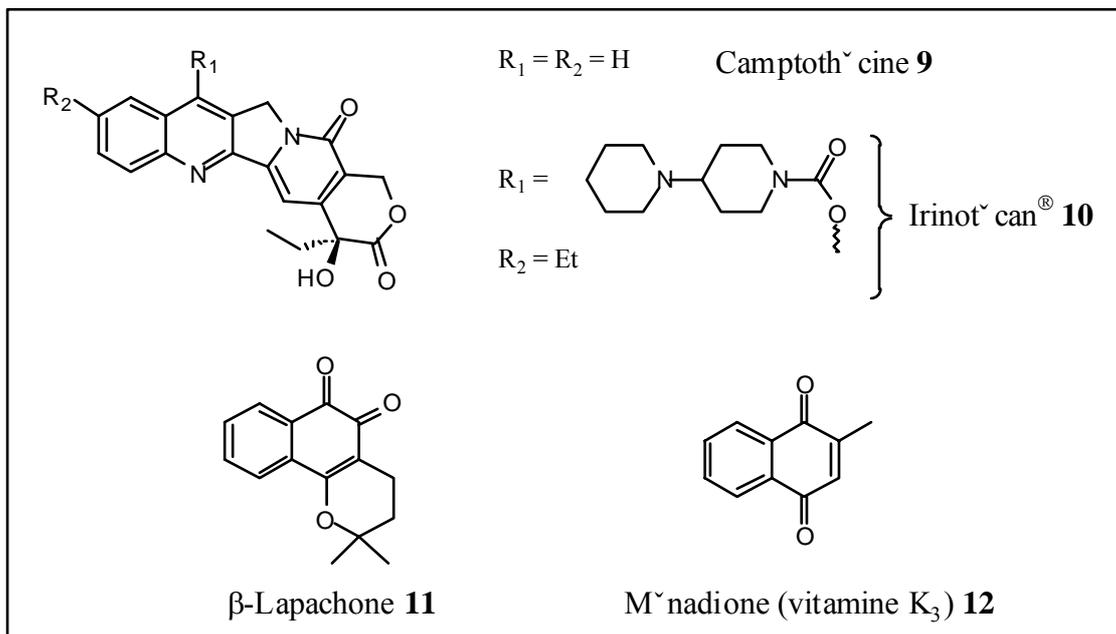


Figure 6

La daunorubicine **13** et la doxorubicine **14** (Figure 7) appartiennent à la famille des anthracyclines et sont des inhibiteurs de la topoisomérase II. Le problème majeur de cette série de composés très actifs est leur toxicité cardiaque. Néanmoins, la doxorubicine reste encore très utilisée dans le traitement de nombreux cancers (sein, poumon, diverses leucémies) et reste l'objet de nombreuses études, notamment comme « proof of principle » de stratégies diverses et variées.

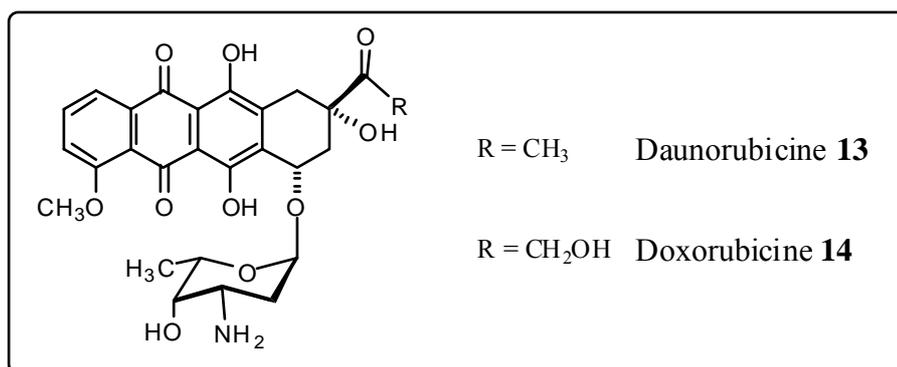


Figure 7

d) Poisons du fuseau

Lors de la division cellulaire, la migration des chromosomes au cours de l'anaphase est assurée par le fuseau mitotique. Celui-ci est constitué de l'assemblage de microtubules

résultant elles-mêmes de la polymérisation d'une protéine hétéro-dimérique : la tubuline (*vide infra*).

Cet assemblage de la tubuline en microtubules est inhibé par certains composés tels la vinblastine **15**, la vincristine **16** et la colchicine **17** (Figure 8), qui bloquent la cellule en métaphase prolongée et déclenchent l'apoptose. C'est pourquoi le fuseau mitotique a été et reste une cible oncologique de premier ordre.^{1*}

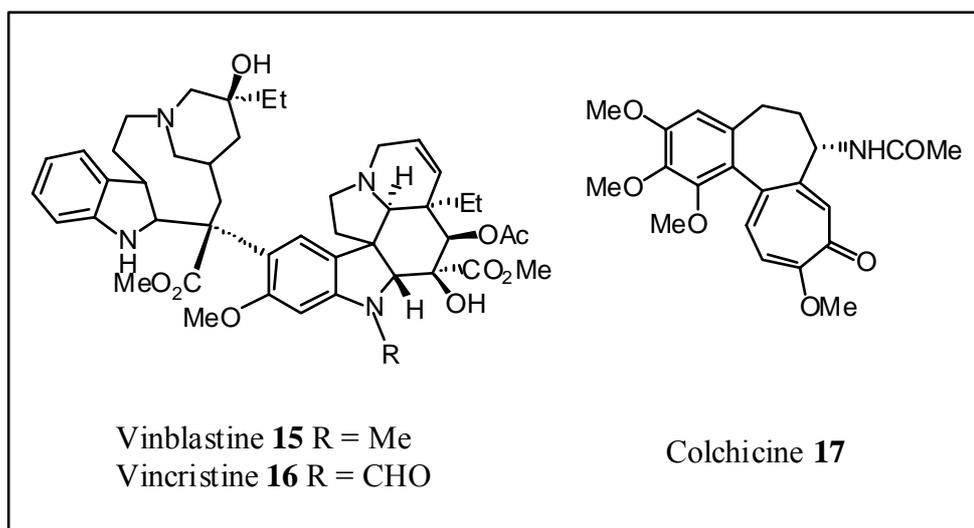


Figure 8

Le paclitaxel, le docetaxel, ainsi que de nouveaux composés très prometteurs tels les épothilones A **18** et B **19**, l'éleuthérobine **20**, le laulimalide **21** ou la (+)-discodermolide **22** (Figure 9), favorisent au contraire l'assemblage et inhibent le désassemblage des microtubules. Comme précédemment ils bloquent la division cellulaire en métaphase.

* Ces chiffres renvoient à la bibliographie en fin d'ouvrage.

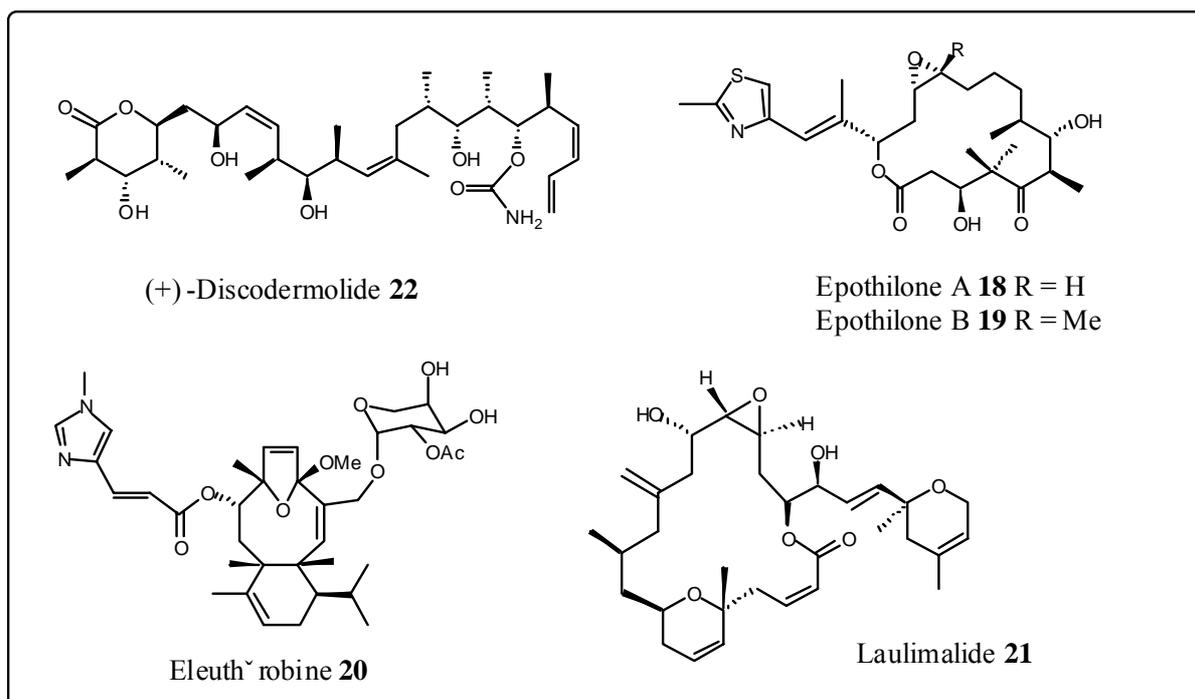


Figure 9

II) Système tubuline-microtubule et cycle cellulaire

Le terme microtubule apparu assez récemment (début des années 60) provient des recherches de la biologie cellulaire. Ce sont les travaux autour du système tubuline-microtubule qui ont mené à la découverte du mécanisme d'action de la colchicine, mécanisme à l'époque très original.

1) Le système tubuline-microtubule

a) Description²

Avec les filaments d'actine (7 nm) et les filaments intermédiaires (10 nm), les microtubules forment les trois filaments protéiniques majeurs du cytosquelette de la cellule. Ils se présentent sous la forme de tubes creux de diamètre externe de 25 nm et ont pour principales fonctions de modeler la cellule, d'assurer le transport d'organites et les mouvements cellulaires et enfin, point qui nous intéresse plus particulièrement, de séparer les

chromosomes lors de la mitose.

Les microtubules sont constitués de molécules de tubuline qui est un polypeptide globulaire hétérodimérique formé lui-même de deux sous-unités distinctes, mais possédant des séquences aminées très proches, de 55 kDa et 4 nm environ chacune : la tubuline α et la tubuline β . Les dimères $\alpha\beta$ de tubuline se joignent bout à bout, avec la tubuline β d'un dimère liée à la tubuline α du dimère suivant, créant ainsi des protofilaments. L'arrangement latéral de 13 de ces protofilaments forme une cavité cylindrique vide (diamètre interne de 14 nm) qui est dénommé microtubule (Schéma 1).

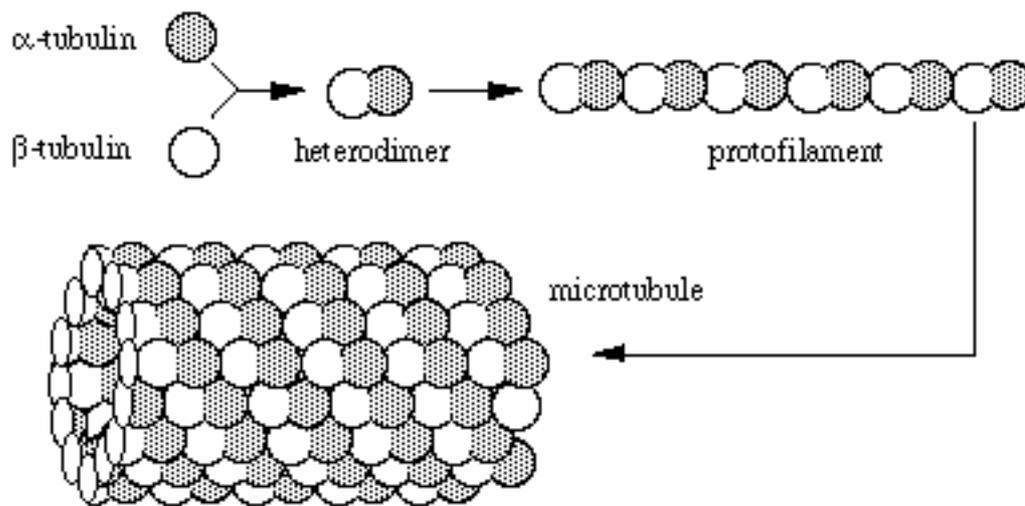


Schéma 1

b) Dynamique des microtubules

L'assemblage de tubuline en microtubule se fait spontanément *in vitro* et s'accompagne de l'hydrolyse d'un nucléotide lié, en l'occurrence un GTP (Guanosine TriPhosphate). L'hydrolyse du nucléotide possède une influence critique sur la cinétique de polymérisation.

Ce processus dépend d'un échange constant entre les molécules de tubuline du microtubule et une réserve cytosolique de tubuline. Typiquement dans des cellules en culture soumises à des conditions de croissance normale, on estime à 50% le pourcentage de tubuline polymérisée. La stabilité des différentes structures microtubulaires varie grandement, l'une des plus fragile étant le fuseau mitotique, d'où sa grande sensibilité aux composés perturbant la dynamique de polymérisation.

Les microtubules oscillent constamment entre allongement et raccourcissement, ce qui a été caractérisé par le terme d'**instabilité dynamique**. Cet équilibre est régi par une

concentration critique en tubuline (Cc)³ : lorsque la concentration en tubuline du milieu est supérieure à Cc l'équilibre va vers l'allongement du microtubule (sens 1), dans le cas contraire l'équilibre est déplacé dans le sens d'hydrolyse du microtubule (sens 2) (Schéma 2).

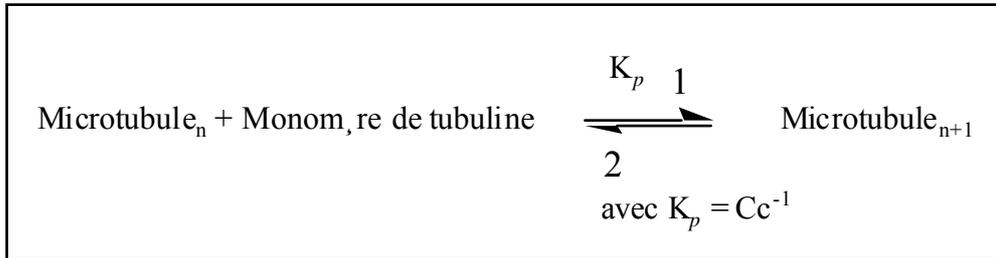


Schéma 2

D'autres facteurs rentrent en ligne de compte pour cet équilibre :

- L'assemblage est optimal pour un pH de 6.9, à 37°C, en présence d'ions Mg^{2+} , de GTP et de protéines associées aux microtubules (MAP's).
- Le désassemblage est favorisé par la présence d'ions Ca^{2+} ou par refroidissement (4°C).

Il est intéressant de noter que les microtubules présentent une structure polaire due à l'arrangement de leur sous-unité asymétrique. Les deux extrémités du polymère sont ainsi différenciées ; il a en effet été observé que l'une des deux parties terminales du polymère (nommée extrémité +) grossit trois fois plus vite que l'autre (nommée en conséquence extrémité -). Il a de fait été établi une Cc pour chacune des extrémités.

2) Le cycle cellulaire

Le cycle cellulaire de la majorité des cellules eucaryotes se décompose en quatre phases distinctes appelées, dans l'ordre, G_1 , S, G_2 et M. Les phases G_1 , S et G_2 constituent l'interphase, période durant laquelle la cellule duplique son matériel génétique pour pouvoir se diviser. L'interphase représente environ 90% du temps total du cycle cellulaire, temps qui peut varier de 16 à 24h.

La phase M (pour Mitose) correspond à la division cellulaire proprement dite, phase au cours de laquelle une cellule mère va donner naissance à deux cellules filles génétiquement rigoureusement identiques (Figure 10).

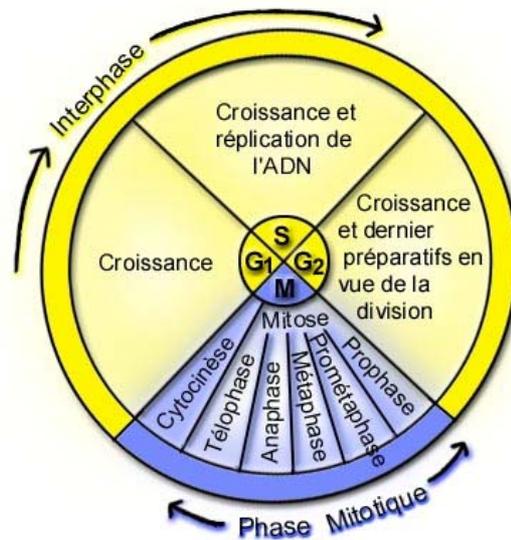


Figure 10

Au cours de ce processus de mitose, l'instabilité dynamique des microtubules augmente, leur demi-vie chutant de quelques minutes à quelques secondes.

Les profondes réorganisations morphologiques de la cellule au cours de la mitose incluent la création du fuseau mitotique. Ce dernier est accroché par son extrémité négative au centrosome (centre initiateur et organisateur des microtubules dans la cellule) et par son extrémité positive aux chromosomes. Il induit l'alignement équatorial de ces derniers lors de la métaphase. Ensuite, lors de l'anaphase, la dynamique intrinsèque des microtubules s'accélère, raccourcissant de fait la longueur du fuseau mitotique et donc générateur de la migration des chromosomes. Cette migration est primordiale puisqu'elle permet la séparation en deux lots identiques du matériel génétique de la cellule pour conduire aux deux cellules filles.

Il ressort manifestement de ce qui précède que la dynamique des microtubules s'avère capitale pour le bon déroulement de la mitose et donc de la division cellulaire. Il en résulte que toute altération de ce processus induira un arrêt de la mitose pouvant conduire à l'apoptose.

Le système tubuline-microtubule s'est donc révélé une cible privilégiée dans le traitement du cancer, maladie qui se caractérise par des cellules en divisions rapides. C'est pourquoi ces dernières années ont vu le développement d'agents antitumoraux majeurs tels le

paclitaxel **1** et son analogue docetaxel **2**, ainsi que la Navelbine[®], qui sont venus s'ajouter à la vinblastine **15** et la vincristine **16**.

3) Mécanisme d'action des taxoïdes

Après la découverte de l'activité d'un dérivé de l'if, la percée de première importance fut l'élucidation par Susan Horwitz et coll. de la cible biologique du paclitaxel.^{4, 5} Ils ont en effet démontré que ce composé d'une part accélère l'assemblage de la tubuline en microtubule, et d'autre part inhibe le désassemblage de ces microtubules induit par le froid ou la présence d'ions Ca^{2+} . La Figure 11 représente le paclitaxel dans son site d'action sur la tubuline.

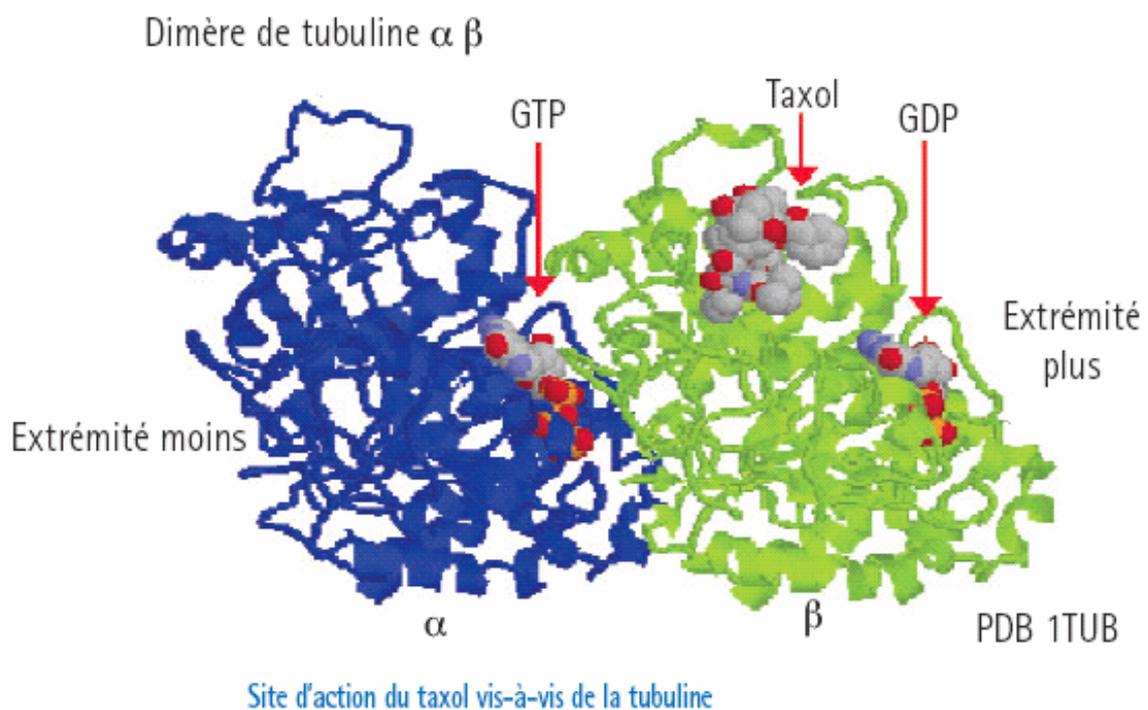


Figure 11

Les nombreuses études réalisées par la suite ont mis en évidence plusieurs points d'intérêt :

- i. Le paclitaxel se fixe de manière stœchiométrique et réversible sur son site d'attache aux microtubules, mais pas sur l'hétérodimère de tubuline $\alpha\beta$.⁶
- ii. Les cellules exposées au produit répliquent convenablement leur ADN (phase S) mais se bloquent au stade G_2 ou M du cycle cellulaire.⁷

- iii. En présence de paclitaxel la concentration critique en tubuline Cc et le temps d'initiation d'assemblage sont réduits.^{3,4}
- iv. La structure des microtubules avec le paclitaxel est anormale : diamètre externe de 22 nm au lieu de 24, protofilament constitué de 12 hétérodimère $\alpha\beta$ au lieu de 13.^{3,8}
- v. Le site de fixation du paclitaxel diffère de celui des vinca-alcaloïdes inhibant l'assemblage de tubuline en microtubule.⁸

Le Schéma 3 récapitule l'assemblage de la tubuline en présence ou en absence de paclitaxel (reproduction tirée du site internet d'Ojima).

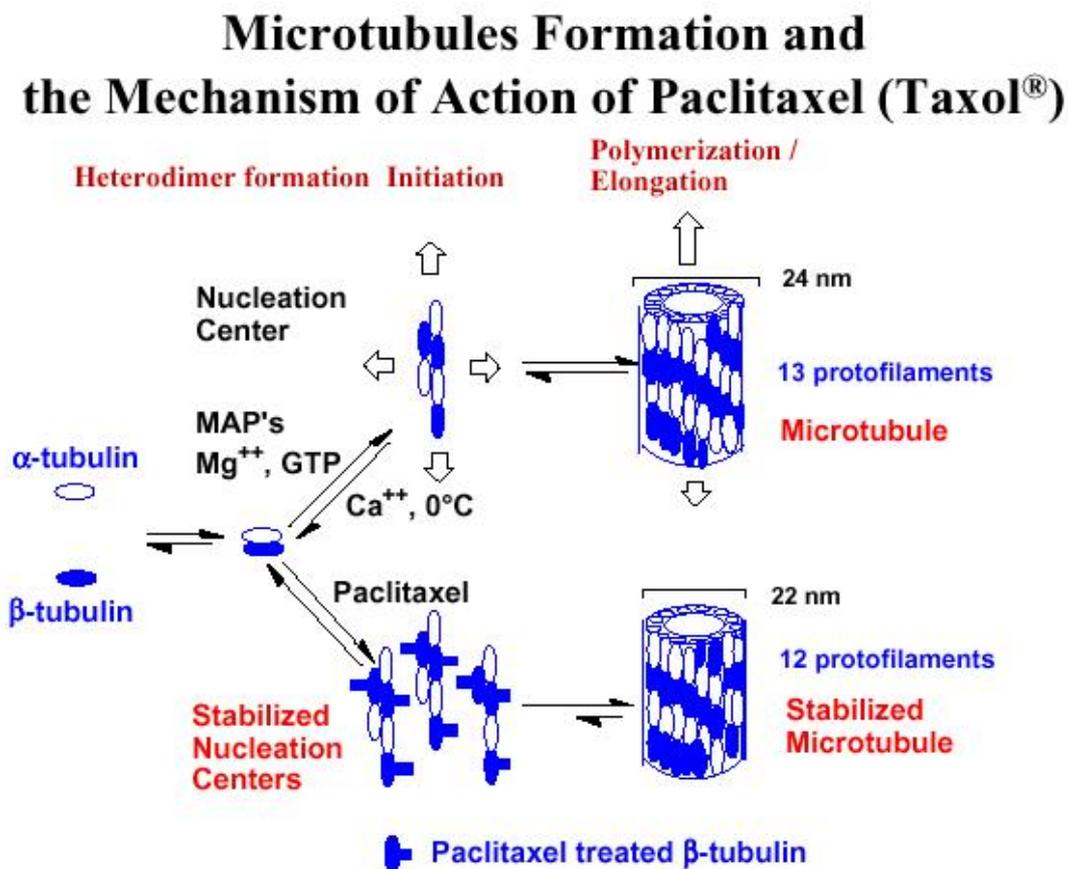


Schéma 3

III) Le Paclitaxel

1) Généralités sur les taxoïdes

L'histoire de l'If est au moins aussi ancienne que celle de la civilisation occidentale. Les pieds femelles de cet arbre de taille moyenne à croissance lente produisent des graines entourées par un arille rouge. Sa résistance et sa longévité exceptionnelles en font un attribut fréquent des parcs et des jardins. Son classement taxonomique n'est pas aisé. En effet, d'apparence semblable aux conifères, certains caractères morphologiques (absence de cônes et d'écoulement de résine) l'en éloignent, d'où son placement dans l'ordre des "Taxales". Le genre *taxus* (famille des taxacées) est répandu dans toutes les zones tempérées de l'hémisphère nord et comprend une dizaine d'espèces dont l'if européen (*Taxus baccata* L.), l'if japonais (*Taxus cuspidata* Sied. & Zucc.) ou encore l'if du pacifique (*Taxus brevifolia* Nutt.).⁹

En raison de sa grande toxicité et de son utilisation pour faire des armes, l'if était dans les anciens temps associé à la mort. De fait, Homère relatait déjà il y a environ 3 000 ans son emploi pour la confection d'arcs. Les propriétés toxiques de toutes les parties le constituant (écorce, épines, graines), rapportées déjà par Théophraste au IV^e siècle avant notre ère ou encore Pline l'Ancien, sont connues des naturalistes. Malgré cette toxicité *a priori* contre-indiquée, l'if européen est réputé pour ses nombreuses et variées propriétés médicinales (cardiotonique, expectorant, antispasmodique, diurétique, antiseptique, emménagogue*).¹⁰ Nous voyons apparaître ici la dualité entre l'utilisation de substances actives dans un but thérapeutique et leur contrepartie de toxicité inhérente.

Aujourd'hui plus de 250 composés présents dans l'if ont été identifiés. La majorité présente le squelette diterpénique tricyclo [9.3.1.0] pentadécane communément appelé squelette taxane (Figure 12). Ces molécules qui forment un groupe homogène sont regroupées sous le vocable général de taxoïdes (*taxanes diterpénoïdes*). La numérotation des carbones du squelette taxane recommandée par l'IUPAC sera respectée tout au long de ce manuscrit.

* Qui favorise ou régularise l'écoulement des règles.

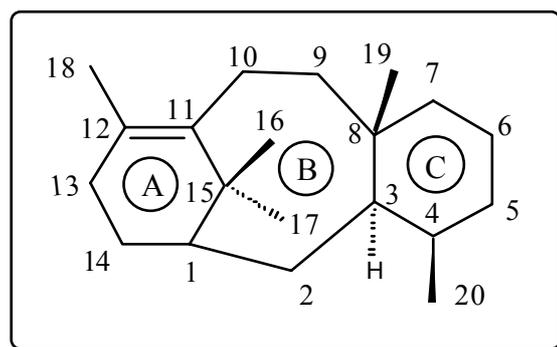
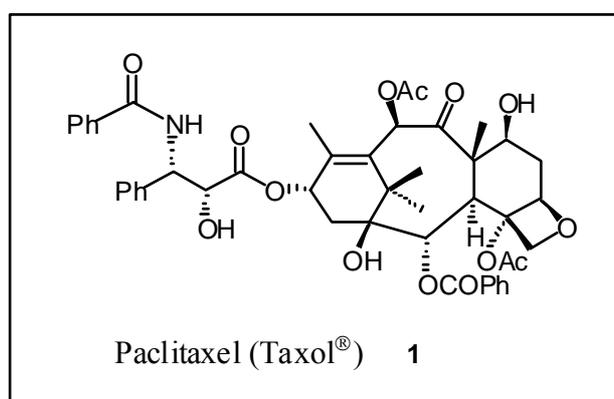


Figure 12

2) Isolement du Paclitaxel¹¹

L'origine de l'histoire du paclitaxel remonte aux années 60 lorsque le National Cancer Institute (NCI) américain lance un vaste et ambitieux programme de recherche de composés anticancéreux d'origine végétale. Au cours de ce dépistage massif, des centaines d'extraits bruts de plantes de toutes provenances verront leur activité évaluée *in vitro* et *in vivo*.

Un extrait de l'if du pacifique se révélera toxique sur la lignée de cellules murines leucémiques L1210 et le carcinome Walker 256. L'isolement du composé responsable de cette activité débute en 1965 au laboratoire de Monroe Wall au "Research Triangle Institute" de Caroline du Nord. Après seulement quatre années, le paclitaxel est obtenu sous sa forme pure et sa structure publiée en 1971.¹² Le nom chimique "taxol" est attribué par Wani et Wall à ce composé, mais par la suite les laboratoires Bristol-Meyers Squibb (BMS) enregistreront le nom Taxol[®] pour leur formulation pharmaceutique, le nom générique paclitaxel étant alors dévolu au composé **1**.



A cause de son très mauvais rendement d'extraction (0.014% à partir de l'écorce de *T. brevifolia*)¹³ et à sa faible solubilité aqueuse, l'importance pharmacologique du paclitaxel ne sera pas reconnue immédiatement. Les travaux de Fuchs et Johnson qui découvrent son

activité antiméiotique¹⁴ complétés par ceux de Susan Horwitz qui trouve que cette molécule provoque l'assemblage de la tubuline en microtubules et stabilise ces derniers⁴ vont être à l'origine de l'expansion exponentielle des études au sujet du paclitaxel et de la famille des taxoïdes. En effet, ce mécanisme d'action original et unique à l'époque diffère de celui de tous les antiméiotiques alors connus (alcaloïdes de la pervenche, colchicine) qui agissent eux en tant qu'**inhibiteurs** de l'assemblage de la tubuline. Une publication très récente¹⁵ indique que le paclitaxel exerce un effet antitumoral, au moins en partie, par inhibition de la kinase p70S6K (kinase ribosomale de 70 kDa). Il reste donc du travail dans la compréhension des modes d'action du paclitaxel qui permettrait son utilisation optimum ; une publication très récente de Seiden et coll.¹⁶ relate les différents mécanismes d'action identifiés du paclitaxel ainsi que les problèmes de résistance rencontrés dans son emploi en clinique.

Le NCI lance alors une campagne d'essais cliniques sur des patientes atteintes d'un cancer incurable de l'ovaire et des patientes atteintes d'un cancer du sein. Les résultats (1989-1991) mettent en avant la bonne activité du paclitaxel contre les tumeurs solides.

Le développement confié à BMS aboutit en 1993 à son AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) par la FDA (Food and Drug Administration, autorité régulatrice aux Etats-Unis) pour le traitement du cancer des ovaires, AMM suivie en 1996 de celle du cancer du sein et en 1998 de celle du cancer du poumon non à petites cellules. Son utilisation clinique n'a cessé d'augmenter depuis lors et il fait l'objet de très nombreuses évaluations pour le traitement d'autres cancers, seul ou en association avec d'autres antitumoraux (polychimiothérapie).¹⁷

3) Approvisionnement en paclitaxel

Les études et les essais cliniques menés par le NCI ont rapidement fait émerger un problème majeur lié au paclitaxel : celui de son approvisionnement. De fait, les rendements d'extraction particulièrement faibles déjà cités conjugués à une demande exponentielle ont eu tôt fait de menacer de disparition l'if du pacifique.

Pour pallier cette difficulté, plusieurs approches paraissaient possibles dont certaines sont décrites ci-dessous.

a) Synthèse totale

La synthèse totale du paclitaxel représente une tâche formidable pour le chimiste organicien de par son architecture complexe et inusuelle (par ex. le cycle oxétane), ses onze centres stéréogéniques, ses groupes fonctionnels élaborés et son extrême fragilité à différents réactifs acides ou basiques conduisant à de nombreux réarrangements.¹⁸

Aujourd'hui six synthèses totales seulement ont été décrites,¹⁹ les deux premières (Holton et Nicolaou) intervenant à peu près à la même époque en 1994. La synthèse la plus courte est celle de Wender qui nécessite 37 étapes. Evidemment aucune de ces synthèses n'est viable à l'échelle industrielle, mais elles ont largement contribué au développement de nouvelles méthodologies et stratégies synthétiques. Ces travaux ont par ailleurs grandement facilité la conception et la synthèse d'analogues divers et variés autour du squelette taxane.

b) Hémisynthèse

Les difficultés rencontrées lors de la synthèse totale du paclitaxel ont rapidement mis en avant le potentiel résidant dans son hémisynthèse. C'est au cours de travaux à ce sujet que la découverte, plus ou moins fortuite, du docetaxel **2** a eu lieu.

Tirant parti de l'abattage de nombreux if européens, l'équipe de Pierre Potier en a profité pour extraire les différentes parties de cet arbre. L'extraction des feuilles a notamment permis, grâce à un test tubuline mis au point dans ce laboratoire, d'isoler la 10-désacétylbaccatine III **23** (10-DAB) (Figure 13). Ce composé déjà décrit par Wani et Wall comme produit d'hydrolyse du paclitaxel¹² a pu être extrait avec le rendement, comparativement excellent, de 1g par kg de feuilles fraîches.²⁰ Cette molécule s'est rapidement imposée comme un précurseur modèle pour la synthèse du paclitaxel ou d'analogues. En effet, d'une part son approvisionnement est assuré puisque la récolte des feuilles ne nuit pas à l'arbre ; d'autre part il est obtenu en quantité assez importante et sa structure est très proche de celle du paclitaxel.

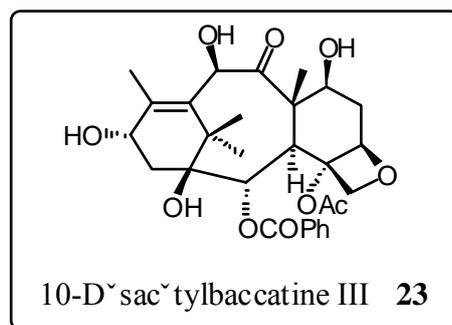


Figure 13

La production de paclitaxel au départ de la 10-DAB peut s'effectuer par estérification d'une chaîne de type *N*-benzoyl-3-phénylisosérine de stéréochimie convenable par l'hydroxyle en 13 de la 10-DAB. La synthèse énantiosélective de la chaîne latérale du paclitaxel a été réussie par aminohydroxylation, époxydation asymétrique, ou encore hydrogénation.

Les études de cette acylation ont montré que la réactivité des différents hydroxyles secondaires portés par la 10-DAB était dans l'ordre décroissant : OH-7>OH-10>OH-13.^{21, 22}

La première acylation en position 13 effectuée sur la 10-DAB a été réalisée dans le laboratoire de Pierre Potier.²¹ Au cours du travail effectué à cette occasion, un composé montrant une meilleure cytotoxicité, et surtout une meilleure activité sur le système tubuline-microtubule, a été identifié : le docetaxel.^{22, 23} Cette molécule sera développée par le CNRS et Rhône-Poulenc Rorer sous l'appellation Taxotere[®]. La FDA l'a approuvée en 1996 pour le traitement du cancer du sein résistant à la doxorubicine ; il est également employé dans le cancer du poumon non à petites cellules et fait l'objet de nombreux essais cliniques, seul ou en association, pour diverses tumeurs.¹⁷

Les méthodes hémisynthétiques les plus performantes conduisant au paclitaxel ou au docetaxel font appel à des couplages mettant en jeu des chaînes latérales énantiomériquement pures sous la forme d'oxazolines, d'oxazolidines ou de β-lactames.

La production industrielle de ces deux agents s'effectue par l'une de ses méthodes, respectivement une oxazoline pour le docetaxel et un β-lactame pour le paclitaxel, permettant une fourniture adéquate, par rapport à la demande, de ces deux produits.

Le point noir de l'utilisation de ces deux composés demeure leur galénique. En effet, en raison de leur faible solubilité aqueuse n'autorisant pas une administration usuelle par voie intraveineuse, des formulations spécifiques ont été mises au point. Ainsi le paclitaxel est formulé dans 50% d'éthanol et 50% de Cremophor EL[®], une huile de ricin polyéthoxylée, et le docetaxel dans du polysorbate 80 (Tween 80[®]). Ces formulations sont à l'origine de nombreux effets secondaires, particulièrement des allergies²⁴, nécessitant des pré-régimes médicamenteux à base d'anti-histaminiques et de corticostéroïdes.

Pour remédier à ces difficultés, il est envisageable d'améliorer leur solubilité aqueuse par greffage de groupements polaires, mettre au point de nouvelles formules galéniques ou bien

les transformer en prodrogues. Toutefois, avant d'entreprendre de telles modifications, il faut attentivement regarder les relations structure-activité (SAR) des taxoïdes, ce qui fait l'objet du paragraphe suivant.

c) Études SAR

La recherche d'analogues avec de meilleures activités, la propriété de surmonter la MDR (Multi Drug Resistance) qui peut être liée à la surexpression de la glycoprotéine-P, associées au besoin d'entreprendre des études conformationnelles et de « binding », ont conduit à la synthèse d'un nombre impressionnant de dérivés du paclitaxel.* Les études SAR ont permis l'identification et la caractérisation de traits essentiels à l'activité du paclitaxel.^{3, 13, 25, 26}

1- La chaîne latérale

Cette chaîne en position 13 est un groupe essentiel et doit contenir un hydroxyle libre en 2', à tout le moins une liaison ester hydrolysable. Des modifications en C-3' et N-3' ont produit quelques analogues avec d'excellentes activités.

L'importance de cette chaîne apparaît également au travers des très nombreuses méthodologies développées pour sa préparation et son couplage avec une baccatine correctement protégée.

2- L'hémisphère sud

Cette partie contient l'hydroxyle tertiaire en 1, le benzoate en 2 et l'acétate en 4.

Le 1-déoxy paclitaxel synthétisé a montré le rôle relativement peu important de cette fonction hydroxyle dans l'activité du paclitaxel. En revanche, l'absence d'un acyl en position 2 ou 4 résulte en une activité significativement réduite des composés. Un groupe hydrophobe acyl ou aryl est requis en 2 pour l'activité, une débenzoylation ou une désoxygénation complète en cette position 2 menant à des analogues inactifs. La substitution sur le noyau phényl donne des résultats intéressants, reliés notamment à la position de substitution. Ainsi une substitution par un azido en *para* réduit l'activité alors qu'en *meta* elle l'augmente.

* Le docetaxel, par nature héli-synthétique et protégé par de nombreux brevets, a reçu beaucoup moins d'attention que le paclitaxel.

3- L'hémisphère nord

Les résultats convergent pour montrer que, d'une manière générale, les hydroxyles 7 et 10 et la cétone 9 peuvent être enlevés ou dérivés sans changement substantiel d'activité. Ces deux positions ont donc été souvent employées pour moduler la pharmacologie de taxoïdes actifs. Par exemple un dérivé thiométhoxyméthyl en 7 de BMS est actuellement en essais cliniques.

4- Le cycle oxétane

Les données concernant ce cycle s'avèrent un peu contradictoires. Au début, la présence de l'oxygène semblait nécessaire à l'activité par suite de la formation d'une liaison hydrogène au site de fixation. Une autre hypothèse était qu'il favorisait la rigidité du cycle C, maintenant en cela l'acétyle 4 dans sa conformation active. Le remplacement de l'oxygène par un soufre réduit la cytotoxicité et l'affinité tubuline, probablement parce que la taille plus imposante du soufre induit des modifications de conformation, et éventuellement par sa plus faible capacité d'accepteur de liaison hydrogène.

Des études plus récentes, aidées par la modélisation moléculaire informatique, ont suggéré que les composés délestés de cet oxétane pouvaient avoir des activités similaires à celles du paclitaxel. Ceci est appuyé par la synthèse d'un analogue 5(20)-déoxycetaxel possédant la même activité que le paclitaxel²⁷ ; la conservation de l'activité serait due à la rigidification induite par le cycle cyclopropyle, à l'instar de l'oxétane. Toutes ces données (non exhaustives) sont résumées dans la Figure 14 ci-dessous.

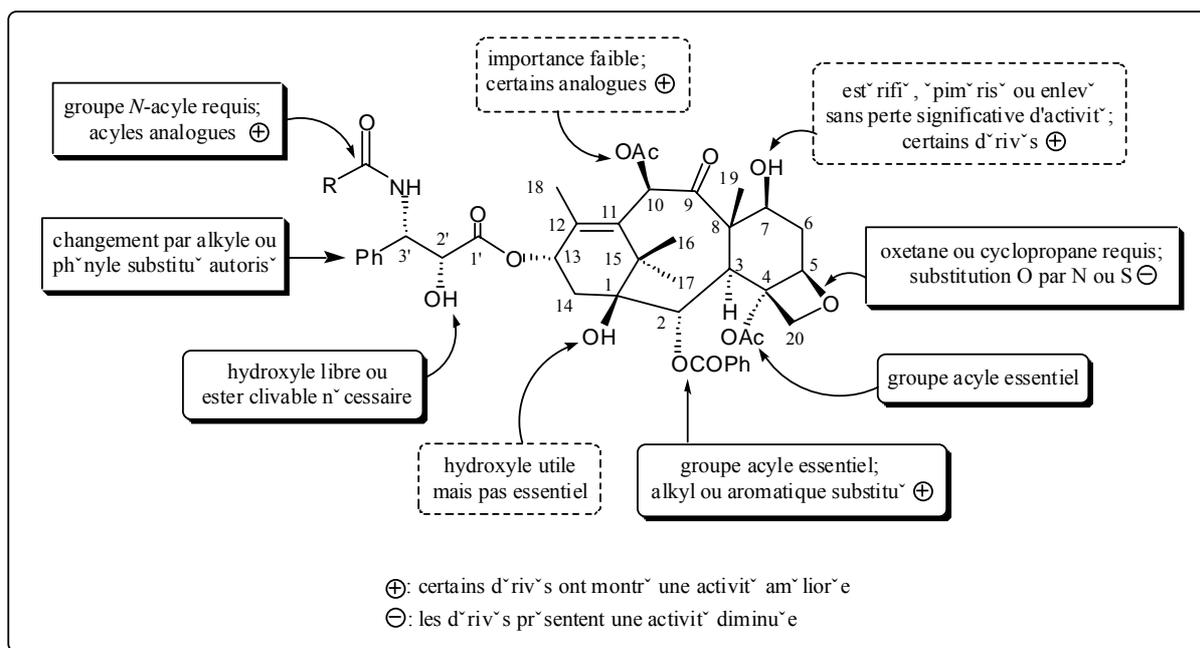


Figure 14

Il semble également que le paramétrage de l'hydrophobicité des taxoïdes joue grandement sur leur capacité d'interaction avec la tubuline,²⁸ étant également connu que le paclitaxel, en solution, forme des dimères ou divers agrégats qui seraient partie prenante de son activité.²⁹

PARTIE II : CIBLAGE de CONJUGUES³⁰⁻³²

Dès 1906, Paul Ehrlich a proposé le ciblage spécifique de médicament grâce à l'emploi d'anticorps obtenus à partir du système immunitaire humain.³³ La première application dans le domaine du cancer verra le jour 50 ans plus tard avec la mise au point par Mathé d'un conjugué méthotrexate-anticorps.³⁴ Ce n'est qu'avec l'avènement des anticorps monoclonaux (en abrégé mAb)* que ce concept va être réactualisé³⁵; les progrès de la biologie cellulaire et moléculaire, permettant la meilleure caractérisation des structures en jeu et la production d'immunoglobulines, donneront toute sa dimension à cette approche. L'ingénierie des anticorps,³⁶ avec la production de fragments mono- (Fab) ou bi-valents (Fab'), ou encore l'obtention de simples chaînes (ScFv), ont également permis bien des avancées et donné de grands espoirs.

Du fait des faibles différences biologiques et physiologiques entre cellules saines et cellules cancéreuses, la fenêtre thérapeutique d'un cytotoxique est très réduite puisqu'il sera très difficile à cet agent de différencier les cellules et donc d'être sélectif.

C'est pourquoi la découverte d'antigènes associés à des tumeurs a insufflé un renouveau dans le champ du ciblage de composé, particulièrement par le biais de la stratégie TAP (Tumor Activated Prodrug).³⁷ Cependant, lorsqu'il est apparu que, encore une fois, ces antigènes étaient parfois seulement quantitativement différents entre tissu sain et tissu tumoral, la question de l'exploitation thérapeutique de ces antigènes s'est posée. Les progrès dans ce domaine ont été entravés par les difficultés à définir des voies d'activation de prodrogues restreintes à la population cellulaire tumorale.

De manière générale une prodrogue peut être définie comme un composé qui, après administration, se voit transformé, soit de manière métabolique, soit par clivage chimique spontané, en une espèce pharmacologiquement active.

* Cette abréviation dérive de l'anglais "monoclonal Antibody" et est utilisée à la place de l'abréviation française mAc qui peut porter à confusion avec l'abréviation chimique des acétyles Ac.

I) Immunoconjugués

L'hypothèse de départ est que la conjugaison d'un composé cytotoxique à un anticorps désactive cette drogue* (en limitant sa diffusion) sans modifier l'affinité de l'anticorps pour son antigène, permettant ainsi la localisation du conjugué sur les cellules cibles, son internalisation et *in fine* la libération de la drogue.

Trois stratégies peuvent être définies pour le ciblage de tels conjugués.

- La première approche consiste à attacher la drogue de telle sorte que le relargage soit issu d'un processus non spécifique (hydrolyse ou dissociation par exemple, pH-dépendance) conduisant à un temps de demi-vie pour le clivage de la prodrogue. L'intérêt de la facilité de relargage est largement contrebalancé par le fait que le composé se retrouve partout dans l'organisme, ainsi une part importante de l'efficacité se trouve perdue tant que la localisation au niveau de la tumeur n'a pas eu lieu.
- Une autre possibilité prend avantage de certaines propriétés du milieu extracellulaire (acidité accrue, présence de protéases) pour cibler directement l'agent sur le tissu tumoral. Bien que présentant dans une certaine mesure un "bystander effect" (propriété de la drogue d'être active sur les cellules antigène négative présentes au voisinage des cellules antigène positive), la rapidité et la spécificité de délivrance au niveau des cellules tumorales peuvent s'avérer insuffisantes.
- La troisième tactique se présente par l'internalisation puis l'endocytose de macromolécules contenant le principe actif ainsi libéré par dégradation lysosomiale. C'est la plus employée des trois. Elle possède l'avantage de ne toucher que les cellules présentant l'antigène cible, mais inversement souffre du fait que les autres cellules ne pourront être touchées efficacement. Le meilleur moyen d'attacher une drogue à une macromolécule consiste à employer un espaceur stable dans le sérum mais clivé spécifiquement dans le milieu intracellulaire par une enzyme.

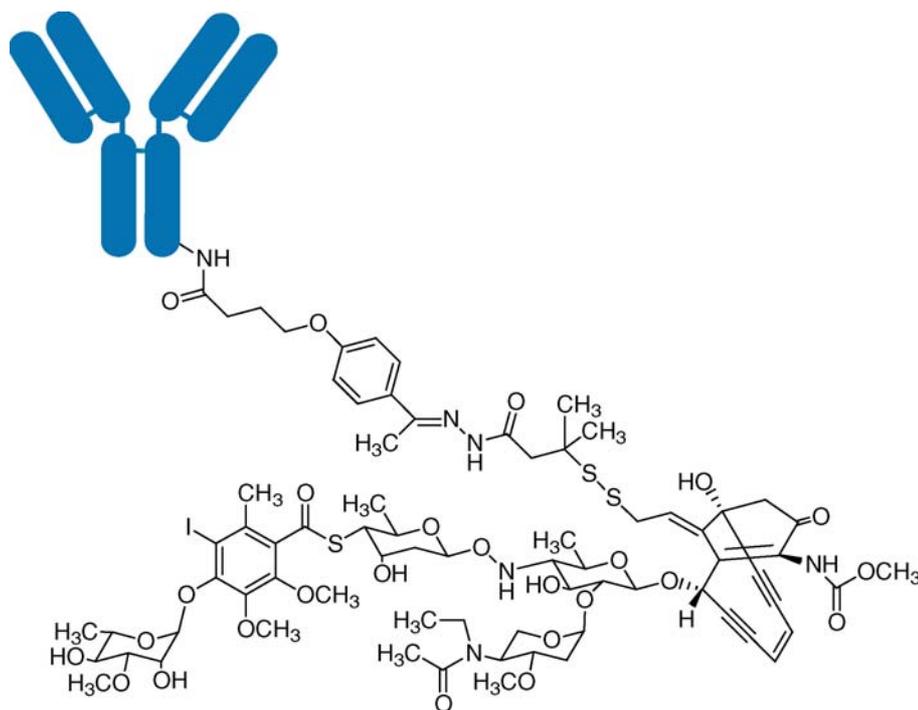
* Il faut ici, et pour toute la suite de ce document, prendre le mot drogue dans l'acception anglo-saxonne d'un composé ayant une activité biologique.

Un immunoconjugué du taxol a été reporté par Guillemard et Saragovi.³⁸ Le taxol est d'abord modifié par action de l'anhydride glutarique, ce qui lui donne un lien ester clivable, puis directement couplé à un anticorps au moyen de DCC. Les ratios moléculaires drogue/anticorps des conjugués étaient évalués à 1.

Les tests de cytotoxicité ont montré des cytotoxicités supérieures ou égales des conjugués par rapport au paclitaxel ; *in vivo* ces immunoconjugués ont manifesté une petite mais significative réduction de croissance tumorale de neuroblastomes xénogreffés.

Plus récemment, des conjugués par pont disulfure du paclitaxel avec trois anticorps monoclonaux dirigés contre l'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) ont montré de bonnes activités antitumorales sélectives *in vivo*.³⁹

Il est clairement établi que des avancées importantes et fructueuses ont été faites dans la dernière décennie au sujet du ciblage d'antitumoraux par des anticorps. En particulier, la réduction de la réponse immunitaire à la protéine usitée et l'amélioration de la sélectivité ont diminué voire éliminé certains effets secondaires. Ainsi le Mylotarg[®] (Figure 15), conjugué entre la calichéamycine et une IgG₄ humanisée dirigé contre le CD33, a été approuvé en 2001 dans le traitement de la leucémie myéloïde aiguë. Le surcroît d'intérêt ici est l'emploi d'une énediyne particulièrement cytotoxique (de l'ordre du nanomolaire).



Mylotarg®

Figure 15

Auparavant, seulement quatre anticorps, utilisés en tant que tels sans conjugaison, avaient déjà été approuvés comme médicaments (Tableau 1).³²

Anticorps commercial (nom générique)	Antigène cible	Type d'anticorps	Strategie employée	Tumeur cible
Campath (alemtuzumab)	CD 52	hu IgG ₁	-	Cellule B, leucémie lymphocytaire chronique
Herceptin (trastuzumab)	ERBB2	hu IgG ₁	Combinaison avec la chimiothérapie	Cancer du sein surexprimant ERBB2
Panorex (edrecolomab)	EpCam	mu IgG _{2a}	Combinaison avec la chimiothérapie	Cancer colorectal de Duke
Rituxan (rituximab)	CD20	ch IgG ₁	Combinaison avec la chimiothérapie	Lymphome non Hodgkinien

Tableau 1

Cependant de nombreux progrès restent à faire ; les facteurs limitant l'application et l'efficacité de ces conjugués sont résumés ci-dessous⁴⁰ :

- Hétérogénéité de l'expression antigénique dans les populations cellulaires situées dans les tumeurs⁴¹
- Faible diffusion du conjugué dans les tumeurs⁴²
- Libération inefficace de l'agent cytotoxique, notamment dans le cas des chimioimmunoconjugués⁴³
- Faible internalisation des chimioimmunoconjugués et des immunotoxines
- Faible concentration du conjugué dans la tumeur⁴⁴
- Immunogénicité des conjugués interdisant l'usage de doses répétées
- Destruction des chimioimmunoconjugués et des immunotoxines dans les lysosomes
- Hétérogénéité du conjugué⁴⁵
- La quantité de molécules, de substances actives ou de toxines conjuguées aux anticorps limite le nombre de molécules toxiques délivrées
- Hétérogénéité antigénique des masses tumorales, mais également faible concentration d'antigènes
- Instabilité et immunogénicité des conjugués précédemment cités

En conclusion, il semble donc que les thérapies de tumeurs solides basées sur des anticorps se sont montrées une vraie gageure, d'une part par la difficulté des macromolécules à pénétrer l'intérieur des tumeurs, et d'autre part par l'hétérogénéité de l'antigène cible. Ceci a suscité des recherches considérables pour trouver des stratégies de ciblage alternatives, notamment en dissociant l'agent oncologique de l'anticorps. C'est en particulier le cas de l'ADEPT (Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy) qui est discutée en détails dans la partie suivante.

II) Stratégies anticancéreuses de type TAP (Tumor Activated Prodrug)

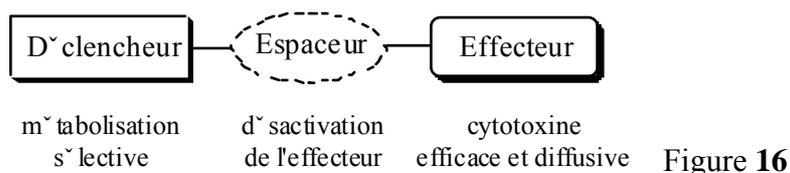
1) Principe

Alors que des prodrogues d'agents cytotoxiques ont déjà été utilisées en chimiothérapie anticancéreuse (esters de la cytarabine⁴⁶, cyclophosphamide⁴⁷), celles-ci subissent une activation non spécifique et ont été conçues essentiellement pour modifier distribution ou pharmacocinétique du cytotoxique employé par la modification de ses propriétés physicochimiques.

Dans l'espoir de contourner les problèmes liés à l'utilisation d'immunoconjugués tout en conservant les qualités intrinsèques de ciblage des anticorps monoclonaux, de nouvelles stratégies thérapeutiques ont été développées. Pour surmonter les écueils précédents, une enzyme ciblée sera utilisée et jouera le rôle de facteur multiplicateur par catalyse enzymatique d'une réaction chimique démasquant une prodrogue non toxique en drogue cytotoxique.

Ces TAP doivent remplir un certain nombre de critères. Tout d'abord ils doivent se distribuer efficacement dans l'intérieur (hypoxique) des tumeurs pour y subir une métabolisation cellulaire spécifique ; l'espèce active ainsi générée doit pouvoir diffuser à une distance limitée pour obtenir un "bystander effect".

Sans prendre en compte le mécanisme impliqué dans leur activation, il est utile de considérer ces prodrogues comme constituées de trois parties distinctes (Figure 16) : une partie déclenchante (« trigger ») et un effecteur (une cytotoxine) reliée par un espaceur ; il faut noter que la présence d'un lien entre les deux premières unités n'est pas obligatoire ni nécessaire dans la construction de la prodrogue mais se montre utile pour des considérations de cinétique enzymatique.



Le rôle de la partie déclenchante est de subir la métabolisation par un des mécanismes spécifiques de la tumeur, ce qui correspond à la première étape conduisant à la libération de l'effecteur. L'espaceur quant à lui doit désactiver la prodrogue jusqu'au déclenchement du processus de libération, et ensuite rapidement transmettre ce changement jusqu'à l'effecteur pour le délivrer de manière efficace.

L'extension et la généralisation du concept de pro-prodrogue (ou double prodrogue) équivalent de prodrogue tripartite et ses applications remontent aux années 80.⁴⁸

2) Prodrogues utilisant une spécificité tumorale intrinsèque. Cas de la PMT

a) Expression enzymatique sélective dans les cellules tumorales

Bien qu'il y ait de fortes évidences de régulation enzymatique variant dans les tumeurs par rapport aux cellules saines, l'élucidation de schémas bien établis d'expression n'ont pas encore pu être clairement mis à jour par les recherches. Par conséquent, les essais de développement de prodrogues ciblant des enzymes tumeur-spécifiques n'ont pas été toujours très concluants.

Il y a de même des enzymes connues pour être préférentiellement produites et **sécrétées** par les cellules tumorales (exemple du PSA, Prostate Specific Antigen, des tumeurs de la prostate).

Le cas de la β -glucuronidase humaine, habituellement concentrée dans la partie lysosomale cellulaire, et donc masquée, nous intéresse plus particulièrement. En effet, il a été montré qu'elle se retrouvait en revanche dans le milieu extracellulaire dans le cas de tumeurs nécrotiques, non pas par lyse des cellules comme suggéré au début⁴⁹ mais par un recrutement important, au niveau du site inflammatoire, des mono- et granulocytes, riches en β -glucuronidase.⁵⁰ Cette enzyme se trouve donc être surexprimée au niveau tumoral. Il s'ensuit que des prodrogues dérivées de l'acide β -D-glucuronique pourraient se prêter à cette "prodrogue monothérapie" ou PMT^{50, 51} qui est envisagée dans un certain nombre de cancers comme méthode alternative et/ou complémentaire de l'ADEPT (*vide infra*).

De telles prodrogues libéreraient spontanément leur principe actif au niveau des tumeurs solides (Schéma 4), qui sont connues pour donner une nécrose dès qu'elles atteignent une taille suffisante (de l'ordre de 5 mm). De plus, l'enzyme est présente à la surface des régions nécrotiques d'une grande gamme de tumeurs comme le carcinome du sein, de l'estomac ou du côlon, et d'activité accrue par comparaison avec les tissus sains adjacents,⁵² ce qui étend un peu plus ce concept.

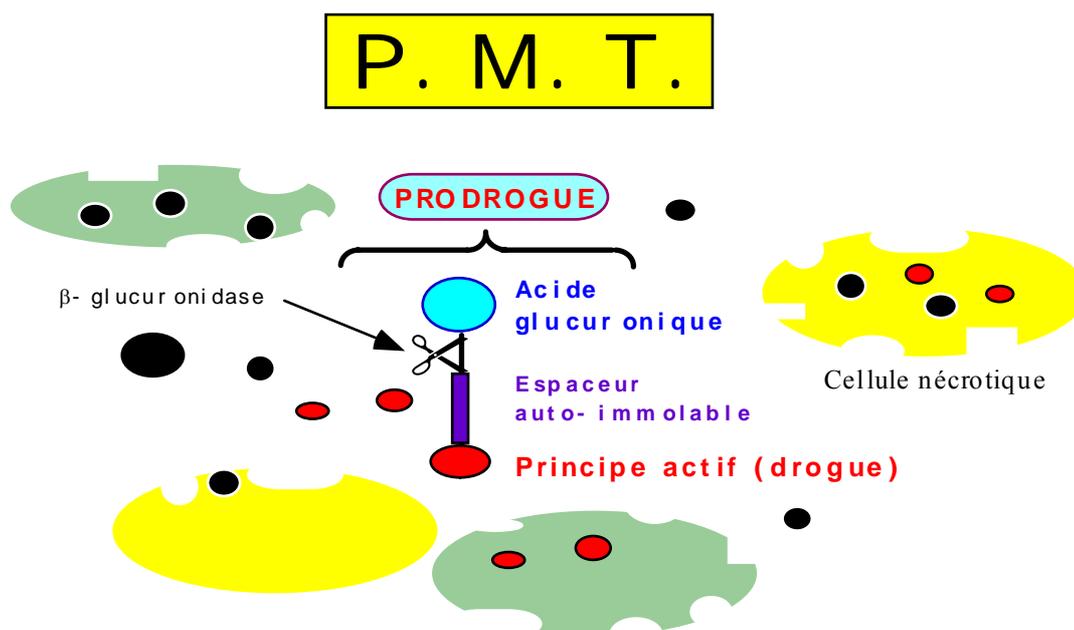


Schéma 4

Un premier exemple fut l'emploi de 5-aziridinyl-2,4-dinitrobenzamide (CB1954) pour guérir le carcinome Walker 256 du rat. De fait, ce carcinome exprime un taux élevé de DT diaphorase⁵³ qui active la prodrogue par réduction du groupement nitré en 4⁵⁴ (Schéma 5). Les résultats dans ce domaine se sont montrés décevants et les progrès insuffisants.

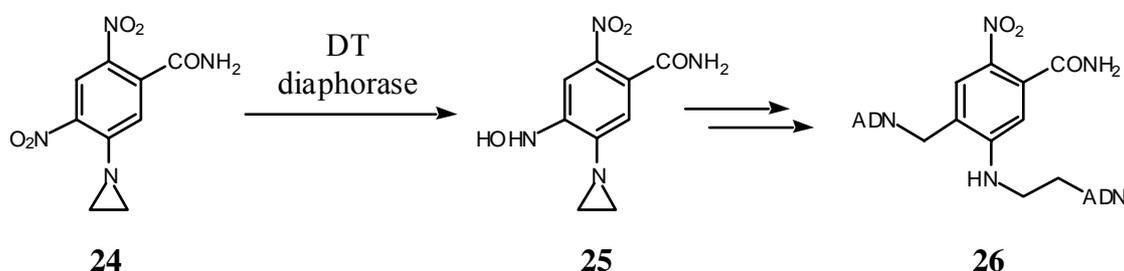


Schéma 5

De même, plusieurs cancers à croissance rapide ou agressifs expriment des enzymes protéolytiques telles les cathepsines B et L, des métallo protéinases matricielles ou encore des activateurs du plasminogène. Elles représentent autant de cibles potentielles pour la chimiothérapie. Quelques exemples de couples formés entre des antitumoraux et ces enzymes sont donnés ci-dessous.

La production d'enzymes protéolytiques est de plus en plus souvent reliée à la malignité des tumeurs.⁵⁵ De fait, cette activité est requise pour que les cellules tumorales

deviennent invasives ou bien forment des métastases.

- Aminopeptidases : une série de prodrogues dans laquelle le méthotrexate (MTX) est lié à des aminoacides par son groupement amino en 2 a été rapportée.⁵⁶

- PSA : des dérivés peptidiques de la 7-amino-4-méthylcoumarine puis de la doxorubicine ont été synthétisés pour cibler cette protéase à sérine.⁵⁷

- Cathepsines : ces protéases à cystéine, notamment la B, sont surexprimées dans les tumeurs ; elles dégradent directement la matrice extracellulaire ou activent le système u-PA (urokinase-type Plasminogen Activator). Le groupe de Dubowchik a rapporté la synthèse de dérivés dipeptidiques du paclitaxel en position 7 **27** ou 2' **28** par l'entremise d'un espaceur *p*-aminobenzyloxycarbonyl (PABC) (Schéma 6).⁵⁸ La position 7 a été préférée au vu du clivage non spécifique des dérivés en 2' par des estérases ubiquitaires. Cependant le désavantage de cette position est qu'elle est moins importante pour la cytotoxicité du paclitaxel que la position 2', résultant en des prodrogues moins détoxifiées.

De plus, la comparaison des mêmes dérivés mais de la doxorubicine et de la mytomycine C cette fois, a révélé des demi-vies d'hydrolyse enzymatique bien plus faibles dans ces deux derniers cas, indiquant un effet de gêne stérique imposée par le squelette paclitaxel.

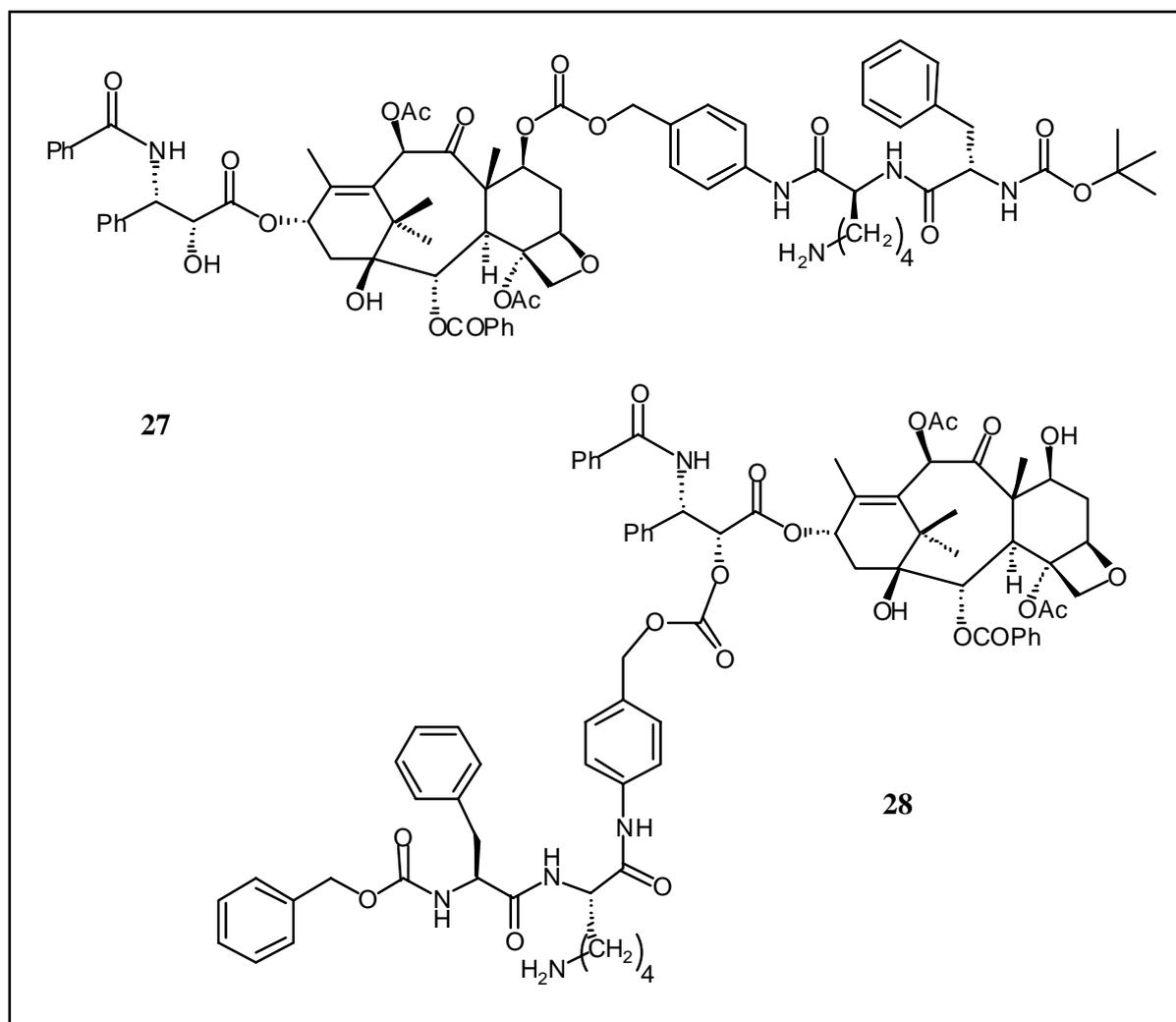


Schéma 6

- Plasmine : l'idée de cibler une prodrogue peptidique activée par la plasmine fut proposée la première fois en 1980.⁵⁹ Des prodrogues carbonates ou carbamates en 2' du paclitaxel (Schéma 7) conçues pour être activées par la plasmine ont été synthétisées.⁶⁰

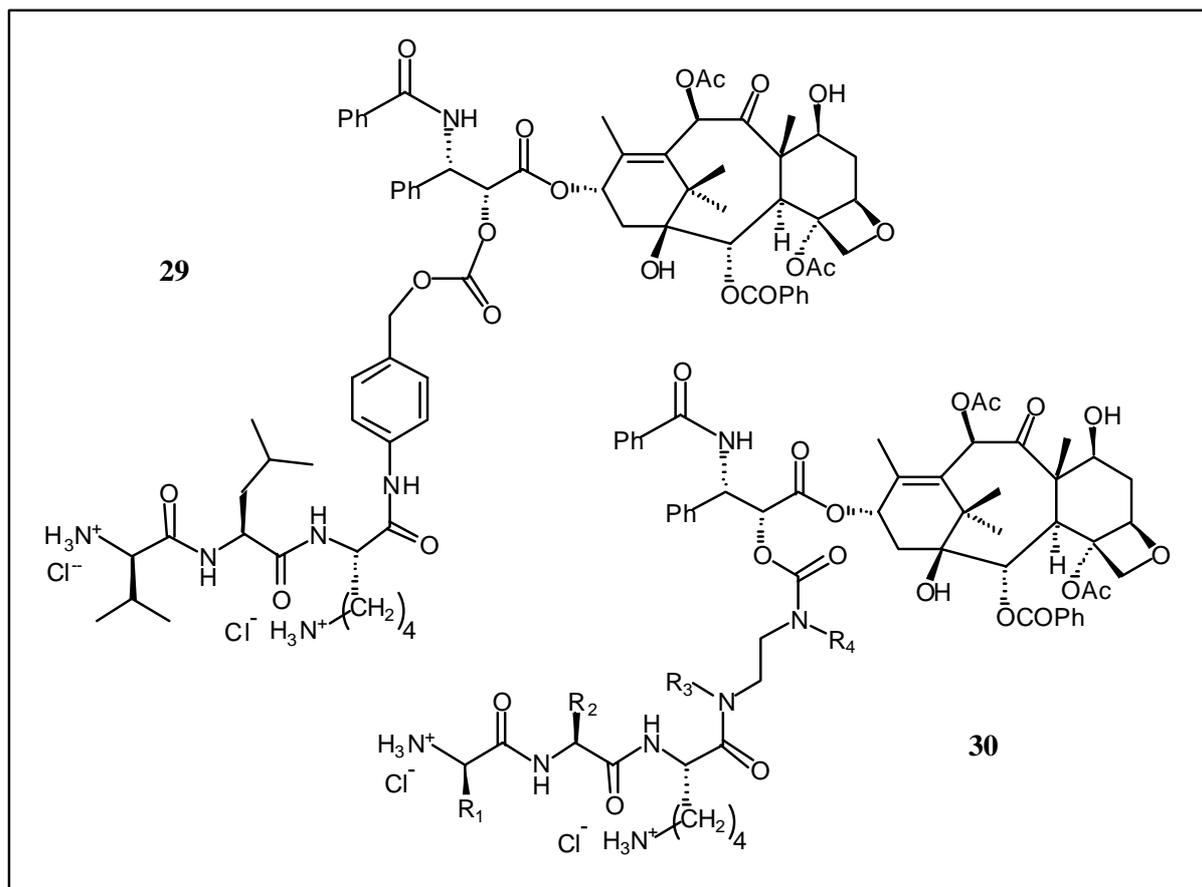


Schéma 7

b) Tumeur hypoxique

Il est maintenant bien connu que la mauvaise (néo)vascularisation dans les tumeurs solides en croissance donne un réseau sanguin limité et inefficace, et un débit sanguin réduit et souvent chaotique. Ce phénomène, conjugué aux pressions interstitielles élevées et changeantes induites par la croissance tumorale, conduit à la présence variable mais significative de cellules en hypoxie.

Cette propriété apparemment commune et spécifique aux cellules de tumeurs solides est un problème majeur dans le traitement du cancer. Elle est à l'origine du ralentissement ou de l'arrêt de la progression cellulaire par une croissance fondée sur ce cycle cellulaire. Et comme la plupart des agents anticancéreux sont efficaces contre les cellules en division rapide, ces cellules en hypoxie seront bien moins touchées par ces agents.

Toutefois, cela représente un mécanisme potentiel d'activation de prodrogues très intéressant. Comme les enzymes généralement exploitées se retrouvent dans toutes les cellules, la discrimination entre tissu sain et tissu tumoral s'opère de la façon suivante :

l'initiateur (le « trigger » ci-dessus) subit tout d'abord une réduction initiale pour former un intermédiaire nommé adduit à 1-électron ; effectivement capable d'être efficacement réoxydé par l'oxygène moléculaire (ce qui se passe dans les cellules saines) ; mais par suite d'une réduction plus poussée, restreinte aux tissus hypoxiques, il conduit à la libération de la cytotoxine (Schéma 8).

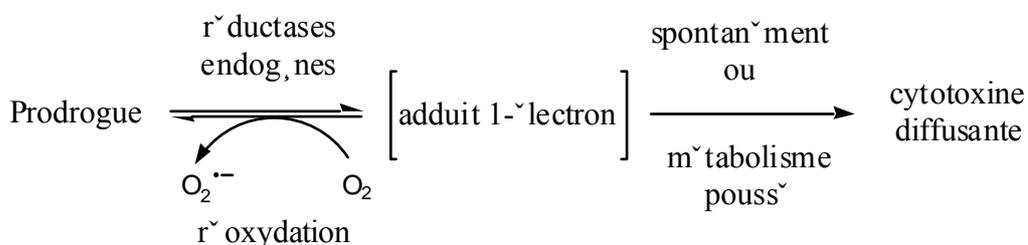


Schéma 8

3 familles de composés se détachent pour ces applications:

- Quinones : les membres les plus éminents de cette classe sont la mytomycine C et le EO9. Leur mode d'action se base sur la réduction mono-électronique (semi-quinone) ou bi-électronique (hydroquinone) suivie de la création d'un centre électrophile qui doit participer au cross-linking observé de l'ADN.

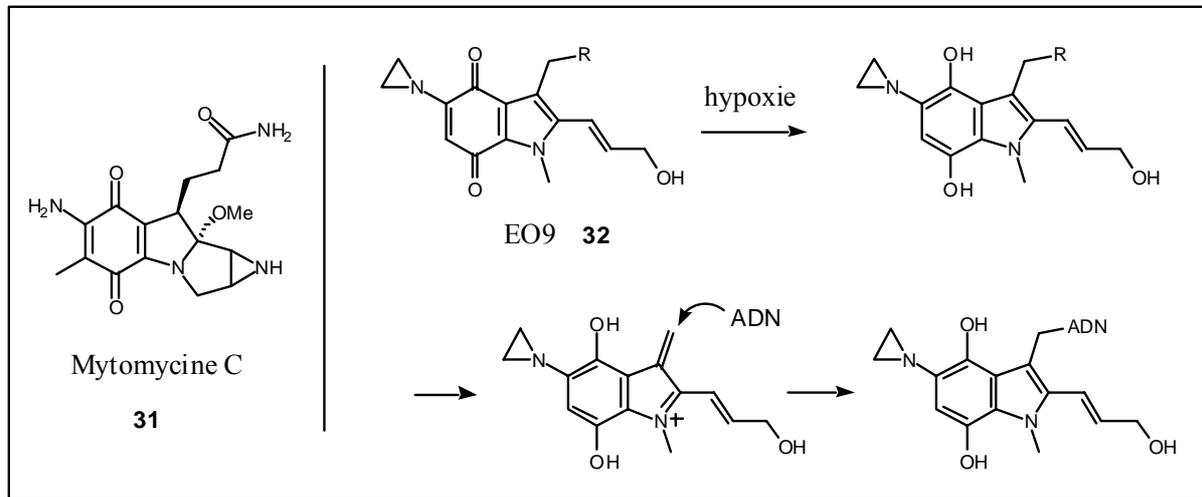


Schéma 9

Des prodrogues utilisant la réduction de la quinone comme facteur initiateur ont également été synthétisées, comme par exemple l'ester méthylique du melphalan **33** (Schéma 10) qui par cyclisation intramolécule forme la lactone **35** et libère la drogue **36**.

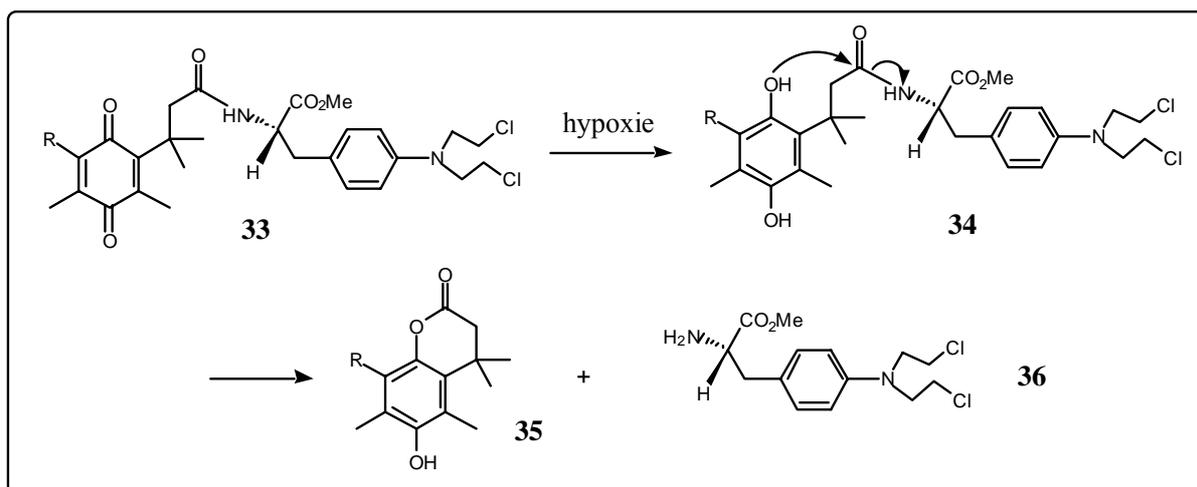
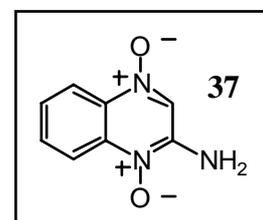


Schéma 10

- N-oxides : le plus prometteur de ces agents est la tirapazamine **37** qui, en milieu hypoxique, forme un radical hautement réactif qui cause des cassures simple et double brin(s) de l'ADN.



- Nitroaromatiques : dans les conditions d'hypoxie, ces composés, du type **38**, peuvent être réduits en nitroso **39** (2 électrons), hydroxylamine **40** (4 électrons) ou amine **41** (6 électrons). Les nitroanilines moutardées ont été particulièrement étudiées. Elles sont activées lorsque le substituant nitro, fortement électro-attracteur, est transformé en groupement électro-donneur type hydroxylamine ou amine (Schéma 11).

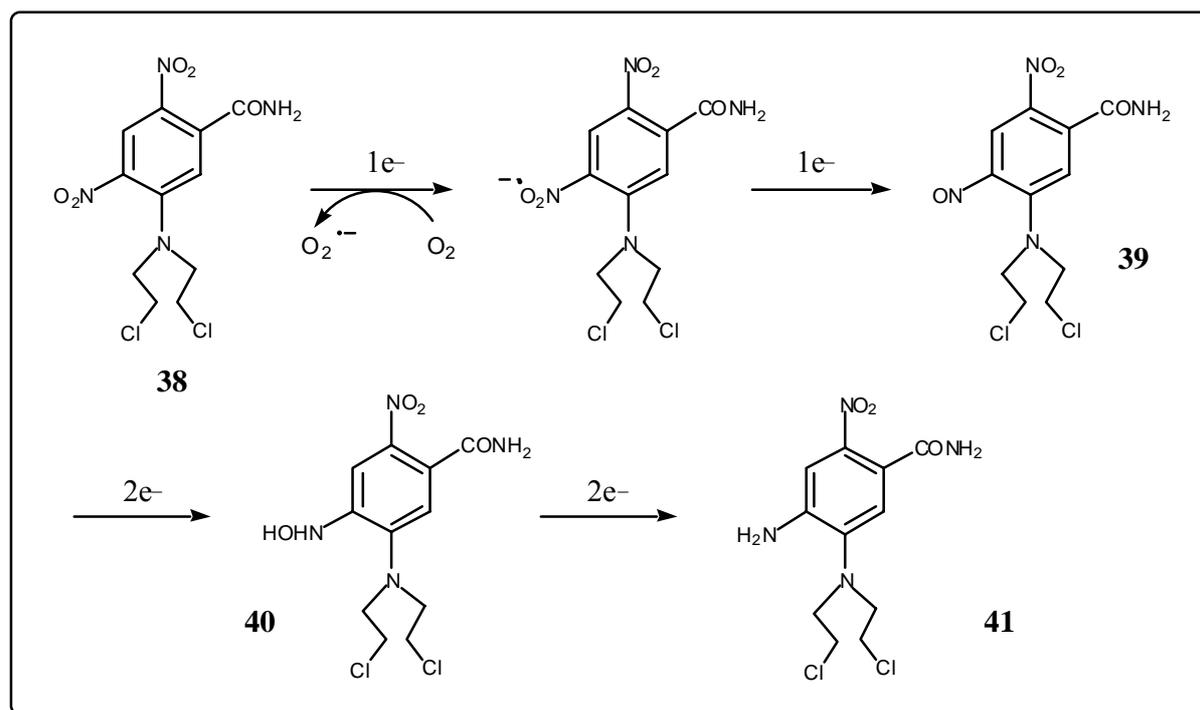


Schéma 11

Une autre approche prometteuse utilise ces nitroaromatiques comme commutateur électronique suivi d'une fragmentation pour libérer la drogue. Ceci est approfondi dans la partie consacrée aux espaceurs.

Il est possible d'inclure ici l'emploi de radiations thérapeutiques. En effet, en principe, les espèces réductrices produites par la radiolyse de l'eau due aux rayons ionisants peuvent être utilisées pour activer des prodrogues comme précédemment, restreignant ainsi l'activation aux cellules tumorales en hypoxie. Le problème majeur ici est la faible quantité d'équivalents de réducteurs délivrés par une dose thérapeutique de radiations, requérant de fait la libération d'espèces particulièrement actives et efficaces.⁶¹

c) Différence de pH

Une autre conséquence du flux sanguin limité dans les tumeurs solides s'observe par un pH extracellulaire généralement plus faible. Ceci serait en partie dû à la clairance insuffisante d'acides métaboliques produits par glycolyse, un phénomène pouvant faire chuter le pH externe de la cellule d'environ une unité (*ca.* 6.3).^{62, 63} En corollaire, il a été montré que comme les cellules cancéreuses utilisent des pompes à protons pour tenter de maintenir un pH cytosolique proche de la normale, ces pompes peuvent fournir une cible thérapeutique.⁶³

Ainsi, des prodrogues incapables d'entrer dans le milieu intracellulaire mais potentiellement activable par ce faible pH ont été décrites. Toutefois le concept n'a reçu que peu d'attention.

Cependant, de récents résultats viennent compliquer les traitements possibles de ces deux dernières approches puisqu'il semblerait que les tumeurs retournent ce manque d'oxygène à leur avantage.⁶⁴ De fait, des études cliniques⁶⁵ ont prouvé une corrélation entre la présence de zones tumorales hypoxiques et un mauvais pronostic associé à une plus grande virulence et un risque accru de métastases. Une publication récente⁶⁶ a ainsi mis en lumière une voie de signalisation moléculaire activée par un faible taux d'oxygène et responsable de l'agressivité de la tumeur.

d) Conclusion

Dans le cas de l'approche PMT, il s'agit donc d'un ciblage passif avec un mécanisme

spécifique aux tumeurs ; la prodrogue diffuse dans tout l'organisme, mais n'est activée que dans les cellules cancéreuses par un mécanisme qui réalise la coupure de la prodrogue efficace seulement dans le milieu intercellulaire tumoral. Par ce biais on peut obtenir une certaine sélectivité.

Pour les prodrogues choisies dans le cas de l'hypoxie, le choix de l'effecteur, notamment la valeur de son potentiel de réduction, est de prime importance. Dans le cas du ciblage d'enzymes associées aux tumeurs, l'incorporation d'espaceurs qui permettent une meilleure hydrolyse de la prodrogue a montré tout son intérêt.

Bien qu'aucune prodrogue tumeur-sélective n'ait été approuvée pour un usage clinique en PMT, il existe néanmoins un immense potentiel pour l'application de telles prodrogues dans cet élégant concept.

3) Emploi d'une enzyme exogène

Plus précisément, l'activation sélective de prodrogues dans les tissus tumoraux par des enzymes exogènes en vue d'une chimiothérapie anticancéreuse peut s'accomplir par différents moyens : GDEPT (Gene Directed Enzyme Prodrug Therapy), VDEPT (Virus Directed Enzyme Prodrug Therapy) et ADEPT. Les deux parties centrales de ces stratégies reposent sur la délivrance d'un gène codant pour l'enzyme activant la prodrogue (GDEPT et VDEPT) ou un conjugué protéinique (ADEPT), suivi dans tous les cas de l'administration systémique d'une prodrogue.

a) GDEPT

Dans cette approche en deux temps, connue aussi sous le vocable de thérapie par gène suicide, le gène d'une enzyme est ciblé pour s'intégrer dans le génome des cellules tumorales. Après expression de l'enzyme, une prodrogue substrat est administrée qui sera activée intracellulairement par cette enzyme.

Ceci implique que l'enzyme doive être exprimée de manière stable par les cellules, en conservant un bon turnover par rapport à la prodrogue. Cette dernière doit quant à elle impérativement pouvoir être internalisée et ensuite sélectivement activée.⁶⁷ De plus, comme un transfert de gène dans toutes les cellules visées n'est pas possible, le composé actif libéré doit montrer des propriétés de "bystander effect".

L'avantage prépondérant de cette stratégie réside dans le fait que les enzymes à disposition sont très variées, notamment parce qu'y sont incluses les enzymes à co-facteur qui sont très nombreuses, mais est largement contrebalancé par le problème du besoin d'internalisation de la prodrogue.

Pour la première étape, les moyens les plus employés de transferts de gènes sont les lipides cationiques, les peptides et également de l'ADN nu. Cette difficulté de transfection commune à toute la thérapie génique a fait l'objet de mises au point⁶⁸ et ne sera donc pas détaillée ici.

Un des systèmes les plus étudiés et faisant l'objet d'un certain nombre d'essais cliniques est le couple thymidine kinase (Tk) dérivée de l'herpes simplex virus (HSV) associée à des nucléosides type ganciclovir (GCV) **42** (Schéma **12**) ou acyclovir.⁶⁹ A l'inverse des kinases humaines qui phosphorylent faiblement ces prodrogues, cette Tk les phosphoryle fortement (**43**), induisant leur conversion subséquente en nucléosides triphosphates pour au final inhiber la synthèse de l'ADN. On peut citer les exemples d'une nitroréductase associée au CB1954, de la cytosine déaminase (Cd) qui convertit la 5-fluorocytosine (5-FC) en 5-FU (5-fluorouracile), de la carboxypeptidase G avec le CMDA (dérivé d'une moutarde à l'azote aromatique), ou encore l'utilisation de la famille des cytochromes P (CYP) qui convertissent le cyclophosphamide ou l'ifosfamide (IFA) en agent alkylant.

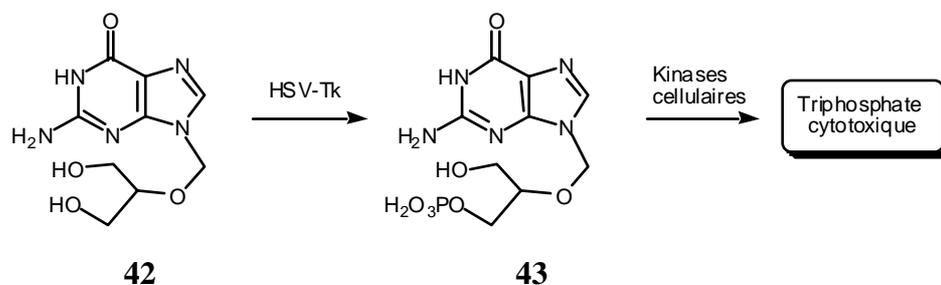


Schéma **12**

On peut toutefois dire que le niveau de sélectivité requis pour une délivrance systémique de matériel génétique et une transcription subséquente ne sont pas encore disponibles. Ainsi la transfection de tumeur *in vivo* est généralement effectuée de manière locorégionale. Les possibles risques de mutagenèse ou de formation d'anticorps contre l'ADN limitent également l'utilisation du GDEPT.

b) VDEPT

Cette approche diffère peu de la précédente dans le sens où seul le moyen de

transfection change puisqu'il s'agit d'un vecteur viral. Plusieurs sortes de virus ont été employés : des rétrovirus, des adénovirus, des lentivirus, le virus d'Epstein-Barr (EBV).

Les associations enzymes-cytotoxines utilisées sont souvent les mêmes que précédemment ; de récentes monographies pour approfondir le sujet sont disponibles.⁷⁰

III) La stratégie ADEPT

1) Principe

Cette approche thérapeutique présentée indépendamment par deux groupes⁷¹ s'inscrit dans le contexte d'améliorer la sélectivité donc l'efficacité des traitements anticancéreux en utilisant le potentiel des immunoconjugués. L'objectif principal est de modifier la distribution d'un agent cytotoxique en le générant et le concentrant sélectivement au niveau de la tumeur. Pour cela, on utilise l'immunociblage d'une enzyme sur la tumeur, enzyme qui jouera le rôle de facteur multiplicateur par catalyse enzymatique d'une réaction chimique se réalisant **à la surface** de la cellule tumorale et non plus à l'intérieur de cette cellule. Cette réaction aura pour but de démasquer une prodrogue non ou peu toxique en agent cytotoxique. Ainsi, dans ce mécanisme d'activation, c'est le turnover de l'enzyme ciblée qui sera l'élément clef de la libération du composé cytotoxique qui, une fois libéré, sera internalisé par diffusion passive. Pour une rapide mise au point et une vue synthétique d'ensemble, on pourra se reporter à la mini-revue de Jung.⁷²

Le protocole thérapeutique de l'ADEPT se déroule en deux phases bien distinctes⁷³ :

1- Dans un premier temps une enzyme sous forme de conjugué avec un anticorps monoclonal ou de protéine de fusion⁷⁴ recombinante est vectorisée à la surface des cellules tumorales. L'immunoconjugué peut être préparé en liant chimiquement le mAb ou un fragment de mAb à l'enzyme d'intérêt ; la protéine de fusion peut s'obtenir par recombinaison entre le gène de la région variable du mAb et le gène codant pour l'enzyme.

Le conjugué se lie aux antigènes exprimés préférentiellement à la surface des cellules cancéreuses. Après un certain temps de latence (de quelques heures à quelques jours)

permettant la localisation dans le tissu cible et l'élimination du conjugué des tissus non cible,⁷⁵ la deuxième phase peut avoir lieu.

2- Dans cette phase, une prodrogue d'agent anticancéreux est administrée de manière systémique. Cette prodrogue, peu ou pas cytotoxique, est reconnue et clivée spécifiquement par l'enzyme. Le principe actif, libéré rapidement de manière définie à la surface de la cellule cancéreuse, est alors internalisé dans les cellules exprimant l'antigène de surface, mais également dans les cellules voisines antigène-négative par un mécanisme de diffusion passive, provoquant la mort cellulaire (Schéma 13). Un "bystander effect" est donc assuré dans tous les cas ce qui représente un avantage certain par rapport aux stratégies présentées précédemment.

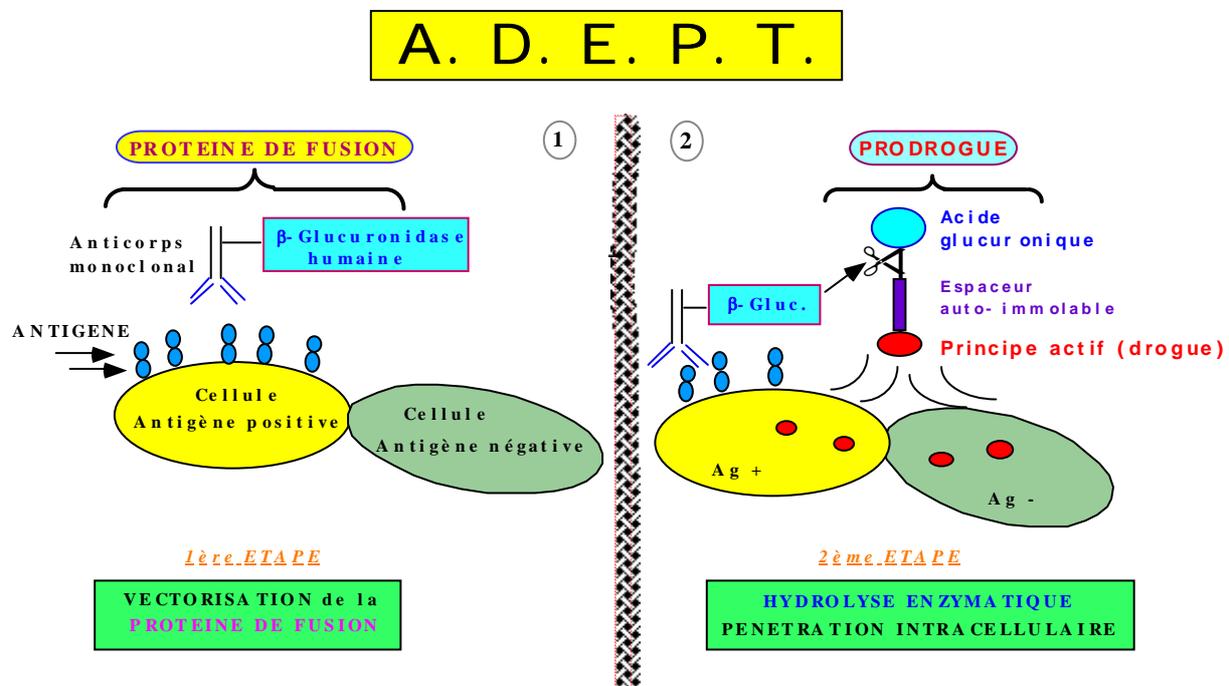


Schéma 13: Les deux phases de l'ADEPT (cas d'une prodrogue glucuronylée)

L'intervalle optimum entre administration du conjugué et administration de la prodrogue est un compromis entre le pic de concentration tumoral de l'enzyme et le meilleur ratio de distribution entre tissu sain et tissu tumoral.

Les avantages présumés de cette stratégie sont notables :

- ✓ Un effet catalytique dû à l'enzyme qui permet, même si un seul conjugué (ou protéine de fusion) est localisé sur la tumeur, d'activer un nombre important de prodrogues

- ✓ Une spécificité anticorps/antigène à l'origine de la sélectivité de la prodrogue pour les cellules malignes, permettant ainsi l'élargissement de la fenêtre thérapeutique d'agents antitumoraux à la toxicité non-spécifique trop élevée
- ✓ La libération d'une substance toxique, de faible poids moléculaire par construction, capable de diffuser dans toute la tumeur et d'être internalisée
- ✓ L'obtention de concentrations en agent oncostatique plus élevées que celles obtenues en thérapie conventionnelle
- ✓ Découlant du point précédent, l'éventuelle diminution de chimiorésistance acquise en particulier par perte de l'antigène cible

Le succès thérapeutique de cette approche dépend de différents critères (la stabilité et la pharmacocinétique de la prodrogue, le "*turnover*" de l'enzyme, anticorps monoclonal utilisé, etc...) qui sont discutés en détails ci-dessous.

Une approche efficace requiert donc le choix raisonné de tous les paramètres, qui, interdépendants les uns des autres, doivent être considérés dans leur ensemble par rapport au système choisi *in fine*.

2) Choix de l'antigène : l'ACE

De façon générale, les antigènes ciblés doivent posséder les propriétés suivantes⁷⁶ :

- Ils doivent bien évidemment être exprimés de manière prépondérante dans les tumeurs par rapport aux tissus sains (densité souhaitable de 10^5 par cellule).
- Les antigènes associés aux tumeurs cibles présentent généralement une nature hétérogène qui doit être la plus faible possible ; cependant ici cet inconvénient est en partie surmonté par la diffusion possible de l'espèce active, générée dans le milieu extracellulaire, dans l'ensemble des cellules du tissu tumoral.
- Pour une efficacité optimum, l'antigène doit présenter une certaine densité d'expression au niveau cellulaire. Le cas des antigènes sécrétés, donc circulants, est à proscrire puisqu'ils conduisent inévitablement à une activation non spécifique dans toutes les parties de l'organisme où ils se distribuent. C'est pourquoi les antigènes membranaires sont employés puisqu'ils permettent une action locale et un ratio de clairance de l'immunoconjugué favorable au tissu les exprimant (*ie* le tissu cible).

- Leur internalisation n'est pas souhaitée dans le cas de la stratégie ADEPT car les bénéfices du « bystander effect » seraient perdus.

Notre choix s'est porté sur l'Antigène Carcino-Embryonnaire (ACE) qui a fait l'objet de recherches intensives du groupe de Bosslet avec qui nous avons travaillé.

En 1965, Phil Gold et Samuel Freedman découvrirent⁷⁷ une protéine de haut poids moléculaire (d'environ 180 à 200 kDa) fortement glycosylée, qu'ils nommèrent antigène carcino-embryonnaire (ACE). Près de 60% de son poids moléculaire est constitué d'hydrates de carbone. Il a été montré que c'était presque exclusivement une molécule d'adhésion.⁷⁸

Chez l'adulte, l'antigène carcino-embryonnaire est synthétisé principalement dans certaines portions du tube digestif. On le retrouve à la surface apicale des cellules de l'épithélium de la langue, de la portion distale de l'oesophage, de l'estomac, de l'intestin grêle, du côlon et du rectum.⁷⁹ Cette protéine est présente sur le glycocalyx* de cellules épithéliales normales, mais se retrouve également sur toute la surface de la cellule tumorale. Elle est formée abondamment dans les tumeurs du côlon et dans le côlon foetal.

3) Choix de l'anticorps monoclonal

Le choix de l'anticorps monoclonal obéit aux mêmes contraintes que celles développées dans le cas des immunoconjugués. La plupart des mAb utilisés font partie de la famille des γ -immunoglobulines (IgG) bien que des immunoglobulines mu (IgM) soient aussi employées, notamment lorsque des vecteurs liposomiques ou polymériques sont utilisés (ce qui sort du cadre du concept présentement discuté).

On peut rapidement résumer les points clefs fondamentaux concernant le choix de l'anticorps:

- il doit être le plus pur possible (avancées des biotechnologies)
- il doit avoir une spécificité maximale (par définition; affinité K_a de l'ordre de 10^9 - 10^{10}) et cibler un antigène hautement spécifique non internalisé
- il doit présenter une bonne stabilité dans les conditions physiologiques de l'étude, et en même temps posséder une clairance rapide de la circulation

* Un glycocalyx est caractéristique d'un réseau matriciel polysaccharidique situé à l'extérieur d'une bicouche lipidique (ici la membrane cellulaire).

- il doit induire le moins d'immunogénicité possible (voir ci-dessous)

Le seul moyen d'éviter des réactions immunes trop aiguës, voire délétères, par l'usage de mAb est de les humaniser. Le paradigme est l'anticorps complètement humanisé, mais des anticorps chimériques se sont montrés intéressants. Par contre les anticorps murins utilisés dans les premiers temps sont à proscrire. Dans ce dernier cas, la production d'anticorps dirigés contre l'anticorps murin (nommés HAMA pour Human Anti-Mouse Antibody) est souvent observée lors des essais cliniques, notamment chez les patients ayant des tumeurs solides.⁸⁰ En outre, cela représente un obstacle à la répétition de cycles de thérapie, diminuant de fait l'efficacité du traitement. Ce problème des HAMA semble toutefois avoir été surmonté en clinique par l'utilisation de mAb chimériques ou humanisés,⁸¹ ce qui représente une percée très importante dans ce champ d'action (Figure 17).

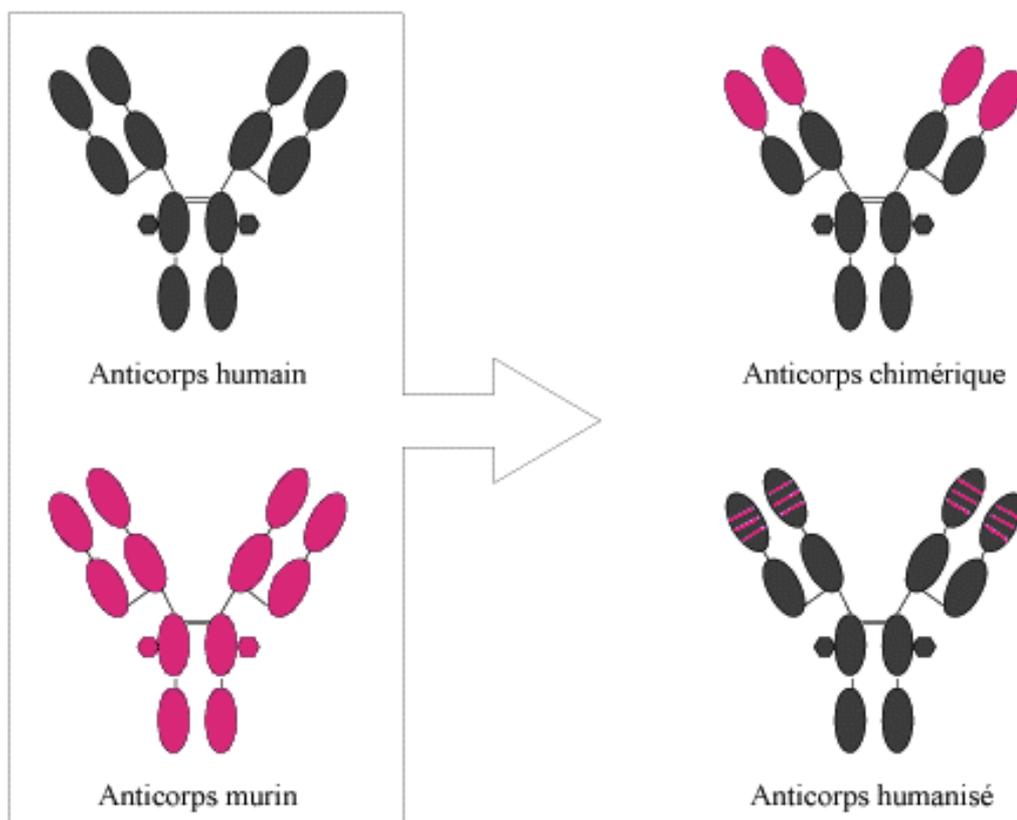


Figure 17

Une bonne technique pour améliorer les qualités de l'anticorps est d'en utiliser des fragments bien choisis. Ainsi les fragments Fab (monovalents) et $F(ab')_2$ (bivalents) obtenus par digestion de l'anticorps, respectivement par la papaïne et la pepsine (Figure 18),

présentent plusieurs avantages. Tout d'abord ils se trouvent délestés de la "queue" de l'anticorps, riche en chaînes saccharidiques, qui est la portion la plus immunogène des IgG et qui est également largement responsable de leur assimilation par le foie. De plus, ces fragments se localisent usuellement plus vite et pénètrent mieux les tissus tumoraux.

En contrepartie la clairance rénale se trouve augmentée due à leur taille plus faible que celle d'exclusion du rein, pouvant conduire à une certaine néphrotomie ; cependant, dans le cas de l'ADEPT, la taille entre peu en considération puisque le fragment sera lié à une partie imposante qui est l'enzyme.

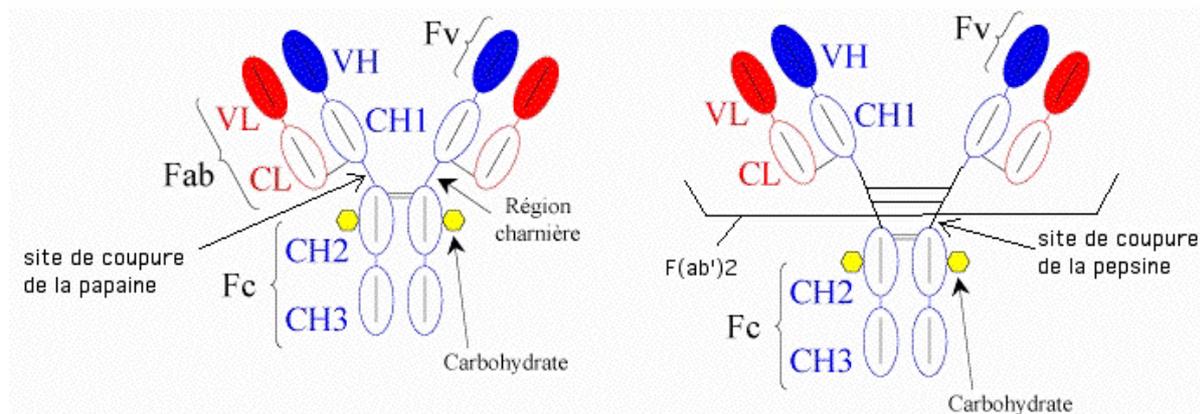


Figure 18

4) Sélection de l'enzyme

Dans le cadre de l'approche ADEPT, l'enzyme est vectorisée sous forme de conjugué ou de protéine de fusion reconnaissant l'antigène choisi exprimé par les cellules tumorales cibles. Le choix de cette enzyme remplit un cahier des charges précis de contraintes.

Les principaux points d'importance sont résumés ci-dessous⁸² :

- ◆ l'enzyme doit être impérativement différente d'une enzyme endogène, sans quoi une activation prématurée de la prodrogue est à peu près certaine
- ◆ elle doit bien sûr se montrer stable et active dans les conditions physiologiques impliquées (pH interstitiel) et sous sa forme vectorisée
- ◆ elle doit catalyser une réaction non réversible (par construction de la prodrogue)
- ◆ elle doit se montrer hautement spécifique (K_m faible ou K_{cat} élevé) sans nécessiter la présence d'un cofacteur car elle agit en **surface** des cellules, et non à l'intérieur

- ♦ elle doit être dépourvue d'activité d'inhibition ou de métabolisation de substrats endogènes
- ♦ sa capacité à activer un large éventail de prodrogues de composés oncostatiques dénote un avantage indéniable

Parmi les enzymes répondant à ces critères et utilisables en ADEPT, trois classes peuvent être distinguées³¹:

1- Les enzymes de microorganismes **sans** analogue chez l'humain

Leur avantage dominant consiste à éviter une activation des prodrogues par des enzymes endogènes dans les tissus normaux, ainsi que toute interaction avec des substrats ou inhibiteurs d'origine humaine. De plus, vu que la plupart des enzymes de cette classe sont d'origine bactérienne, ou facilement exprimables dans les bactéries, elles sont disponibles en quantités importantes. En revanche, l'inconvénient essentiel sera l'induction possible (surtout très probable) et inéluctable d'une réponse immune chez l'homme, qu'il faudra combattre ou contourner.

Dans cette catégorie se retrouvent la cytosine désaminase (CD), la carboxypeptidase G₂ (CPG₂), la βlactamase (βL), les pénicillines G- ou V-amidase (PGA, PVA).

2- Les enzymes de microorganismes **avec** analogue chez l'humain

Ces enzymes doivent être choisies de telle sorte que leur équivalent endogène soit présent en faible quantité dans le sang. On peut également jouer sur le fait que certaines de ces enzymes diffèrent suffisamment de leur analogue humain pour que des prodrogues conçues spécialement pour une activation par cette enzyme puissent être développées (cas d'une nitroréductase⁸³). Comme dans la classe 1, la limitation prépondérante provient de problèmes d'immunogénicité.

Dans cette catégorie, la βglucuronidase (βGlu) discutée plus particulièrement (*vide infra*), la nitroréductase (NR), la phosphatase alcaline (AP), la carboxypeptidase A (CPA) et l'αgalactosidase (αg) appartenant à des microorganismes ont été utilisées.

3- Les enzymes de mammifères

Il est fortement probable ici que les problèmes d'immunogénicité seront faibles voire inexistant, permettant l'usage de plusieurs cycles de thérapie. Bien évidemment, la contrepartie fondamentale sera la possibilité d'activation non spécifique des prodrogues

puisque'il existe les enzymes endogènes de même nature. Cependant, le conjugué comportant une telle enzyme présentera un caractère immunogène plus restreint, toutes choses égales par ailleurs, que s'il comportait une enzyme de microorganisme (c.-à-d. que le caractère immunogène propre du mAb choisi pour la conjugaison se trouvera atténué). Le cas de la β glucuronidase entrant dans ce cadre est discuté en détails dans le paragraphe suivant.

4- Le cas de la β -D-Glucuronidase

L'enzyme envisagée dans notre approche est la β -D-glucuronidase humaine. Cette exoglycosidase clive, comme son nom l'indique, les liaisons *O*-glycosidiques. Elle a précédemment été sélectionnée pour l'activation de prodrogues de la doxorubicine **14**, de moutarde à l'azote phénolique **44** ou encore de composés particuliers tel le thioglycoside **45** (Figure **19**).

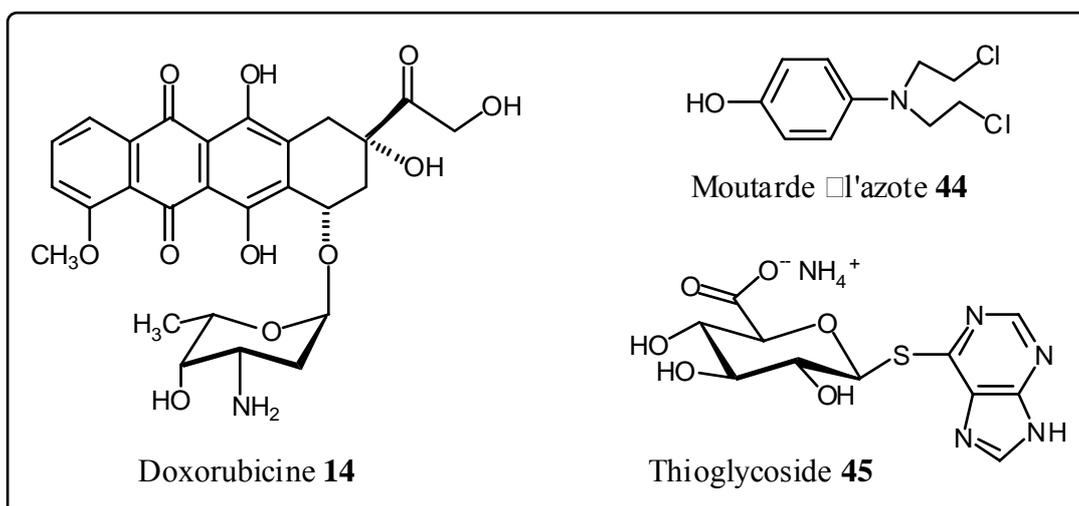


Figure **19**

Sur le plan structural, la β -D-glucuronidase humaine est une glycoprotéine tétramérique d'environ 310 à 380 kDa. Elle présente un axe de symétrie dièdre, qui sépare deux dimères liés par un pont disulfure, présentant ainsi quatre sites catalytiques. La structure par diffraction aux rayons X a été déterminée en 1996 (Figure **20**).

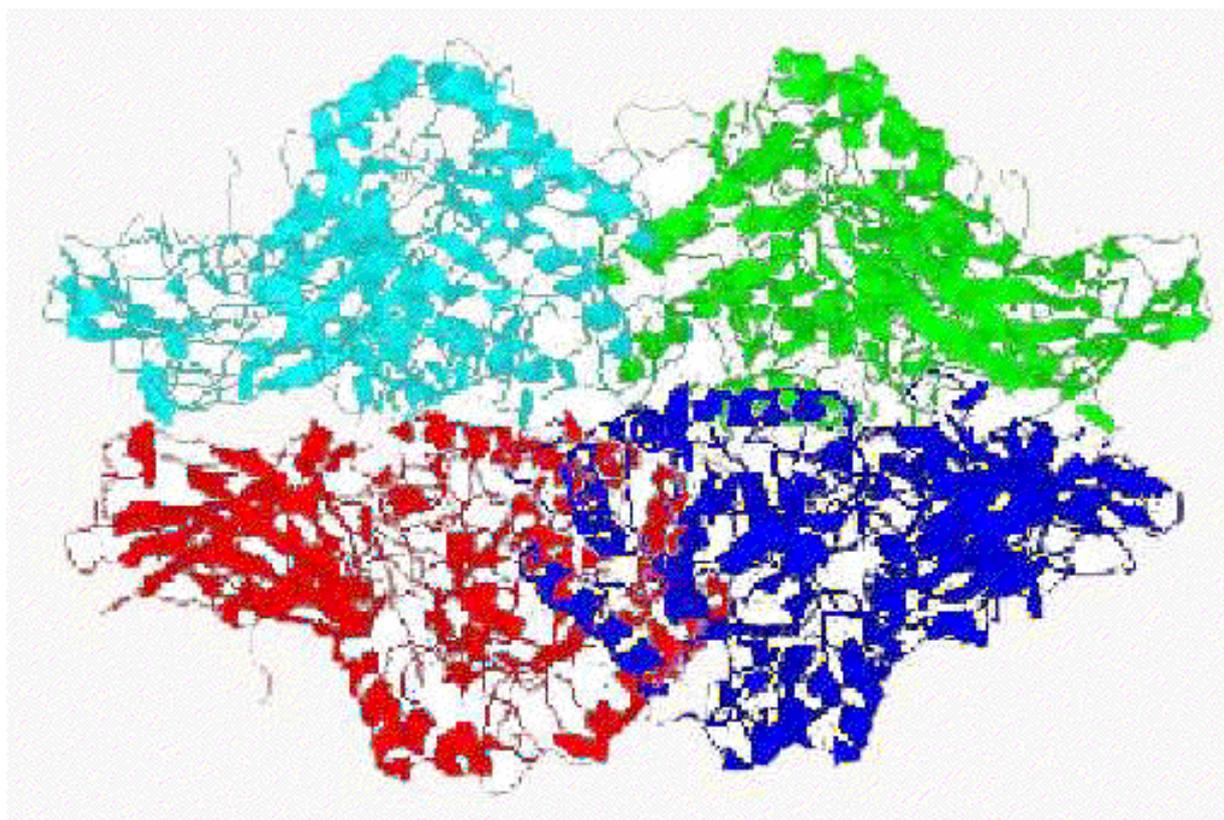


Figure 20

La β -D-glucuronidase est présente dans beaucoup d'organes et de fluides de l'organisme, tels que les macrophages et la plupart des autres cellules sanguines, le foie, la rate, les reins, les intestins, les poumons, les muscles, la bile, l'urine et le sérum. L'activité de cette enzyme est relativement élevée dans certains tissus, notamment le foie où elle sert dans le processus de détoxification des xénobiotiques glucuronylés.

Cependant, il s'agit d'une enzyme lysosomale, donc **non circulante**, ce qui en fait un candidat de choix pour une stratégie ADEPT car elle devrait permettre d'éviter les phénomènes d'activation non spécifiques et prématurés de la prodrogue, à condition de concevoir des prodrogues suffisamment hydrophiles pour que leur pénétration intracellulaire soit nulle ou négligeable. D'autre part, en sélectionnant une enzyme humaine et un anticorps humanisé, on limitera sensiblement les réactions d'immunogénicité de la protéine de fusion.

L'enzyme humaine présente un maximum d'activité à pH 4,5 et une activité résiduelle d'environ 20% à pH 6.5, c'est-à-dire au niveau du liquide interstitiel de tissus tumoraux. La β -D-glucuronidase d'*Escherichia coli* présente un maximum d'activité à pH 6.5 et pourrait

donc servir de modèle à la construction d'une β -D-glucuronidase chimérisée (par mutagenèse dirigée par exemple) de type humain mais possédant une activité optimale dans les conditions où l'on désire l'utiliser.

La β -D-glucuronidase intervient également dans le métabolisme des glycosaminoglycanes. Ces oligosaccharides sont dégradés par perte des résidus β -glucuronosyles terminaux. Sur le plan catalytique, il a été montré que l'encombrement stérique de l'aglycone rend difficile l'hydrolyse enzymatique de ces composés.⁸⁴ Seulement, l'introduction d'un espaceur de type *para*-aminobenzyloxycarbonyle entre l'acide glucuronique et l'aglycone améliore l'affinité et la cinétique d'hydrolyse du glucuronide. Ceci a été vérifié, en particulier dans le cas de dérivés glucuronylés de la doxorubicine et a également été démontré dans le cas d'une prodrogue de moutarde à l'azote.⁸⁵

Cette information, plus celles issues de l'expérience accumulée au laboratoire, nous a guidés lors de la conception de la synthèse des prodrogues envisagées dans ce concept.

5) Choix du moyen de vectorisation de l'enzyme

Comme décrit précédemment, la question se pose de choisir le meilleur vecteur entre conjugué anticorps-enzyme ou protéine de fusion.

Les premières approches réalisées dans le cadre de l'ADEPT ont reposé sur l'élaboration de conjugués enzyme-mAb. Les techniques et agents de couplages hétérobifonctionnels utilisés (par ex. groupement maléimido couplé à des résidus lysine ou thiol) dérivent directement du champ de la construction d'immunotoxines exposées en début de chapitre. En effet, la synthèse du conjugué ne doit en aucun cas s'accompagner de la perte d'activité de l'enzyme. De plus, cette liaison doit se montrer stable *in vivo* puisque, comme on l'a vu, le temps entre les deux phases de la stratégie est variable (généralement supérieur à une journée) et correspond au temps de clairance du conjugué. Ainsi les liaisons thioéthers ont été préférées aux ponts disulfures.⁸⁶

Parmi ceux-ci, l'immunoconjugué résultant du couplage entre un fragment F(ab') du mAb anti-CEA A5B7 à la carboxypeptidase G2 (CPG2) a montré tout son potentiel lors des premiers essais cliniques dans le cadre de l'ADEPT.^{87, 88}

Cependant, le conjugué anticorps monoclonal-enzyme peut présenter une certaine immunogénicité et ne permet donc pas une utilisation répétée. De plus, la clairance insuffisante du conjugué et la stabilité inappropriée dans le plasma des prodrogues proposées jusqu'à présent, peuvent induire une forte toxicité, celle-ci pouvant être étendue aux tissus sains. Pour pallier ce dernier écueil plusieurs techniques ont vu le jour.

Il a été démontré que des mAb galactosylés chimiquement ou enzymatiquement, étaient facilement éliminés par les hépatocytes exprimant le récepteur asialoglycoprotéine. Ce processus peut être bloqué temporairement par l'adjonction d'un inhibiteur, autorisant ainsi dans un premier temps la localisation du conjugué galactosylé qui se trouve rapidement éliminé dès que l'ajout de cet inhibiteur est arrêté.⁸⁹

Des stratégies ADEPT à trois étapes ont même été proposées. Ici un deuxième anticorps monoclonal dirigé contre le conjugué est administré une fois que la localisation de celui-ci a eu lieu dans l'optique d'éliminer le conjugué non fixé. Un mAb anti- β -D-glucuronidase (mAb-105) a ainsi été reporté.⁹⁰

Ceci rend toutefois le protocole thérapeutique encore plus lourd qu'il ne l'est déjà. Cette complexité du système s'ajoute aux difficultés de bonne reproductibilité lors de la conjugaison chimique qui induisent une variabilité de la reconnaissance antigène-anticorps.

C'est pour ces différentes raisons, dans la visée de les atténuer, qu'un second moyen de vectorisation a été mis au point, en l'espèce une protéine de fusion.

Les protéines de fusion sont préparées par génie génétique (souris transgéniques) et donc parfaitement définies. Il s'agit de composés hybrides dans lesquels un mAb ou un de ses fragments, dirigé contre l'antigène associé à certaines tumeurs, est prolongé par une enzyme, humaine dans le meilleur des cas. Les protéines hybrides ainsi obtenues possèdent à la fois les caractéristiques d'un anticorps et celles de l'enzyme.

De telles protéines de fusion ne devraient présenter qu'une antigénicité très réduite, voire nulle. L'antigénicité se traduit en général par une neutralisation rapide du conjugué par réponse immune du malade et nécessite au préalable un traitement immunosuppresseur.

L'avantage de l'utilisation d'une protéine de fusion réside essentiellement dans la grande homogénéité de la population obtenue par expression d'un gène de fusion, en comparaison avec le caractère hétérogène d'une population de conjugués chimiques.

La première protéine de fusion de ce type a été conçue et produite par les biologistes de l'Institut Behring.^{74, 91} Le laboratoire travaille depuis plusieurs années en fonction de cette protéine de fusion où les chaînes lourdes d'un anticorps monoclonal humanisé Mab BW 431(fragment Fab) dirigé contre l'ACE sont prolongées par la glycosidase humaine lysosomale décrite ci-dessus, la β -D-glucuronidase.

Le choix d'une enzyme humaine lysosomale donc non circulante doit permettre d'éviter les phénomènes d'activation non spécifique, à condition de concevoir des prodrogues suffisamment hydrophiles pour que leur pénétration intracellulaire soit nulle ou négligeable. Ceci influe donc directement sur la conception des prodrogues envisagées (voir paragraphe ci-dessous).

6) Caractéristiques de la prodrogue

De tous les développements précédents découlent nombre de propriétés requises par une prodrogue pour entrer dans le champ de la stratégie ADEPT. Il est rappelé que les prodrogues correspondent à des formes pharmacologiquement inactives de médicaments, spécifiquement activables par l'enzyme préalablement vectorisée afin de libérer le principe actif. Les exigences primordiales sont les suivantes⁹²:

- i. La prodrogue doit se voir détoxifier d'un facteur au moins 100 par rapport à l'agent antitumoral de départ.
- ii. La prodrogue doit être stable dans les conditions physiologiques (*ie* le plasma humain).
- iii. Son hydrophilie est un facteur critique car il doit être élevé pour permettre une administration relativement aisée et prévenir l'internalisation cellulaire.
- iv. L'espèce active engendrée doit avoir une durée de vie assez courte, un fort pouvoir d'internalisation, et être très cytotoxique. Ainsi la première prodrogue d'ènediène décrite utilisant la nitroréductase d'*E. coli* a démontré tout son potentiel.⁹³

7) Avantages et inconvénients de la stratégie ADEPT

Le succès thérapeutique d'une approche de type ADEPT dépend, comme nous venons de le voir, de différents facteurs : le choix de l'anticorps, la sélection de l'enzyme, la nature du

conjugué anticorps-enzyme et le choix de l'agent antitumoral. Il nous semble intéressant de résumer, avant de poursuivre, les avantages et les inconvénients de cette stratégie, pour bien en clarifier les tenants et les aboutissants.⁴⁰

❖ **Avantages :**

- La spécificité anticorps / antigène est à l'origine de la sélectivité de la prodrogue vis-à-vis des cellules malignes ;
- Le conjugué ne doit pas être internalisé;
- Chaque enzyme est capable d'hydrolyser un grand nombre de molécules de prodrogues ;
- L'amélioration de la solubilité plasmatique est un avantage notable dans le cas d'agents cytotoxiques non-ionisables ou très peu hydrosolubles, et posant problème quant à leur administration en phase aqueuse ;
- Une variation de la pharmacocinétique peut correspondre au prolongement de l'action d'un médicament *via* la régulation de sa libération, cette dernière permettant d'assurer une concentration constante en agent actif dans le plasma (cas d'un dérivé de la camptothécine, l'Irinotécan[®], métabolisé en drogue antitumorale par plusieurs carboxylestérases plasmatiques) ;
- La substance active de faible masse moléculaire, libérée sélectivement sur une tumeur, est capable, par diffusion, de pénétrer dans la tumeur ;
- La diminution du phénomène de chimiorésistance peut être espérée dans le cadre de la stratégie ADEPT au vu de l'augmentation rapide de la concentration intracellulaire en composé cytotoxique après activation de la prodrogue à la surface de la cellule cancéreuse. Ce phénomène devrait permettre de limiter la chimiorésistance acquise par sensibilisation des cellules au cours d'une administration répétée de l'agent antitumoral ;
- Le premier essai clinique réalisé au Charing Cross Hospital entre 1990 et 1992 a démontré la faisabilité de cette approche⁸⁷ ;
- L'agent antitumoral, libéré au niveau des cellules exprimant un antigène donné, peut également diffuser dans les cellules voisines qui n'expriment pas cet antigène ;

- Cette stratégie permet d'obtenir des concentrations de substance active plus élevées au niveau des cellules tumorales que celles obtenues par des thérapies conventionnelles ;
- Récemment, il a été mis en évidence que l'ADEPT peut agir en synergie avec l'immunité du patient pour accroître son efficacité thérapeutique, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives intéressantes, notamment pour les applications cliniques.⁹⁴

❖ **Inconvénients :**

- Le protocole thérapeutique en deux phases est relativement lourd à mettre en oeuvre;
- La substance active et toxique libérée sur le site tumoral, après hydrolyse enzymatique, peut se disperser et tuer des cellules normales voisines;
- L'usage des prodrogues peut être délicat car le métabolisme peut présenter une certaine variabilité d'un individu à l'autre.
- L'essai au Charing Cross Hospital a été arrêté au bout de trois cycles pour cause de violentes réactions immunes en dépit de l'administration concomitante de ciclosporine (on notera que le mAb utilisé était murin)

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Dans les stratégies ADEPT et PMT exposées en début de document, l'utilisation de prodrogues tripartites repose sur trois éléments : le déclencheur, choisi en fonction de la voie métabolique prévue pour l'activation de la prodrogue, l'agent cytotoxique employé et l'espaceur proprement dit. Lorsque les deux premiers sont déterminés en fonction du but poursuivi, le point critique devient donc l'espaceur qui focalisera toute l'attention.

Dans notre cas, le choix de l'acide glucuronique comme déclencheur provient de la sélection de la β -D-glucuronidase comme enzyme de ciblage. Notre option d'agent anticancéreux s'est portée sur les deux taxoïdes particulièrement exploités en clinique et dont l'efficacité thérapeutique pourrait être améliorée. En fonction des données de la littérature et des travaux du laboratoire, il nous a donc fallu définir un espaceur adapté.

I) Choix de l'espaceur

La première propriété de l'espaceur est qu'il doit être auto-immolable de manière irréversible. Sa conception doit inclure la faisabilité de cette libération et analyser les éléments qui vont influencer sur la cinétique générale de la réaction.

Nous avons opté pour un espaceur aromatique à fermeture de cycle (Figure **I-1**). L'agent cytotoxique employé peut être une amine, un alcool ou encore un peptide.⁹⁵

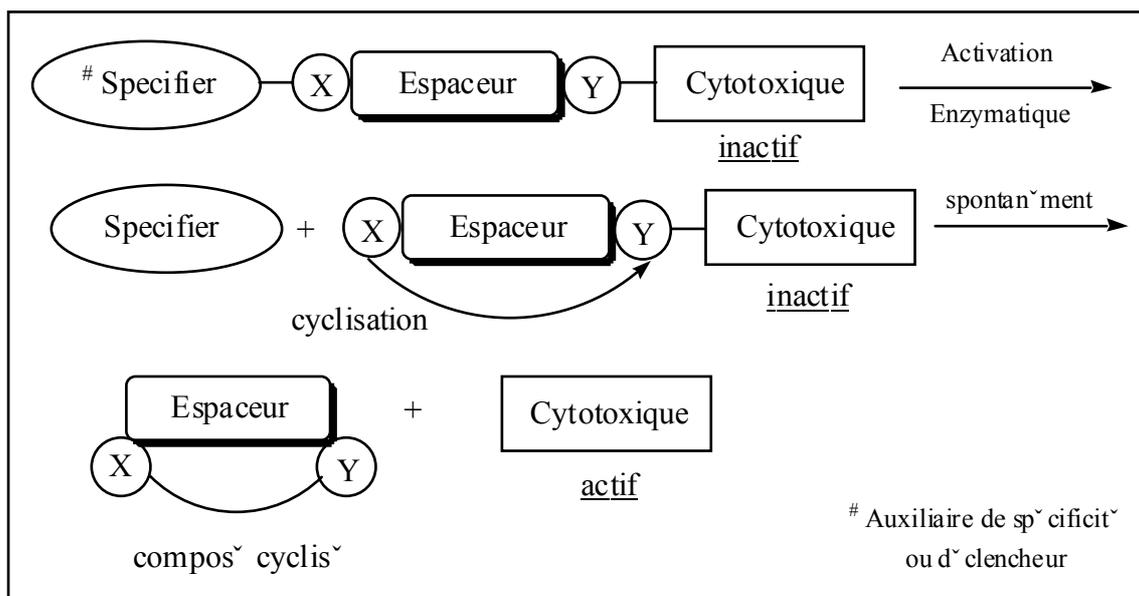


Figure I-1

Des différences de réactivité au niveau de cette **réaction de cyclisation** ont été imputées à l'agent cytotoxique employé, notamment à son aptitude à jouer le rôle de groupe partant. Ainsi des espaces inefficaces avec la daunorubicine se sont révélés bien appropriés avec le paclitaxel^{96, 97} (Figure I-2). Les auteurs font également remarquer que le composé actif usité influe, aussi, largement sur la **cinétique enzymatique**.

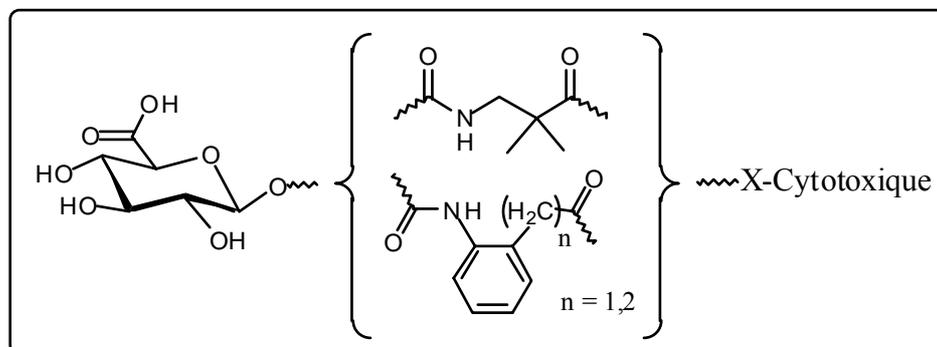


Figure I-2

Un autre espaceur, formé sur un squelette 2-amino-4-nitrophénol, a prouvé son efficacité avec l'obtention de plusieurs prodrugs dont les cinétiques de libération enzymatique et de cyclisation étaient satisfaisantes^{98, 99} (Figure I-3).

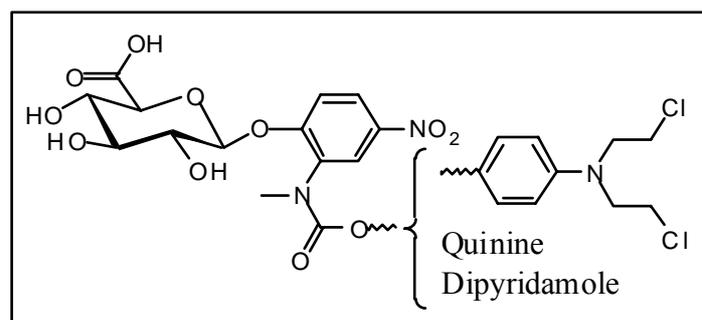


Figure I-3

Notre hypothèse de travail était qu'un espaceur *ad hoc* puisse se fonder sur le déplacement d'un groupe partant alcoolate à partir d'un carbamate par attaque intramoléculaire d'un groupe *ortho*-phénolate (Schéma I-1).

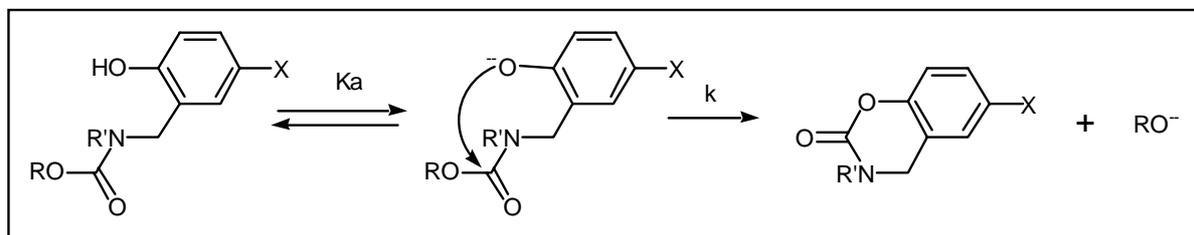


Schéma I-1

Dans le cas des espaceurs *ortho*-aniline utilisés précédemment, l'adjonction d'un groupement nitro fortement électro attracteur en *para* ou *meta* avait pour but d'augmenter le ratio phénate/phénol au pH physiologique, améliorant ainsi les vitesses de cyclisation. Nous avons décidé de substituer un fluor à ce nitro pour plusieurs raisons.

Notons tout d'abord que le fluor est électro attracteur et qu'il a prouvé son efficacité à la place du nitro dans des espaceurs à élimination 1,6 (voir Chapitre II).¹⁰⁰ De plus le nitro pose souvent des problèmes de mutagénèse et les industriels développent rarement des molécules le comportant. Surtout, le fluor permet une plus grande souplesse par rapport à la chimie développée puisque toutes les conditions réductrices de type hydrogène sur Pd/C sont maintenant permises. Enfin, des études de cinétique sur la cyclisation des *N*-(2-hydroxybenzyl)carbamates ont montré la faible influence des substituants sur le cycle.¹⁰¹ Par conséquent nous avons décidé de développer un espaceur de type 4-fluoro-2-aminométhylphénol (Figure I-4).

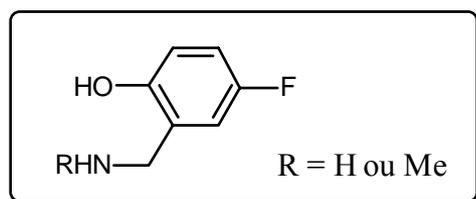


Figure I-4

On remarquera que cette amine benzylique est largement plus nucléophile que l'aniline correspondante, ce qui peut s'avérer crucial pour la réussite de certains couplages délicats dans lesquels la réactivité de certains composés se montre faible. De plus il se forme un cycle à 6 chaînons par cyclisation et non plus à 5 comme précédemment.

Des espaceurs libérant des drogues par formation d'un cycle à 6 (lactonisation,¹⁰² création de coumarine¹⁰³) sont décrits et efficaces pour cette application.

La molécule cible à synthétiser dans un premier temps sera donc celle de la Figure I-5, où les groupements protecteurs P₁ et P₂ seront compatibles, en terme chimique, avec la drogue utilisée.

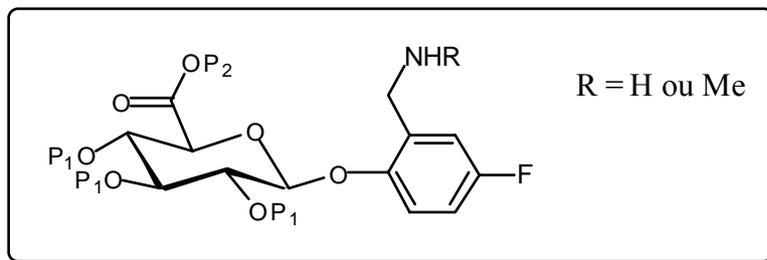


Figure I-5

Le schéma rétro-synthétique de départ est assez évident (Schéma I-2) ; il s'agit d'un couplage stéréosélectif entre un aminophénol et un bromoforme ; cet aminophénol dériverait du benzaldéhyde correspondant préparé au départ du fluorophénol **48** commercial ; quant au bromosucrose il proviendrait de la glucurono-3,6-lactone **46** commerciale.

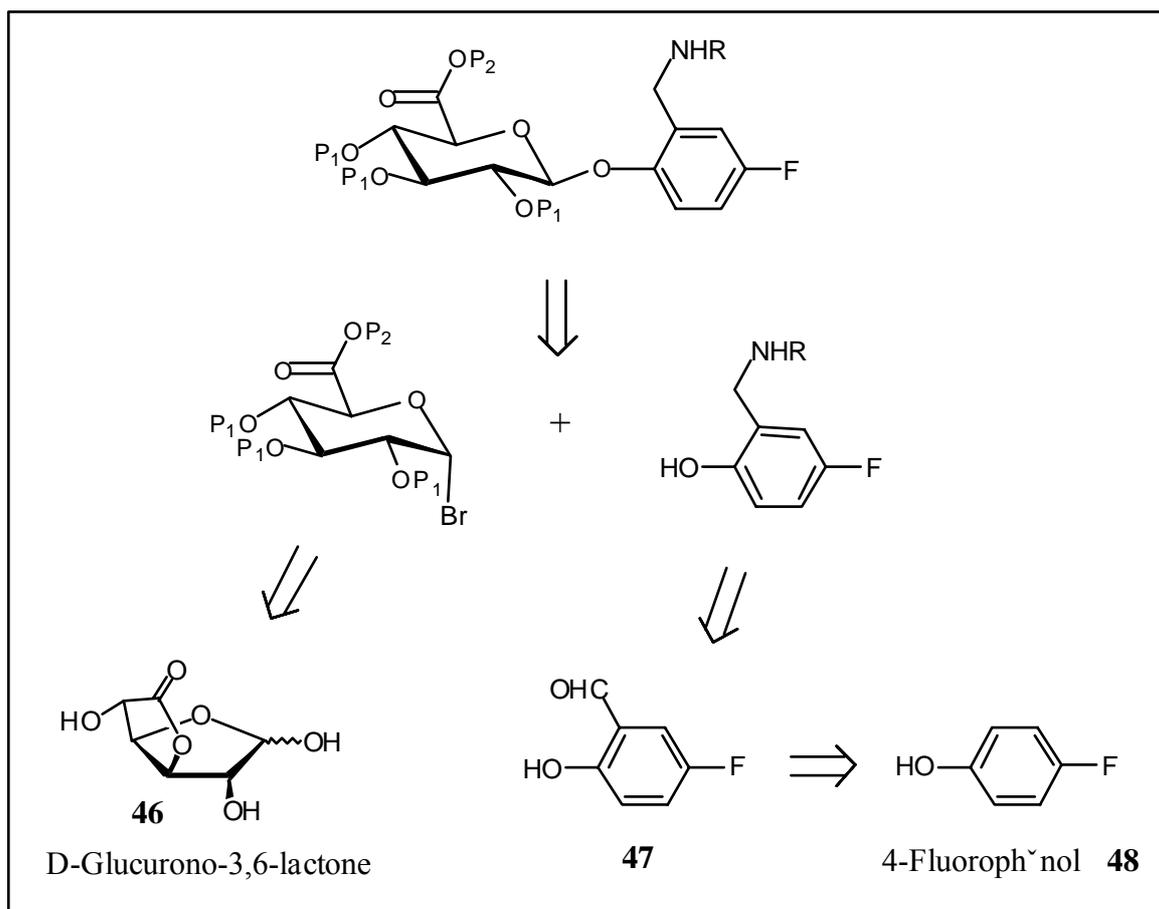
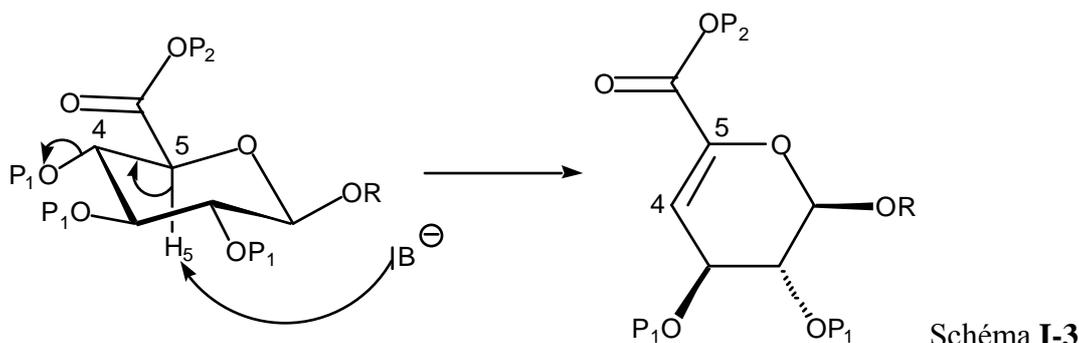


Schéma I-2

On prendra bonne note du fait que l'acide glucuronique possède la particularité d'être très sensible aux bases ; de fait, lorsqu'un groupement protecteur suffisamment labile est présent sur l'hydroxyle en position 4, une réaction d'élimination 4,5 est toujours possible en milieu même faiblement basique (Schéma I-3). Cela est d'autant plus prononcé que le solvant est polaire et que la température est élevée. Ceci s'est malheureusement vérifié tout au long des synthèses où les produits d'élimination ont été régulièrement isolés et caractérisés.



II) Formylation de l'aromatique

Deux voies ont été envisagées pour obtenir, en quantité importante, l'aldéhyde **47**. Il est possible de formyler directement le phénol libre, ou bien de passer par un intermédiaire fluoroanisole.

1) Formylation du phénol

a) Bibliographie

En 1960 Rieche applique l'utilisation de dichlorométhoxyméthyléther en compagnie d'un catalyseur de type Friedel et Craft (TiCl_4 , AlCl_3 , etc...) pour la formylation d'aromatiques.¹⁰⁴ Le 2-fluorobenzaldéhyde est notamment synthétisé. En 1963, Gross emploie la même méthode sur des phénols diversement substitués ; une certaine régiosélectivité est observée (par ex. 40% d'*ortho* et 12% de *para* au départ du 3-méthylphénol). Cependant, avec l'emploi d'orthoformiate d'éthyle cette sélectivité devient très bonne, par contre les rendements chutent.¹⁰⁵

Suzuki décrit la synthèse d'aldéhydes par action du HMTA en présence d'un acide fort (PPA, MsA ou TFA) sur des phénols désactivés par des substituants électroattracteurs.¹⁰⁶ Seulement, les rendements sont moyens, et particulièrement faibles pour l'aldéhyde cible **47** (respectivement, suivant l'acide employé, 14, 4 et 16%). Toutefois, les produits sont décrits purifiés, soit par chromatographie, soit par recristallisation. Les mêmes conditions avec deux équivalents d'HMTA conduisent à la bis-formylation des phénols, par contre les anisoles correspondants ne subissent qu'une *mono*-formylation.¹⁰⁷

Une bonne méthode d'*ortho* formylation des phénols emploie le formaldéhyde et Mg(OMe)₂ comme base, contre-ion et centre de coordination orienteur de la réaction.¹⁰⁸ Les résultats des trois isomères possibles du fluorophénol sont rassemblés dans le Tableau **I-1**. On en déduit que le fluor en position *ortho/para* défavorise la formylation et que sa présence en position 2 est rédhibitoire au bon déroulement de la réaction. L'inconvénient réside dans la non purification des produits, les rendements étant calculés par RMN avec étalon interne.

Phénol de départ	Rendement aldéhyde (%)	Phénol récupéré (%)
2-Fluoro	5	72
3-Fluoro	72	1
4-Fluoro	46	36

Tableau **I-1**

De manière plus anecdotique, l'installation d'un formyle à partir d'un méthyle a été réalisée en trois étapes : acétylation du phénol, dibromation du méthyle puis hydrolyse pour conduire à l'aldéhyde.¹⁰⁹ Dans le dessein de produire de l'acide 5-fluorosalicylique, Sharma¹¹⁰ décrit la production de **47** en quatre étapes avec un rendement global de 16% à partir du 4-fluorophénol : amidoalkylation régiosélective (mono/bis-6/1), acétylation, saponification et enfin oxydation au permanganate.

b) Résultats

Comme il fallait produire l'aldéhyde **47** en quantité importante, notamment parce que le couplage glycosidique n'a pas forcément de bons rendements, le rendement mais aussi la facilité du mode opératoire et la non toxicité des réactifs ont été pris en compte.

Nous avons donc d'abord suivi la procédure de Suzuki, qui avait déjà été expérimentée au laboratoire. Les rendements ont été un peu optimisés, mais la formation de bis-aldéhyde **50** a également été accrue (Schéma I-4).

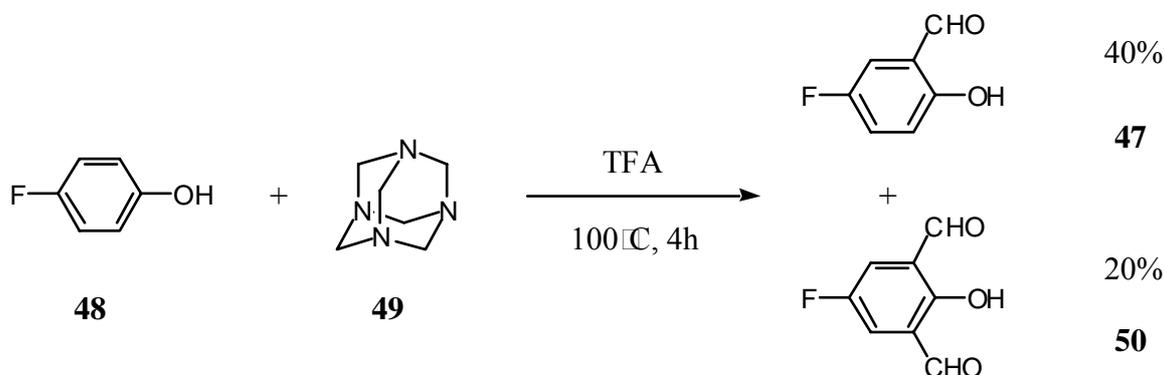


Schéma I-4

Pour raison de facilité, la procédure de Hofslökken a ensuite été adaptée à **48**. Le premier essai avec de l'acétonitrile pur pour synthèse 99.5% n'a pas été concluant ; cette méthode semble en effet sensible à la présence d'eau et se déroule convenablement avec de l'acétonitrile conservé sur tamis moléculaire 3Å et la triéthylamine séchée 24h sur sodium. Après mise au point, un rendement honorable de 56%, à notre connaissance le meilleur décrit, a été obtenu (Schéma I-5).

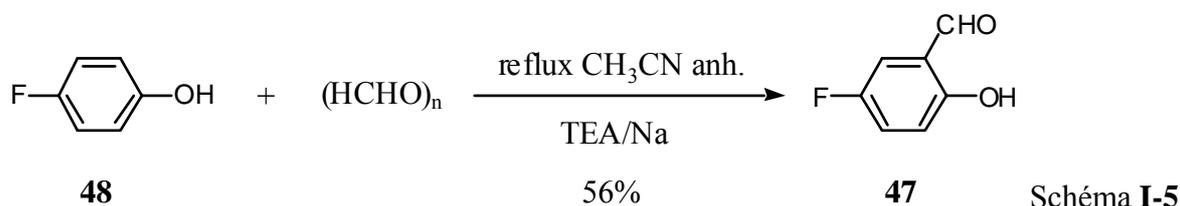


Schéma I-5

Des essais avec la méthode de Gross ont été effectués mais n'ont pas été concluants, menant à l'obtention du formiate correspondant (Schéma I-6). Ce formiate **51** est en fait un intermédiaire dans la réaction de formylation, et il doit conduire en se réarrangeant au produit formylé désiré. Une possible explication de l'obtention de ce formiate est que l'atome de fluor désactive le cycle aromatique et le réarrangement ne peut se produire.

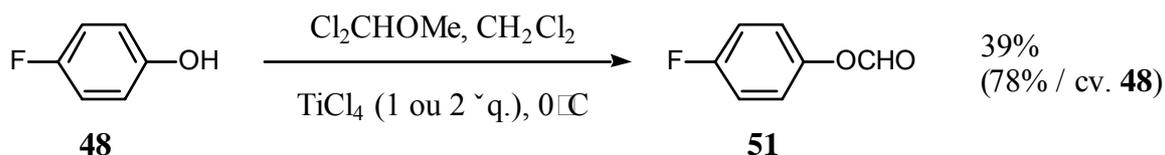
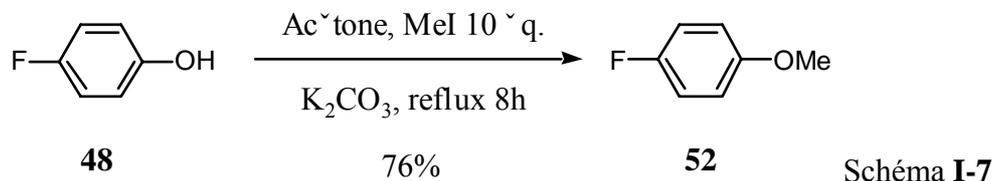


Schéma I-6

2) Passage par le 4-fluoroanisole

a) Bibliographie

La formylation des phénols est bien plus facile à réaliser lorsque l'hydroxyle est protégé sous forme d'éther ; en effet le cycle est alors activé par l'effet électrodonneur du substituant ainsi créé, et de plus l'orientation se fait en *ortho*. Le 4-fluoroanisole **52** est un produit commercial qui se vend au même prix que le 4-fluorophénol **48** (pour 25g, resp^t 17.4€ et 15.4€, catalogue Alfa Aesar 2003). En cas d'urgence, **52** se synthétise très facilement¹¹¹ à partir de **48** (Schéma I-7) mais cela nécessite un agent alkylant type iodure de méthyle, peu cher (50g 12€, *ibidem*) mais à la toxicité reconnue.



En ce qui concerne la formylation de **52**, deux méthodes efficaces ont été décrites. La première utilise la lithiation au BuLi suivi d'un piégeage de l'anion par le DMF.¹¹² Si à TA le *n*-BuLi et le *sec*-BuLi ne donne que le régioisomère **53**, par contre à -78°C, le *sec*-BuLi donne un mélange 3/1 d'*ortho* et *meta* formylation (Schéma I-8).

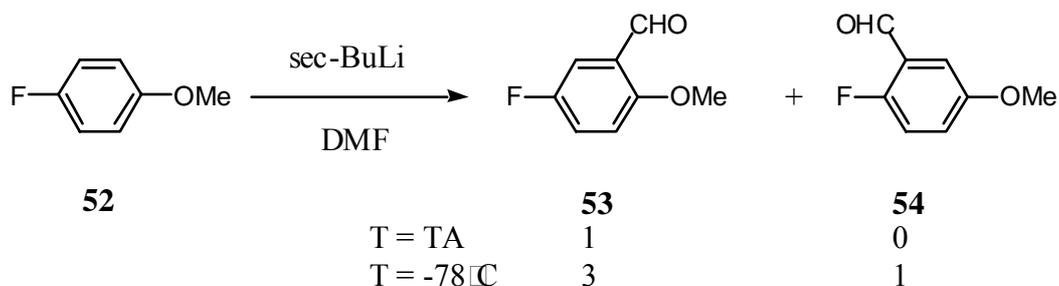


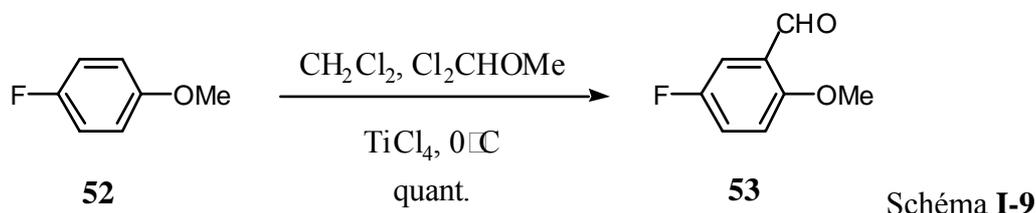
Schéma I-8

La seconde méthode emploie les conditions classiques du mélange dichlorométoxyméthyléther et TiCl₄.¹¹³

Récemment, le 5-fluoro-2-méthoxybenzaldéhyde **54** a été commercialisé par Aldrich (5g 134.7€). C'est une bonne alternative si l'on veut gagner du temps, mais le prix à payer est assez cher, ce qui peut être d'autant plus limitant si des quantités conséquentes de produit sont requises.

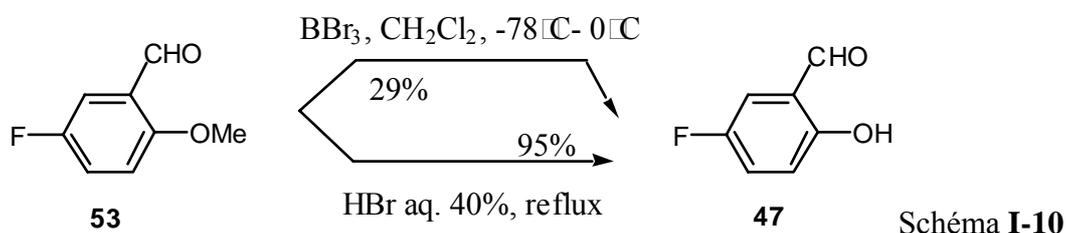
b) Résultats

C'est l'option décrite par Mancini¹¹³ qui a été choisie pour préparer **53**, avec dans notre cas un rendement quantitatif (Schéma I-9).



Dans un deuxième temps, il faut déméthyle le composé **53** pour aboutir au produit cible **47**. La littérature se montre très fournie pour cette réaction (cf. Protective Groups in Organic Synthesis) et nous avons pour notre part, tenant compte des habitudes et des produits en réserve, effectué deux sortes de déméthylations.

Premièrement l'usage d'un halogénure de bore a été utilisé¹¹¹, mais le mauvais rendement nous a conduits à changer de stratégie. L'emploi d'une solution aqueuse d'acide bromhydrique¹¹⁴ a ensuite été mis en place avec succès (Schéma I-10).



On remarquera dans ce dernier cas la facilité de mise en œuvre couplée à un moyen de purification inattendu ; en effet, comme le benzaldéhyde **47** possède un point de fusion relativement bas de l'ordre de 80°C, et qu'il n'est pas soluble dans l'eau, il cristallise dans le réfrigérant et est simplement récupéré par lavage de ce dernier.

Maintenant que l'approvisionnement en benzaldéhyde **47** est assuré, il faut le transformer pour le coupler avec le bromosucrose.

Les deux parties suivantes ont pour objet la synthèse du composé cible **58** au départ de **47**. Pour ce faire, deux chemins synthétiques peuvent être empruntés. En effet, il est possible soit de coupler le bromosucrose **55** avec l'aromatique **56** où la fonctionnalité aminométhyle est

déjà introduite, soit d'abord coupler **47** et **55** puis installer la fonction méthylamine subséquentement (Schéma I-11).

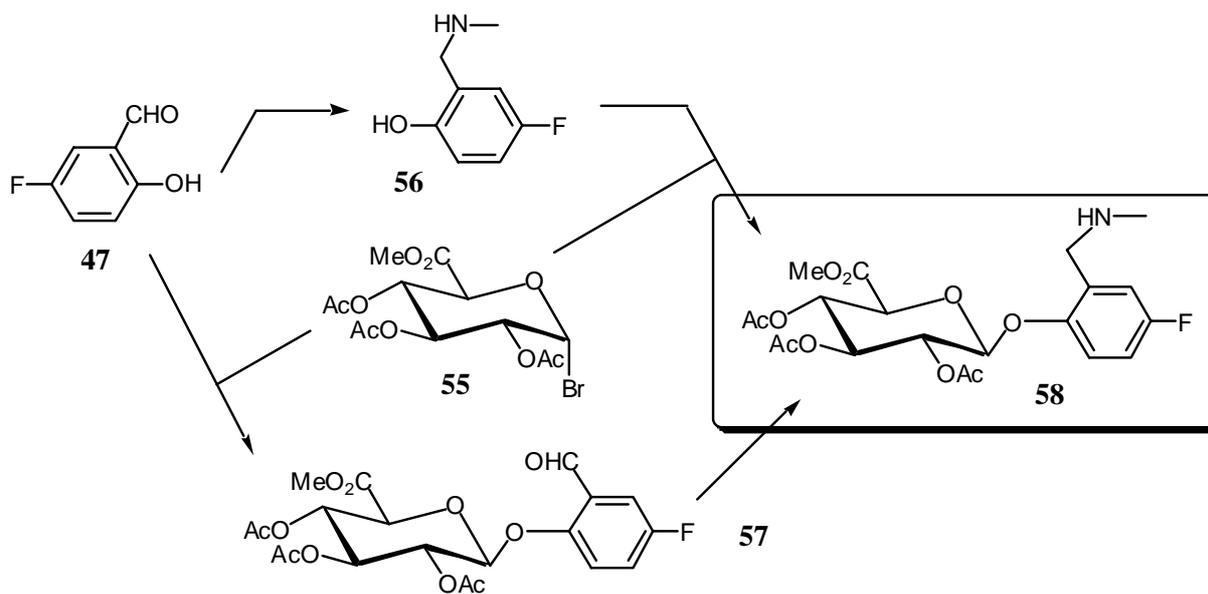


Schéma I-11

La partie III s'attachera à la synthèse des intermédiaires nécessaires et la partie IV sera consacrée au couplage proprement dit.

III) Synthèse des intermédiaires

Le composé cible des paragraphes 1 et 2 est l'aminophénol **56** ; la préparation des analogues avec l'amine protégée est également décrite.

1) Préparation de l'aminophénol 56 par amination réductrice

a) Bibliographie

L'amination réductrice est une méthode aisée de conversion des composés carbonylés en amine secondaire ou tertiaire. Du fait de leur grande réactivité et de leur facilité d'accès, les aldéhydes ont particulièrement été employés dans ce genre de réaction.

Schématiquement, cette réaction passe par un intermédiaire imine qui dérive de la déshydratation d'un hémiaminal, cette imine étant dans un second temps réduite. Les moyens

de réduction utilisés sont nombreux et variés (hydrogénation catalytique, hydrure de bore, acide formique*, ...).

L'isolement de l'imine intermédiaire est possible dans un certain nombre de cas, *ie* si l'imine est assez stable et ne se décompose pas pour retourner à l'aldéhyde de départ ; et lorsque c'est possible les données caractéristiques des imines sont alors données dans la partie expérimentale.

La découverte et l'emploi d'anion cyanohydroborate par Borch¹¹⁵ comme agent réducteur sélectif des composés carbonylés ou certains de leur dérivés type oxime a fondé de nombreux travaux. Ainsi il rapporte l'emploi de méthyl- et diméthyl-amine avec NaBH₃CN sur le 3,4-diméthoxybenzaldéhyde **59** pour conduire aux amines correspondantes (Schéma I-12).

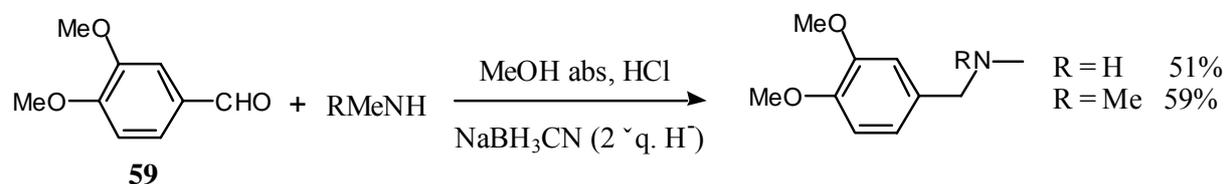


Schéma I-12

L'emploi de ces conditions, avec le sel de la méthylamine, sur l'aldéhyde **60** a présenté l'inconvénient de donner comme sous produit le composé de bis-alkylation réductive de l'amine¹¹⁶ pour former **61** (Schéma I-13). L'emploi des conditions de Kametani¹¹⁷ (hydrogénolyse sous pression concomitante à la formation de l'imine puis emploi de NaBH₄, rendement de 80%) a permis de résoudre le problème.

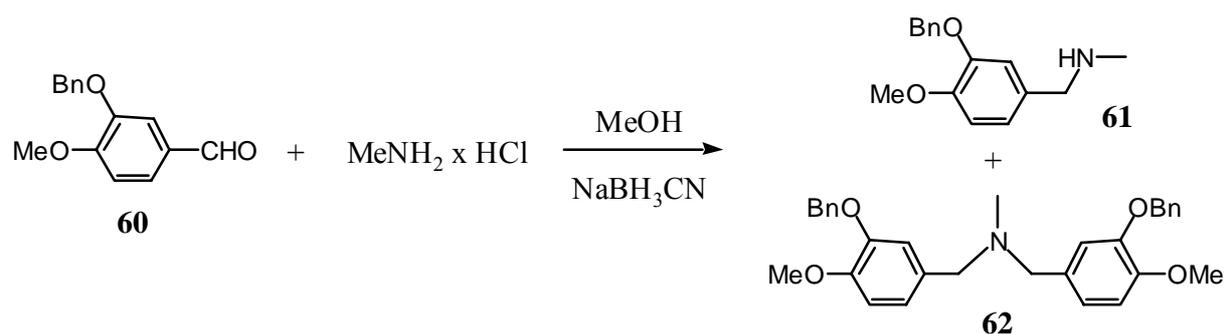


Schéma I-13

* réaction de Wallach.

L'utilisation de LiAlH_4 à la place du borohydrure pour la réduction d'imines intermédiaires d'*ortho*-hydroxyacétophénones ou d'*ortho*-hydroxybenzaldéhydes est également efficace.¹¹⁸

Plus récemment, Kitson a publié la synthèse en deux étapes de l'*ortho*-méthylaminométhylphénol **65** à partir du salicylaldéhyde **63** (Schéma I-14). Des problèmes de séchage de l'aminophénol **65** synthétisé sont mentionnés, forçant son utilisation directe sans purification (rendement non donné).¹¹⁹

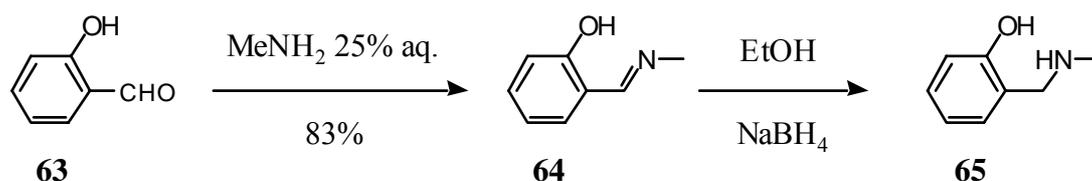


Schéma I-14

Enfin la préparation "one-pot" d'amines secondaires méthylées par amination réductrice de carbonyles au moyen de titane (IV) a été décrite (Schéma I-15).¹²⁰ De nombreux aldéhydes aromatiques ont été utilisés, notamment **59**, le bromo, le nitro, le méthoxy en position 3, avec des bons rendements (71-84%). Une publication postérieure tire partie de ces résultats pour publier une méthode d'accès aux énimines par condensation d'amines sur des arylénones en présence de TiCl_4 .¹²¹

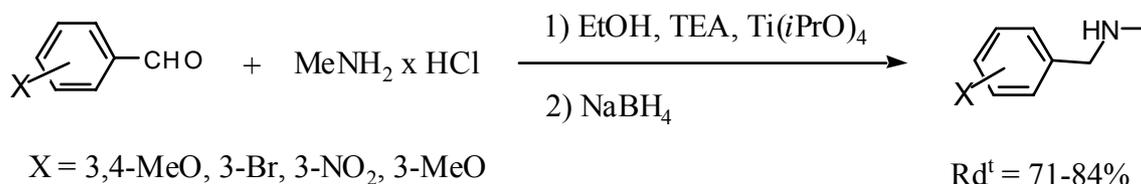
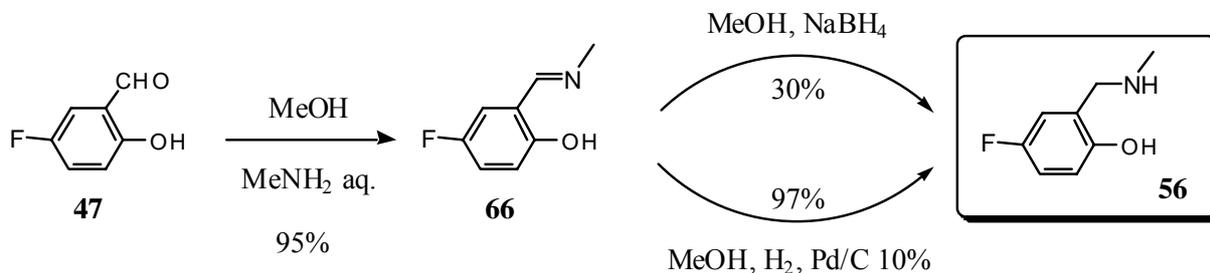


Schéma I-15

b) Résultats

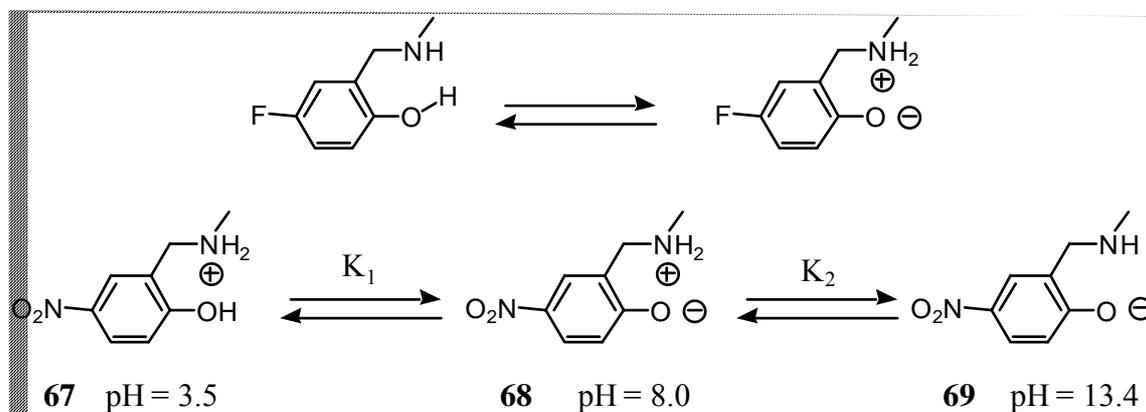
La méthode au titanate a tout d'abord été employée, mais les mauvais rendements (26% au mieux) et la procédure un peu astreignante de traitement de la réaction nous ont orientés vers une autre technique. Il est raisonnable de penser que la présence du phénol est à l'origine de ces résultats, peut-être par complexation du titane ou bien par formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire forte avec l'aldéhyde.

Il a alors été décidé de passer par un intermédiaire imine qui serait isolé avant d'être réduit. La procédure la plus simple, utilisant la méthylamine aqueuse, a été employée avec succès. Puis l'amine cible **56** a été obtenue soit par réduction au borohydrure, soit par hydrogénation catalytique (Schéma I-16).



Plusieurs remarques peuvent être tirées de ceci. Premièrement, il est clair que la méthode de choix pour obtenir **56** à partir de **47** est l'hydrogénation catalytique de l'imine **66**, sachant que le passage one-pot de **47** à **56** s'effectue facilement avec un rendement de 90%. Deuxièmement, il semble que le borohydrure ne soit pas particulièrement efficace pour la réduction de cette imine, et par conséquent que le faible rendement observé avec la procédure de Neidigh lui est peut-être imputable.

Une autre remarque d'importance concerne cet aminophénol qui est en fait une sorte d'acide aminé. En effet, il faut bien voir que cette molécule **56** est en fait un zwitterion (Schéma I-17). Par ailleurs le spectre RMN ^1H montre un pic unique pour les deux protons échangeables OH et NH indiquant un équilibre rapide entre eux (à l'échelle de la RMN). Des études sur l'analogue nitré¹²² **67** ont mis en évidence ce caractère acide de telles molécules (Schéma I-17).



2) Protection de l'aminophénol 56

La glycosylation de **56** pouvant poser de nombreux problèmes dont nous voulions nous affranchir, nous avons décidé de protéger l'amine de **56**. En effet, la protection de cette benzylamine secondaire peut être envisagée pour faciliter une *O*-glycosylation sélective par rapport à une possible *N*-glycosylation ou éviter une possible gêne de l'amine secondaire.

C'est pourquoi l'amine de **56** a été protégée sélectivement par deux groupements protecteurs *ad hoc*.

a) Protection de **56** par un BOC

De par sa facilité de mise en place, sa résistance en milieu basique, et sa facile déprotection par les acides, le groupement *t*-Butyloxycarbonyl (BOC) est un des groupements protecteurs parmi les plus utilisés et les plus populaires en synthèse organique.

Son utilisation concerne essentiellement la protection des amines primaires et secondaires ; la protection des phénols par le BOC est anecdotique (Protective Groups* p281) car le carbonate résultant est de toute façon très fragile. Il a trouvé de nombreuses applications notamment dans le champ de la synthèse sur support solide. Ses propriétés en tant que groupement réactif à part entière ont fait récemment l'objet d'une mise au point.¹²³

En tenant compte du caractère acidobasique de l'amine **56**, nous avons utilisé une procédure d'introduction de BOC sur les aminoacides.¹²⁴ Dans un premier essai, 2.6 éq. de BOC₂O ont été utilisés pour conduire à l'intermédiaire di-BOC **70** qui est ensuite remis en solution dans le méthanol en présence de K₂CO₃ pour cliver le carbonate de phénol. En fait, il est possible de jouer sur la sélectivité de l'agent de protection BOC₂O ; la mise en œuvre de 1.1 éq. de cet anhydride permet l'obtention directe de **71** (Schéma **I-18**).

* Protective Groups se réfère à l'ouvrage suivant : Greene, T. W. ; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis* Wiley-Interscience (IIIrd Ed°), 1999, New York USA.

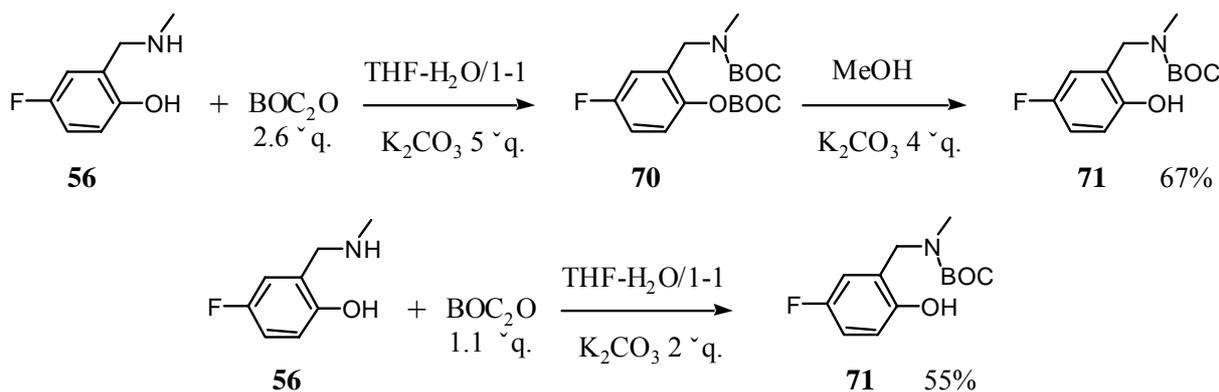


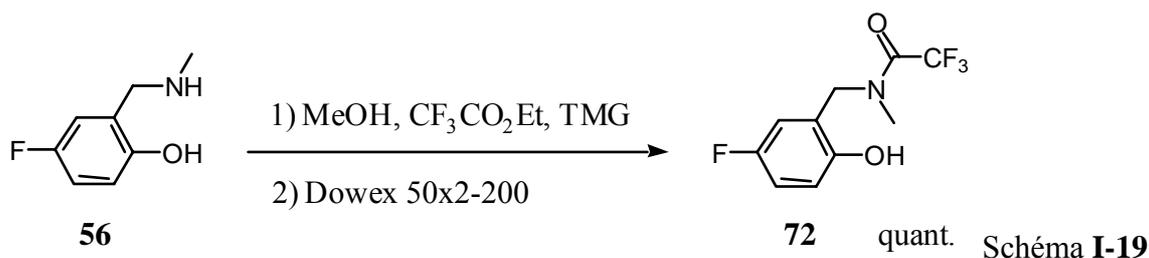
Schéma I-18

b) Protection de 56 par un TFA

Le groupe BOC pouvant imposer une certaine gêne stérique à l'endroit du phénol, ce qui pourrait compromettre le couplage glycosidique, une autre protection a également été envisagée. La protection sous forme d'amide des amines est moins usitée que le BOC (carbamate) ou le carbonyloxybenzyl (groupe Z ou Cbz), mais la grande stabilité des amides non activés peut se révéler un critère d'importance dans le choix de leur emploi (Protective groups p550).

Ici cependant, le but est d'obtenir un groupement protecteur relativement peu encombrant et facilement hydrolysable. Dans la série des acétylamides, le trifluoro amide se révèle l'un des plus facilement clivable, et ce d'autant plus facilement que la molécule comporte un hydroxyle dans le voisinage capable d'aider à l'hydrolyse (*ibidem*).

Le mode opératoire est une adaptation de celui appliqué à des aminoacides et des peptides, dont la tyrosine.¹²⁵ Cette dernière nécessite l'emploi d'une base plus appropriée que la TEA utilisée dans les autres cas, en l'occurrence la tétraméthylguanidine (TMG). Cette méthode s'est trouvée tout à fait satisfaisante en termes de faisabilité et de rendement (Schéma I-19).



Le choix de cette protection de l'azote par le TFA semblait d'autant plus judicieux que son efficacité est décrite dans la glucuronylation de tyrosine et di-iodotyrosine *N*-protégées de la sorte.¹²⁶

Avec les trois aminoacides **56**, **71** et **72**, dont deux *N*-protégés, le couplage glycosidique conduisant au composé cible **58** de cette partie peut avoir lieu.

IV) Couplage glycosidique entre acide glucuronique et aminophénol

1) Bibliographie

a) Introduction¹²⁷

L'époque où les glucuronides pouvaient être considérés comme simple produit biologique inutile est maintenant révolue. La meilleure compréhension des processus métaboliques a conduit à une plus grande appréciation du rôle des métabolites secondaires, tout particulièrement les glucuronides.

Non seulement ces composés représentent fréquemment la forme finale d'élimination des xénobiotiques, jouant ainsi un rôle majeur dans la détoxification, mais ils peuvent montrer une activité biologique significative inhérente. A ce titre, l'exemple de la morphine est instructif : le glucuronide en 3 **74** possède une meilleure activité analgésique que la morphine **73** elle-même (Figure I-6).

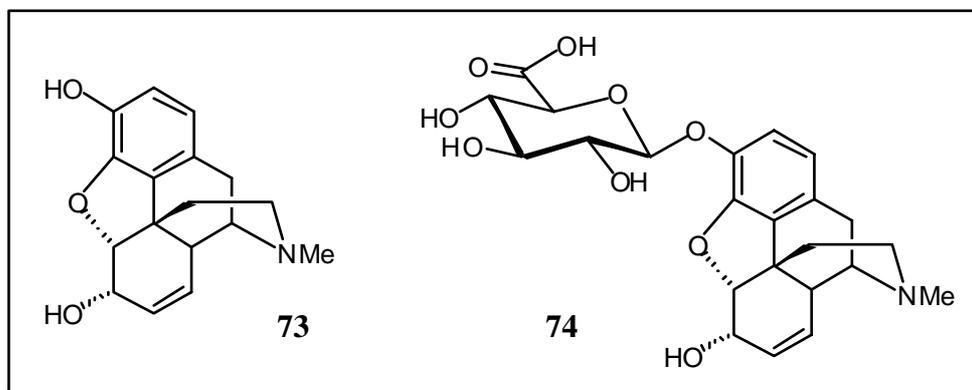


Figure I-6

De plus, il existe un besoin d'échantillons hautement purs de ces glucuronides pour conduire les analyses, analyses demandées notamment par les autorités sanitaires lorsque une

demande d'AMM est déposée pour un médicament métabolisé de la sorte. Il s'avère donc nécessaire d'avoir à disposition des méthodes efficaces de synthèse de glucuronides.

Dans le cas qui nous intéresse, il s'agit de *O*-glucuronides, et nous nous focaliserons donc sur cette sous-famille qui est de loin la plus importante tant biologiquement que synthétiquement.

Les *O*-glucuronides peuvent être divisés commodément en trois classes : les aryles, les alkyles et les acyles (représentés typiquement, dans l'ordre, par **75**, **76** et **77**) (Figure I-7).

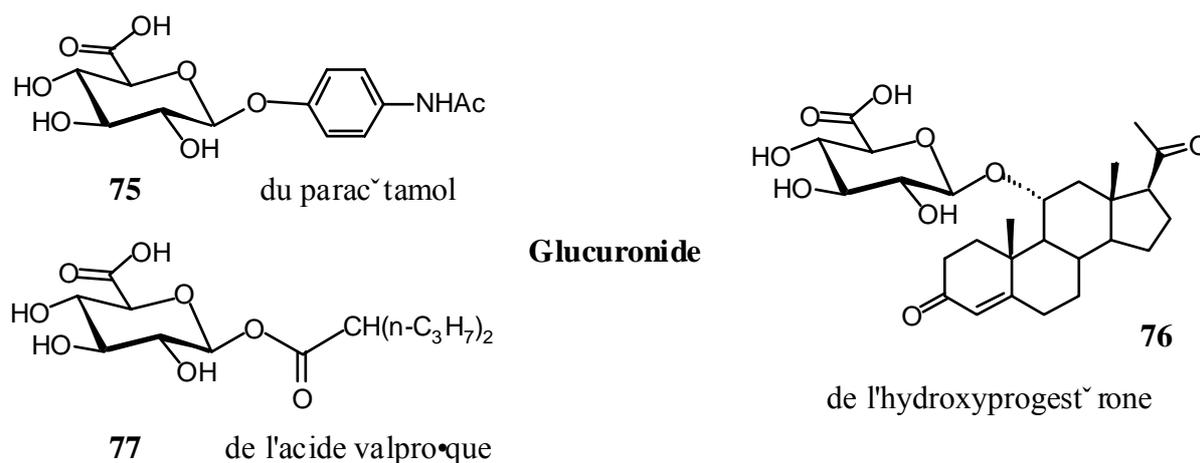


Figure I-7

D'une manière générale, les mêmes méthodes de synthèse sont applicables aux glucuronides d'aryles et d'alkyles. Ces deux classes sont naturellement abondantes, notamment les aryles ; ainsi la majorité des composés phénoliques donnent en effet lieu chez l'humain à un conjugué glucuronide.

Bien qu'également assez répandu, les glucuronides d'acyles montrent une grande instabilité chimique, car ils sont hydrolysés aussi bien en milieu acide que basique, et sont sujets à réarrangement.

D'un point de vue synthétique, il est clair que la plupart des techniques employées pour la synthèse de glucuronides trouvent leur équivalent pour les glucosides. Cependant, les glucuronides possèdent une chimie propre et sont habituellement plus difficiles à préparer que leurs équivalents glucopyranosides. De fait, il est décrit que de tous les sucres, les glucuronates requièrent l'activation la plus haute pour une aglycone donnée.¹²⁸ D'un point de vue mécanistique, le groupe alcoxycarbonyl en position 5 possède un effet déstabilisateur sur la formation d'un cation en C₁.

Pour des raisons de facilité d'accès et de connaissances de ces composés, nous nous sommes focalisés sur des glucuronates protégés par des groupements esters lors des couplages glycosidiques envisagés. En effet, la présence d'un groupe participant en C₂ conduit à une stéréochimie β de la liaison glycosidique (à tout le moins, la forme α n'a jamais été détectée), stéréochimie qui est systématiquement celle rencontrée dans les conjugués glucuronides naturels. Il faut en outre garder à l'esprit que dans notre travail le but est de préparer des molécules hydrolysées par la β -D-glucuronidase, donc cette stéréochimie β est **indispensable**.

L'emploi de groupements protecteurs éthers (classiquement éther de benzyle) sur le glucuronate mène invariablement à des mélanges α/β et ne sera pas traité ici. Toutefois, ces composés sont plus réactifs, et ils sont indispensables pour coupler certaines aglycones ne supportant pas les conditions usuelles d'hydrolyse basique des esters. Dans ce genre de cas, une stratégie de contournement consiste à coupler le glucose à l'aglycone puis oxyder la position 5 en acide pour obtenir le glucuronide correspondant désiré.

b) Préparation des intermédiaires nécessaires

La très grande majorité des glucuronides a été synthétisée au moyen d'intermédiaires glucuronates d'ester méthylique protégés par des acétyles. La formation des éléments les plus utilisés est représentée dans le Schéma **I-20**, ils dérivent tous de la D-Glucurono-3,6-lactone **46** commerciale.

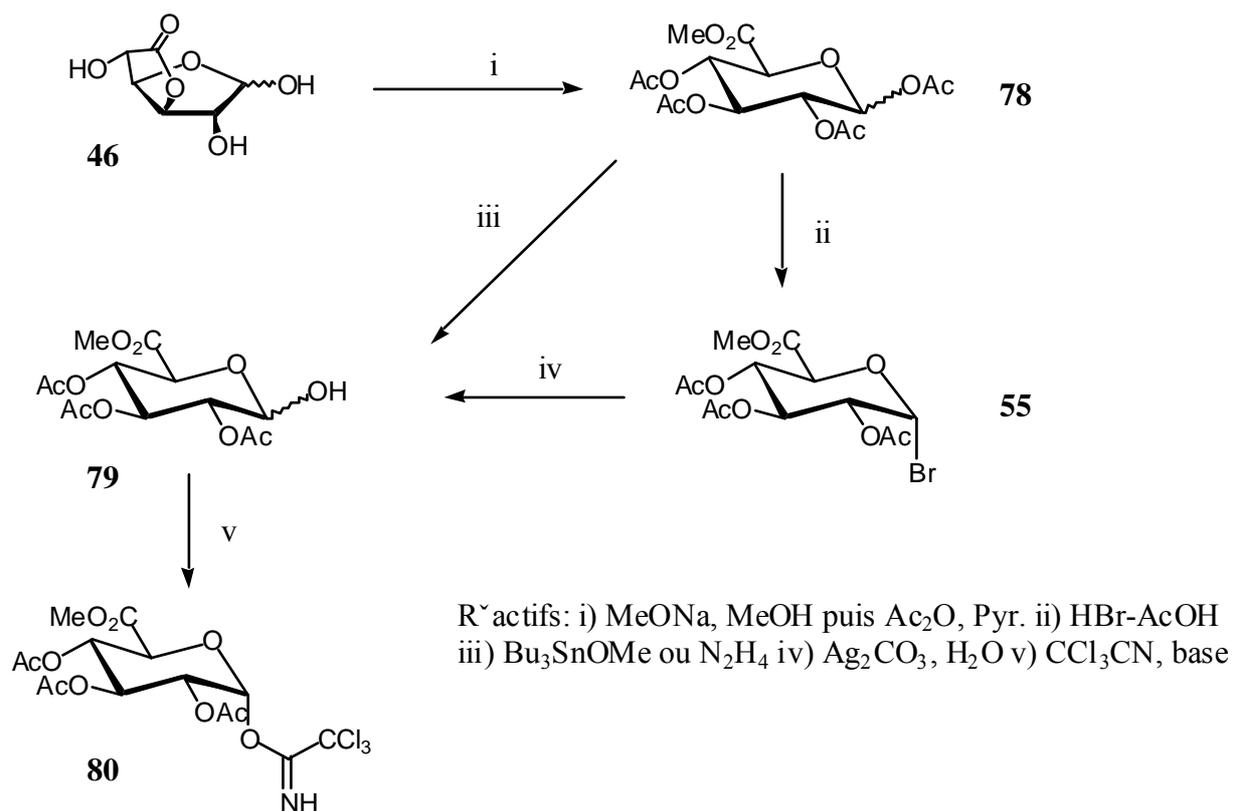


Schéma I-20

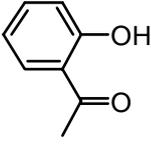
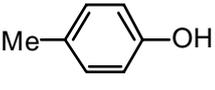
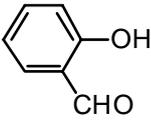
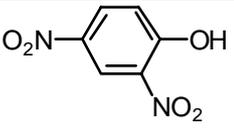
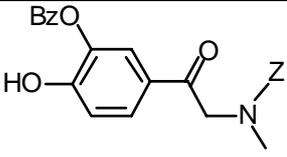
c) Avec le bromosucrose **55**

Ce dérivé bromé est sans doute encore l'intermédiaire le plus employé ; il est disponible commercialement, mais cher (69€ le gramme chez Fluka). Il se prépare toutefois aisément en quantité importante. Par contre son instabilité est démontrée, et pour de longues périodes il faut le conserver au sec à -20°C.

La méthode de Koenigs-Knorr reste très populaire pour son utilisation ; typiquement les catalyseurs employés sont des sels d'argent I (Ag₂O, AgCO₃), Hg(CN)₂ ou encore CdCO₃. Les solvants utilisés en premier étaient le benzène et la quinoléine, souvent remplacés maintenant par CH₂Cl₂ et CH₃CN.

Les premiers travaux d'importance sur le sujet sont décrits par Bollenback.¹²⁹ Plusieurs méthodes de glycosilation du phénol par **55** sont décrites ; étonnamment le meilleur résultat provient d'un couplage direct entre le sel du phénol et le bromure (Tableau I-2). Il est apparu par la suite que le phénol n'était pas le meilleur substrat hydroxyaryle pour cette réaction.

Plus récemment, des catalyseurs par transfert de phase ont été employés, permettant d'effectuer certains couplages inefficaces dans les conditions précédentes. Différents travaux en la matière sont rassemblés dans le Tableau I-2.

Aryle	Catalyseur	Solvant	Rd ^t . (%)	Réf.
PhOH	Ag ₂ CO ₃	Benzène	31	129
PhOH	Quinoléine	PhOH	23	
PhONa	-	EtOH	75	
 81	Ag ₂ O	Quinoléine	57	130
PhOH	Hg(CN) ₂	-	49	131
 82		-	40	
 63		-	10	
Morphinate de Li ou K	-	EtOH <i>i</i> -PrOH <i>tert</i> -BuOH	0	132
Morphinate de Li	-	MeOH	24	
Morphinate de Li	KI	MeOH	30	
Addition du bromo au morphinate de lithium	-	MeOH	53	
 83	Ag ₂ O	CH ₃ CN	90	133
 84	Bu ₄ NHSO ₄	CH ₂ Cl ₂	33	134

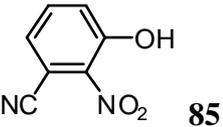
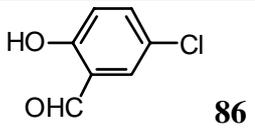
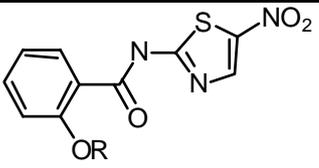
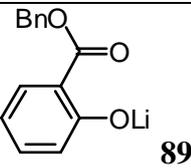
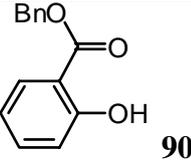
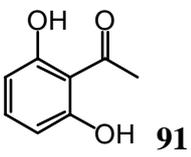
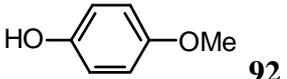
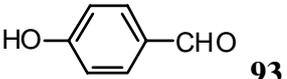
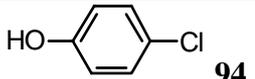
 85	Ag_2CO_3	Quinoléine	81	135
 86	Ag_2CO_3 2,4,6-collidine	CH_2Cl_2 TM 3Å	86	136
 R = H (Tizoxanide) 87 R = Li 88	Ag_2O	CH_2Cl_2	-	137
 89	-	MeOH	24*	
 90	Ag_2O	Quinoléine	61	
 91	Bu_4NHSO_4 ou BnNBu_3Cl	CH_2Cl_2 ou CHCl_3 NaOH ou K_2CO_3 aqueux ou en poudre	0 à 93	138
	BnNBu_3Cl	CHCl_3 K_2CO_3 en poudre	93	
 92	BnNBu_3Cl	CHCl_3 K_2CO_3 en poudre	46	
 93	BnNBu_3Cl	CHCl_3 K_2CO_3 en poudre	81	
 94	BnNBu_3Cl	CHCl_3 K_2CO_3 en poudre	45	

Tableau I-2

* Le produit isolé est le glucuronide désacétylé.

Le bromosucrose **55** a également été engagé dans des réactions de couplage avec des thiophénols ou dérivés : avec le thiophénol sur des bromodisaccharides par transfert de phase,¹³⁹ avec un dérivé de *N*-oxyypyridine pour conduire à **95** (Schéma I-21).¹⁴⁰

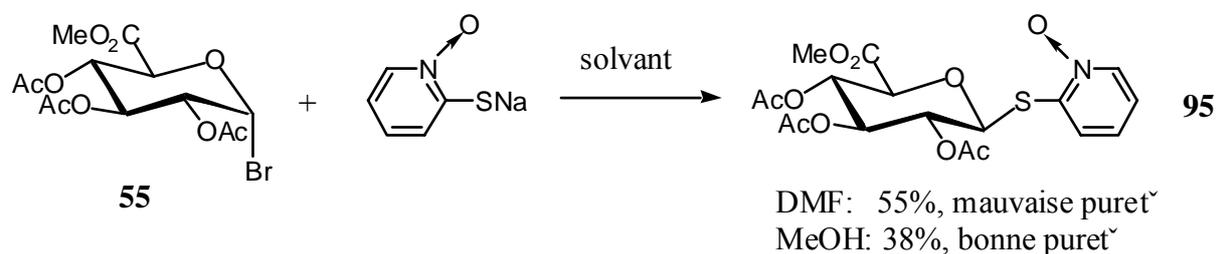


Schéma I-21

Des exemples de *N*-glucuronoylation de dérivés 1-arylsulfonyl du 5-FU par transfert de phase (Schéma I-22) sont également décrits.¹⁴¹

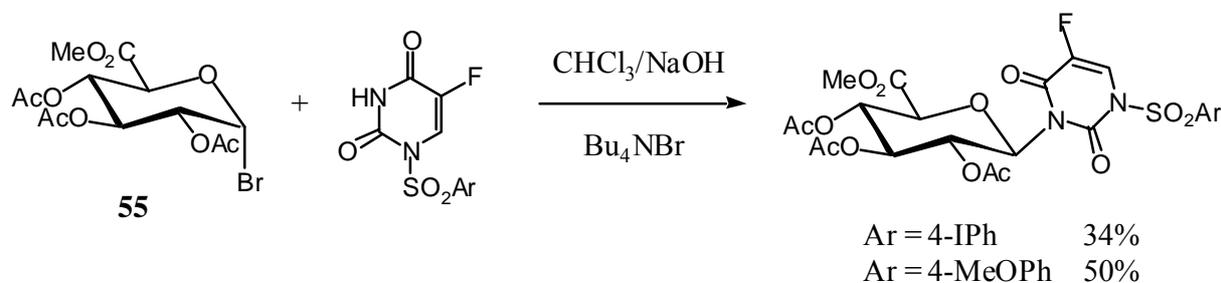


Schéma I-22

d) Avec le tétra-acétyle **78**

L'utilisation de ce composé, lorsqu'elle est efficace, permet de s'affranchir de l'étape fastidieuse de la bromation en **55**, et donc s'avère un bon moyen d'économiser temps et matière. De nombreux glucuronides d'aryles ont été préparés à partir de ce composé de manière simple et assez efficace.

Il faut tout de suite remarquer que l'emploi de l'anomère β est crucial puisque l'anomère α est peu voire pas réactif (Tableau I-3).¹²⁹

Anomère de 78	Catalyseur	Solvant	Rd ^t . (%)
β	TsOH	Phénol	55
β	ZnCl ₂	Phénol	30
α	ZnCl ₂	Phénol	5

Tableau I-3

Comparé au bromo, l'emploi du dérivé tétra-acétylé peut être bénéfique ou inintéressant. Ainsi le couplage acido-catalysé entre **78** et l'ester benzylique de l'acide salicylique **90** n'a pas pu être réalisé,¹³⁷ ce qui confirme l'observation de l'échec du couplage avec l'ester méthylique de l'acide salicylique cette fois au moyen d'Ag₂CO₃.¹³⁰ Une forte liaison hydrogène intramoléculaire est sans doute à l'origine de ces échecs et requiert donc des sucres plus activés. L'éventualité de problème d'ordre stérique peut être écartée ici car la bis-substitution en 2,6 des phénols n'est pas en soi une barrière comme le prouve la synthèse du dérivé dihydrobenzopyrane **96**¹⁴² (Schéma I-23).

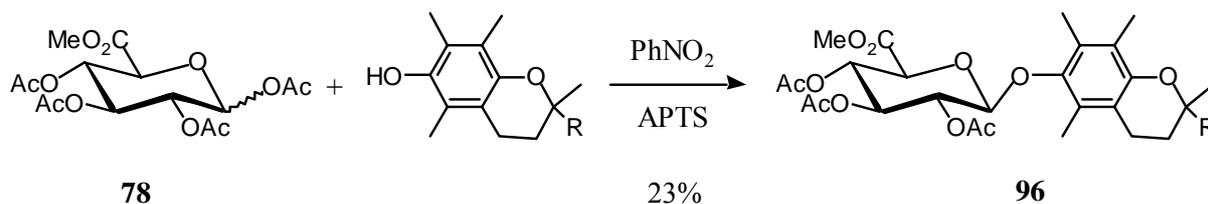


Schéma I-23

Pour les phénols plus acides, type 4-nitro ou 2-chloro, qui sont moins réactifs, l'emploi d'un acide de Lewis fort est nécessaire. Ainsi SnCl₄ s'est montré utile dans la glycosidation de phénols (dont des dérivés estradiol) par **78** (Schéma I-24).¹⁴³

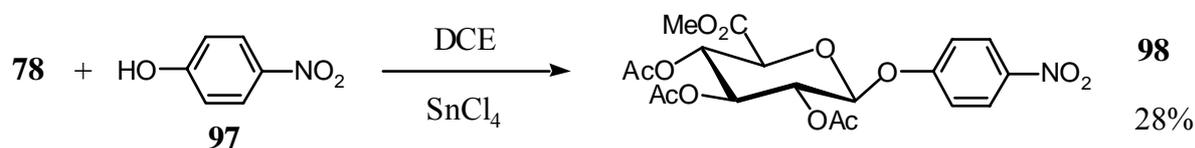


Schéma I-24

e) Avec l'hydroxyle en 1 (**79**)

L'emploi de **79** devient de plus en plus commun non seulement parce qu'il est d'un accès relativement aisé à partir de **78** ou **55**, mais surtout parce qu'il autorise plusieurs méthodes de couplage différentes.

Des *O*-aryle glucuronides ont ainsi été obtenus par couplage de Mitsunobu direct avec le phénol approprié ; ici les phénols les plus acides sont les plus réactifs (50% de rendement avec le 4-nitrophénol). L'obtention du sous produit orthoester tel **99** a été observé dans certains cas (Schéma I-25).^{137, 144}

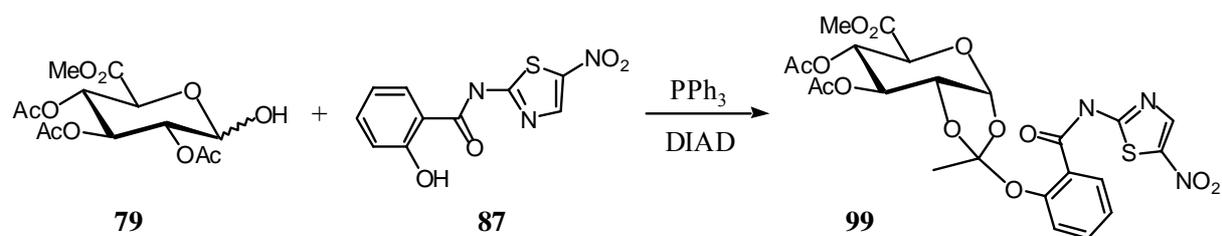


Schéma I-25

Plus couramment, on utilise un acide de Lewis pour le couplage, particulièrement le TMSTf.¹⁴⁵ Toutefois, suivant l'aglycone en jeu, la stéréochimie de la liaison glycosidique est affectée ; les phénols peu acides mènent pratiquement exclusivement à l'anomère β , quant aux phénols trop acides, ils ne réagissent pas dans ces conditions.

f) Méthode au trichloroacétimide **80**

La glycosylation au moyen d'un trichloroacétimide introduite par les travaux de Schmidt et coll.¹⁴⁶ a un nombre d'applications croissant pour la glucuronylation.

La valeur de cette méthode apparaît clairement dans l'excellent rendement de préparation du conjugué 4-nitrophénol (Schéma I-26) par rapport aux rendements donnés ci-dessus.

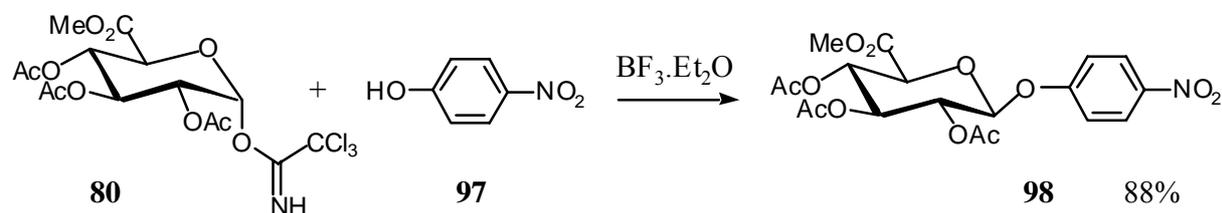


Schéma I-26

Cette liste de méthodes de glycosylation n'est bien sur pas exhaustive mais se veut refléter les tendances majeures du domaine. Il est toujours possible, et souhaitable d'un point de vue méthodologique, d'adapter des techniques de glycosylation à la glucuronylation (pour ces premières on pourra se référer à la récente revue de Jensen¹⁴⁷), par exemple la *bis*-glycosylation hautement efficace de biphenols, binaphtols, biphenyldiols par action du palladium sur des carbonates de glycales.¹⁴⁸

2) Résultats

Vu les quantités conséquentes de bromosucrose **55** à synthétiser, une réaction de bromation plus rapide et moins fastidieuse du tétra-acétyl **78** que la méthode HBr dans AcOH¹²⁹ a été essayée. Il s'agit de l'adaptation d'un mode opératoire usuellement employé en série glucose, mannose et galactose. Cela consiste à traiter **78** par PBr₃ dans l'anhydride acétique.

Les temps de réaction décrits* sont de l'ordre de la demi-heure. Avec l'acide glucuronique, un mélange 1/1 entre produit de départ et bromure attendu est obtenu, même lorsque les conditions sont forcées (plus d'équivalents de PBr₃, durée allongée). Comme **55** s'hydrolyse partiellement sur colonne, il n'était pas purifiable ici sans perte notable ; il a donc été préparé suivant la seule procédure employée jusqu'à présent.¹²⁹

Le couplage entre **55** et **56** éventuellement protégé a donc été ensuite entrepris. Rapidement il a semblé que la structure de notre amine s'avérait rédhibitoire au couplage. Les différents et nombreux essais effectués n'ont **jamais** conduit à l'obtention d'un produit de couplage. Les expériences menées dans cette entreprise sont regroupés dans le Tableau I-4.

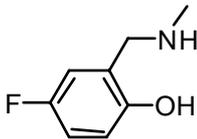
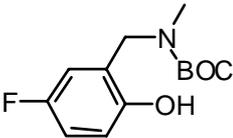
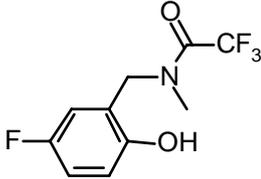
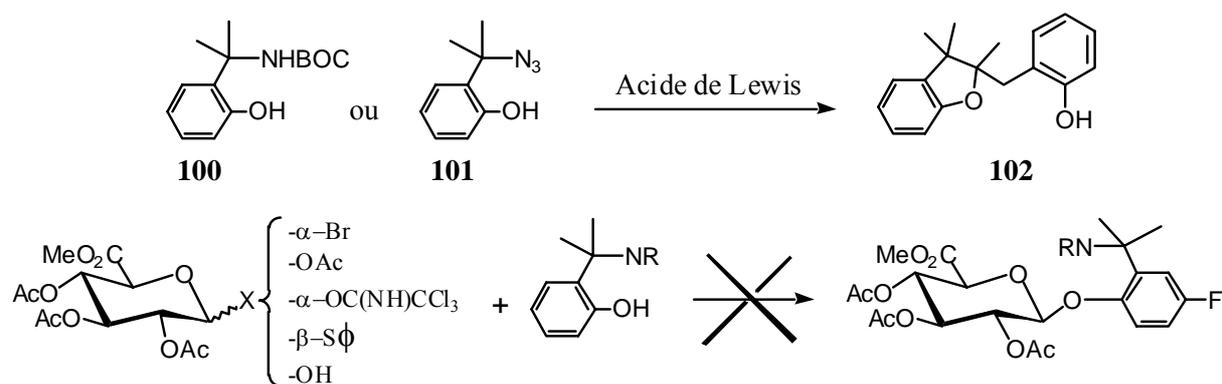
Amine	Catalyseur	Solvant
	Ag ₂ O	CH ₃ CN
	BnNBu ₃ Cl, K ₂ CO ₃	CHCl ₃
	TBAB	CHCl ₃ /NaOH
	Ag ₂ O	CH ₃ CN
	TBAB	CHCl ₃ /NaOH
	Ag ₂ O	CH ₃ CN

Tableau I-4

* Cahier de laboratoire interne à l'unité.

Nous pensions pourtant circonvenir les problèmes, déjà observés auparavant au laboratoire, de couplage d'un acide glucuronique sur les composés diméthylés **100** et **101**. En effet dans ces dernier cas, une instabilité du phénol engagé dans le couplage a été observée et attribuée à la facilité de former le cation benzylique tertiaire. Ceci a été mis en évidence par l'isolement du produit **102** (Schéma I-27) en présence d'un acide de Lewis, et par la non-réaction dans les couplages à l'argent (Ag_2O ou Ag_2CO_3) ou par transfert de phase.



Pourtant dans notre cas, la formation d'un cation benzylique primaire est moins favorisée. Il semble donc bien que l'acidité prononcée conjuguée au caractère de paire ionique (cf. Schéma I-17 ci-dessus) de l'aminophénol ne permette pas un couplage glycosidique, du moins avec un bromosucrose comme **55**.

Suite à ces échecs, notre voie de secours comme annoncée précédemment a donc dû être empruntée (cf. partie VI ci-dessous). Cependant, pour mettre mieux en lumière les phénomènes liés à ces problèmes, des travaux portant sur le 3-fluoro-4-hydroxybenzaldéhyde **103**, isomère de **47**, ont été entrepris.

V) Glycosylation de **103**

1) Synthèse de **103**

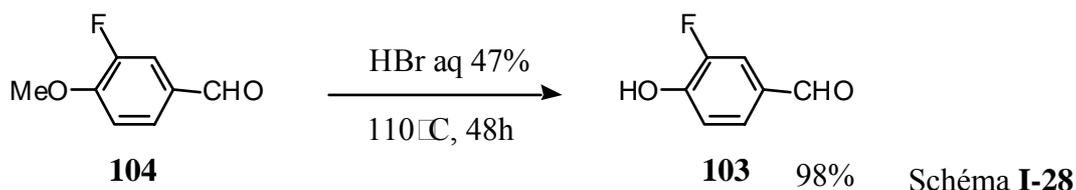
La méthode la plus directe d'accès à **103** serait de formyler un précurseur comme le 2-fluorophénol. La formylation en para des phénols est cependant peu développée, moins

sélective que la formylation en ortho, et conduit donc fréquemment à des mélanges d'isomères.

Ces méthodes ont donc été peu développées et restent assez peu employées. Un exemple est l'utilisation de PEG (polyéthylèneglycol) dans les conditions de Reimer-Tiemann* ; le meilleur ratio obtenu *para/ortho* est de l'ordre de 1, ce qui n'en fait pas une méthode très efficace.¹⁴⁹

La méthode de choix pour l'introduction d'un groupement formyle en position *para* d'un phénol semble plutôt être la formylation du dérivé éther méthylique correspondant suivi de l'hydrolyse de l'éther. Les conditions de Vilsmeier** donnent de bons résultats dans ce sens.¹⁵⁰

Cependant, le plus rapide est certainement de partir du dérivé **104** commercial et de faire l'hydrolyse classique en milieu acide. C'est ainsi que nous avons procédé pour obtenir **103** (Schéma I-28).



Il faut maintenant préparer dans un second temps la méthylamine **107** isomère de **56**.

2) Amination réductrice de 103

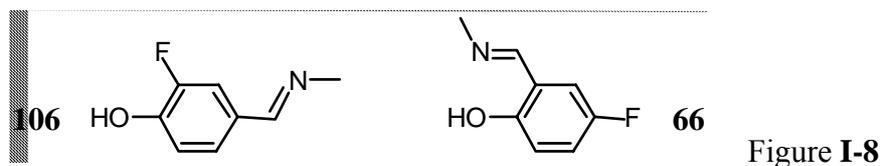
Pour synthétiser cette amine nous avons appliqué la méthode de choix ressortie du paragraphe III.1.b.

La première étape est la formation d'une imine par action de la méthylamine aqueuse. Alors que dans le cas précédent cette imine était isolable et purifiée par chromatographie, le composé **106** n'a jamais été obtenu. En fait cette imine (Figure I-8) s'avère instable et s'hydrolyse en aldéhyde de départ lors du traitement et de la chromatographie. Ceci implique

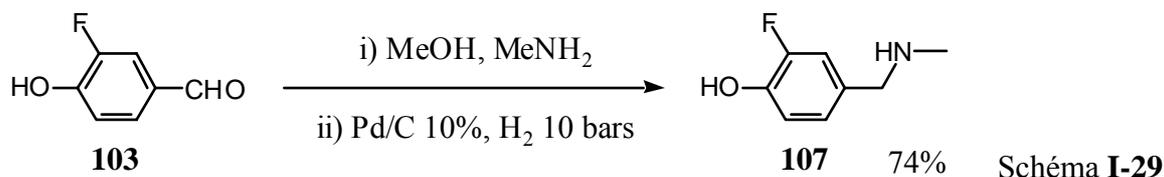
* Historiquement une des premières formylation du phénol par action de la soude concentrée sur le chloroforme.

** Réaction entre un dérivé formylamine et un électrophile type POCl₃.

que l'imine **66** est stabilisée d'une façon ou d'une autre, et il très vraisemblable qu'une forte liaison hydrogène soit à l'origine de cet effet (Figure I-8).



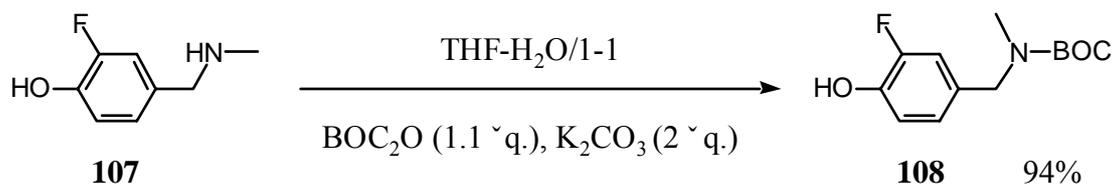
L'opération d'une procédure one-pot d'amination réductrice a confirmé que l'imine **106** se formait bien mais n'était pas stable avant d'être réduite en l'amine correspondante (Schéma I-29).



Par rapport à la glycosidation de **56**, l'amine de **107** ne peut pas être à l'origine de gêne stérique ou électronique ; seules ses propriétés intrinsèques d'amine peuvent intervenir. Pour s'affranchir de ces dernières cette amine a donc été protégée par un groupement BOC.

3) Protection de 107

L'utilisation des conditions décrites précédemment a mené sans problème particulier à l'obtention de l'amine *N*-BOC **108** (Schéma I-30).



4) Glucuronylation de 107

Un essai avec le bromosucrose **55** n'a rien donné sur l'amine libre. Il semblerait donc que la présence d'une amine benzylique secondaire soit nuisible au couplage glycosidique envisagé.

Il est toutefois à noter que le couplage avec l'aldéhyde **103** dans les mêmes conditions fournit le produit de couplage attendu **109** (Schéma I-31). Il y a donc bien un problème de réactivité lorsque l'on passe de l'aldéhyde à l'amine.

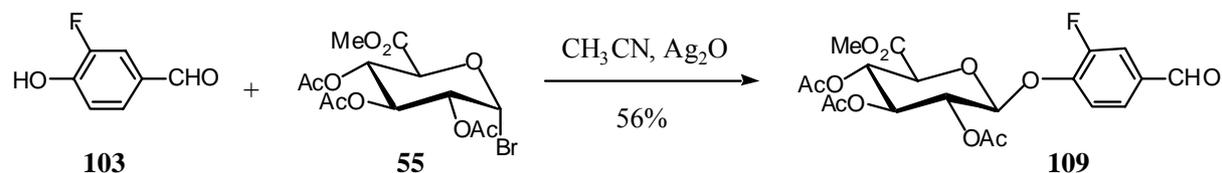


Schéma I-31

Ce composé **109** a également été synthétisé dans l'optique d'en faire l'analogue fluoré d'un espaceur double nitré qui fait l'objet du chapitre II.

Le couplage entre une aniline *mono* protégée par un BOC a également été réussi au laboratoire (Schéma I-32).^{98, 99}

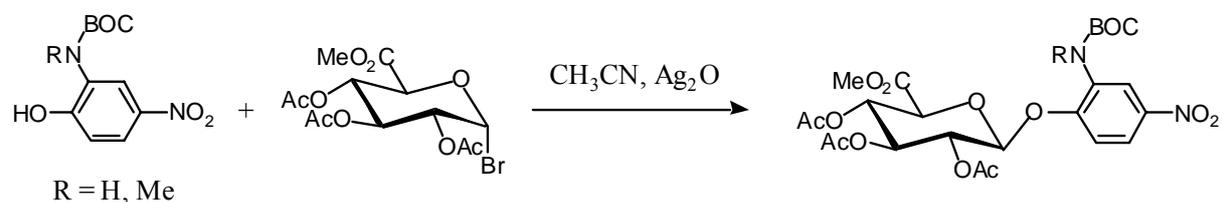


Schéma I-32

VI) Amine à partir du benzaldéhyde couplé **57**

Dans un premier temps il faut assurer un couplage glycosidique entre un dérivé glucuronique et l'hydroxybenzaldéhyde **47**. Puis ensuite la fonctionnalité amine devra être introduite en utilisant l'aldéhyde de **57**.

1) Synthèse de **57**

Nous avons commencé par l'utilisation des conditions classiques de couplage à l'oxyde d'argent I dans le solvant acétonitrile. La réaction ne marche pas très bien, mais par retouches successives du travail expérimental au fur et à mesure des essais, il a été possible d'élever le rendement à 40% (Schéma I-33).

En partant de quantités suffisantes de réactifs (classiquement 10g de bromo et 5g d'aldéhyde), cela permet d'avoir à disposition un stock conséquent de produit de couplage 57.

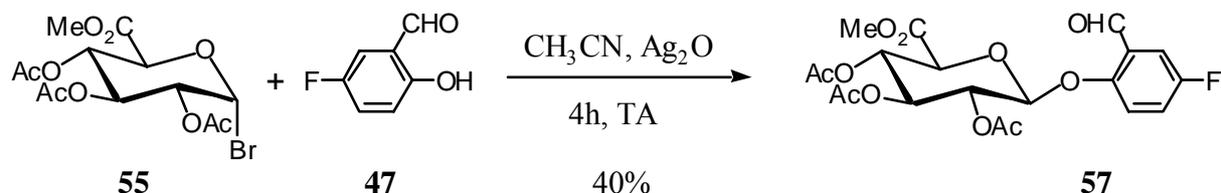


Schéma I-33

2) Amination réductrice de 57

Pour obtenir le composé cible 110, il faut transformer le groupement formyle en groupement méthylaminométhyle. Pour ce faire, l'option la plus simple était d'utiliser une réaction d'amination réductrice précédemment employée sur le benzaldéhyde 47.

La méthode au titanate de Neidigh¹²⁰ et celle de Kitson¹¹⁹ avec la méthylamine aqueuse ont toutes les deux été essayées mais sans réussite (Schéma I-34).

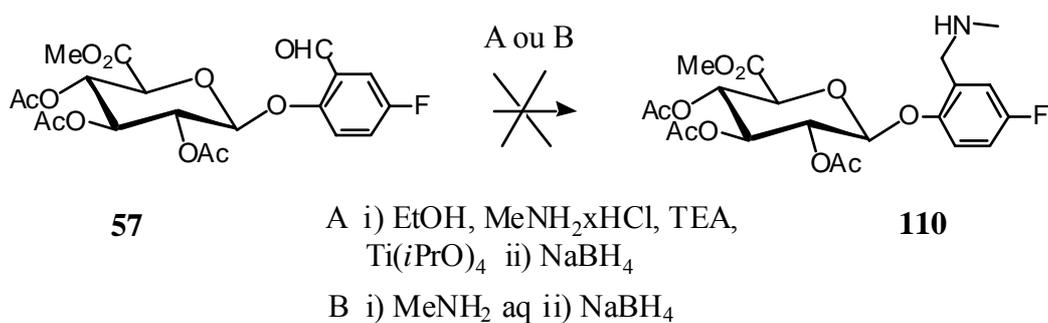


Schéma I-34

Il est vraisemblable que la méthylamine aqueuse des conditions B clive les acétates ; aucun produit n'a pu être isolé dans ce cas. Pour les conditions A, la même hypothèse peut-être émise, doublée du fait que le titane peut se complexer sur le sucre, ne permettant pas ainsi l'obtention de l'amine visée.

3) Synthèse d'un synthon pivaloylé

Des paragraphes précédents il ressort que le bromosucrose acétylé **55** ne se couple pas avec un dérivé aminophénol type **56** et seulement moyennement bien avec l'hydroxyaldéhyde **47**.

De plus la stabilité relative des glucuronides acétylés et leur propension à former des orthoesters type **99** nous ont conduits à développer en parallèle l'utilisation d'un dérivé glucuronate protégé par des groupements acyles supérieurs aux acétyles.

L'un des rares composés décrits dans ce sens est un acide glucuronique protégé par des groupements pivaloyles (*t*-butylcarbonyl) développé par Vlahov.¹⁵¹ Le bromosucrose **111** est plus stable que son analogue acétylé **55**, mais une limitation de cette stratégie réside dans la déprotection parfois laborieuse de ces groupements protecteurs. A notre connaissance, une seule méthode de glucurylation de phénol par **111** existe dans la littérature (Schéma I-35).¹⁵²

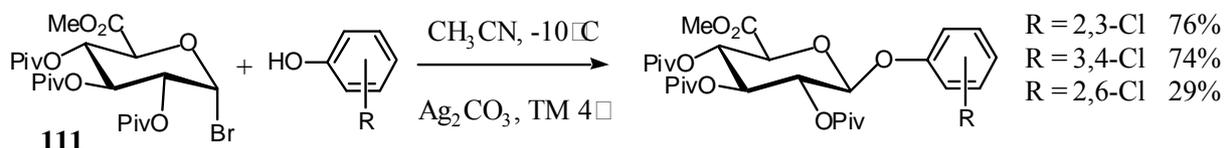
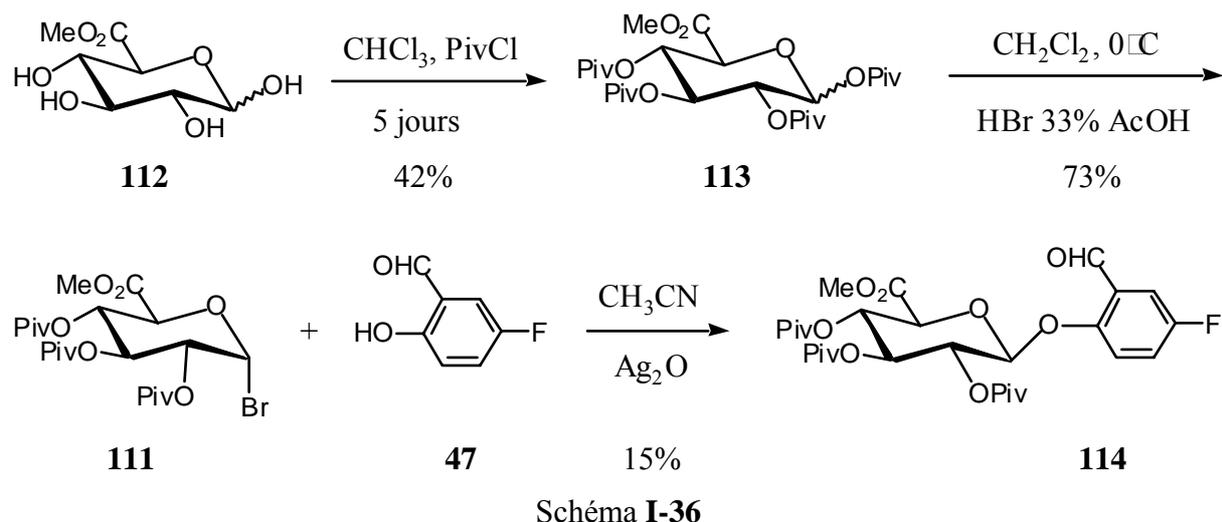


Schéma I-35

Nous avons donc suivi la procédure décrite par Vlahov pour synthétiser **111** et l'appliquer à la glucurylation de **47** (Schéma I-36).



Une tentative de bromation de **113** par PBr_3 (cf. IV-g) a également échoué, résultant en un mélange 5/1 de produit de départ et de bromo souhaité. De plus la longueur de la réaction de pivaloylation, ajoutée au faible rendement de couplage et aux résultats corrects obtenus par ailleurs avec les acétyles, nous a poussés à ne pas persévérer dans cette voie.

4) Conclusion

Au vu des nombreuses difficultés rencontrées émaillant les parties IV et V précédentes, nous avons choisi de travailler sur un espaceur **115** avec une amine primaire (Figure I-9).

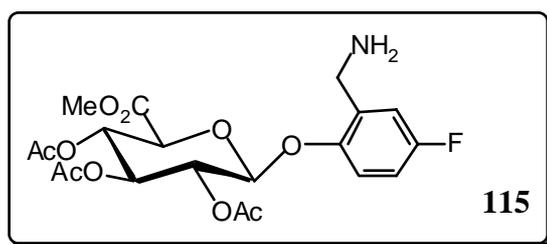


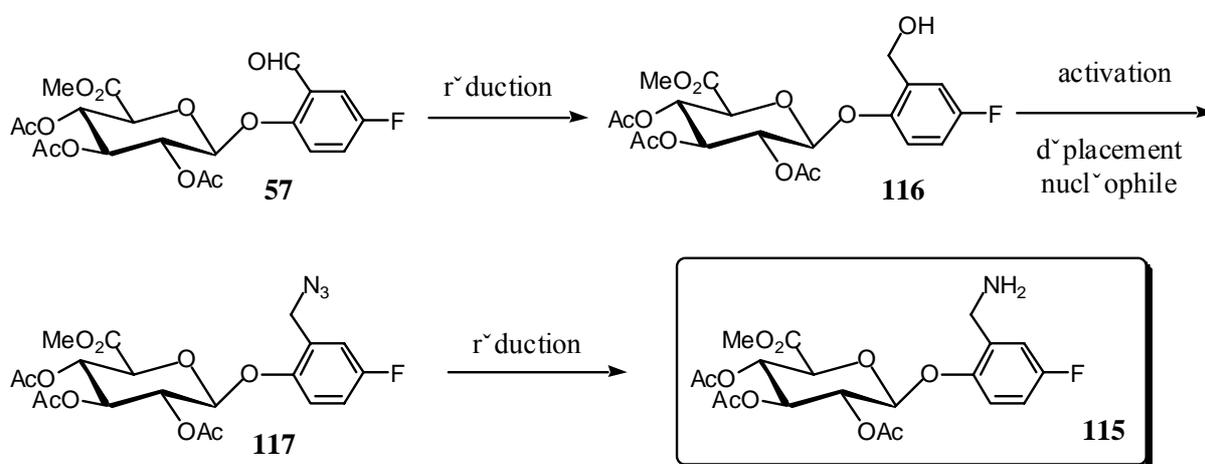
Figure I-9

Deux avantages se dégagent de ce choix. Le premier est la plus grande flexibilité de synthèse qui permet, à partir de l'amine **115**, de synthétiser éventuellement la méthylamine **58**. Bien que souvent délicate, cette monométhylation n'est *a priori* pas impossible. Deuxièmement le chemin synthétique menant d'un benzaldéhyde type **57** à une amine benzylique type **115** est solide et bien documenté. La partie suivante s'attachera donc à la synthèse de l'amine **115**.

VII) Synthèse de l'amine 115

La stratégie la plus adéquate qui s'est dégagée pour convertir l'aldéhyde **57** en amine, vu les échecs d'amination directe, est de synthétiser un intermédiaire azido qui par réduction fournirait l'amine. Cet azoture proviendrait du déplacement d'un alcool activé ou converti en groupe partant, l'accès à cet alcool en provenance de l'aldéhyde ne devant pas poser de problème particulier.

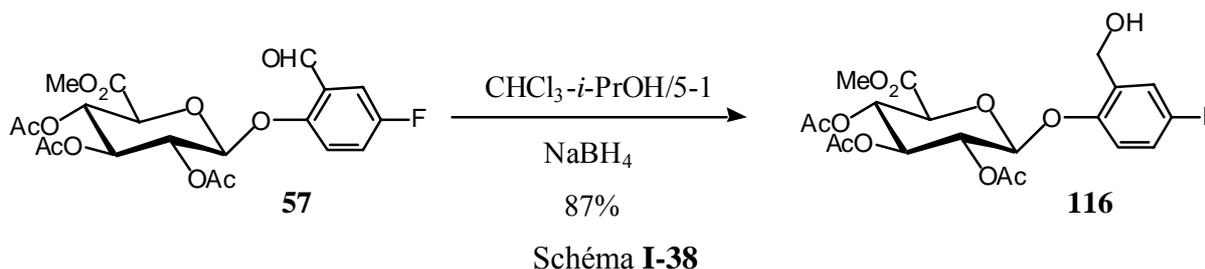
Le chemin synthétique suivi fut donc celui du Schéma I-37.



1) Réduction de 57

Pour la réduction de ce genre de composé, la technique utilisée au laboratoire pour des composés analogues,¹⁰⁰ emploie simplement NaBH_4 dans un mélange de solvant, l'un polaire, pour la solubilisation du borohydrure, et l'autre apolaire pour la solubilisation des composés.

Le mélange *i*-PrOH- CHCl_3 ayant fait ses preuves, ce mode opératoire a été appliqué avec succès à **57** (Schéma I-38).



2) Conversion de 116 en azido puis réduction en amine

a) Bibliographie

1- Formation d'un azido à partir d'un alcool

Il existe deux possibilités communément employées pour transformer un hydroxyalkyl en dérivé azido.

La première utilisée passe par un intermédiaire carbocation qui subit ensuite une attaque nucléophile de l'anion azoture N_3^- . Cette technique marche bien uniquement dans les cas où la formation du cation est favorisée, c'est-à-dire principalement les positions benzyliques comme dans le composé **116**. Un acide fort type Brønsted ou un acide de Lewis sont généralement utilisés pour engendrer le cation. Quelques exemples sont rassemblés dans le Tableau I-5.

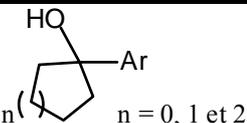
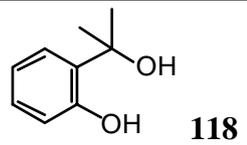
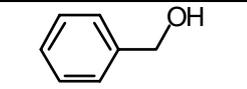
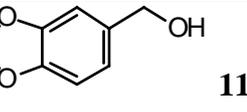
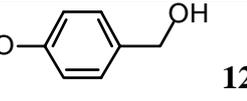
Alcool	Acide	Solvant	Rd ^t . (%)	Ref.
	TFA	CHCl ₃ reflux	90-95 pas de purification	153
	TFA	CHCl ₃ reflux	91	interne
	BF ₃ .Et ₂ O	Dioxane reflux	85	154
			86	
			84	

Tableau I-5

Ces conditions sont toutefois assez drastiques et ne peuvent convenir aux substrats trop fragiles en milieu acide, à haute température qui plus est.

La deuxième voie de conversion d'un alcool en azido procède en deux étapes. La première est une étape de conversion de l'alcool en halogénure ou d'activation sous forme de dérivé sulfoné. Ensuite dans un second temps, le groupe partant ainsi constitué est déplacé par substitution nucléophile de l'azoture N_3^- .

Ceci a d'abord été appliqué à des alcools benzyliques,^{155, 156} parfois en procédure one-pot¹⁵⁷ (Schéma I-39).

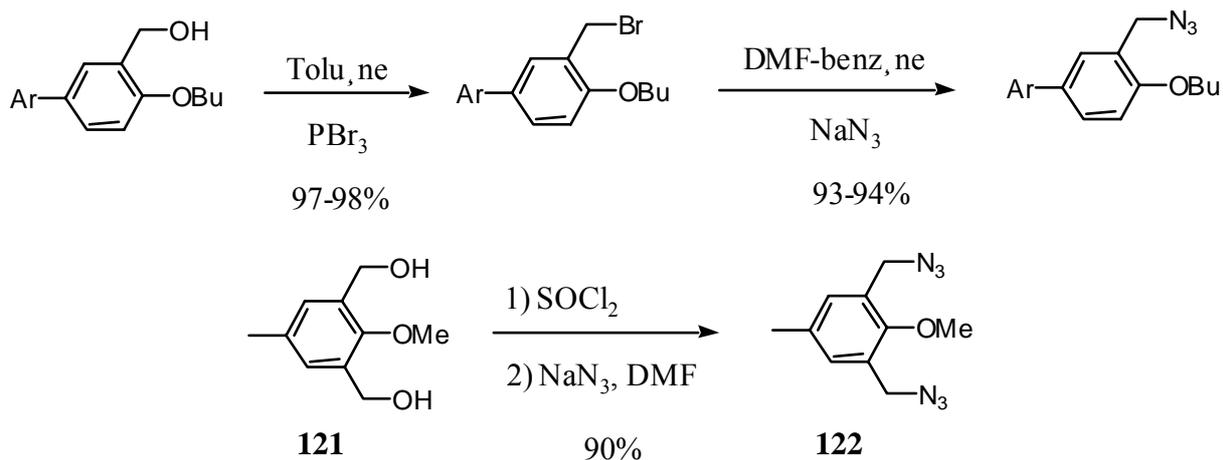


Schéma I-39

Pour des hydroxyles moins réactifs une activation par des groupement sulfonates a été utilisée. Ainsi l'azidation en 5 d'un mannose a été décrite par passage par un tosyle (Schéma I-40).¹⁵⁸

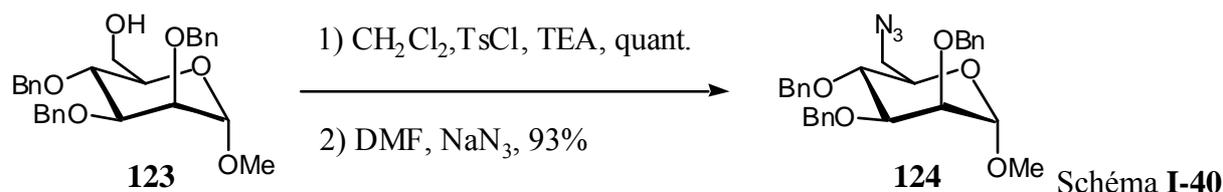


Schéma I-40

L'azidation d'aglycone 1,3-dibromopropane a également été reportée dans les conditions classiques DMF, NaN_3 .¹⁵⁹ On peut noter qu'un azoture benzylique a été préparé à partir du méthyle correspondant par bromation radicalaire suivi d'une substitution nucléophile par NaN_3 .¹⁶⁰

2- Réduction d'un azido en amine

Les procédés pour une telle réduction sont pléthore* : LiAlH_4 , NaBH_4 , PPh_3^{**} , H_2 en présence d'un catalyseur...

Les réductions suivantes font, entre autres, suite à la préparation d'azido décrits au paragraphe précédent. Balderman a utilisé du nickel de Raney avec des rendements d'autant meilleurs que la position benzylique était substituée,¹⁵³ alors que Tomàs a employé le Redal® (82-90%) mais sans purification des produits.¹⁵⁶

Hiruma a utilisé la réaction de Staudinger pour réduire presque quantitativement l'azide en 5 du mannose **124**¹⁵⁸ et la conversion directe d'un α -azido alcool en α -N-BOC aminoalcool a été décrite.¹⁶¹ Alors que Mikata employait l'hydrogénation sur oxyde de platine avec de bons rendements,¹⁵⁹ l'hydrogénation sur palladium sur charbon marche aussi très bien (Schéma I-41).¹⁶²

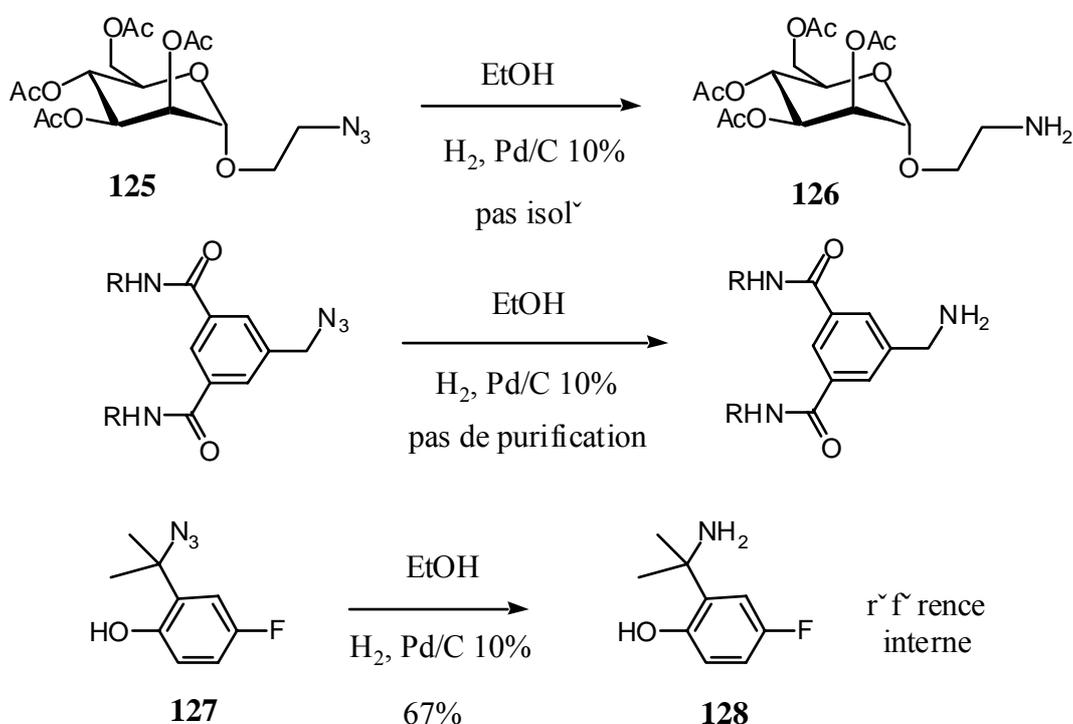


Schéma I-41

D'autres réductions moins conventionnelles, notamment par des métaux de transition, sont rassemblées dans le Tableau I-6.

* March, J. *Advanced Organic Chemistry* Wiley-Interscience 4th Ed°, 1992, New York USA, p1219-1220.

** Réaction de Staudinger.

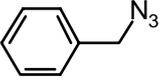
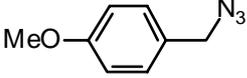
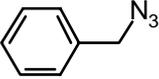
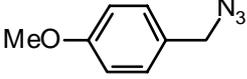
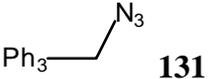
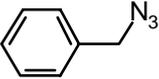
Azide	Réducteur	Solvant	Rd ^t . (%)	Ref.
	LiCl, NaBH ₄	THF	95	163
 129			94	
 130			86	
	In, HCl	THF	85	164
 129			95	
 131			90	
	FeCl ₃ , NaI*	CH ₃ CN	85	165

Tableau I-6

Le choix du système de réduction pour l'azide est donc vaste et doit pouvoir être convenablement adapté à notre composé.

b) Synthèse de l'amine **115**

Notre première tentative d'accès à **115** a été le passage one-pot de l'hydroxyle à l'amine en employant la méthode de Reddy.¹⁶⁶ Dans ces conditions l'azoture de sodium s'est montré assez basique pour conduire au produit d'élimination **132** (Schéma I-42).

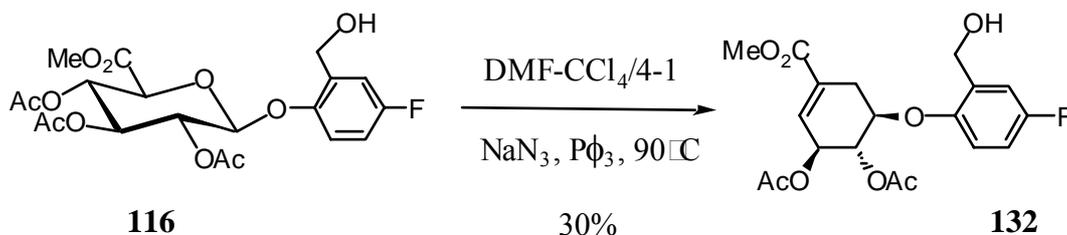
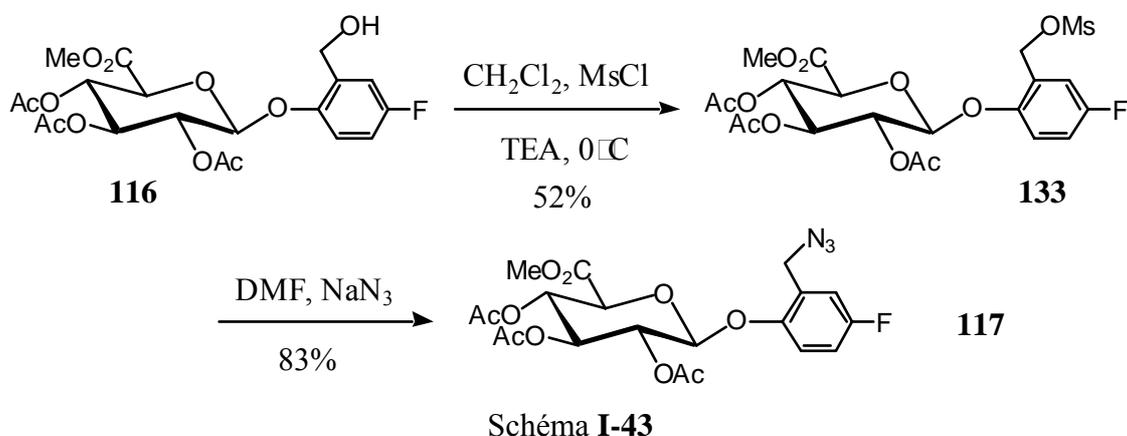


Schéma I-42

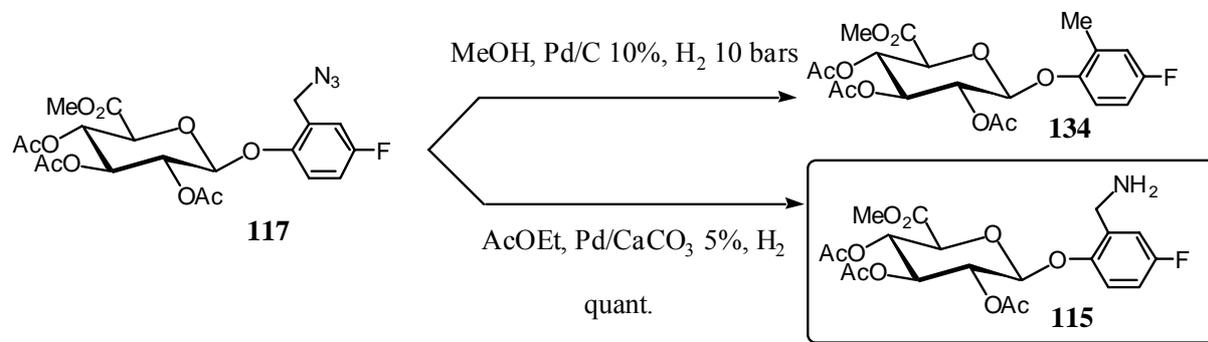
* Ce système ne réduit pas les nitroaryles.

Dans un second temps, la technique par formation d'un carbocation (cf. Tableau I-5) a été essayée mais sans succès. Ces conditions ne semblent pas assez drastiques pour la conversion de notre alcool puisque le produit de départ est récupéré intact.

Il a donc fallu s'orienter vers un processus en deux étapes avec formation d'un bon groupe partant suivi du déplacement nucléophile. La première tentative en ce sens a été une réaction one-pot avec méthylation de l'alcool puis ajout d'azoture de sodium. Le produit **117** a bien été obtenu, mais de cette façon du méthyle d'éthyle est également récupéré dont il n'est pas très aisé de se départir. C'est pourquoi le méthyle intermédiaire a dans une seconde tentative été purifié pour conduire proprement à l'azide **117** (Schéma I-43).



La réactivité singulière de cette position benzylique a encore été démontrée dans l'étape de réduction de l'azoture en amine. En effet, une première hydrogénation catalytique sous pression sur Pd/C 10% a fourni un mélange dont le composé **134** a pu être séparé et caractérisé. Il a donc fallu dans un deuxième temps opérer avec des conditions plus douces pour obtenir enfin l'amine cible **115** (Schéma I-44) quantitativement, mais sans purification.



VIII) Synthèse d'une prodrogue de moutarde

Dans le but de valider de manière expérimentale la conception de notre espaceur, il a été envisagé de faire une prodrogue modèle sur une moutarde à l'azote phénolique. Deux avantages se dégagent de ce choix.

Premièrement, d'un point de vue purement synthétique, l'hydrolyse basique des groupements acétates et de l'ester méthylique sont compatibles avec la moutarde. En effet, dans l'optique d'appliquer ce bras espaceur à des taxanes, il faut opérer un changement de groupements protecteurs sur la partie sucre, ce qui demande un nombre conséquent d'étapes supplémentaires. Secondement, de nombreuses prodrogues de moutarde à l'azote phénolique sont décrites ce qui permet de comparer les efficacités des différents espaceurs utilisés. On remarquera également que les premières prodrogues testées en clinique dans le cadre de l'ADEPT étaient des prodrogues de moutarde à l'azote.^{88, 167}

La synthèse de cette prodrogue va se dérouler en deux temps ; d'abord un couplage entre les deux parties constitutives de la prodrogue puis ensuite la déprotection de la partie glucuronique de la prodrogue protégée (Schéma I-45).

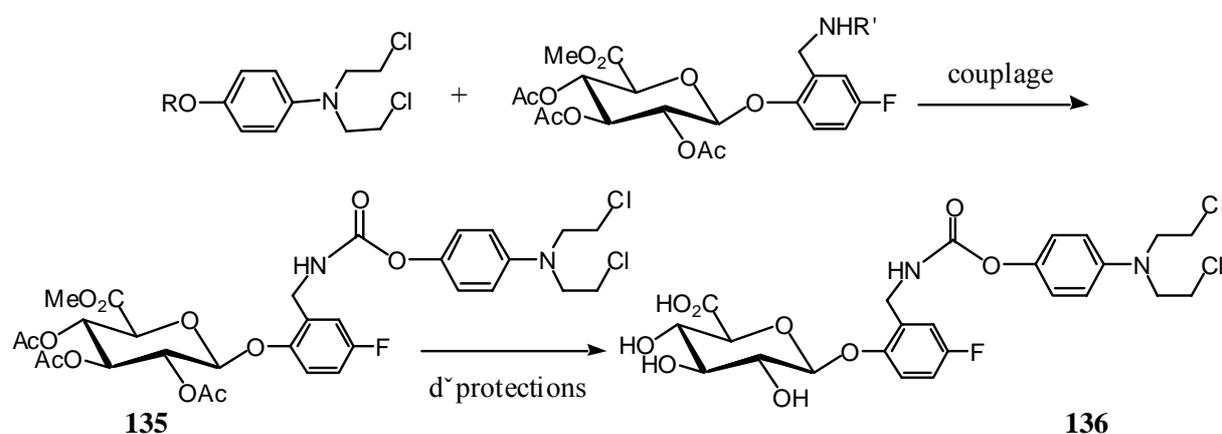
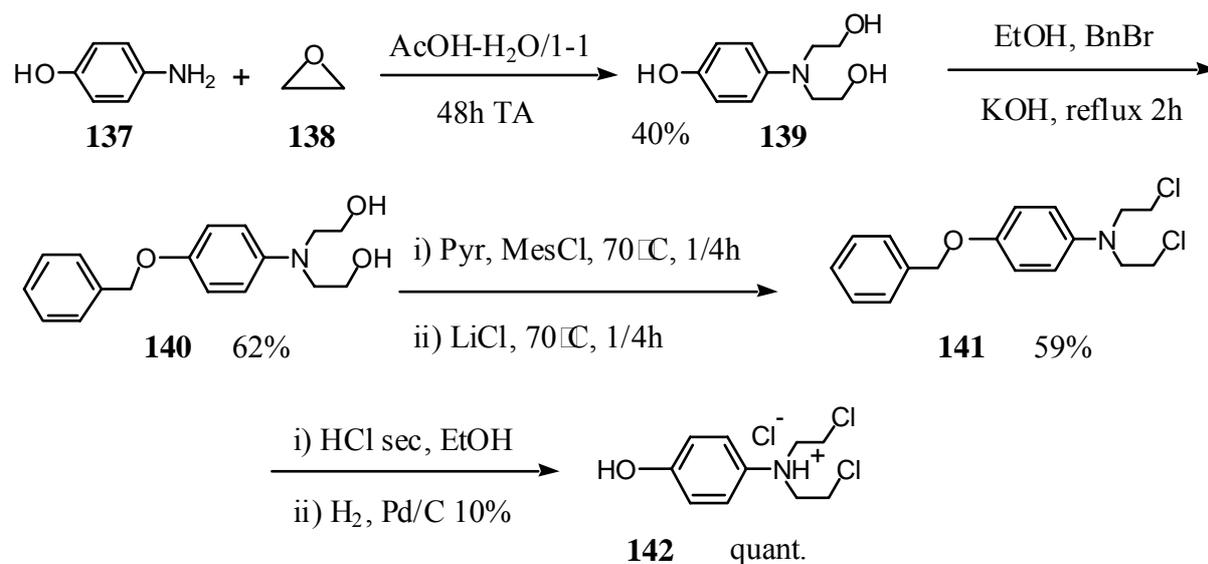


Schéma I-45

1) Synthèse de la moutarde à l'azote protégée

Dans un premier temps il faut synthétiser la drogue modèle. La littérature sur les moutardes à l'azote est vaste et nous avons limité les références aux moutardes à l'azote phénoliques.¹⁶⁸⁻¹⁷⁰

Cette moutarde a d'ailleurs déjà été synthétisée au laboratoire ainsi que des analogues fluorés.^{85, 98} Comme le phénol libre est instable, la moutarde est conservée sous sa forme éther de benzyle **142** et n'est déprotégée que pour l'utiliser immédiatement (Schéma I-46).

**2) Synthèse de 135**

Avec les deux entités **115** et **142** en main, il faut maintenant les coupler en formant un lien carbamate. Il y a possibilité d'activer soit l'amine soit le phénol pour réunir les deux parties.

Nous avons commencé par activer la moutarde sous forme d'un carbonate de 4-nitrophénol **144** (Schéma I-47).¹⁷⁰ Puis nous avons essayé de faire réagir ce carbonate activé sur l'amine **115**. Aucun couplage n'a été observé avec ces deux composés que ce soit dans l'acétonitrile avec de la DMAP ou dans le DMF en présence de TEA.

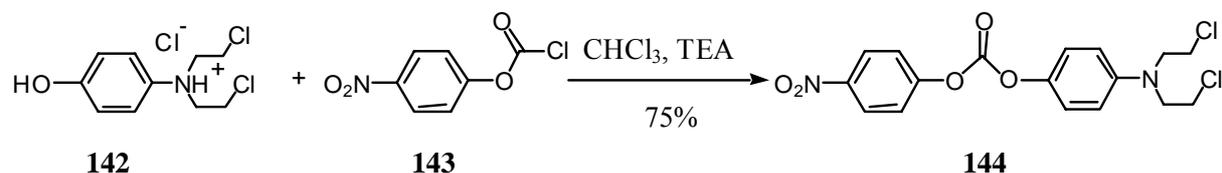


Schéma I-47

Devant ce problème de réactivité, des expériences modèles ont été entreprises pour cerner l'origine des problèmes de couplage. Ainsi les expériences menées avaient pour objectif de vérifier si notre amine n'était pas le cœur du problème et si la réaction envisagée se faisait avec succès sur une amine simple telle la benzylamine. Nous avons donc entrepris de synthétiser le composé **145** par réaction de la benzylamine sur le chloroformiate **143**. Cette réaction ne pose aucun problème particulier (Schéma I-48). Nous avons alors fait réagir le même chloroformiate sur l'amine **115** cette fois. Le carbamate **146** a bien été obtenu, mais la formation de l'urée **147** a également été observée, dans le rapport 3/1 (Schéma I-48).

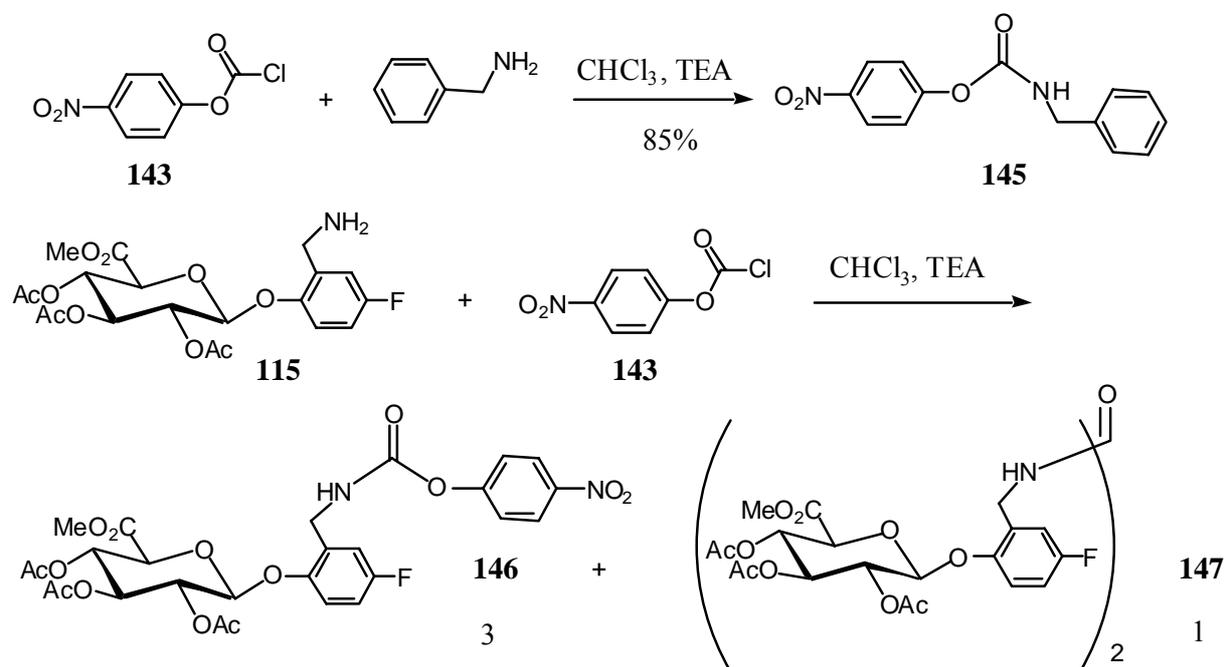


Schéma I-48

Un carbamate activé **148** de la même espèce est d'ailleurs été décrit et utilisé en tant que tel pour la synthèse d'une prodrogue urée **150** dans le cadre MDEPT (Melanocyte-Directed Enzyme Prodrug Therapy) (Schéma I-49).¹⁷¹

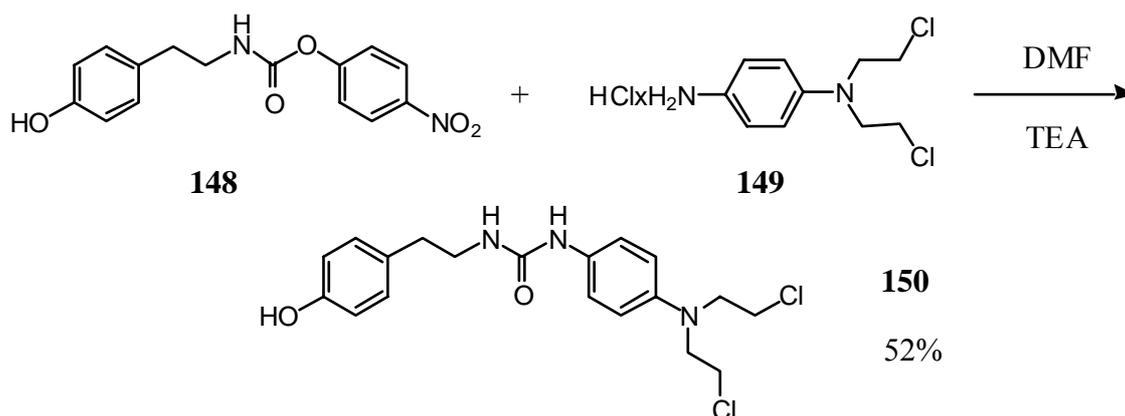


Schéma I-49

Nous avons conclu de cela que le carbonate activé de la moutarde n'était pas adapté au couplage avec l'amine **115**. Par conséquent nous avons opté pour l'activation de l'amine sous forme d'isocyanate qui réagirait directement sur le phénol créé extemporanément. Les premiers essais effectués dans cette voie consistaient à former l'isocyanate **151** par action du phosgène puis à le piéger par le méthanol pour s'assurer au premier chef que cet isocyanate se formait bien et réagissait convenablement (Schéma I-50).

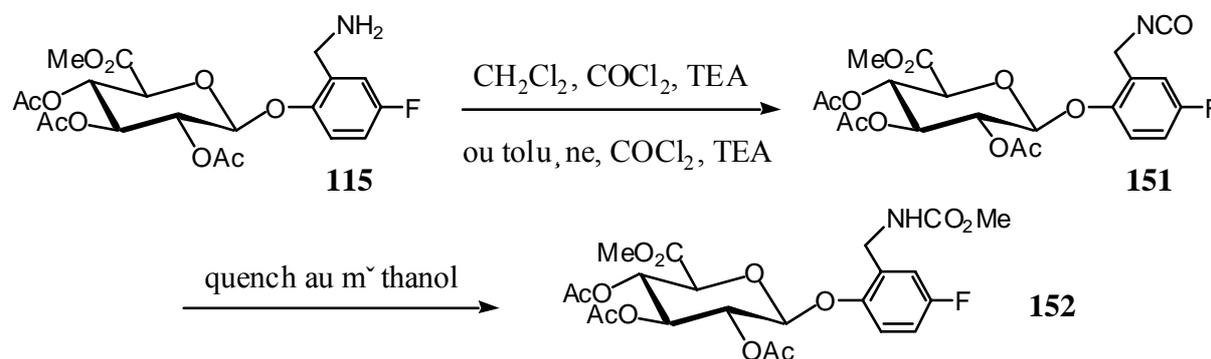
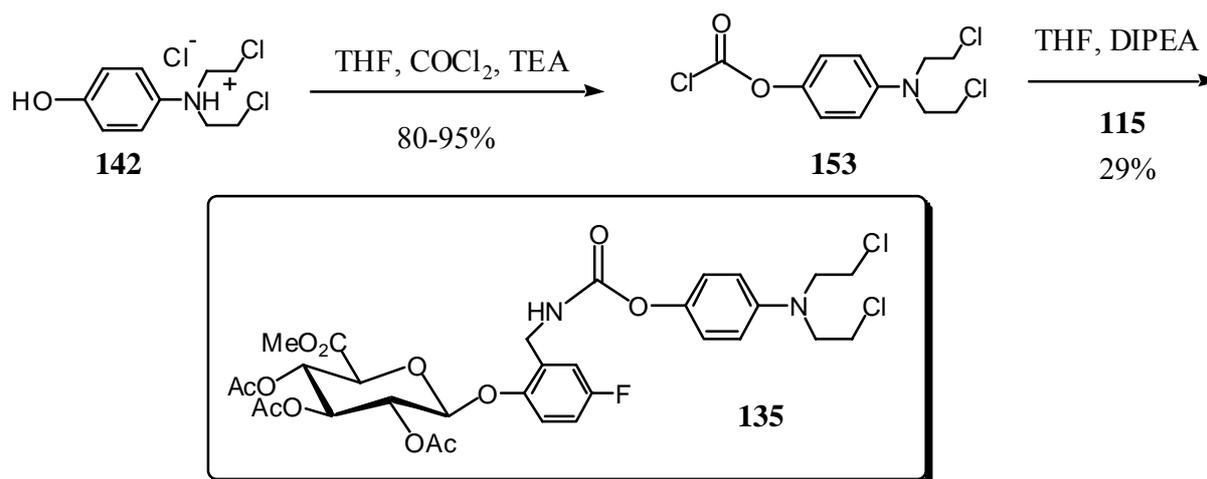


Schéma I-50

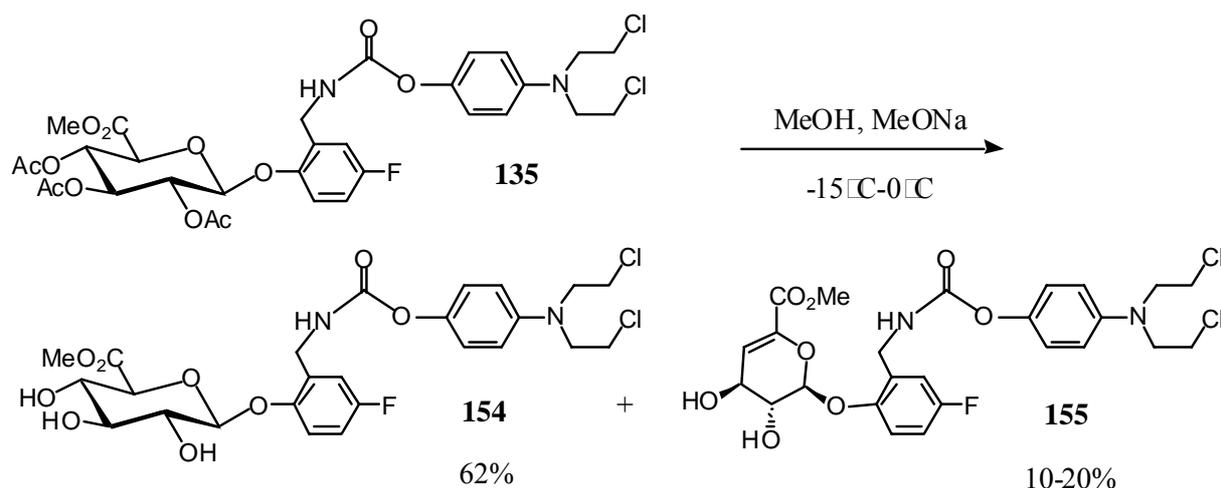
Il s'est avéré impossible d'isoler le carbamate **152** attendu ; par contre l'urée **147** a une nouvelle fois été identifiée comme produit de la réaction. Face à de telles difficultés, notre cartouche ultime a dû être employée : il s'agit de préparer le chloroformiate de la moutarde pour le coupler sur l'amine. Ce chloroformiate¹⁶⁹ est instable, d'où les précautions manipulatoires contraignantes, et de fait les rendements sont rarement bons lorsqu'il est utilisé. Toutefois, heureusement, cette méthode a enfin permis le couplage tant désiré, avec un rendement certes modeste (Schéma I-51).



Il reste maintenant à déprotéger l'acide glucuronique pour accéder à la prodrogue désirée **136**.

3) Déprotections

La première déprotection au méthanolate de sodium est classique ; les rendements sont rarement excellents en série glucuronate, alors qu'ils sont quantitatifs en série glucose, mannose etc..., et il y a toujours formation du produit d'élimination **155** (Schéma I-52).



La dernière étape de cette synthèse est l'hydrolyse de l'ester méthylique. Les réactions de saponification par la soude ou par $\text{Ba}(\text{OH})_2$ sont usuellement employées dans ce genre de situation. Le composé **154** a donc été dissous dans l'acétone, refroidi à -15°C par un bain

acétone-glace puis additionné d'une solution molaire de soude. La première CCM effectuée au bout d'un quart d'heure a vite révélé que le produit avait été dégradé ; les produits d'hydrolyse du carbamate ont en effet été isolés après traitement (Schéma I-53).

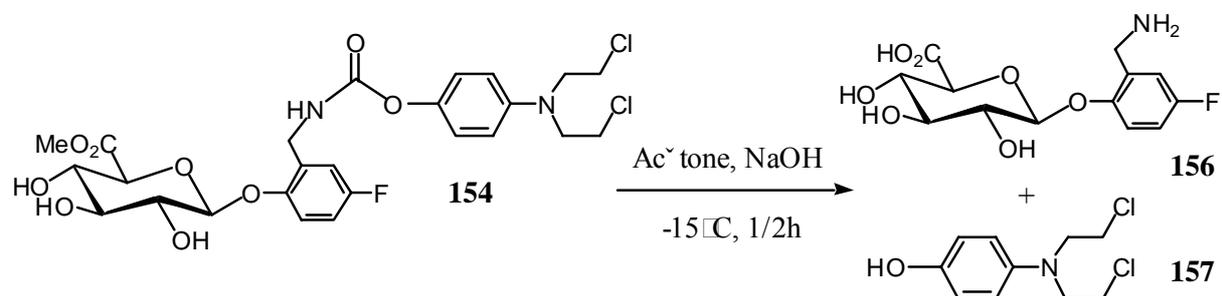


Schéma I-53

Ceci s'explique par la déprotonation du carbamate secondaire puis passage par l'isocyanate et hydrolyse avec relargage de la partie moutarde **157** et de la partie aminée **156** (Schéma I-54).

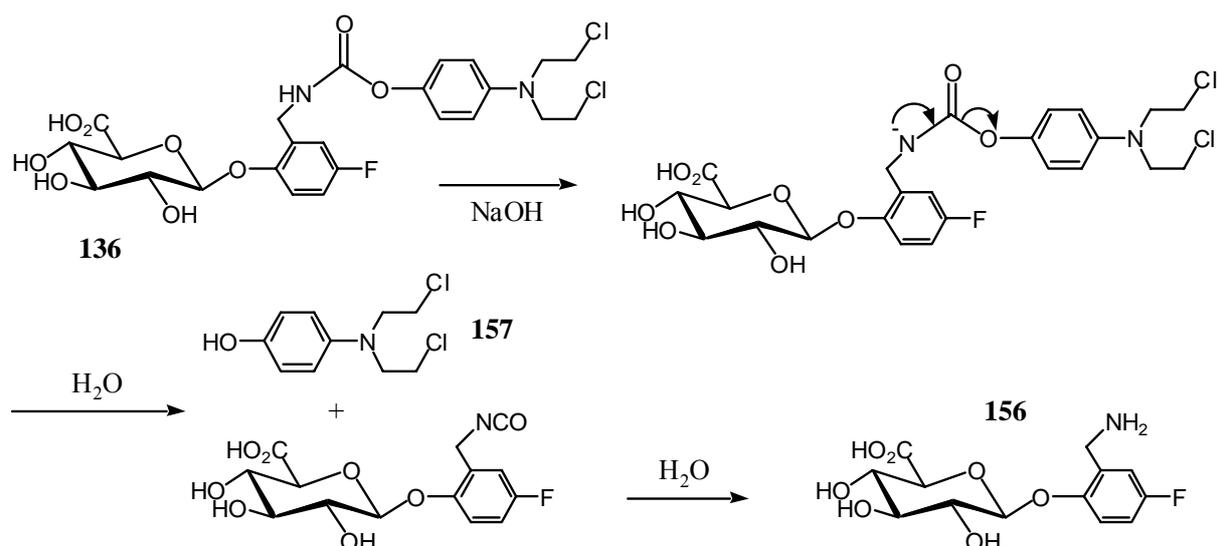


Schéma I-54

Une méthode très douce mais parfois délicate à mettre au point, en particulier sur des quantités importantes, est d'utiliser une hydrolyse enzymatique. Un premier essai a été fait dans ce sens sur une petite quantité de produit **154** avec de la PLE (Pig Liver Esterase) ; cela n'a malheureusement pas apporté grand chose, le produit de départ n'étant aucunement consommé dans les conditions utilisées (acétone, tampon phosphate à pH 8, 37°C , 5 jours).

Ces échecs, conjugués au manque de temps, ne nous ont pas permis d'aller jusqu'au bout de la synthèse et de la caractérisation de la prodrogue **136**. On peut cependant penser que la

mise au point de l'hydrolyse enzymatique permettrait d'obtenir la prodrogue cible ; il est également possible de synthétiser un carbamate tertiaire, qui éviterait les problèmes lors de la saponification, par exemple en monométhylant l'amine **115**.

CHAPITRE II

INTRODUCTION

L'axe central du travail de synthèse porte sur l'accroissement de l'efficacité des stratégies ADEPT et PMT par la conception et la synthèse de nouveaux espaceurs. Ces derniers ont pour objectifs de diminuer la toxicité des prodrogues correspondantes et d'améliorer la cinétique de libération des composés antitumoraux par suite de l'hydrolyse enzymatique et de l'auto-immolation.

Le but poursuivi consiste à obtenir des prodrogues du paclitaxel et de son analogue hémisynthétique le docetaxel stables dans le plasma, mais facilement hydrolysables *in vivo* aux concentrations de β -glucuronidase accessibles dans une des deux stratégies ci-dessus.

Une prodrogue **158** avec espaceur cyclisant a déjà été obtenue précédemment au laboratoire et caractérisée *in vitro*.¹⁷² L'accrochage de l'espaceur en position 2' (Figure II-1) avait permis d'avoir une prodrogue qui libérait bien le paclitaxel, mais à des concentrations d'enzyme, en l'occurrence la β -glucuronidase, trop élevées (190 U/mL) par rapport à ce que l'on peut trouver *in vivo* dans le cadre de la PMT ou de l'ADEPT.

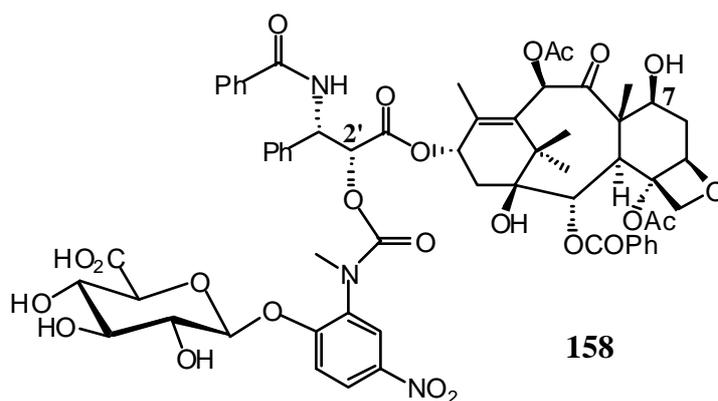


Figure II-1

Comme la structure cristalline de la β -glucuronidase humaine est décrite,¹⁷³ des études de modélisation moléculaire d'interaction de la prodrogue avec le site actif de l'enzyme ont été entreprises. Des résultats préliminaires permettent de se faire une idée sur la géométrie de la prodrogue à l'intérieur du site actif. Ainsi le problème précédent serait dû à des difficultés d'approche entre prodrogue et enzyme.

En accord avec ces calculs, deux possibilités sont envisageables pour permettre une meilleure pénétration dans le site actif de l'enzyme et par la suite améliorer la cinétique enzymatique. La première consiste à fixer l'espaceur utilisé pour **158** sur l'hydroxyle en 7 du paclitaxel et non plus en 2' comme précédemment (cf. Figure **II-1**) ; ceci sera l'objet du chapitre III. Pour la deuxième possibilité, il s'agit de changer d'espaceur et ce sera la thématique développée dans ce chapitre avec en point de mire des prodrogues du paclitaxel **1** et du docetaxel **2**. Ainsi, au début de notre projet de préparer une prodrogue glucuronide du paclitaxel avec une meilleure cinétique enzymatique, notre attention s'est dirigée sur un espaceur capable d'éloigner la partie glucuronique de l'encombrant squelette taxane.

I) Choix de l'espaceur

Au chapitre I les espaceurs à fermeture de cycle ont été présentés. Il existe également un deuxième type d'espaceurs dits à cascade électronique qui sont historiquement les premiers apparus. Enfin, il est tout à fait possible, ce qui se trouve justifié par l'amélioration des cinétiques pour un même agent anticancéreux,¹⁷⁴ d'employer des enchaînements d'espaceurs de même type ou de types différents ou des espaceurs mixtes comportant juxtaposés espaceur(s) à fermeture de cycle et espaceur(s) à cascade électronique.

1) Espaceur à cascade électronique

L'emploi d'un espaceur donnant lieu à une élimination 1,6 a été proposé la première fois par Katzenellenbogen¹⁷⁵ sur un modèle de prodrogue de *para*-nitroaniline **159** (Schéma **II-1**). Ce type d'espaceur a connu par la suite des emplois très diversifiés et demeure le plus utilisé dans cette approche.

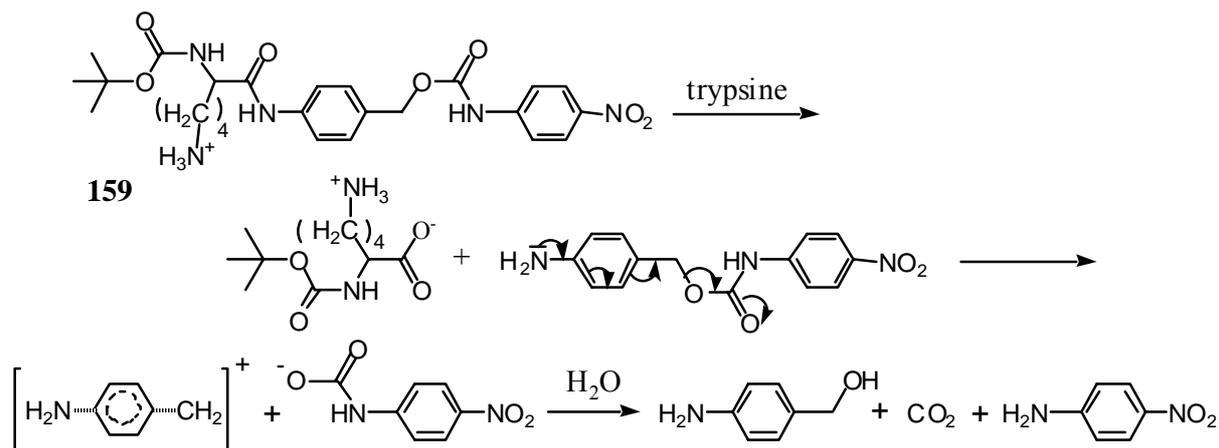


Schéma II-1

Les processus d'élimination 1,4 ou 1,6 sont déclenchés par le démasquage d'un groupement amino ou hydroxyle présent dans la molécule. Ces groupements peuvent être masqués de manières fort diverses (Schéma II-2).

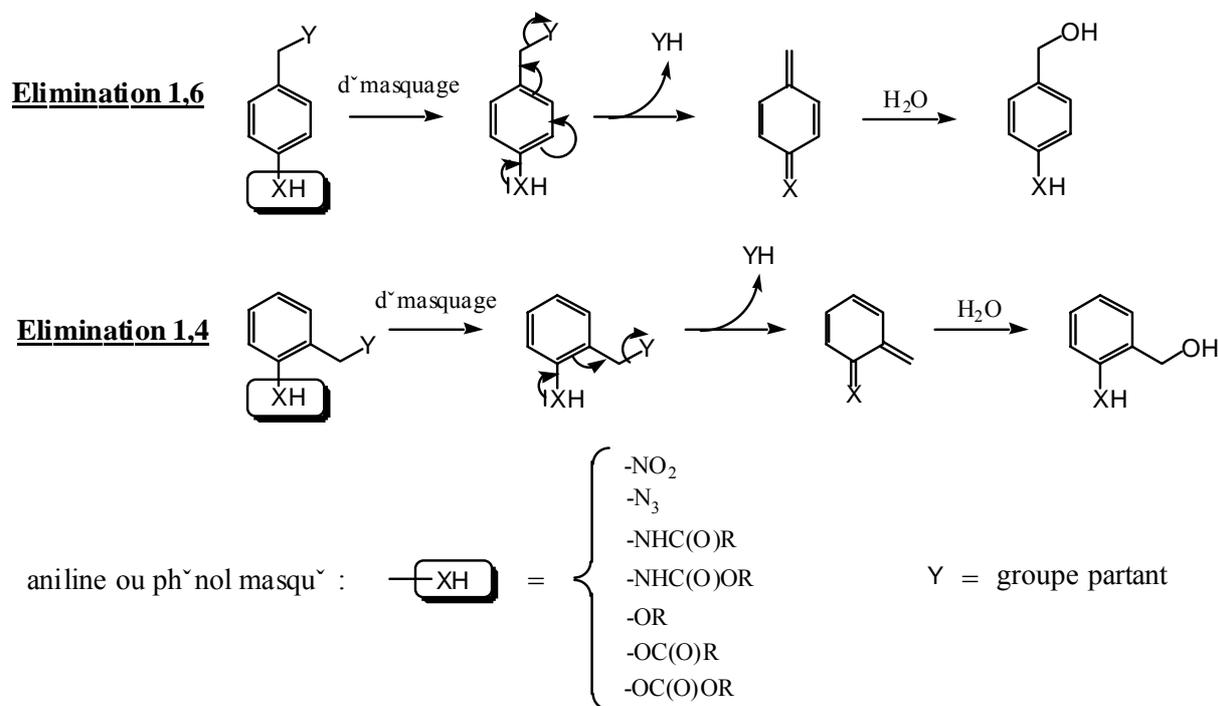


Schéma II-2

Sur des prodrogues glucuronylées de la doxorubicine, les espaceurs à élimination 1,6 se sont montrés plus performants que leurs isomères 1,4.¹⁰⁰ Ce même constat est fait par Leenders sur des prodrogues de la daunorubicine.¹⁷⁶ Il faut noter que le remplacement du noyau phényle de l'espaceur par un noyau naphthalène ou biphenyle, qui conduirait à des cascades d'élimination 1,8 et 1,10 respectivement, s'est révélé inefficace sur des modèles de prodrogues de benzylamine et *para*-hydroxyméthylaniline.¹⁷⁴

2) Cascade d'espaceurs

Plus récemment, des prodrogues comportant plusieurs espaceurs enchaînés ont été conçues. Ces espaceurs peuvent être indifféremment à cascade électronique ou à cyclisation.

Le premier exemple de conception d'une telle prodrogue a consisté à lier à un résidu acide glucuronique un espaceur 1,6 puis un espaceur à cyclisation à une moutarde à l'azote.¹⁷⁷ Quoique la stabilité de la prodrogue **160** fut moyenne (décomposition de la partie moutarde notamment) dans un tampon phosphate (65% après 90 mn.), l'hydrolyse enzymatique a bien lieu et *in fine* la moutarde est libérée. On remarquera que si la partie espaceur se résume à la chaîne diamine, la prodrogue obtenue **161** est non seulement moins stable (50% après 90 mn.), mais surtout il n'y a pas d'hydrolyse enzymatique (Schéma II-3).

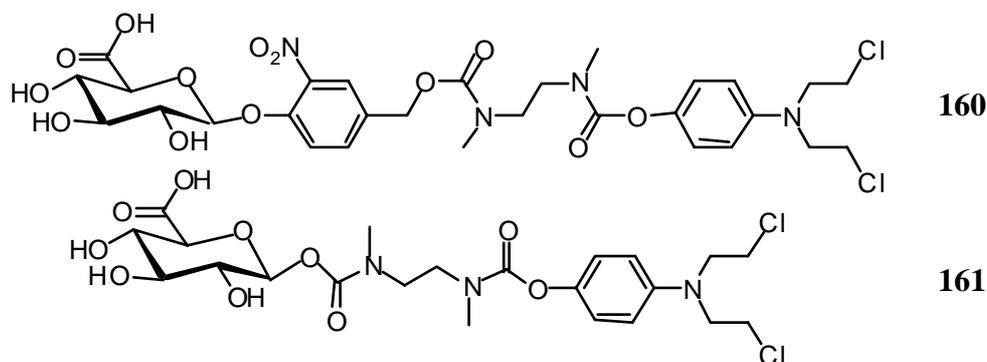


Schéma II-3

Plus récemment, le groupe de Scheeren a appliqué cette stratégie à des prodrogues du paclitaxel et de la doxorubicine activées par la plasmine protéase (Schéma II-4).⁶⁰

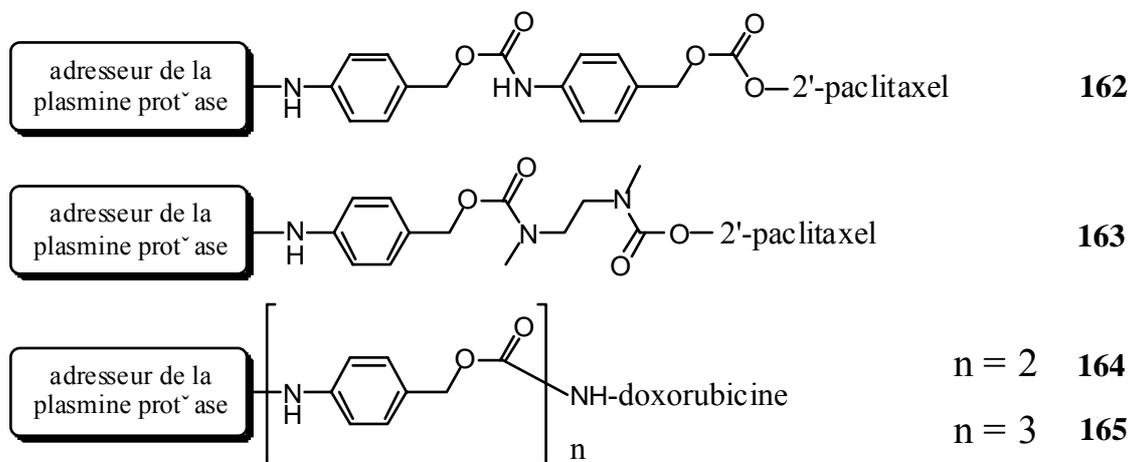


Schéma II-4

Ces quatre prodrogues se sont révélées très stables (pas de dégradation au bout de 3 jours) et surtout possèdent des cinétiques d'hydrolyse enzymatique supérieures aux prodrogues ne contenant qu'une unité dans leur espaceur. Ici encore, la combinaison des deux types d'espaceurs s'avère très fructueuse, en particulier pour des composés liés par une fonction hydroxyles tel que **163**.

3) Espaceur choisi

Dans le cadre défini de l'utilisation des prodrogues, nous avons envisagé en particulier des aromatiques où l'acide glucuronique est en *para* par rapport au point d'ancrage du paclitaxel. Une autre solution pour améliorer les cinétiques serait d'allonger la distance entre l'acide glucuronique et l'aromatique ou entre le paclitaxel et l'aromatique en intercalant par exemple une chaîne aliphatique susceptible de se libérer spontanément. L'avantage supplémentaire de cet espaceur est la flexibilité qu'apporte cette chaîne aliphatique.

Nous avons décidé d'employer un espaceur double de structure suivante : un acide glucuronique rattaché par un lien carbamate à un 4-hydroxy-3-nitro-benzylalcool (élimination 1,6) réuni à une chaîne *N,N'*-diméthyléthylènediamine elle-même reliée au composé antitumoral. L'hydrolyse de la prodrogue se déroulerait donc comme décrit au Schéma II-5.

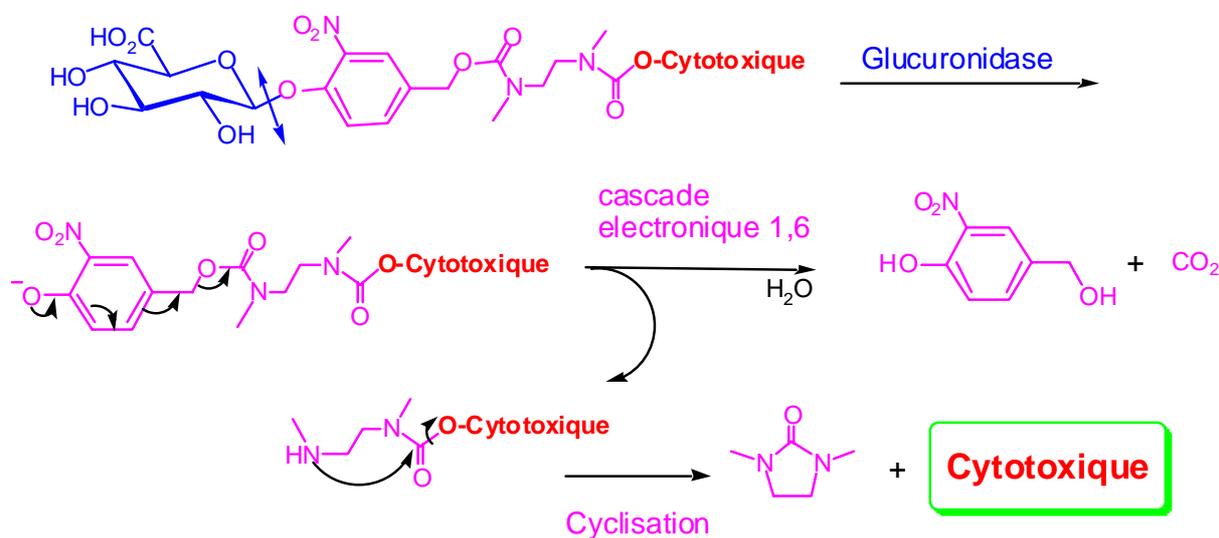


Schéma II-5

La position 2' du paclitaxel et du docetaxel a été sélectionnée car il est connu que sa modification conduit à une baisse sensible d'activité de ces composés.^{26, 178} De plus cette position est plus réactive que les autres hydroxyles libres présents.¹⁷⁹

II) Considérations sur les groupements protecteurs de l'acide glucuronique

Il y a plusieurs points d'importance à souligner avant d'entrer dans le vif du sujet. Tout d'abord, on remarquera que la liaison entre l'acide glucuronique et le phénol doit impérativement être de configuration β pour pouvoir être reconnue et hydrolysée par la β -D-glucuronidase.

Le deuxième point d'importance, qui a fait surgir le plus de difficultés, est l'introduction sur le sucre des groupements protecteurs dont les méthodes de déprotection sont compatibles avec les squelettes fragiles du paclitaxel et du docetaxel. En effet, la structure de ces deux molécules est sensible aussi bien aux milieux basiques (saponification des esters, rétroaldolisation en 7,9) qu'aux milieux acides (nombreux réarrangements de carbocations, ouverture de l'oxétane).^{18, 180}

Pour circonvier ces problèmes, des groupements TBS sur les hydroxyles et un ester benzylique ont été choisis comme groupements protecteurs. De fait, ce choix a montré sa compatibilité et son efficacité dans la synthèse de la prodrogue **158**.¹⁷² Deux voies pour y parvenir apparaissent dans cette optique.

Il est envisageable d'introduire ces groupes sur l'acide glucuronique avant le couplage glycosidique avec le phénol ; cependant, à l'inverse des acétates, les groupements TBS ne sont pas participants, et la réaction de glucurylation du phénol risque de conduire aux anomères α et β . Ce mélange devra absolument pouvoir être séparé, ce qui n'est pas acquis, sans quoi cette approche serait abandonnée.

La deuxième voie consiste à partir de l'intermédiaire connu **166**, de configuration β bien établie, puis de changer les groupes protecteurs (Schéma II-6).

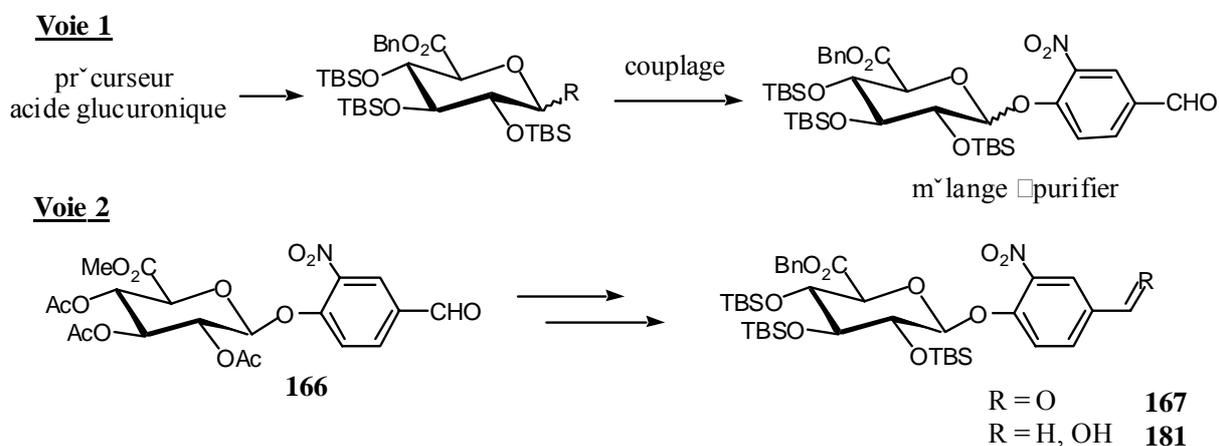
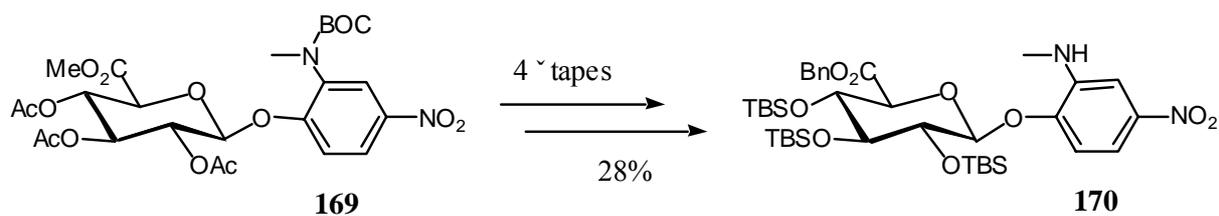


Schéma II-6

La voie 2 a déjà été empruntée mais à partir d'un composé possédant une aglycone différente (Schéma II-7) dont le chapitre III traite plus en détails.



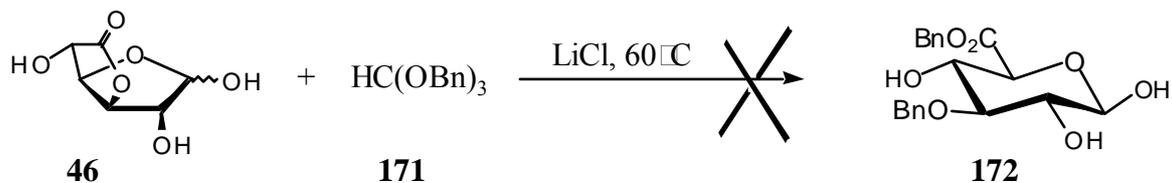
Pour tester la faisabilité et l'efficacité de l'approche synthétique de la voie 1, des expériences préliminaires ont été entreprises.

1) Ester benzylique

Le groupement acide de l'acide glucuronique est le principal point d'achoppement dans la manipulation de ces composés. Ainsi dans la littérature, les dérivés dont l'acide est libre et les hydroxyles protégés sont rarement chromatographiés alors que du moment que l'acide est bloqué les purifications sont grandement facilitées.

De plus, dans l'optique de la voie 1, il est possible de coupler un sucre acétylé **ester de benzyle** pour n'obtenir que l'anomère β , ce qui ferait déjà un changement de groupe protecteur en moins.

Notre premier essai se fonde sur une publication décrivant l'ouverture de lactone par des orthoesters.¹⁸¹ Nous avons donc pensé ouvrir la glucurono-3,6-lactone de la sorte en employant un formiate de benzyle¹⁸² pour conduire au composé **172** (Schéma II-8). Dans ces conditions la lactone ne s'ouvre pas ; de fait, il n'y a pas de procédure décrivant l'ouverture de cette lactone par un alcoolate supérieur au méthanolate.



L'estérification de l'acide **galacturonique 173** par l'alcool benzylique est décrite,^{183, 184} avec benzylation concomitante de la position anomérique (Schéma II-9).

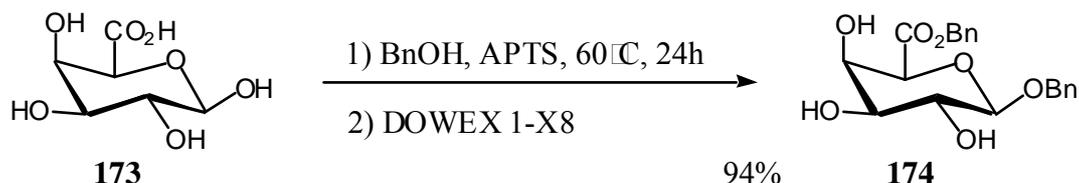


Schéma II-9

Nous avons donc transposé cette réaction à l'acide glucuronique **175**. Cependant dans notre cas, la quantité de résine voulue étant trop importante nous avons dû basifier le milieu à la soude. Or ceci n'est pas la meilleure des choses à faire puisque les risques de saponification de l'ester sont non négligeables. Quoiqu'il en soit, après chromatographie, le composé obtenu n'a pas pu être correctement caractérisé. Ce dernier produit a donc ensuite été acétylé dans les conditions classiques et la lactone **176** a pu être isolée et caractérisée (anomère β très majoritaire > 90%) (Schéma II-10).

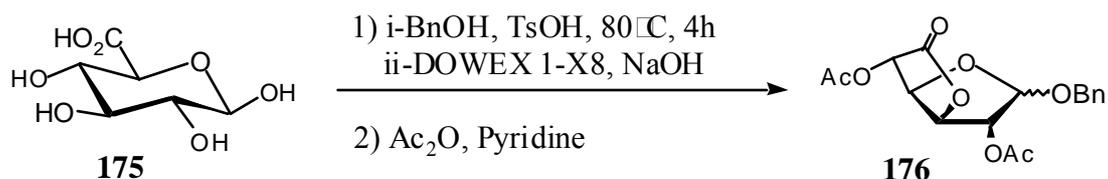


Schéma II-10

La formation de ce produit confirme que la première étape mène à l'acide uronique benzylé en position anomérique. La structure supposée du produit intermédiaire n'est pas facilement établie. En effet, pour obtenir **176** par acétylation il faut partir de la lactone déjà formée puisque ces conditions ne permettent pas la refermeture de l'acide libre sur l'hydroxyle 3.

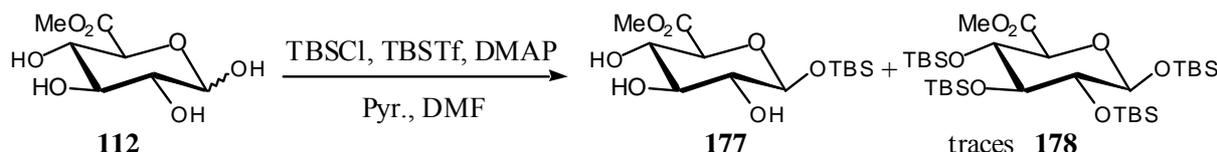
L'anomère α de **176** est bien décrit dans la littérature,¹⁸⁴ ainsi que certains analogues,¹⁸⁵ mais à partir de la glucurono-3,6-lactone. Dans le cas de **176**, on part de l'acide glucuronique ; il faut donc que d'une manière ou d'une autre le bicyclic lactonique puisse se former et nous n'avons pas d'explication précise pour cela.

Ces tentatives peu encourageantes nous ont incités à abandonner l'idée d'introduire tôt dans la synthèse un ester benzylique sur l'acide glucuronique. Il reste néanmoins les seconds groupes protecteurs auxquels nous pouvons nous intéresser, les éthers de silyles.

2) Ethers de silyles

Au vu des difficultés précédentes, une seule tentative de silylation d'un dérivé glucuronique non protégé a été envisagée.

Au départ de **112**, nous avons donc utilisé une procédure de silylation classique pour obtenir le composé persilylé **178**. Seul un produit de mono-silylation de type **177** a pu être clairement identifié par masse (Schéma II-11).

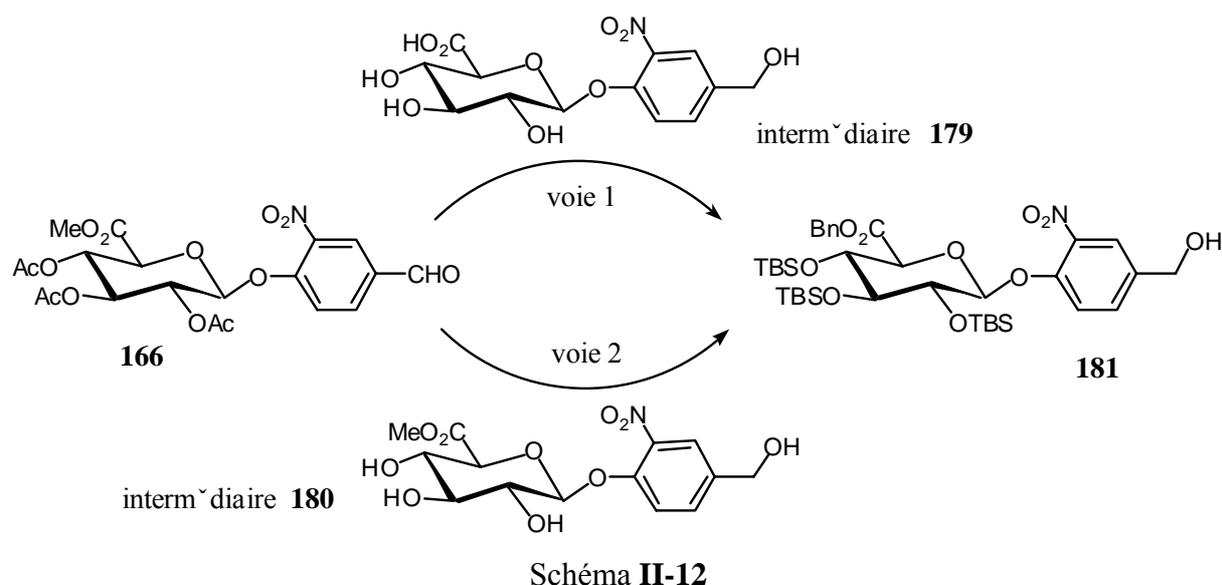


Étant donné le peu de réussite de ces tentatives et les moyens à mettre en œuvre pour éventuellement trouver une stratégie adéquate d'introduction précoce des groupements protecteurs définis comme compatibles avec notre chemin synthétique, notre travail s'est résolument orienté vers la voie 2 définie ci-dessus.

III) Synthèse de l'intermédiaire avancé 181

Cette partie va s'attacher à la synthèse du composé **181** à partir de **166**. Comme dit précédemment, tout le jeu consiste à changer les groupements protecteurs de la partie glucuronique.

Deux chemins différents ont été suivis pour cela (Schéma II-12). Le premier consiste à hydrolyser en une seule étape les groupements acétyles et ester méthylique à remplacer ; le second a recours à une déprotection séquentielle de ces mêmes groupes.



1) Préparation de l'intermédiaire 168

Le couplage entre le bromo et le 4-hydroxy-3-nitrobenzaldéhyde a été décrit par le laboratoire,¹⁰⁰ et son exécution n'a posé aucun problème (rendement de 89% après cristallisation) (Schéma II-13).

Un premier essai dans la voie 1, en l'occurrence une saponification à la soude de **166** dans l'acétone à froid, a conduit à une dégradation du produit. Nous avons pensé que ce problème provenait de l'aldéhyde aromatique activé susceptible de subir une réaction de Cannizzaro dans ces conditions.

C'est pourquoi cet aldéhyde a d'abord été réduit au borohydrure pour fournir le composé cible **168** (Schéma II-13).

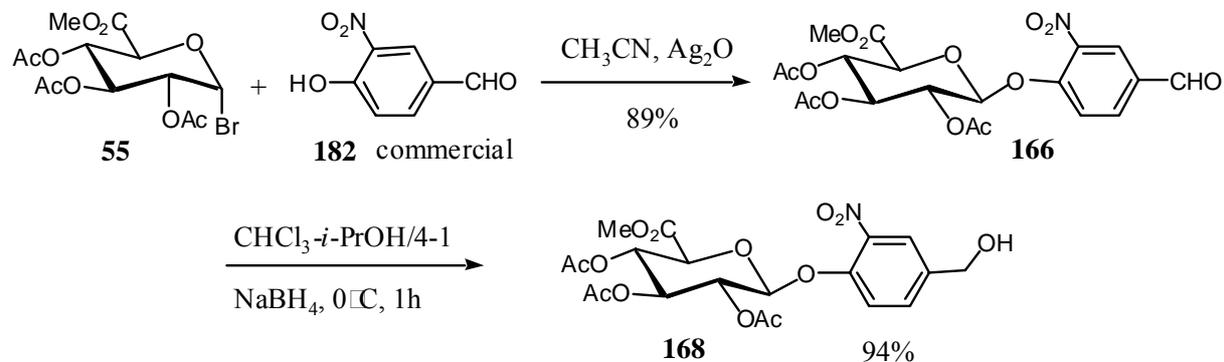


Schéma II-13

2) Essais sur 168

Quelques tentatives préliminaires ont été effectuées sur l'alcool **168** pour fournir des renseignements utiles dans la suite de la synthèse par déprotection séquentielle.

Ainsi, un essai de transestérification par l'alcool benzylique en milieu basique a été effectué. La première tentative a bien conduit à l'ester benzylique, certes en faible rendement, mais paradoxalement les acétates n'ont pas été hydrolysés (Schéma II-14). De plus une seconde expérimentation, dans les mêmes conditions opératoires à 10°C près et une plus grande quantité d'hydrure de sodium, a fourni le très inattendu composé **184** (Schéma II-14).

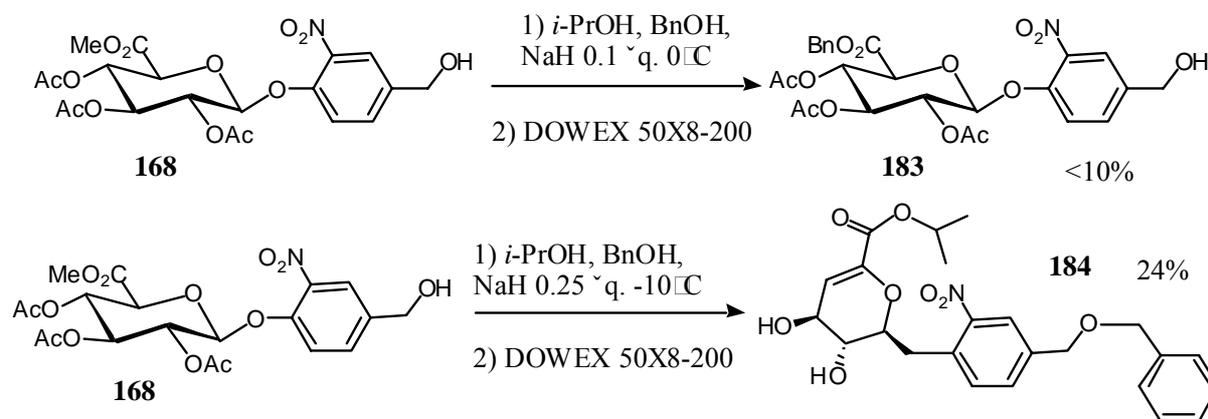


Schéma II-14

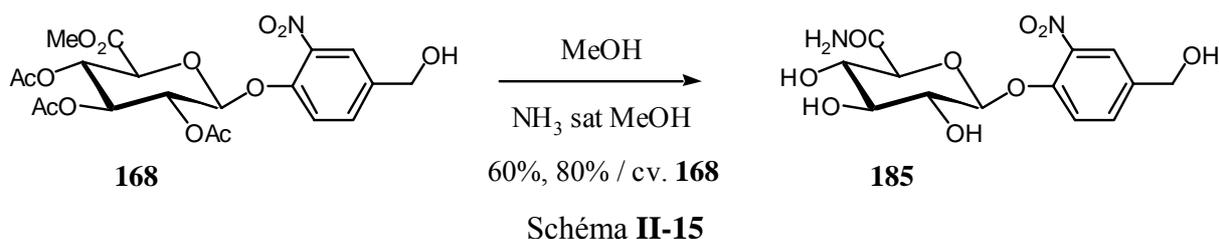
Outre la plus grande quantité catalytique de NaH qui pourrait expliquer la désacétylation, l'estérification par l'*iso*-propanol est vraiment singulière. L'éthérification de la position benzylique par l'alcool benzylique est également à première vue très surprenante (et peut-être due à l'emploi de résine neuve pour la neutralisation). En tout cas, ceci indique que le carbocation benzylique du nitro aromatique se forme assez aisément, validant par là-même sa réactivité appropriée d'espaceur donnant lieu à une élimination 1,6. On peut d'ailleurs remarquer que les spectres de masse de **184** montrent les pics correspondant à la perte d'un benzyle par notre molécule (cf. Partie Expérimentale).

Du fait des pertes de rendements liées à la formation des produits d'élimination 4,5 notamment lors de l'hydrolyse des acétates, une méthode plus douce de désacétylation sélective a été recherchée.

De plus, puisque la transestérification de **168** semblait fonctionner, il fallait ensuite trouver un moyen pour hydrolyser les acétates et les remplacer ensuite par les groupements

silyles. Or la méthode classique au méthanolate de sodium n'est pas applicable sur **183** puisque cela aurait re-transestérifié pour donner l'ester méthylique.

La seule méthode disponible pour réaliser ce projet était l'utilisation de méthanol ammoniacal. Ainsi le composé **168** a été mis en suspension dans le méthanol puis additionné d'un peu de solution méthanolique saturée par l'ammoniac. Le produit ne disparaissant pas, la solution saturée a été ajoutée jusqu'à dissolution complète du produit. Après traitement, le composé désacétylé a bien été obtenu, mais l'ester a dans le même temps été transformé en amide (Schéma II-15).



Ceci a déjà été observé¹⁴⁰ sur le dérivé thioglycoside **95** (voir Ch I IV.1.c). La tactique consistant à changer l'ester avant les acétates, ou du moins en conservant ces derniers, ne s'avère donc pas viable. Avec ces informations dans nos mains, la synthèse du composé cible de cette partie III a été entreprise par la voie de déprotection unique.

3) Accès à 181 par déprotection unique

Cette approche repose sur la possibilité de déprotéger sélectivement un silyle primaire par rapport à des silyles secondaires de même genre. La littérature très fournie à ce sujet procure un grand nombre de procédures qui seront discutées en détails au paragraphe b.1. ci-dessous.

a) Préparation de l'intermédiaire **186**

Ici, en nous appuyant sur un espaceur d'une prodrogue du paclitaxel décrite précédemment,¹⁷² les groupements Ac et Me sont enlevés en même temps.

Dans ce dessein, de la soude 1M est ajoutée à une solution refroidie à 0°C de **168** dans l'acétone. La réaction est quasi instantanée et la purification du composé très polaire obtenu assez mal aisée. En effet, il faut effectuer une colonne avec l'éluant CH₃CN-H₂O/8-2 et

essayer ensuite d'éliminer le maximum de silice, dissoute par cet éluant, en filtrant le produit repris dans MeOH bouillant.

Les hydroxyles sont alors silylés puis le brut comportant l'acide libre estérifié avec l'alcool benzylique par la méthode au DCC. Il n'y a pas de purification intermédiaire car des problèmes de dégradation d'un dérivé glucuronique silylé sur les hydroxyles mais avec l'acide libre ont été observés.¹⁷²

Au cours des différentes manipulations effectuées, il n'a jamais été possible d'obtenir une silylation complète, comme décrit sur un autre dérivé de l'acide glucuronique,¹⁸⁶ au moyen du TBSCl. Lorsque ce réactif était utilisé, il a toujours fallu compléter la silylation par le TBSTf. Il faut également noter qu'une nouvelle silylation était nécessaire après estérification pour augmenter sensiblement le rendement, ce dernier restant désespérément médiocre puisque de 7% en trois étapes à partir de **168** (Schéma II-16). De plus si la réaction de silylation est trop prolongée, le produit d'élimination d'une molécule de *tert*-butyldiméthylsilanol **187** peut être observé (Schéma II-16).

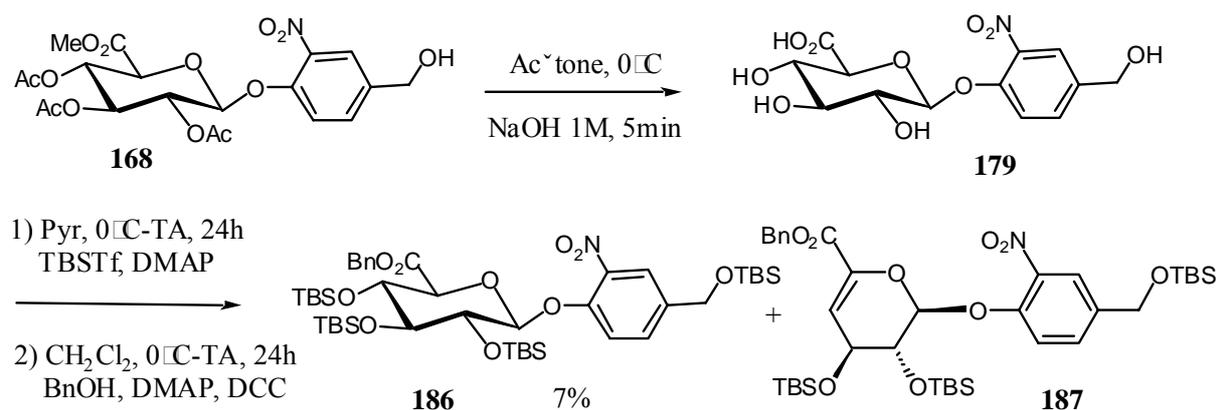


Schéma II-16

L'étape suivante consiste à déprotéger sélectivement le silyle primaire de **186** en position benzylique sans toucher aux silyles secondaires sur la partie osidique.

b) Désilylation sélective

Après quelques rappels bibliographiques sur les différentes manières de déprotéger un TBS primaire en présence de TBS secondaire, les réactions appliquées à **186** seront présentées.

1- Bibliographie

L'éther de *tert*-butyldiméthylsilyle est devenu l'un des groupements protecteurs les plus populaires en chimie organique. Il est facilement introduit par un grand nombre de réactifs, possède la propriété d'être stable à un grand nombre de réactions et est facilement hydrolysé par des conditions ne touchant pas d'autres groupes fonctionnels. Relativement stable en milieu basique, il est assez sensible aux milieux acides. Les facilités d'introduction et d'enlèvement de ces éthers sont largement influencées par les contraintes stériques (Protective Groups p127).

Les méthodes les plus développées pour enlever sélectivement un TBS primaire en présence d'un TBS secondaire se déroulent en milieu acide.¹⁸⁷ Des conditions basiques sont parfois employées, mais leur utilité sera limitée dans notre cas vu la sensibilité du motif glucuronique aux bases. Des conditions douces et diverses sont également rapportées. Quelques exemples tirés parmi pléthore sont regroupés dans le Tableau **II-1** ci-dessous.

Composés	Réactifs	Réf.
<u>Milieu acide</u>		
Nucléoside	HCl 1M EtOH TBAF non sélectif	188
Adénosine TBS 2 ^{aire} sur un pyrane	TFA aqueux	189 190
Aliphatique	AcOH 70% THF	191
Sucres δ et γ lactones, galactose et mannose	BCl ₃ , THF	192
Autres possibilités : TsOH cat., ¹⁹³ CSA substoechio., ¹⁹⁴ amberlite acide, ¹⁹⁵ et PPTS. ¹⁹⁶		
Synthèse totale de :		
(+)-Calyculine A	HF-Pyr, Pyr, THF	197
(+)-Carbonolide B	HF, Pyr.	198
(+)-Mycotrienine I	HF-Pyr, THF	199
Avermectine A	HF, CH ₃ CN	200

Autres réactifs fluorés : HF-TEA, ²⁰¹ NH ₄ F, ²⁰² et H ₂ SiF ₆ . ²⁰³		
Milieu basique, neutre ou conditions nucléophiles		
Alicyclique	KOH 10% MeOH	204
TBS benzylique Réaction défavorisée si groupement électro-attracteur en <i>meta</i>	CeCl ₃ .7H ₂ O, CH ₃ CN	205
Sucres	CBr ₄ , MeOH, UV	206
Aliphatique	Alumine hydratée	207
Ethers benzyliques, inactif sur sucre	Oxone [®] 50% MeOH	208
Miscellanées		
β lactame	NBS, DMSO humide	209
Uridine (sélectivité cinétique)	Cyclohexène, PdO	210
Nucléotide	H ₂ , Pd/C 5%	211
Aliphatique, nucléoside	LiBr, éther couronne	212
Aliphatique, benzylique	LiCl, H ₂ O, DMF	213

Tableau II-1

L'emploi d'anions fluorure, dont l'affinité pour le silicium est connue, est une méthode très répandue de coupure des éthers de silyles. Le complexe HF-Pyridine semble une source d'ions fluorure de choix dans le projet qui nous intéresse. Toutefois ce réactif est d'un emploi moins aisé, et moins répandu, que le TBAF, notamment parce que la stœchiométrie employée ne peut pas être déterminée précisément, à l'inverse des volumes des solutions titrées de TBAF ou de la pesée de sa forme trihydrate. Ce dernier présente cependant un caractère basique assez prononcé qui l'écarte de certaines utilisations. En plus du caractère acide marqué de HF-Pyridine, la différence majeure entre ces deux réactifs communément

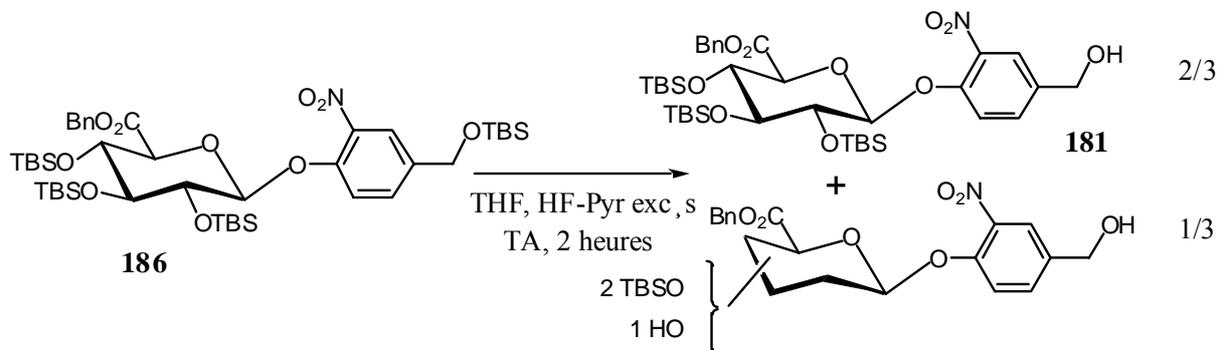
employés est que le TBAF, sous toutes ses formes, contient de l'eau alors que HF-Pyridine est une source **anhydre** d'anions fluorures.

2- Résultats

Les premiers essais ont été effectués avec un moyen permettant le contrôle de la stœchiométrie employée. Ainsi le TBAF sous forme de trihydrate solide avec une goutte d'acide acétique ou bien en solution molaire dans le THF a été utilisé (1.1 éq. de fluorure, 4h, TA dans les deux cas).

Ces expériences n'ont pas permis d'isoler le produit désiré ; il semble plutôt d'après les spectres RMN et de masse que des polydésilylations se soient produites.

Dans un second temps, le complexe HF-Pyridine a été employé. Il a permis d'obtenir le produit désiré mais également un composé ayant subi une bis-désilylation (dans le rapport 2/1) (Schéma II-17). Malheureusement aucun des éluants testés n'a permis de séparer ces deux composés ; cependant, en jouant sur la température et la durée de réaction, il devrait être possible de pouvoir récupérer très majoritairement le produit mono-désilylé.



Suites à ces difficultés, ajoutées au faible rendement d'accès à **186**, et en tenant en plus compte de l'avancement dans la voie 2, cette approche synthétique a été abandonnée.

4) Accès à 181 par déprotection séquentielle

Comme on l'a vu précédemment, le besoin d'un schéma synthétique robuste s'est fait sentir, puisque notamment la silylation de l'acide libre semble poser problème. C'est pourquoi

cette deuxième voie, assez documentée, a été entreprise.

Le plan d'action est assez simple : une désacétylation sélective est effectuée suivie d'une protection par les silyles ; puis la substitution de l'ester a lieu, suivie d'une désilylation pour conduire au composé cible **181**.

a) Désacétylation

La désacétylation au méthanolate de sodium s'avère délicate à mettre au point pour plusieurs raisons. La première est qu'elle représente typiquement le genre de réaction conduisant à des produits d'élimination (cf. composé **188**) ; la seconde réside dans des difficultés de solubilisation des réactifs, sachant de plus qu'il faut se garder spécialement de l'humidité qui fait chuter sensiblement les rendements (Schéma II-18).

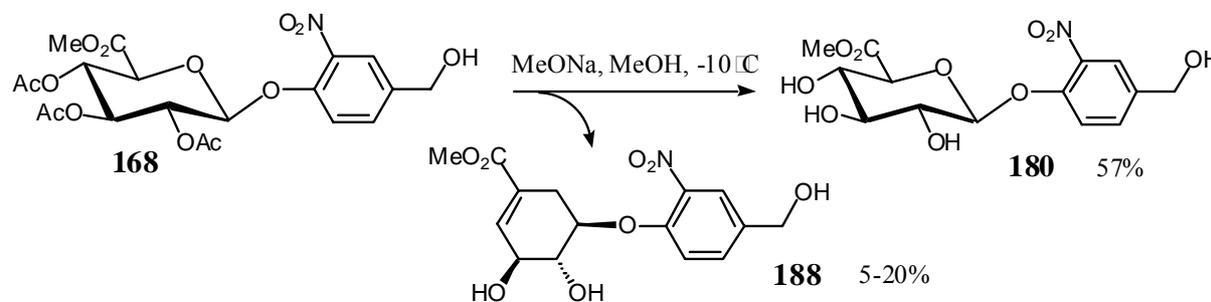


Schéma II-18

Une publication récente rapporte le fait surprenant de l'utilisation seule de méthanol conservé sur TM 3Å comme condition désacétylante.²¹⁴ Il semble en effet que le tamis moléculaire puisse engendrer du méthanolate à partir du méthanol. Ainsi l'utilisation de méthanol conservé sur ce tamis comporterait le double avantage de garder anhydre le solvant et d'éviter l'emploi de MeONa, réactif hygroscopique potentiellement vecteur d'eau.

Avec en notre possession le produit désacétylé **180**, une tentative de transestérification par l'alcool benzylique en milieu basique (NaH, *i*-PrOH) a été tentée mais a échoué, le produit ne réagissant pas dans ces conditions. Nous sommes donc passés à l'étape suivante de notre plan.

b) Groupements silyles indifférenciés

A ce stade, quand nous avons commencé à nous attacher à la silylation de **180**, les

résultats des essais de désilylation sélective sur **186** n'étaient pas effectués.

C'est pourquoi nous avons commencé par protéger tous les hydroxyles de **180** par des TBS. De même que dans le paragraphe 3.a précédent, la silylation au TBSCl n'a pu être complète ; seul le triflate s'est montré assez puissant pour silyler complètement le composé et avec un bon rendement. Le même problème de silylation partielle avec TBSCl mais complète avec TBSTf d'un dérivé de la glucunolactone a d'ailleurs été rencontré.²¹⁵ De plus, l'application du changement d'ester suivant la procédure de Tanaka¹⁸⁶ s'est révélée infructueuse (Schéma II-19).

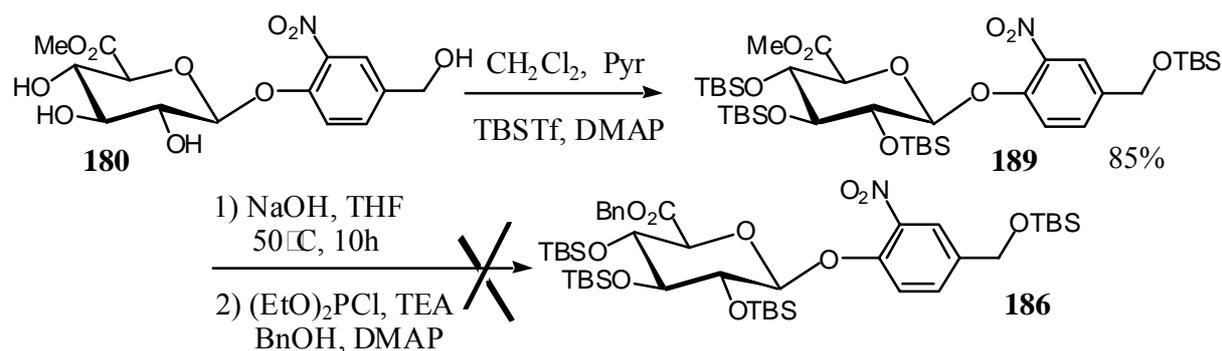


Schéma II-19

Les conclusions logiques des résultats précédents ajoutés à ceux du paragraphe 3 sont de deux ordres. Tout d'abord la séquence de déprotections par étapes apparaît comme la meilleure stratégie. Deuxièmement, la nécessité d'introduire des groupements silylés différents pour permettre une désilylation sélective aisée apparaît nettement.

c) Groupements silylés différenciés

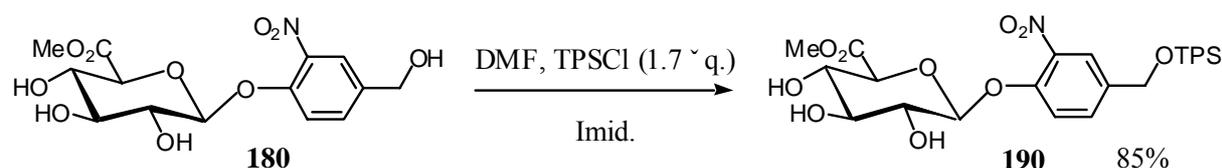
Dans le but de singulariser l'hydroxyle en position benzylique, une légère modification a été apportée au schéma réactionnel du paragraphe précédent.

Nous nous sommes en effet orientés vers l'introduction d'un groupement TPS sur cette position en gardant des TBS sur la partie glucuronique. Les raisons sous-jacentes à ce choix sont d'une part l'introduction sélective assez aisée d'un TPS sur un hydroxyle primaire en présence d'hydroxyles secondaire ; d'autre part la sélectivité bien documentée du clivage d'un TPS 1^{aire} en présence de TBS 2^{aire}.

1- Introduction du groupement TPS

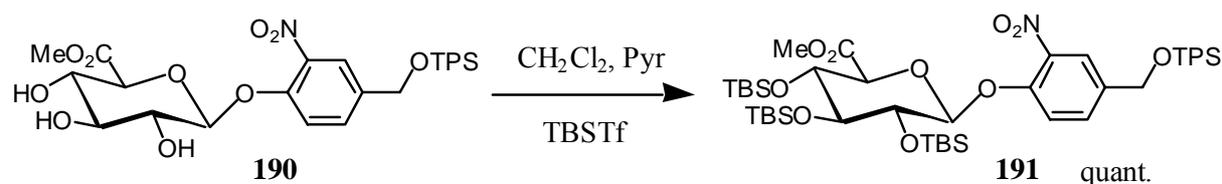
Le groupe TPS est environ 100 fois plus stable à l'hydrolyse acide que le groupe TBS, mais il se montre moins stable en présence de base. Ainsi cet éther n'est pas clivé par une solution d'acide acétique à 80% qui hydrolyse les éthers de TBS, tétrahydropyrane ou triphénylméthyle. Par contre la soude éthanolique 5M l'hydrolyse alors qu'un TBS est stable dans ces conditions (Protective Groups p142).

La première méthode utilisée pour introduire ce silyle²¹⁶ est également celle que nous avons employée avec succès sur le composé **180** (Schéma II-20). Elle demeure la méthode la plus employée à ce jour.



2- Silylation de **190**

A partir du composé **190**, la silylation dans les conditions classiques ne pose pas de problème ; plus les quantités mises en jeu sont importantes, meilleurs sont les rendements obtenus (Schéma II-21).



Ensuite, conséquence des différents échecs concernant les essais de substitution de l'ester méthylique en ester benzylique, nous avons appliqué une procédure de transestérification en conditions douces.

3-Préparation de **192** par transestérification

Lors des recherches bibliographiques concernant une méthode efficace de transestérification du substrat **191**, l'emploi d'un catalyseur au titane (notamment le titanate

d'*iso*-propyle) s'est rapidement détaché.²¹⁷ Cependant les exemples avec l'alcool benzylique sont plutôt rares ; de plus son emploi semble malaisé dans ce genre de réactions.

Une procédure efficace de transestérification d'un phénylacétate d'éthyle par l'alcool benzylique a toutefois été décrite.²¹⁸ Bien que le substrat soit peu encombré et activé, le groupement silyle TBS s'est montré stable dans les conditions employées ($\text{Ti}(\text{OEt})_4$, reflux de l'alcool transestérifiant). S'appuyant sur ces travaux, une publication plus récente décrit la transestérification par le 2-chloroéthanol d'un glucuronate de méthyle, silylé par des TBS.²¹⁹

Pour notre part, nous avons appliqué le mode opératoire de cette réaction au substrat **191**. Lors du premier essai, il a été observé que les deux esters **191** et **192** avaient le même R_f dans l'éluant utilisé ; cependant après 20h, l'ester benzylique a été obtenu avec 50% de rendement mais pollué par 6% d'ester méthylique (détermination RMN). Pensant qu'il s'agissait d'une question de durée, notre deuxième essai a duré 36h, et du TM 4Å a en plus été ajouté au milieu réactionnel pour déplacer l'équilibre vers la formation de l'ester benzylique ; ici l'ester **192** a été isolé pur (72%).

La meilleure technique opératoire s'est avérée l'emploi d'un montage avec un Dean-Starck contenant du TM 4Å ; ce procédé permet d'obtenir en une nuit le composé benzylé avec un rendement pratiquement quantitatif (Schéma II-22).

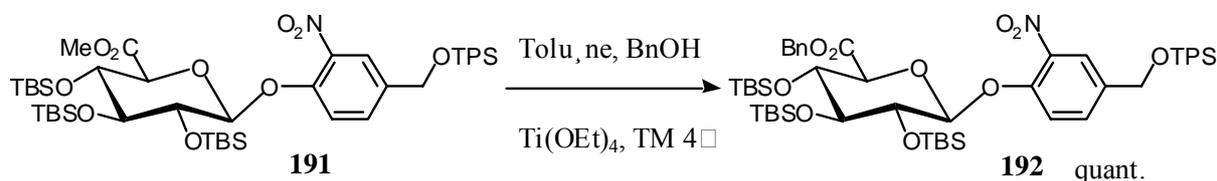


Schéma II-22

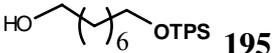
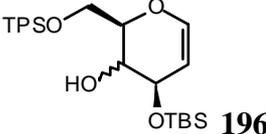
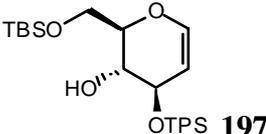
Jusqu'à **192**, les différentes étapes ont été bien optimisées et l'emploi de quantité conséquente de produits a été possible (de l'ordre de la dizaine de grammes). Le point délicat de la désilylation sélective du TPS par rapport aux TBS est maintenant arrivé, où l'on verra si notre choix s'atteste judicieux et efficace.

d) Désilylation sélective de l'intermédiaire **192**

1- Bibliographie

La littérature concernant l'hydrolyse d'un groupement TPS primaire en présence de groupements TBS secondaires est fournie, même si elle a fait l'objet de peu de données méthodologiques. Ainsi dans la revue de Nelson et Crouch,¹⁸⁷ cette partie est traitée en 15 lignes alors que la déprotection d'un TBS 1^{aire} par rapport à un TBS 2^{aire} reçoit toute leur attention.

L'emploi de TBAF est majoritaire dans les procédures relevées, mais l'utilisation du protocole de Shekhani²²⁰ ou de ses dérivés a prouvé tout son avantage. Les exemples les plus marquants ou pionniers sont recueillis dans le Tableau II-2.

Composé	Conditions opératoires	Réf.
Carbapénème	TBAF \times 3H ₂ O 1.5 éq., AcOH 5 éq., THF, 68-75%	221
Acide Pseudomonic C	TBAF, THF, 70%	222
 193	TBAF 1 éq., AcOH \leq 1 éq., THF, 98% TBAF \times H ₂ O 1 éq., AcOH \leq 1 éq., DMF, 99%  194	223
	TBAF 1 éq., AcOH \geq 4 éq., THF, 99% TBAF \times H ₂ O 1 éq., AcOH \geq 4 éq., DMF, 97%  195	
(-)-Phytocassane D	TBAF \times H ₂ O, THF, quant.	224
 196	NaH, HMPA, 0°C, 10 mn., 83-84%	225
 197		
(+)-Thiazinotrienomycine E	DMPU, NaOH, H ₂ O, 91%	226

Vitamine D ₃	NaOH 10% MeOH, reflux, 87%	227
Diol aliphatique	PPTS 0.3éq., EtOH, 1-2h, ≥95%	228
Déoxyadénosine	NH ₄ F 10éq., MeOH, 76% *	229
Calichéamicine A-B-E	TAS-F 1.2éq., DMF, 84%	230
Pentan-1,5-diol	Ce(OTf) ₄ 10%, MeOH	231

Tableau II-2

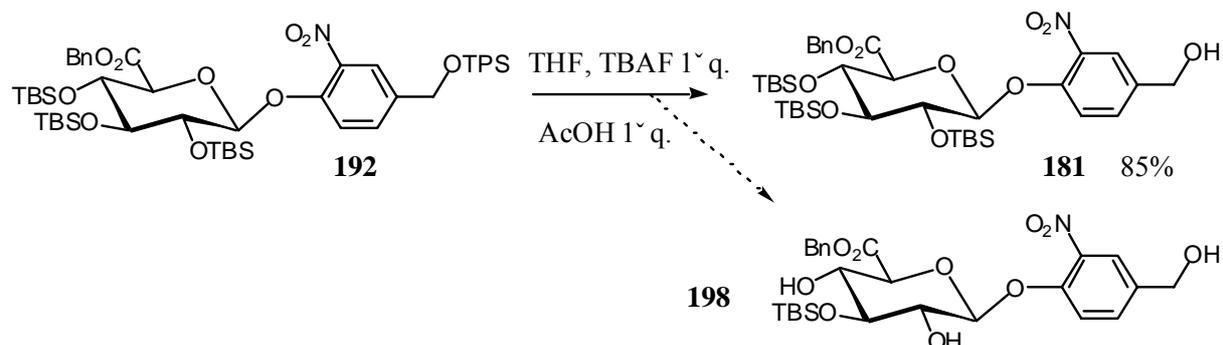
2- Résultats

Vu la certaine ressemblance, en dehors de la présence d'un hydroxyle libre, entre **192** et les glycols **196-197** utilisés comme modèle par Shekhani,^{220, 225} notre premier choix de conditions opératoires a été NaH dans le DMPU. Le DMPU a été choisi parce que le même groupe a démontré son efficacité dans l'hydrolyse de TBS ou TPS,²²⁰ et d'autre part ce réactif est beaucoup moins toxique que le HMPA connu pour être carcinogène. Nous avons suivi le protocole publié mais seul le produit de départ a été récupéré (50%).

Nous nous sommes alors penchés sur les résultats, quelque peu surprenants, publiés par Higashibayashi.²²³ Le fait que le nombre d'équivalents d'acide acétique employé renverse la sélectivité **194/195** est *a priori* insolite mais peut s'expliquer. En effet, comme rappelé dans le paragraphe c.1. ci-dessus, le groupement TPS est bien moins sensible que le TBS en milieu acide. Or, lorsque de l'acide acétique est ajouté en plus grande quantité que le TBAF, le milieu devient acide donc plus propice au clivage des TBS, CQFD.

Notre première tentative sur une petite quantité (13mg) de **192** a bien fourni le produit désiré **181**, ainsi qu'un produit plus polaire caractérisé en masse comme étant **192** ayant perdu son TPS et un groupe TBS. Sur des quantités plus importantes, le composé **198** dont les TBS en 2 et 3 du sucre ont été clivés a été isolé et caractérisé (Schéma II-23). Avec optimisation, les rendements de cette réaction ont été portés à 85% ce qui nous satisfait complètement et valide notre hypothèse de départ.

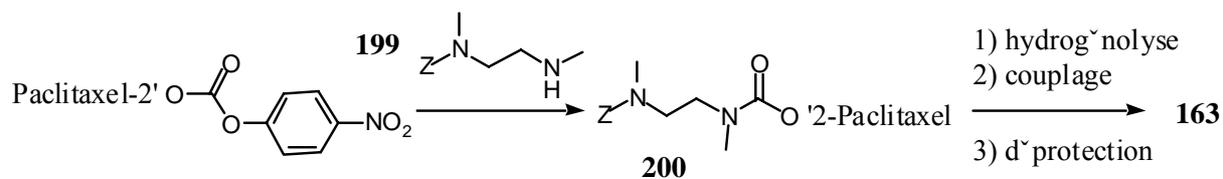
* plus 11% de produit de départ et 6% de produit bis-désilylé.



Nous avons donc atteint l'objectif de cette partie en synthétisant **181** à partir de **166** en 5 étapes et un rendement global de 47%. Une procédure très efficace de transestérification par l'alcool benzylique a été mise au point, ainsi qu'une déprotection sélective délicate d'un éther de TPS en présence d'éthers de TBS.

L'étape suivante consiste à introduire la chaîne diamine de l'espaceur puis de coupler les entités espaceurs et agent cytotoxique cible.

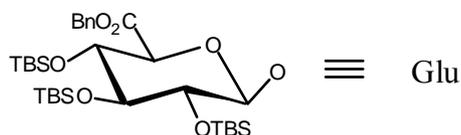
Il est parfaitement possible d'activer le paclitaxel et le docetaxel à des fins de couplage. C'est par exemple la stratégie développée par de Groot *et al.* dans la préparation de la prodrogue **163**.¹⁷⁴ Ainsi le paclitaxel sous forme de carbonate activé en position 2' est couplé à la diamine **199** (Schéma II-24). Après déprotection, le sel de l'amine est mis en réaction avec un carbonate activé pour conduire à la prodrogue voulue.



Pour des raisons d'approvisionnement en matière première, en particulier cherté du paclitaxel et délai de livraison avec notre fournisseur chinois, nous avons opté pour le couplage entre drogue et espaceur activé. La partie suivante va donc s'attacher à la préparation de l'espaceur prêt à coupler **218** qui est un chlorure de carbamoylé.

IV) Synthèse du chlorure de carbamoyle **218**

Note liminaire : dans toute cette partie IV la partie acide glucuronique sera mis sous forme abrégée Glu dans les schémas (Figure **II-2**).

Figure **II-2**

A partir de l'alcool **181**, la synthèse du composé cible de cette partie se fait en trois étapes. Il faut en premier lieu introduire la chaîne diamine, puis enlever le groupe BOC et enfin activer l'amine pour obtenir **218**.

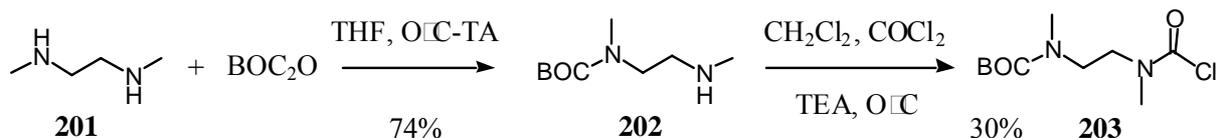
1) Introduction de la chaîne diamine

Entre l'espaceur aromatique et la chaîne aliphatique, un lien carbamate doit être installé. Ici aussi l'activation peut se faire soit du côté de l'alcool **181** soit du côté de la diamine.

Les deux approches ont été effectuées au départ de la diamine *mono*-protégée **202**.²³²

a) Par activation de l'amine

Il faut d'abord préparer la diamine activée. Ceci se fait à partir de la *N,N'*-diméthyléthylènediamine **201** commerciale en deux étapes. La *mono*-protection par un groupement BOC de **202** est décrite.²³² Ensuite nous avons utilisé des conditions classiques de chlorocarbamylation des amines avec une solution de phosgène environ 2M dans le toluène. Ainsi nous avons préparé **203** en deux étapes et un rendement global moyen de 22% (Schéma **II-25**).

Schéma **II-25**

Certes le rendement de la seconde étape n'est pas vraiment bon, mais en deux étapes à partir d'un produit commercial peu cher ceci n'est pas un grand inconvénient pour l'approvisionnement en **203**.

La carbamoylation de l'alcool benzylique peut maintenant avoir lieu. Ceci s'effectue par une catalyse avec la DMAP, en présence de TEA (Schéma II-26).

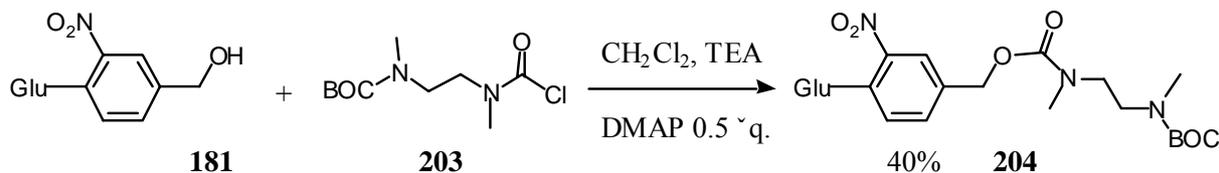


Schéma II-26

Des difficultés de plusieurs ordres apparaissent dans cette réaction. Tout d'abord la réactivité de **203** ne semble pas très adaptée puisque même en excès, la moitié de la quantité de départ de **181** est récupérée. De surcroît, la purification des produits est malaisée ; le moins mauvais éluant trouvé est un peu exotique* puisqu'il s'agit du di-*iso*-propyléther.

Nous nous sommes alors orientés vers une activation classique de l'alcool sous forme de carbonate.

b) Par activation de l'alcool

La seconde manière envisagée de former la liaison carbamate entre alcool **181** et diamine **202** est d'activer ce premier sous forme d'un carbonate de *para*-nitrophénol.

Les conditions classiques de réaction du chloroformiate **143** sur l'alcool **181** ont conduit à la formation du carbonate activé **205** (Schéma II-27). Le rendement est moyen et la purification assez délicate car il reste toujours des traces de *para*-nitrophénol.

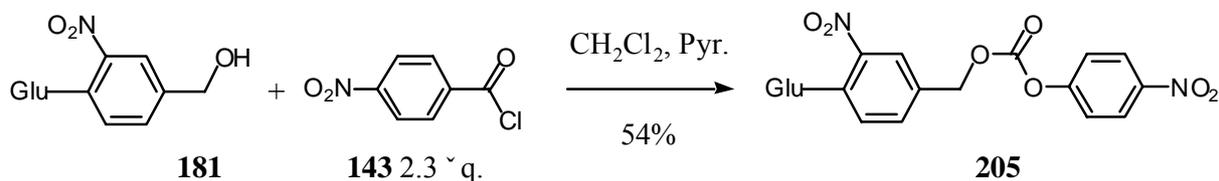
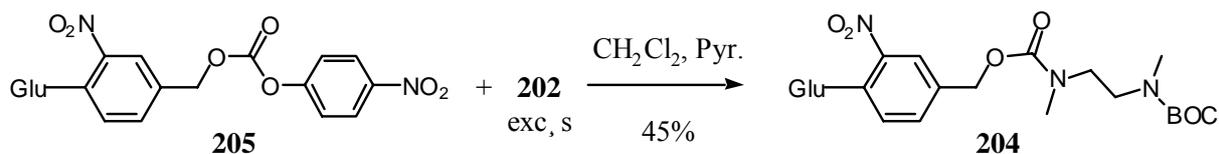


Schéma II-27

* En tout cas par sa forte odeur de menthol !

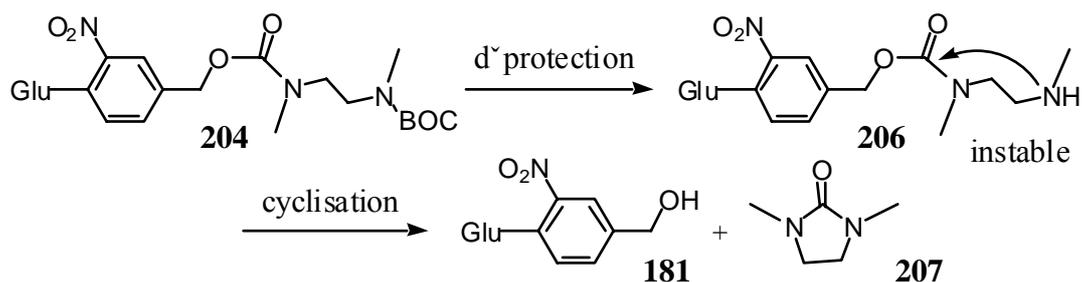
On fait alors réagir ce carbonate sur la diamine **202** pour obtenir le produit **204** comportant la chaîne diamine fixée (Schéma II-28).



Le carbonate intermédiaire **205** étant assez sensible, cela nous a mené à réaliser ces deux étapes en one-pot. Ceci s'est vérifié fondé puisque le rendement de la réaction one-pot est de 64%, ce qu'il faut comparer au 24% de rendement global lorsque **205** est isolé ; on évite de plus une étape de purification par chromatographie.

2) Hydrolyse du BOC de **204** et synthèse de **218**

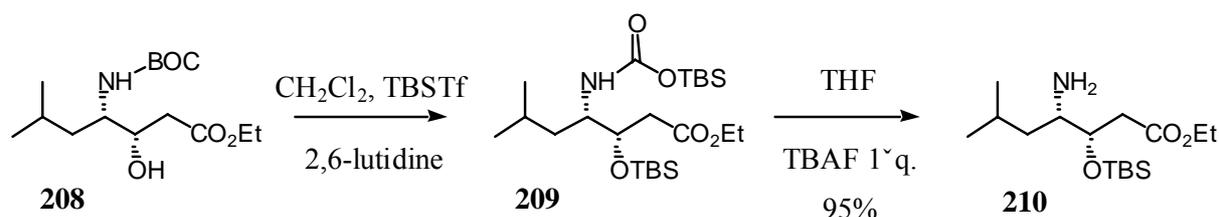
Le composé **204**, qui possède des groupements silyles sur le sucre, doit avoir son groupement BOC enlevé. Ceci s'effectue classiquement en milieu acide mais la complication ici est double. D'une part, il ne faut pas hydrolyser concomitamment les silyles présents ; d'autre part la libération d'une amine libre implique une cyclisation possible avec le carbamate en position benzylique à l'autre extrémité. Le moyen d'éviter cette cyclisation, voulue par construction (Schéma II-29), est de libérer l'amine en en faisant le chlorhydrate en même temps.



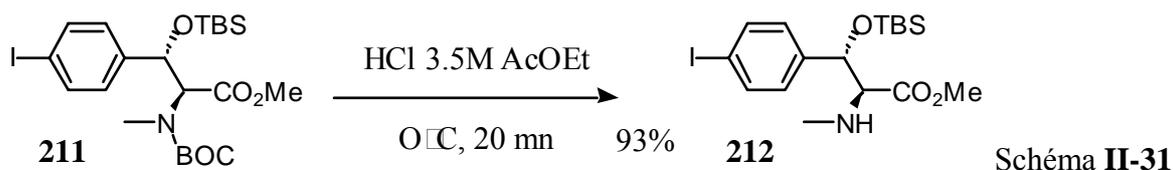
a) Hydrolyse d'un BOC en présence de TBS

1-Bibliographie

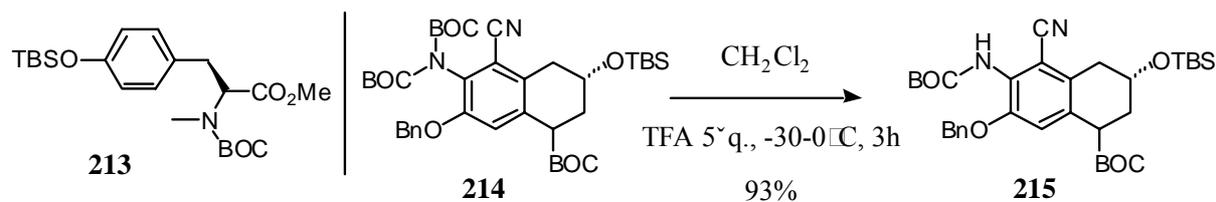
Une première méthode pour réussir cette déprotection sélective est de passer par un intermédiaire *N*-silyloxy-carbonyl type **209**, ce dernier étant ensuite hydrolysé par le TBAF grâce à un contrôle stœchiométrique. Le premier protocole a été décrit par Ohfuné (Schéma **II-30**),²³³ et a reçu peu d'attention par la suite. La sélectivité par rapport à un groupe TPS est également décrite.²³⁴

Schéma **II-30**

Il apparaît en fait clairement que la méthode de choix pour cette réaction est l'emploi d'un acide de Brønsted en milieu anhydre. Une des premières publications de méthodologie à ce sujet est parue en 1994,²³⁵ où une solution saturée d'HCl dans l'AcOEt est utilisée à cette fin. La même année Boger utilise cette méthode dans la synthèse de Bouvardines (Schéma **II-31**).²³⁶ On prendra bonne note du fait que, sur un dérivé similaire, les conditions de température et de temps (TA, 50 mn.), cette sélectivité peut être abolie et les TBS hydrolysés.

Schéma **II-31**

Un TBS aromatique **213** s'est également montré stable dans ces conditions (Schéma **II-32**) et l'emploi du dioxane comme solvant a aussi démontré son efficacité²³⁷; une modification de l'acide employé a également permis la *mono* déprotection sélective d'une amine di-BOC **214** (Schéma **II-32**).²³⁸ Le même genre de conditions est d'ailleurs décrit pour enlever un seul BOC d'une amine di-BOC en présence d'un TES.²³⁹



Plus anecdotiquement, Bose a publié une méthode sélective d'hydrolyse des BOC par AlCl_3 , avec²⁴⁰ ou sans²⁴¹ micro-ondes, qui ne touche ni au TBS primaire ni à l'acétate de **216** (Figure II-3).

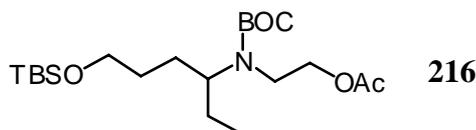
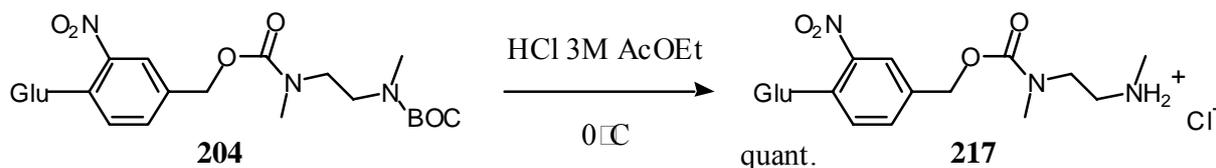


Figure II-3

2- Résultats

D'après ce que nous venons de voir, la sélectivité d'hydrolyse du BOC par rapport à un TBS est réalisable, cependant il faut attentivement en contrôler le déroulement. Il faut mettre l'accent sur l'emploi d'un milieu parfaitement anhydre car les silyles sont d'autant plus sensibles aux milieux acides que ceux-ci contiennent un nucléophile.

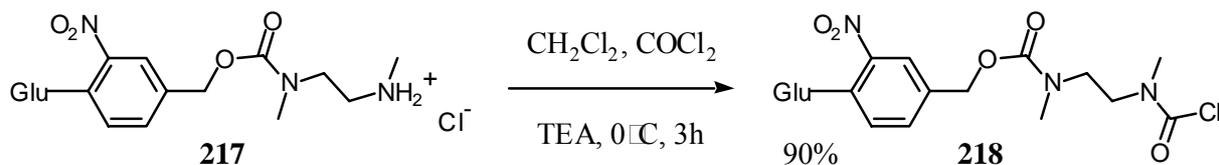
Pour apprécier la faisabilité de cette réaction, nous avons testé les conditions HCl anhydre 3M dans l'AcOEt à 0°C pendant une demi-heure. Le produit désiré **217** a été caractérisé par spectroscopie de masse mais il restait du produit BOC de départ. Finalement le suivi CCM de l'avancement de la réaction permet d'obtenir de manière satisfaisante le chlorhydrate **217** (Schéma II-33).



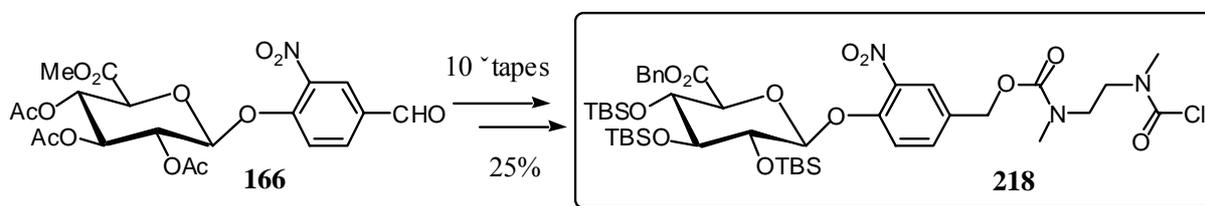
b) Activation de l'amine **217** par le phosgène

L'accès au chlorure de carbamoyle **218** à partir du chlorhydrate **217** se fait à l'aide du phosgène en solution dans le toluène en présence de TEA (Schéma II-34). Cette réaction repose sur le fait que l'amine libérée par la TEA réagit suffisamment vite avec le phosgène

avant que de pouvoir cycliser de manière intramoléculaire. Le rendement d'obtention de **218** à partir de **204** est de l'ordre de 90%.



Nous avons maintenant en main le composé prêt à subir un couplage avec les composés antitumoraux sélectionnés. A partir du produit **166** décrit, l'obtention de ce chlorure de carbamoyle a nécessité 10 étapes avec un rendement global de 25% (Schéma II-35).



V) Synthèse et évaluation biologique de la prodrogue **221**

A partir de **218**, la synthèse de **221** s'effectue en deux phases ; premièrement un couplage sur le paclitaxel puis dans un deuxième temps la déprotection des groupements protecteurs du sucre.

1) Couplage de **1** et **218**

Pour réaliser ce couplage les conditions classiques avec TEA et DMAP dans le dichlorométhane ont été employées. Il s'est avéré nécessaire de mettre environ 2 équivalents de **218** par rapport à **1**.

La quantité de DMAP mise en jeu a également fait montre de singularité puisque son emploi en large excès est apparu primordial (Tableau II-3). Les différents essais et leurs résultats sont répertoriés dans le Tableau II-3.

1 + 218 → **219**

Paclitaxel 1	218	TEA	DMAP	Conditions opératoires	Rd ^t .
23mg	1.3 éq.	excès	2 éq.	TA 24h, reflux 3h	35% + 33% 1
30mg	2 éq.	excès	1 éq.	Reflux 8h, TA 12h	Produit à squelette taxoïde
32mg	2.2 éq.	excès	10 éq.	TA 8h	87%
86mg	2.2 éq.	–	15 éq.	TA 6h	95%

Tableau II-3

Les conditions opératoires les meilleures sont mises en exergue dans la dernière ligne du Tableau II-3 ; il ressort que l'utilisation de TEA est superflue et que la bonne régiosélectivité du couplage se conjugue à un excellent rendement.

Les résultats avec l'emploi de seulement 1 équivalent de DMAP ne sont pas très clairs. La RMN du proton montre clairement l'absence de silyles mais la masse ne correspond pas à **219** qui serait désilylé. Il semble donc que ces conditions, avec du dichlorométhane distillé conservé sur TM 4Å, aient été assez acides pour désilyler le produit de couplage et induire un (des) réarrangement(s) du squelette paclitaxel.

Les étapes suivantes pour accéder à la prodrogue sont l'hydrolyse des silyles suivie de l'hydrogénolyse du benzyle.

2) Déprotections de 219

a) Désilylation de 219

Comme mentionné plus haut, l'hydrolyse des silyles permet d'obtenir un composé **220** où l'acide glucuronique estérifié est facilement chromatographié. Pour ce faire, les conditions usuelles avec le complexe HF-Pyridine dans l'acétonitrile anhydre ont été utilisées (Schéma II-36). Le produit voulu est préparé et purifié facilement avec un bon rendement.

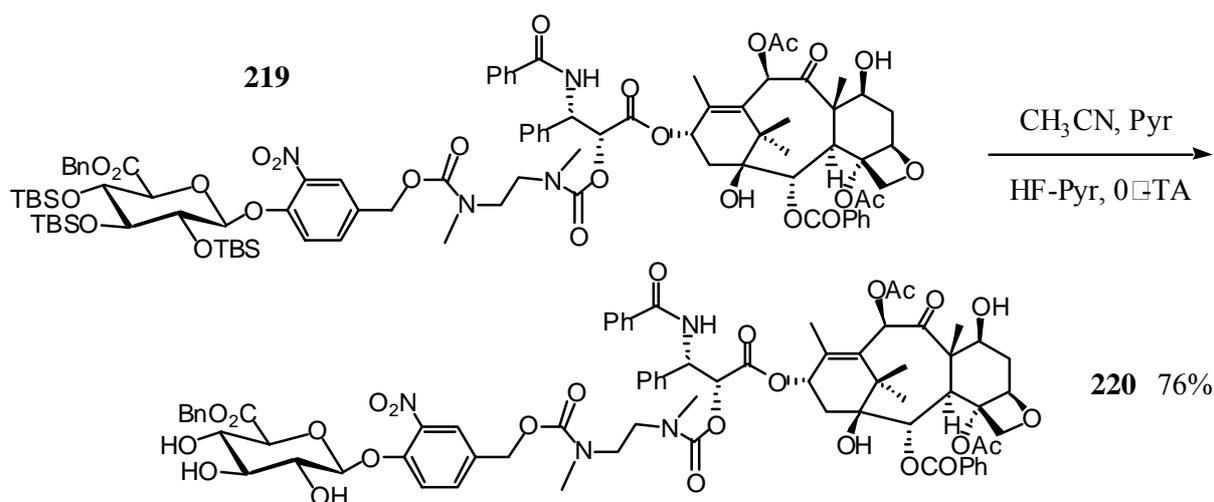


Schéma II-36

b) Hydrogénolyse de 220

L'hydrolyse de l'ester benzylique de **220** a été planifiée en fonction de la fragilité du paclitaxel et des fonctionnalités de notre espaceur. Ainsi l'utilisation de cyclohexa-1,4-diène en hydrogénation catalytique par transfert a montré son efficacité dans la synthèse de **158** (Schéma II-36).¹⁷²

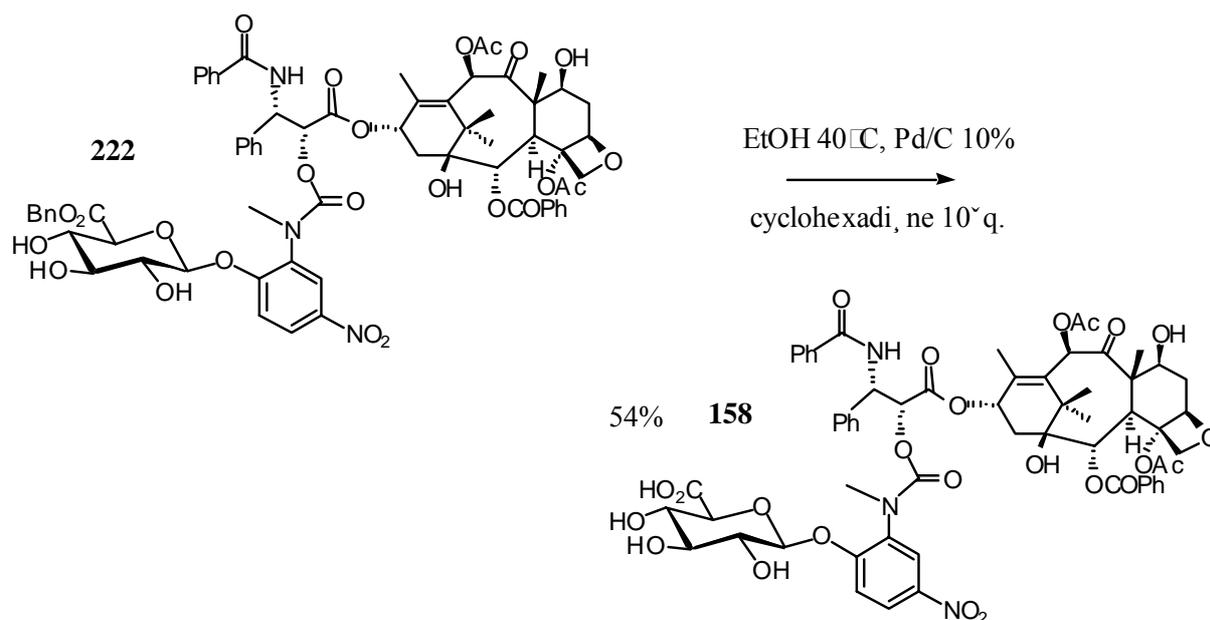


Schéma II-36

Nous avons alors appliqué les mêmes conditions au composé **220**. En présence de 45 équivalents de cyclohexa-1,4-diène, à 45°C, le produit de départ restait inchangé au bout de 5h. 15 équivalents supplémentaires de diène étaient alors ajoutés et la réaction poursuivie une nuit ; au matin **220** avait été entièrement consommé.

Après analyses spectroscopiques, il a été confirmé que le produit obtenu était **221** où le benzyle est bien absent mais où il faut surtout remarquer la réduction du nitro en amine (Schéma II-37).

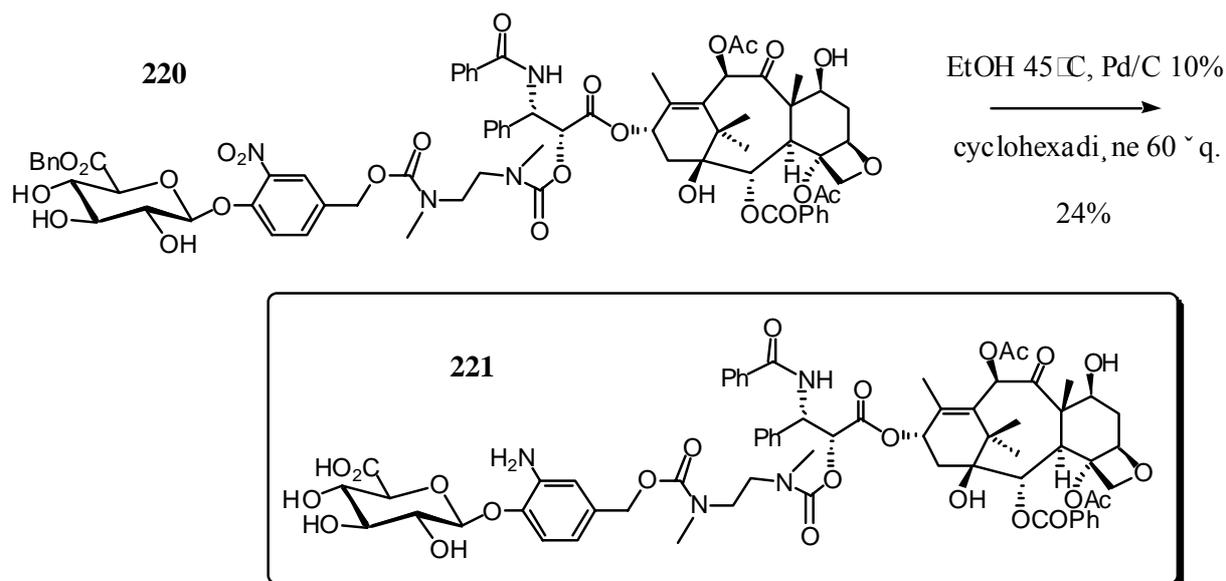


Schéma II-37

Les explications de ce résultat inattendu ne sont que des hypothèses et s'appuient notamment sur la lecture de deux articles.²⁴² Il ressort ainsi que le choix du solvant, du catalyseur, de la température de réaction et le nombre d'équivalents du donneur d'hydrogène peuvent faire varier la sélectivité des groupements réduits (Schéma II-38).

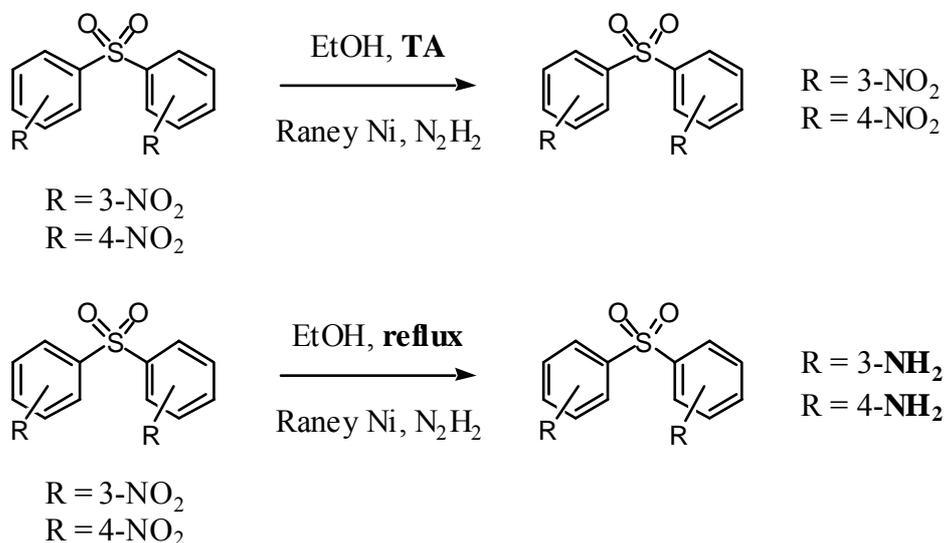


Schéma II-38

On peut également envisager un problème de concentration qui, lorsqu'elle est trop faible, induit des vitesses de réaction lentes, d'où éventuellement l'apparente non-réactivité de **220** dans les conditions initiales.

Toutefois des tentatives postérieures ont confirmé ces observations et il n'a pas été possible d'obtenir une prodrogue avec un groupement nitro sur l'aromatique. Cette discussion sera reprise et étoffée grâce aux résultats du paragraphe VI suivant.

Pour les besoins de la HPLC, il a fallu synthétiser **223b** qui est le produit d'hydrolyse de la méthylène quinone issue de l'élimination 1,6 de l'espaceur. Il est possible de préparer **223b** soit en deux étapes avec purification de l'intermédiaire **223a**, soit en une étape, à partir du 4-hydroxy-3-nitrobenzaldéhyde **182** (Schéma II-39).

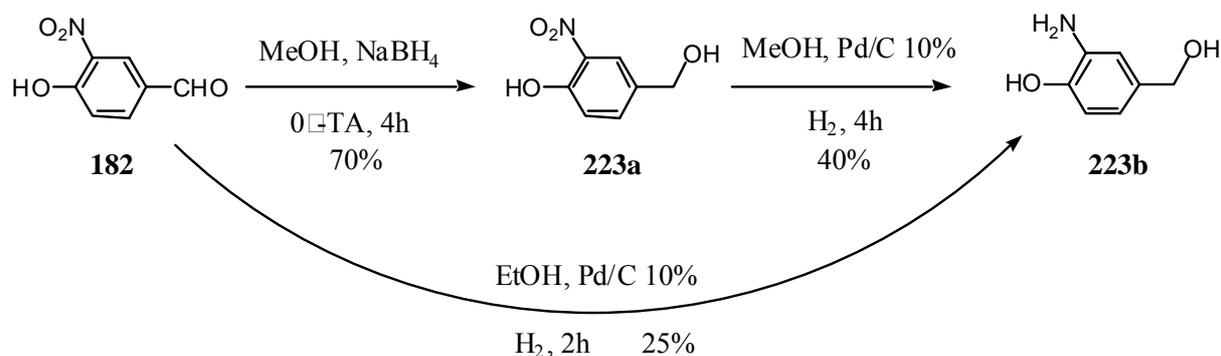


Schéma II-39

Les tests biologiques *in vitro* et *in vivo* ont été mis en œuvre sur la prodrogue **221**. Le point crucial pour nous était de savoir si l'espaceur avec un groupement amino électro-attracteur mais mésomère donneur pouvait libérer efficacement le paclitaxel alors qu'un nitro, électro-attracteur et mésomère attracteur, avait été prévu initialement. De fait, il est souvent décrit qu'un tel groupe induit une bonne élimination 1,6 des systèmes 4-hydroxybenzylalcool mais n'est pas forcément nécessaire,²⁴³ alors que les 4-aminobenzylalcool n'en ont pas besoin. En tout cas nous ne pouvons préjuger de l'effet contraire de l'amine.

3) Etudes biologiques de 221

a) Stabilité

Avant d'entreprendre des études plus approfondies, il faut en premier lieu s'assurer que la prodrogue est suffisamment stable pour les études biologiques qui n'auraient sinon pas grand sens.

La stabilité a été mesurée par suivi HPLC d'une solution de **221** en milieu tamponné (tampon phosphate 0.02 M à pH 7.2) à 37°C. La prodrogue est stable plus de 24h et aucune trace de paclitaxel libéré prématurément n'a pu être mise en évidence pendant ce temps.

Maintenant que nous nous sommes assurés de la bonne stabilité de **221** les études biologiques peuvent être menées plus avant.

b) Cytotoxicité

Une des exigences de l'ADEPT et de la PMT est qu'une prodrogue relativement peu cytotoxique libère une drogue cytotoxique. Les ratios de cytotoxicité entre prodrogue et drogue libre dépendent de la nature de la lignée cellulaire utilisée, de la stabilité de la prodrogue et de sa structure.

En règle générale, plus les prodrogues sont hydrophiles moins elles sont capables de traverser la double couche lipidique constituant la membrane des cellules pour atteindre leur cible biologique ; leur action cytotoxique est alors diminuée.

Les mesures de cytotoxicité ont été réalisées sur des cellules L1210 qui désignent une lignée de leucémie d'origine murine. Elles s'expriment par un nombre noté IC₅₀ qui représente la concentration du composé inhibant de 50% la croissance des cellules par rapport à un témoin. Les IC₅₀ du paclitaxel et de la prodrogue **221** sont regroupées dans le Tableau **II-4**. On remarquera que la cytotoxicité du paclitaxel est restaurée lorsque la prodrogue est incubée en présence de β -D-glucuronidase, ce qui valide notre approche.

Lignée L1210	Prodrogue 221	Paclitaxel 1
–	1500 nM	9.8 nM
en présence de β -D-glucuronidase de <i>E. coli</i>	11 nM	9.8 nM

Tableau **II-4**

Le comptage des cellules suivant la phase du cycle cellulaire où elles se trouvent permet de mieux préciser l'action de l'agent cytotoxique. Pour le paclitaxel, il est rassurant de constater que son action a bien lieu en phase M, tout comme pour la prodrogue **221** (Tableau **II-5**).

	Cycle	% cellules			
		G1	S	G2	8N \equiv M
Paclitaxel 1	8N +++ 250 - 500	5	7	17	70
Prodrogue 221	8N +++ 5 - 10	4	6	18	71

Tableau **II-5**

La prodrogue est donc détoxifiée d'un facteur 153 par rapport au paclitaxel, ce qui est acceptable puisqu'il est considéré qu'un facteur 100 est nécessaire en stratégie ADEPT.

Ce résultat est cohérent avec ceux déjà décrits pour des prodrogues stables du paclitaxel (Tableau **II-6**). Les meilleures détoxifications obtenues jusqu'ici ont été atteintes avec des prodrogues activées par la plasmine. Ceci n'est pas surprenant puisque comme le trigger de ces prodrogues est un tri peptide sous forme de plus d'un bis-chlorhydrate, elles sont par conséquent très hydrophiles.

Enzyme activatrice	Ratio cytotoxique ^a	Lignée cellulaire	Réf.
β -lactamase	10	SK-BR-3	244

β -D-glucuronidase	95 1.1 135	OVCAR-3	97
Plasmine	1100 – 20000 (8000 en moyenne)	MCF-7 EVSA-T WIDR IGROV	M19 A498 H226 60
Bioréduction	1 - 462	H226 MCF7 EVSA-T WIDR	IGROV M19 A498 245
Plasmine	1.6 - 213	MCF-7 EVSA-T WIDR IGROV	M19 A498 H226 174
β -D-glucuronidase	722	LoVo	172

^a Mesuré comme IC₅₀ (prodrogue)/IC₅₀(drogue)

Tableau II-6

La détoxification de **221** est plus faible que celle de **158** ; une explication partielle peut provenir des log P* relatifs du paclitaxel et des deux prodrogues qui ont été calculés par ClogP de ChemDraw® (Tableau II-7):

	Paclitaxel 1	Prodrogue 158	Prodrogue 221
Log P	4.7308	3.5745	4.0620

Tableau II-7

158 de log P plus faible est ainsi caractérisée comme plus hydrophile donc moins cytotoxique que **221**.

c) Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique de la prodrogue **221** a été effectuée avec la β -D-glucuronidase d'*E. coli*, à 37°C, à pH 7.2 dans un tampon phosphate 0.02 M. Partant de **221** trois pics apparaissent successivement (Figure II-4).

* Coefficient de partition octanol/eau.

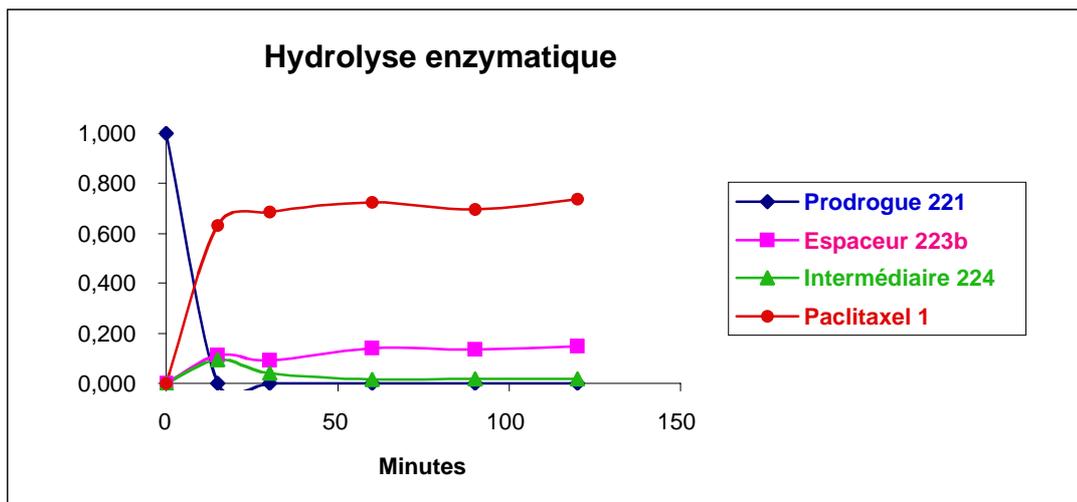


Figure II-4

Colonne Lichrospher - RP18e, 250 x 4.5 μm
 Détection par PDA à 226 nm
 Incubation à 37 °C
 Tampon Phosphate pH 7.2 , 0.02 M
 Prodrogue: **22.9 μmol**
 β -D-glucuronidase (*E. coli*): 2.5 $\mu\text{g/ml}$ (12 unités/mL)
 Isocratique : Tampon Phosphate pH 3, 0.02 M 50%
 Acétonitrile 50%
 Débit : 1 ml/mn

Le premier correspond au composé **223b** par comparaison avec un échantillon synthétisé. Le troisième est identifié comme le paclitaxel par comparaison HPLC avec un échantillon du paclitaxel acheté. Enfin, le second est un intermédiaire puisqu'il apparaît puis disparaît progressivement. Pour identifier sans ambiguïté ce composé instable, des études de LCMS ont été menées. Le spectre de masse de ce produit a été obtenu et il a été caractérisé comme étant **224**, paclitaxel lié à la chaîne diamine (Figure II-5).

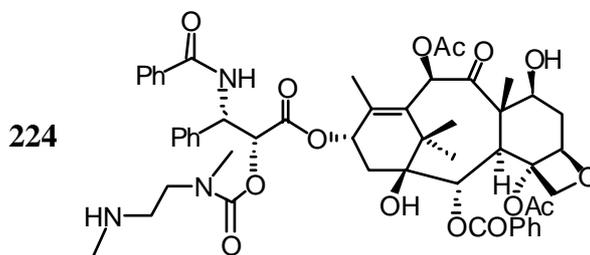


Figure II-5

La demi-vie de l'intermédiaire **224** a été mesurée en utilisant un excès d'enzyme de telle sorte que le résidu acide glucuronique soit entièrement clivé presque instantanément et que

l'élimination 1,6 semble à peu près instantanée. La courbe correspondante (Figure II-6) fournit une demi-vie de 13 minutes.

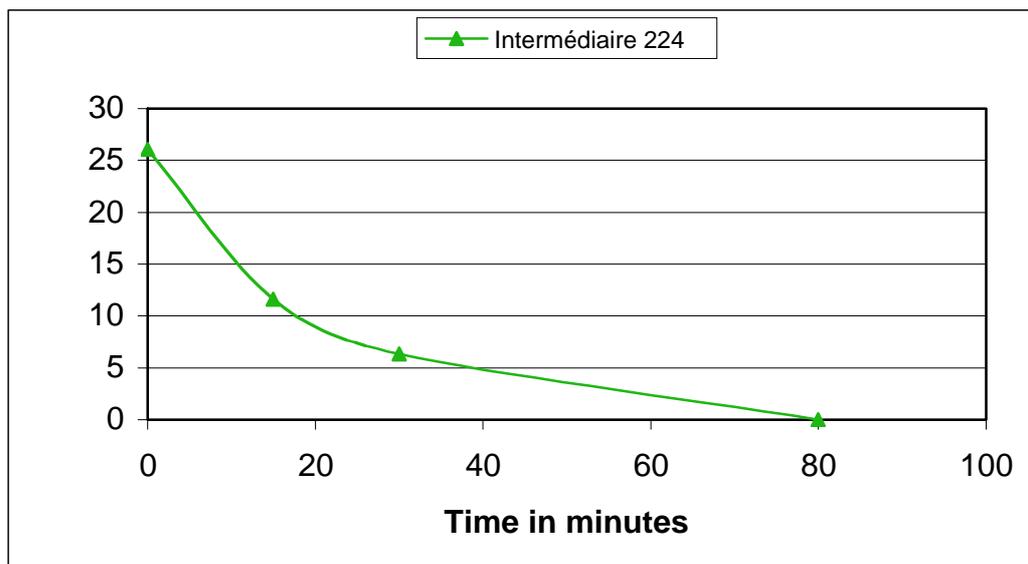


Figure II-6

Ce temps est à comparer avec celui de 47 minutes trouvé pour le même intermédiaire par Scheeren *et al* en partant d'une prodrogue différente (**163**).¹⁷⁴ Cette différence peut s'expliquer par la concentration initiale de prodrogue, également par la nature du tampon (Tris/acide chlorhydrique 0.1 M dans leur cas) et de l'enzyme en solution.

d) Comparaison entre **158** et **221** et conclusion

Deux tendances différentes apparaissent entre ces prodrogues. En effet, l'hydrolyse de **221** requiert une concentration en β -D-glucuronidase bien plus faible que **158**, mais une espèce intermédiaire est détectée et identifiée.

La demi-vie de la prodrogue **221** est de 10 minutes pour une concentration en enzyme de 12 U/mL. Pour pouvoir comparer les deux prodrogues, des mesures de cinétique sur **158** ont été effectuées avec la même concentration de prodrogue ; dans ce cas la concentration d'enzyme nécessaire fut de 240 U/mL pour une demi-vie de 5.5 heures. Dans ces conditions, le clivage de **221** est quasi instantané.

Deux enseignements peuvent être tirés de ces résultats. Premièrement, la conception de notre espaceur se trouve justifiée et validée puisque le but initial d'améliorer les cinétiques de libération du paclitaxel a été atteint. Deuxièmement, c'est la première fois qu'un espaceur à élimination 1,6 comportant un groupe amino prouve son efficacité. La compatibilité

d'espaceurs avec des amines substituées comme NEt_2 , NHAc ou encore NHC(O)CF_3 avait déjà été rapportée,²⁴⁶ mais c'est la première fois, à notre connaissance, que ceci est décrit avec une amine libre aromatique.

VI) Synthèse et évaluations biologiques des prodrogues 225 et 226 du docetaxel

Au commencement de notre projet, la conception et la synthèse de prodrogues du paclitaxel et du docetaxel avaient pour finalité de permettre une comparaison entre ces deux agents et de préciser également le comportement de l'espaceur lié à deux drogues différentes.

Suite aux problèmes de réduction du groupement nitro rencontrés avec le paclitaxel, la synthèse des prodrogues du docetaxel a pris en compte cet événement pour permettre, si possible, la synthèse des prodrogues avec groupement amino et avec groupement nitro (Figure II-7).

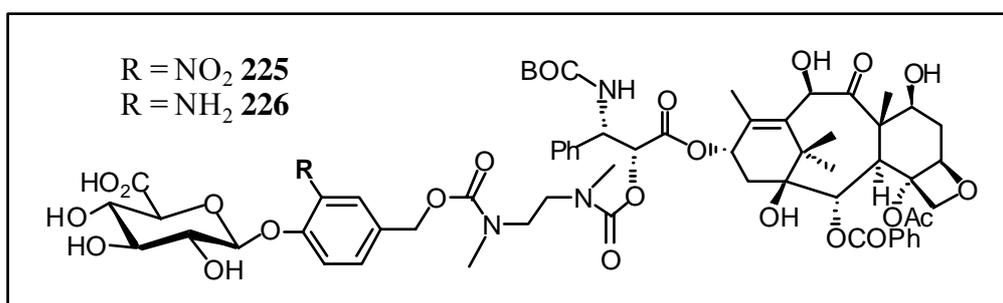


Figure II-7

1) Schéma de synthèse

Tout d'abord, il faut noter que nous avons travaillé avec l'espaceur **218** sur le docetaxel, et non sur un intermédiaire baccatine devant ensuite être couplé à la chaîne latérale ce qui représente la technique la plus employée lors de la synthèse d'analogues structuraux.^{27, 247, 248} Ceci est dû au fait que nous souhaitons accrocher l'espaceur en position 2'.

Pour la préparation de **225**, le même schéma synthétique que celui appliqué pour la synthèse de **221** a été envisagé (Schéma II-40), en espérant cette fois maîtriser la débenzylation sélective.

En ce qui concerne **226**, deux options ont été examinées. La première consistait à utiliser l'intermédiaire nitro benzylé **229** préparé pour **225** puis à le soumettre à une hydrogénation sur palladium. L'autre voie tirait parti de la déprotection de groupements Troc installés antérieurement sur l'intermédiaire **228** (7,10-ditroc-baccatine) qui nous a été fourni (Schéma II-40). En effet les conditions de déprotection des Troc sont incompatibles avec un groupe nitro et le réduisent en amino. Ainsi le couplage entre **218** et le 7,10-ditroc-docetaxel **228** a été accompli avant d'effectuer toutes les déprotections pour conduire à **226**.

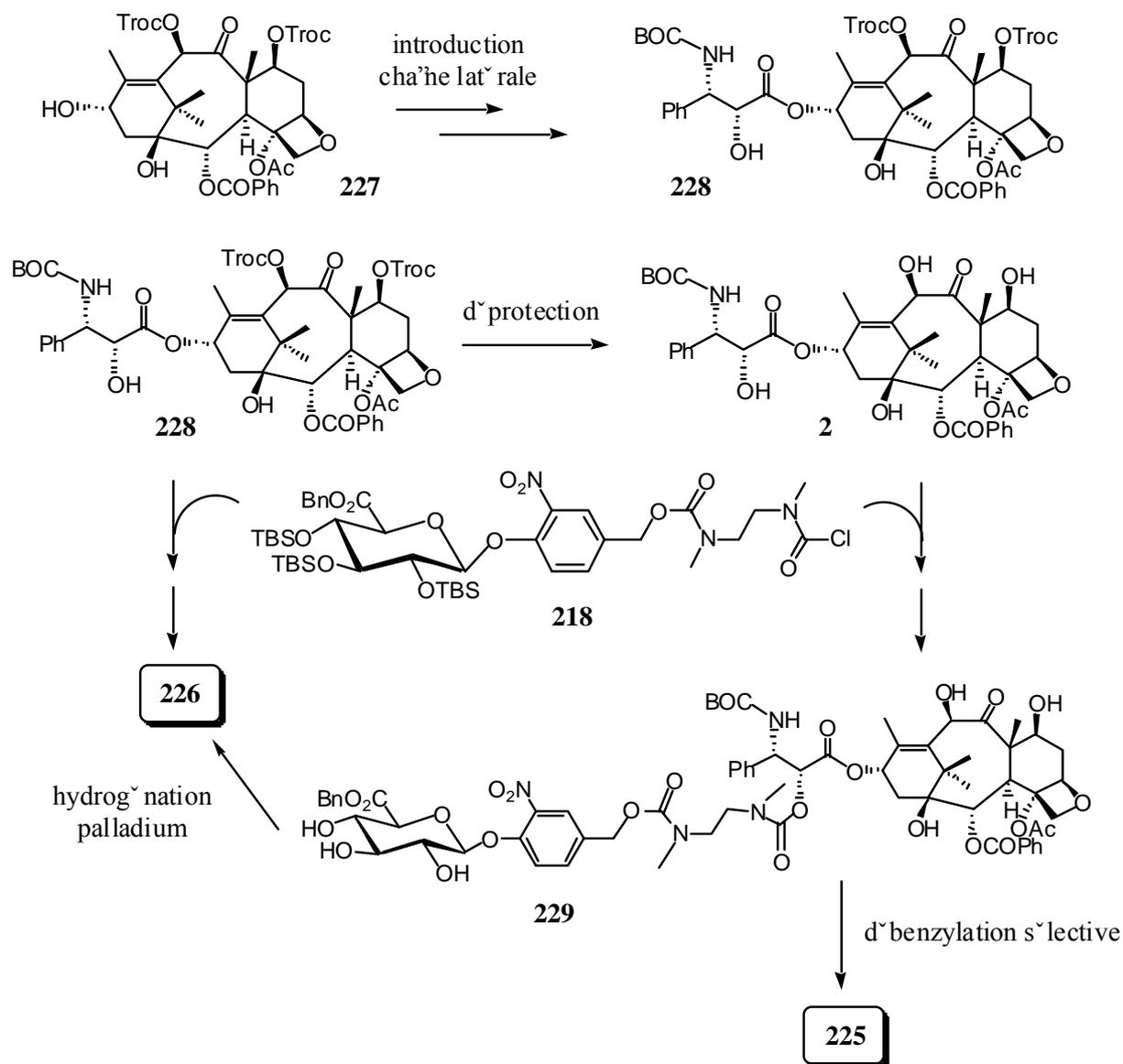


Schéma II-40

Avant d'opérer la synthèse des prodrogues proprement dite, il faut en premier lieu préparer la drogue, *ie* le docetaxel et l'intermédiaire d'intérêt **228**.

2) Préparation de 2 et 228

Comme mentionné précédemment, la 7,10-ditroc-10-DAB **227** ainsi que l'oxazoline **230** nous ont été gracieusement données*. Les deux opérations à accomplir pour obtenir **228** sont d'abord l'estérification de l'hydroxyle en 13 de **227** suivie de l'ouverture en milieu acide de l'isoxazoline.

Le protocole d'estérification suivi est celui décrit par Commerçon *et al* ; il a fait l'objet de mise au point expérimentale²⁴⁹ et s'applique aussi bien à la 10-DAB protégée par des silyles²⁴⁸ qu'à une oxazoline comportant une amine libre.²⁵⁰ L'ouverture de **231** s'effectue en milieu légèrement acide, avec l'emploi de TsOH préférentiellement à MsOH²⁴⁹ ; les conditions d'hydrolyse des troc ouvrent également le cycle oxazolidine.²⁵⁰

Enfin l'hydrolyse des groupements Troc se fait classiquement avec du zinc pulvérulent en présence d'acide acétique.²⁵⁰

Le Schéma **II-41** récapitule la synthèse du docetaxel à partir de **227** et **230**.

* Dr. Alain Commerçon (Aventis).

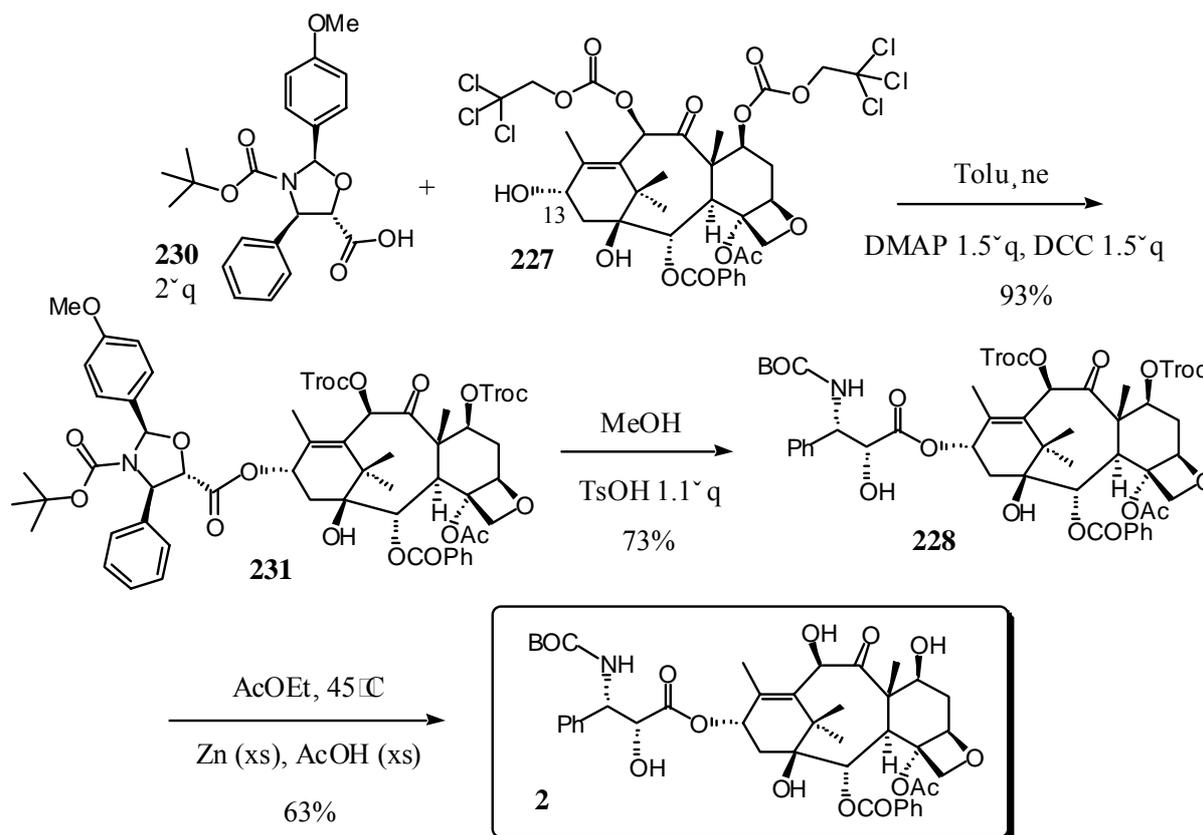


Schéma II-41

3) Synthèse de 225

Le chemin suivi pour produire **225** est très similaire à celui menant à **221**, à la différence près que l'agent cytotoxique est le docetaxel **2** et non le paclitaxel.

2 comporte un hydroxyle libre en position 10 supplémentaire par rapport au paclitaxel. Les réactivités des hydroxyles 7 et 10 sont assez proches, et la protection sélective de l'un ou de l'autre, en particulier par des groupes silyles, à partir de la 10-DAB, est tout à fait possible.^{251, 252} Une sélectivité en 10 lors de l'acylation de la 10-DAB est réalisable,^{251, 253} par contre elle est perdue sur le substrat 2'-troc-docetaxel.²⁸

Il reste que, de manière analogue au paclitaxel, l'hydroxyle en position 2' du docetaxel est le plus réactif de tous. La synthèse de **225** s'est donc déroulée comme détaillée dans le Schéma II-42.

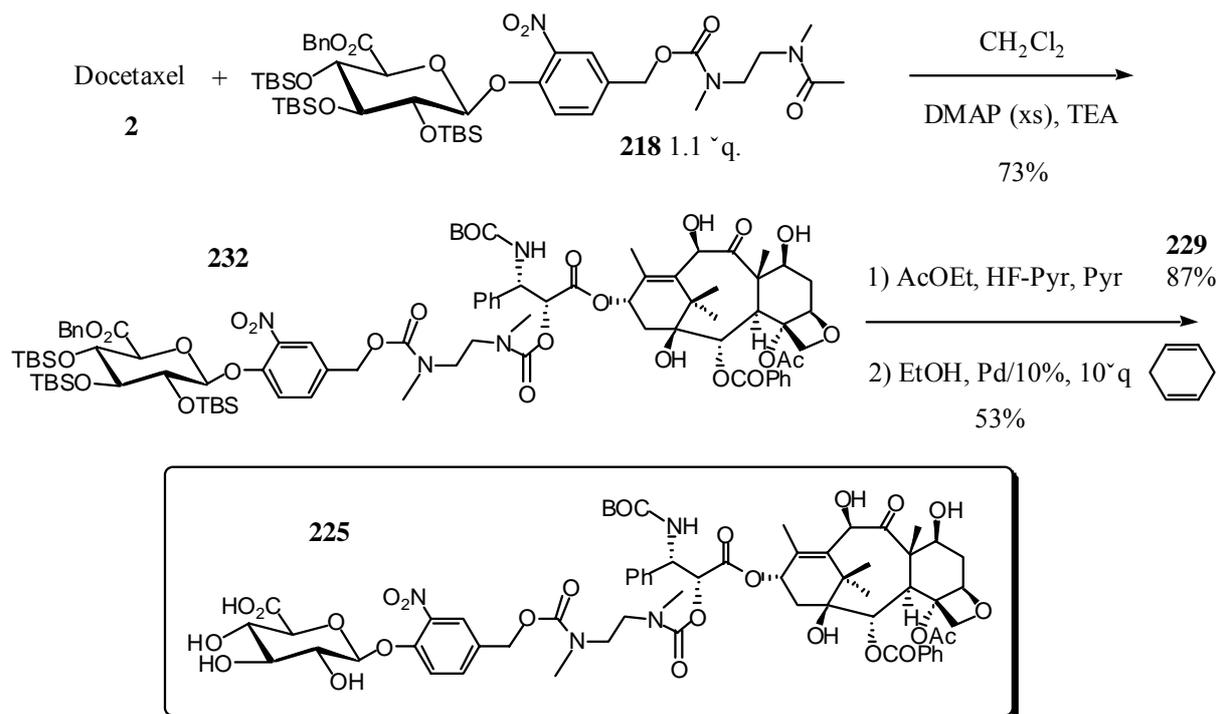


Schéma II-42

Comme attendu, la régiosélectivité du couplage avec le chlorure de carbamoyle est totale et la désilylation ne pose aucun problème particulier. Toutefois, on prendra bonne note de l'étape de débenzylation au cyclohexadiène qui, contrairement au substrat **220**, aboutit bien au composé nitré **225**.

Des études de modélisation moléculaire (logiciel HyperChem[®], champ de force MM+) apportent un début d'explication. En effet, on constate que pour la prodrogue du paclitaxel **220** le cycle aromatique du benzyle donne des interactions de type π -stacking avec le phényle du benzoate en 2 et des interactions avec la chaîne latérale (Figure II-8). L'approche de l'ester benzylique est donc assez obstruée sur les deux faces, par contre le nitro de l'espaceur est accessible. Ainsi, puisqu'il a fallu forcer les conditions pour obtenir cette débenzylation, le nitro serait d'abord réduit en amino, puis la débenzylation pourrait se produire. Il n'est pas exclu qu'un changement de conformation induit par la réduction du nitro soit à l'origine de l'hydrogénolyse subséquente de l'ester benzylique.

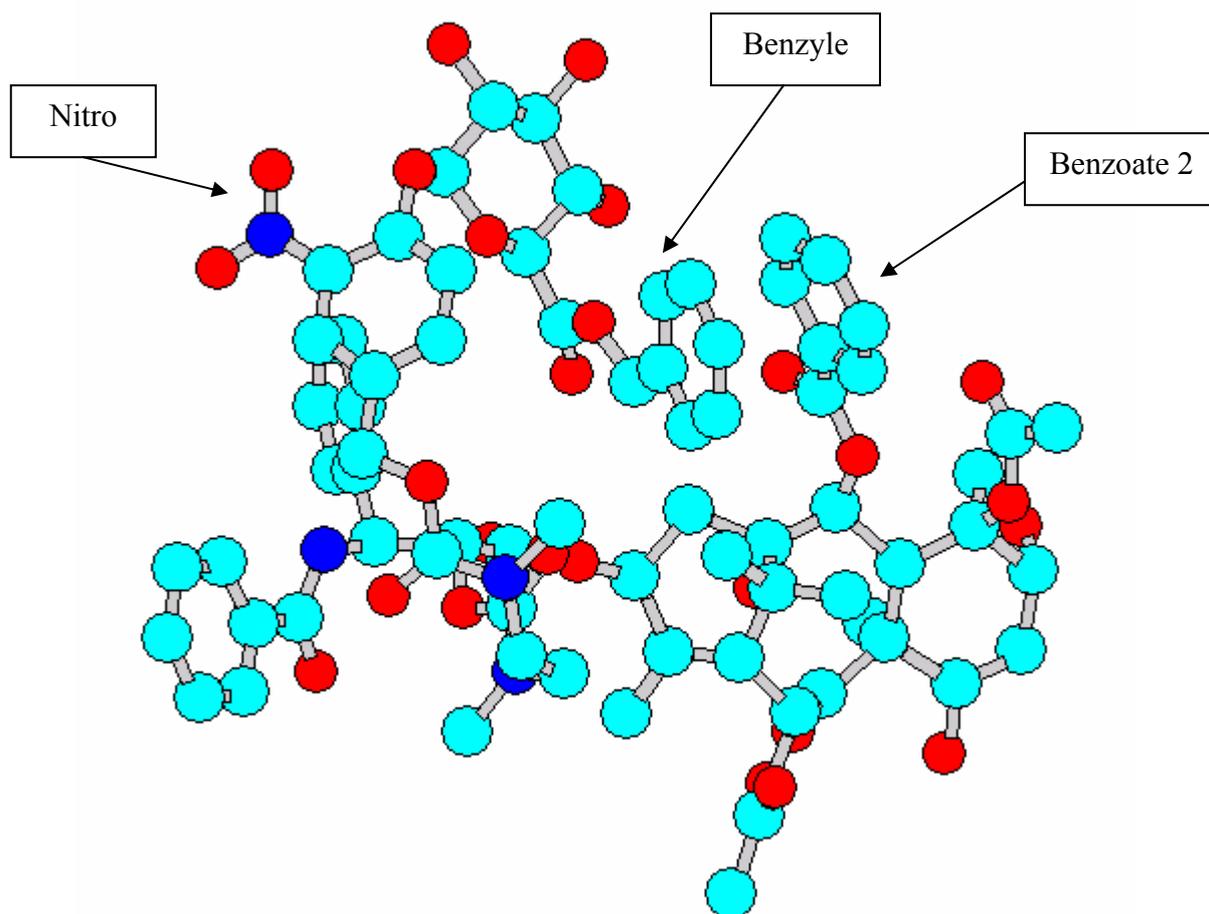


Figure II-8

Dans le cas de la prodrogue du docetaxel **229**, l'absence de phényle sur l'azote de la chaîne latérale induit un changement conformationnel majeur selon la modélisation, avec une interaction de π -stacking entre le benzyle et le nitroaryle de l'espaceur mais laisse une face complètement libre d'accès (Figure II-9). Ainsi, une plus grande facilité d'approche du benzyle et des conditions douces autorisent le maintien du nitro et réussissent à réduire ce benzyle. Il faut toutefois rester prudent avec ces résultats car les divergences de comportement entre paclitaxel et docetaxel, notamment leurs différences conformationnelles, ne sont pas très faciles à appréhender.

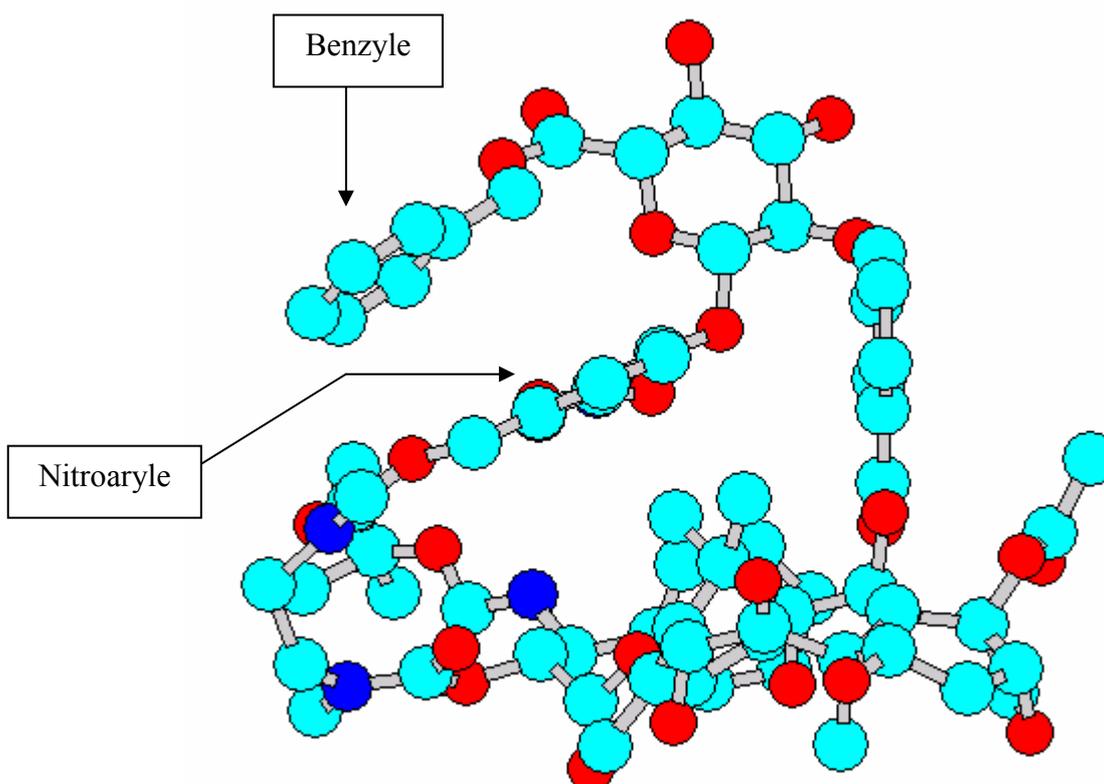


Figure II-9

L'origine des difficultés rencontrées lors de l'hydrogénolyse du benzyle de la prodrogue **221** est bien d'ordre conformation elle puisque la réaction modèle effectuée sur l'intermédiaire **192** ne pose aucun problème (Schéma II-43).

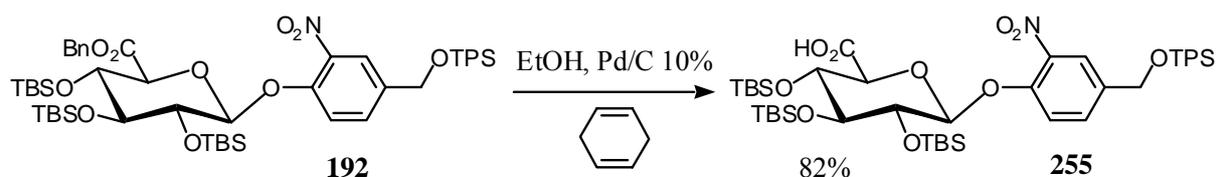


Schéma II-43

4) Synthèse de 226

Dans l'optique de faire d'une pierre deux coups, la synthèse de la prodrogue amino **226** a été envisagée au départ du docetaxel protégé en 7 et 10 par un groupement troc.

Deux avantages se dégagent de ce choix. Premièrement, la régiosélectivité du couplage sur l'hydroxyle 2' est assurée puisque les hydroxyles 7 et 10 sont protégés, l'hydroxyle

tertiaire en 1 étant très peu réactif. Deuxièmement, les conditions de déprotection des Troc sont également utilisées pour réduire un nitroaryle en l' amino correspondant (March p1216).²⁵⁴ La séquence de réactions conduisant à la prodrogue **226** est dépeinte au Schéma II-44.

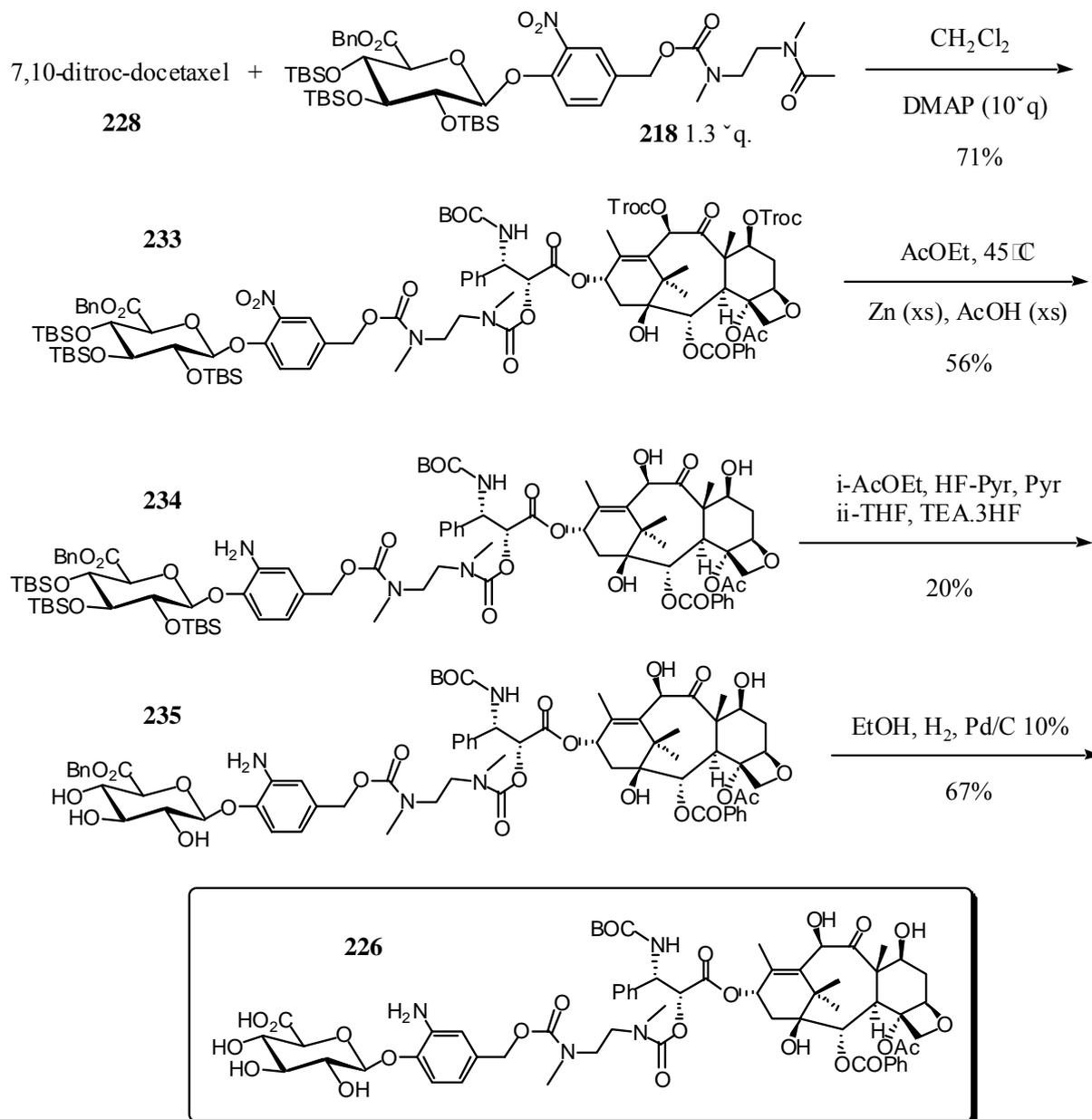
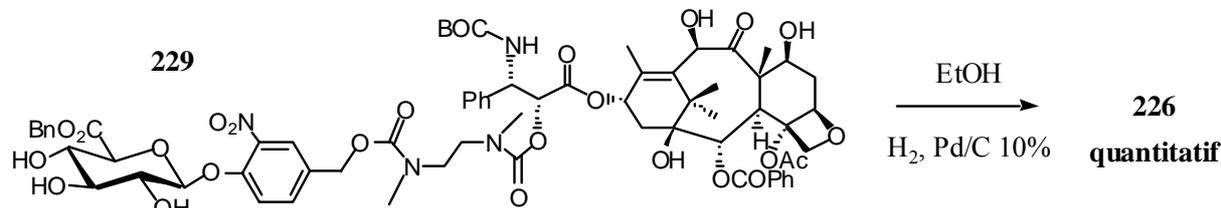


Schéma II-44

Il n'y a pas de difficulté lors du couplage et le nitro est effectivement réduit lors de la déprotection des Troc. Par contre la désilylation s'est montrée beaucoup plus contrariante que précédemment pour **219** ou **232** ; ainsi l'utilisation du complexe HF-Pyridine n'a pas pu conduire au composé entièrement désilylé, même en forçant les conditions (large excès de HF-pyr, durée de réaction rallongée). Tout a alors été repris et remis en réaction dans les

conditions de Pirrung employant TEAx3HF pour désilyler nucléosides et nucléotides,²⁵⁵ c'est pourquoi le rendement indiqué est médiocre (et non optimisé d'ailleurs).

La meilleure voie d'accès à **226** a donc été établie comme celle utilisant l'hydrogénation de l'intermédiaire **229** de la synthèse de **225** (Schéma II-45).



5) Evaluations biologiques des prodrogues 225 et 226

a) Stabilité

La stabilité a été mesurée comme précédemment pour **221** par suivi HPLC de solutions de **225** et **226** en milieu tamponné (tampon phosphate 0.02 M à pH 7.2) à 37°C. Les prodrogues sont stables plus de 24h et aucune trace de docetaxel libéré prématurément n'a pu être mise en évidence pendant ce temps.

Les mesures de cytotoxicité et d'hydrolyse enzymatique peuvent alors être entreprises.

b) Cytotoxicité

c) Hydrolyse enzymatique

L'hydrolyse enzymatique des prodrogues **225** et **226** a été effectuée avec la β -D-glucuronidase d'*E. coli*, à 37°C, à pH 7.2 dans un tampon phosphate 0.02 M. Les résultats pour ces deux composés sont très similaires puisque dans chaque cas deux pics apparaissent successivement (Figures II-10 et II-11).

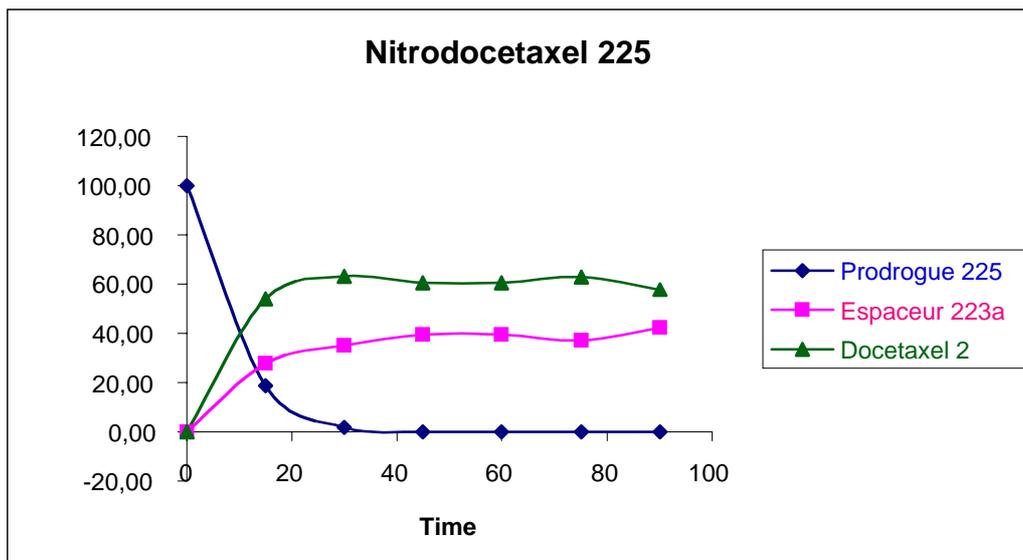


Figure II-10

Colonne Lichrospher - RP18e, 250 x 4.5 μ m
 Détection par PDA à 226 nm
 Incubation à 37 °C
 Tampon Phosphate pH 7.2 , 0.02 M
 Prodrogue: **29.6 μ mol**
 β -D-glucuronidase (*E. coli*) : 2.5 μ g/ml (12 unités/mL)
 Isocratique : Tampon Phosphate pH 3, 0.02 M 53%
 Acétonitrile 47%
 Débit : 1 ml/mn

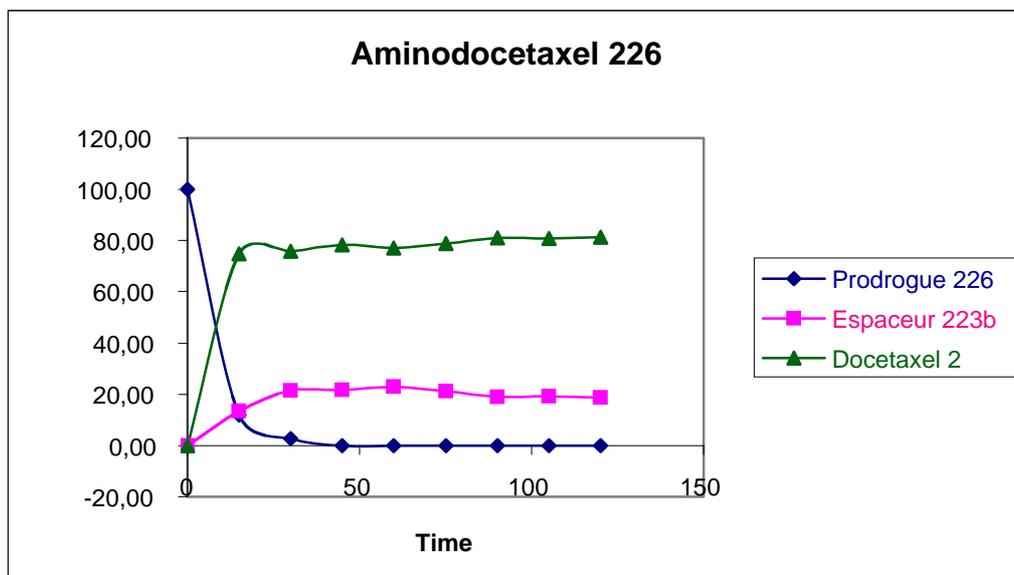


Figure II-11

Colonne Lichrospher - RP18e, 250 x 4.5 μ m
 Détection par PDA à 226 nm
 Incubation à 37 °C

Tampon Phosphate pH 7.2 , 0.02 M
Prodrogue: **29.6 μmol**
 β -D-glucuronidase (*E. coli*) : 2.5 $\mu\text{g/ml}$ (12 unités/mL)
Isocratique : Tampon Phosphate pH 3, 0.02 M 53%
 Acétonitrile 47%
Débit : 1 ml/mn

Les premiers correspondent, respectivement par rapport à **225** et **226**, aux composés **223a** et **223b** par comparaison avec les échantillons synthétisés. Le second est identique dans les deux cas et se trouve identifié comme le docetaxel par comparaison HPLC avec le docetaxel synthétisé.

Les demi-vies calculées sont de l'ordre de 10 mn pour les deux prodrogues, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus pour **221** dans les mêmes conditions (notamment même nombre d'unités par mL).

Malgré des études approfondies (variations du taux d'enzymes, temps de prélèvement) il n'a jamais été possible d'identifier un intermédiaire analogue à **224** mais comportant le docetaxel et non le paclitaxel. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cela. La décomposition de l'intermédiaire docetaxel-chaîne diamine est trop rapide pour être repérée ; la conformation du docetaxel serait ici à la base de la différence de comportement observé entre paclitaxel et docetaxel. D'autre part, la possibilité d'avoir un pic pour cet intermédiaire trop proche de celui du docetaxel pour pouvoir être détecté convenablement ne peut pas être totalement exclue. On peut toutefois faire remarquer que le comportement des prodrogues est bien dépendant de plusieurs facteurs, dont le composé cytotoxique qui leur est associé. Seules les différences de réactivité et de comportement entre les dérivés du paclitaxel et du docetaxel pourraient expliciter ce résultat.

d) Comparaison des prodrogues **221**, **225** et **226**

Les hydrolyses enzymatiques de ces trois prodrogues sont rassemblées dans une même figure (Figure **II-12**). L'évolution générale est similaire pour les trois composés, mais on notera que les ressemblances les plus fortes s'observent entre les deux prodrogues du docetaxel.

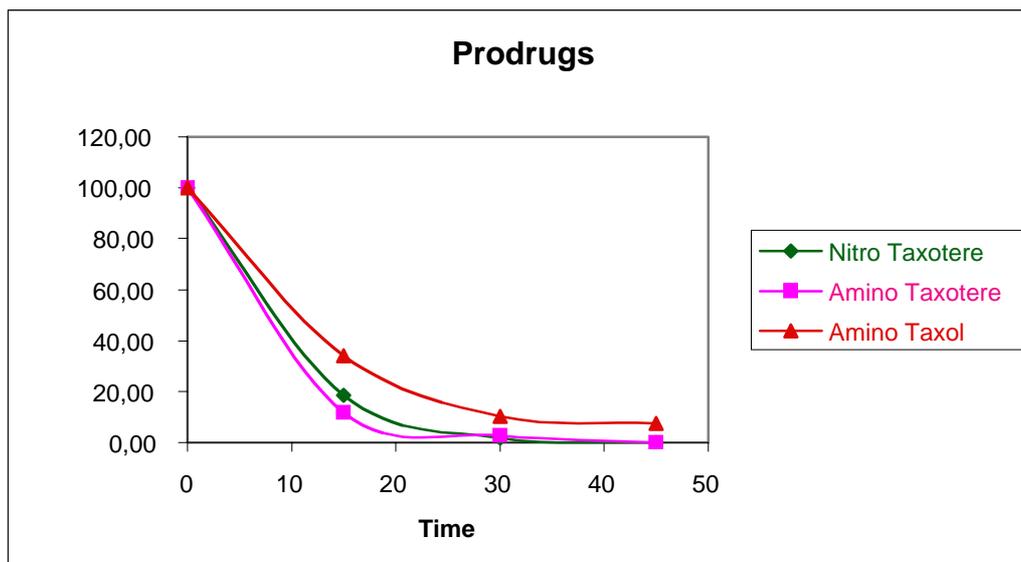


Figure II-12

Il faut remarquer également la non influence des groupements nitro et amino sur la cinétique de coupure de la liaison glycosidique. Toutefois, la prodrogue **221** du paclitaxel montre une vitesse d'hydrolyse légèrement inférieure aux prodrogues **225** et **226** du docetaxel. Ceci souligne encore une fois l'importance de la drogue dans la constitution de la prodrogue, l'explication de ces derniers résultats pouvant avoir pour origine les différences de conformations induites par la différence des deux agents antitumoraux.

En résumé, la synthèse de prodrogues tripartites du paclitaxel et du docetaxel avec espaceur double et résidu acide glucuronique a été menée à terme. Ce système montre de meilleurs résultats au niveau de la libération de la drogue que l'espaceur simple à cyclisation de la prodrogue **158**. l'approche que nous avons développée s'avère ainsi parfaitement validée. On prendra bonne note du bon comportement des espaceurs à élimination 1,6 présentant un groupement amino. Cela remet en perspective l'idée souvent admise que de tels espaceurs 4-hydroxybenzyle nécessitent un groupement fortement électro-attracteur pour être efficient.

Dans ce chapitre, nous nous sommes orientés vers la synthèse d'un nouvel espaceur, applicable à des drogues de squelette fragile, pour améliorer les caractéristiques des prodrogues. Une autre possibilité, à partir d'un système connu, est de modifier le site d'accroche de l'espaceur ; ceci est l'objet du chapitre suivant.

CHAPITRE III

INTRODUCTION

Comme suggéré dans l'introduction du Chapitre II, un moyen d'améliorer les cinétiques d'hydrolyse des prodrogues du paclitaxel est de modifier la position d'accrochage du bras espaceur. Par rapport à la prodrogue **158** décrite précédemment, les études de modélisation moléculaire ont montré que l'approche de l'enzyme pour son substrat pouvait être favorisée par ligation de l'espaceur en position 7.

Ainsi nous espérons pouvoir améliorer la cinétique d'hydrolyse enzymatique de la prodrogue et obtenir un système plus efficace en synthétisant la prodrogue **236** (Figure III-1).

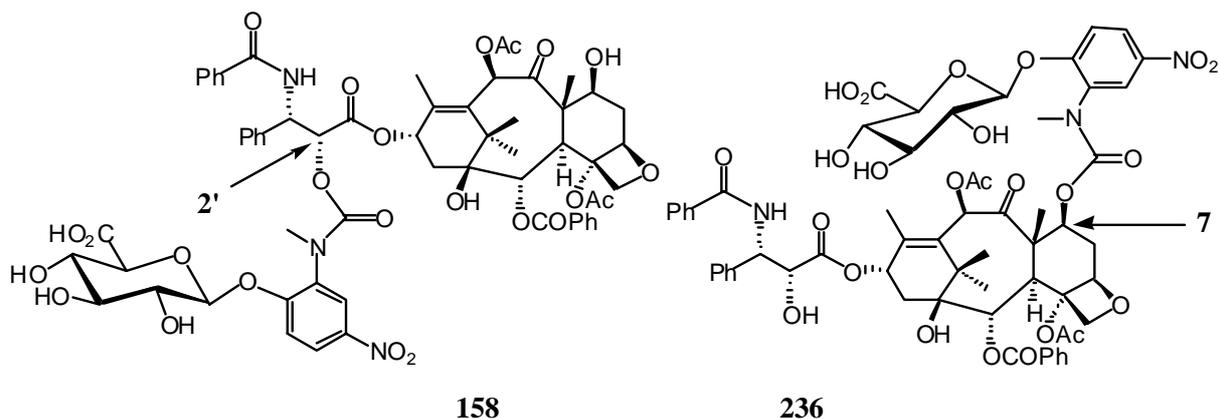


Figure III-1

L'espaceur employé est du type à cyclisation où le motif 4-nitrophénol se décompose de manière irréversible après hydrolyse enzymatique de l'acide glucuronique par la β -D-glucuronidase (Schéma III-1). Dans cette cyclisation, l'espèce active est l'ion phénate, forme présente à pH physiologique, notamment grâce à la présence du groupement nitro attracteur. Ceci favorise donc l'attaque nucléophile intramoléculaire sur la fonction carbamate, libérant *in fine* le principe actif.

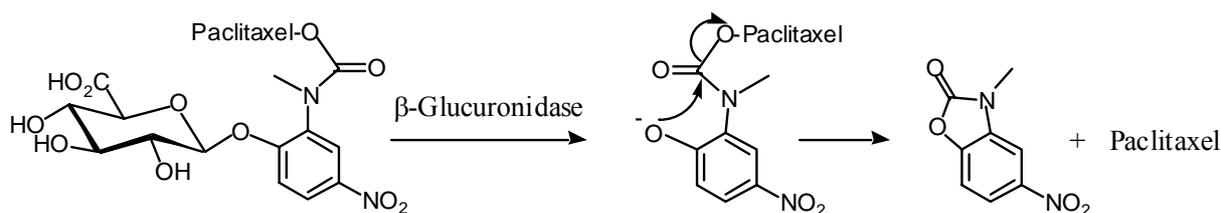


Schéma III-1

La *N*-méthylation accélère la réaction de cyclisation.²⁵⁶ De plus la tertiarisation de l'aniline permet de s'affranchir d'éventuels problèmes de décomposition des *N*-phénylcarbamates en milieu alcalin par un mécanisme E₁cB (Schéma III-2). En effet, ceci pourrait se traduire par une libération prématurée de la drogue dans le système circulatoire.²⁵⁷

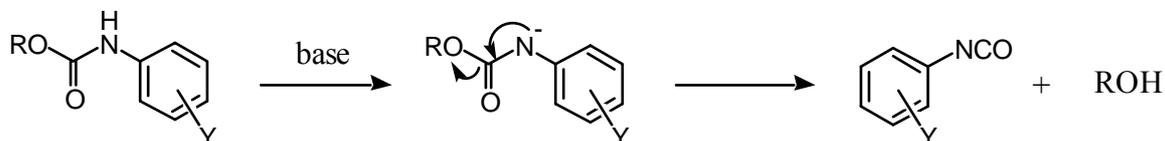


Schéma III-2

Ce chapitre concerne donc la synthèse de la prodrogue **236**. Les difficultés attendues seront le couplage en 7 pour former une liaison carbamate tertiaire après protection adaptée de l'hydroxyle 2'.

I) Bibliographie et rétrosynthèse

1) Bibliographie

A ce jour, les protocoles décrits de carbamoylation en 7 du paclitaxel ou de ses analogues relèvent tous du travail de Greenwald.¹⁷⁸ Le premier est la réaction d'un isocyanate sur un taxoïde correctement protégé en présence de quantité substoechiométrique de dibutyldilaurate d'étain Bu₂SnLau₂^{178, 258} ; toutefois, l'utilisation du catalyseur en quantité stoechiométrique s'avère parfois nécessaire pour obtenir des rendements satisfaisants.¹⁷⁸ Le faible nombre d'isocyanates clefs commerciaux et les problèmes de reproductibilité ont conduit à opter pour une autre stratégie.

Ainsi, dans un second temps, une autre route explorée est l'activation directe de la position 7 par le bis(trichlorométhyl)carbonate (triphosgène), un équivalent du phosgène. Les problèmes de stabilité des composés obtenus et leur non-isolément ne font pas de cette voie une approche générale des carbamates en 7.¹⁷⁸

Un bon substitut à ce qui précède est l'emploi de CDI (Carbonyl Diimidazole) qui représente la tactique la plus utilisée.^{178, 259, 260} Ceci consiste à activer la position 7 par le CDI puis déplacer le carbamate intermédiaire par un excès d'amine primaire (Schéma III-3). On prendra bonne note du fait que l'intermédiaire activé relativement stable est

chromatographiable.

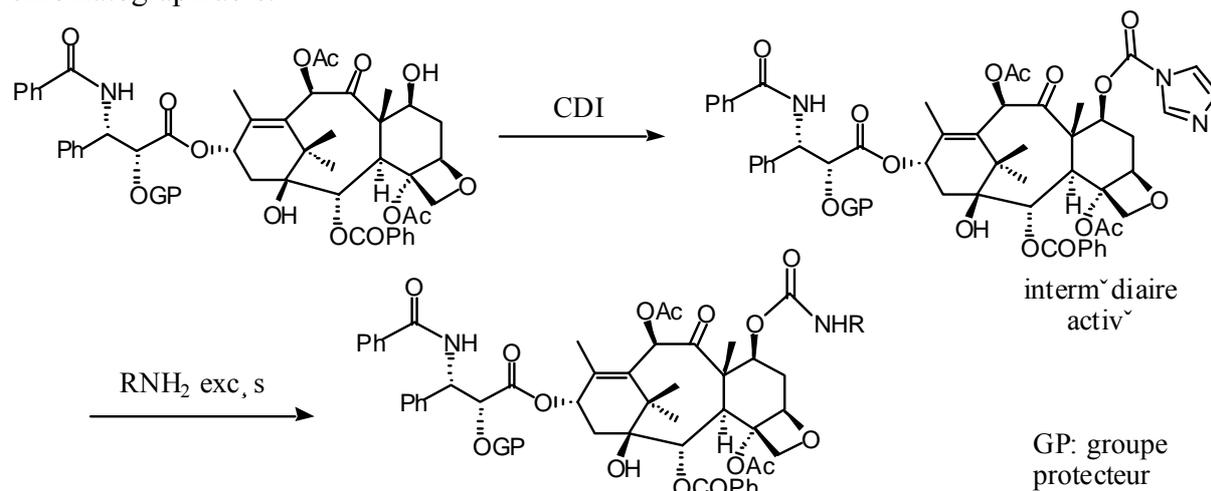


Schéma III-3

Le Tableau III-1 ci-dessous réunit les différents carbamates préparés en 7 du paclitaxel ; le groupement protecteur se réfère à la protection de l'hydroxyle en 2'.

GP	Amine/Isocyanate (éq.)	Conditions opératoires	Rd ^t	Réf.
Sur l'hydroxyle 7 libre				
Ac	PEG-NCO (3) (2000 et 5000)	Bu ₂ SnLau ₂ (1.5 éq.), CHCl ₃ 50°C, 48h	65%	178
MeOAc	Ph-NCO (2)	Bu ₂ SnLau ₂ (1 éq.), CH ₂ Cl ₂ reflux 18h	53%	
MeOAc	 (10)	Bu ₂ SnLau ₂ (0.3 éq.) THF 16h	ND	258
Sur l'hydroxyle 7 activé par le CDI				
MeOAc	PhNH ₂ (48)	<i>i</i> -PrOH, 40°C, 12h	60%	178
	NH ₃		60-70%	
	 HO-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂		58%	

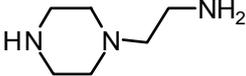
	 238		50-55%	
	NaO ₃ S(CH ₂) ₃ NH ₂ 239	DMSO, 40°C, 12h	50%	
MeOAc	PEG ₂₀₀₀ NH ₂ (1)	<i>i</i> -PrOH, reflux 21h	50%	
*	Acide sialique- (OCH ₂) ₃ NH ₂	<i>i</i> -PrOH - CH ₂ Cl ₂ /3-2 reflux	85%	259
MeOAc	R(OCH ₂) ₃ NH ₂ (10)	<i>i</i> -PrOH reflux 5h	82%	260
sur l'hydroxyle 7 activé sous forme de chlorure d'acyle				
Ac	PEG ₅₀₀₀ NH ₂ (2)	Triphosgène, pyridine CH ₂ Cl ₂ , 2h	31%	178

Tableau III-1

On peut constater d'emblée que tous les carbamates synthétisés sont secondaires, dérivant du fait que les amines couplées sont toutes primaires (ou sous forme d'isocyanate). Les rendements sont moyens dans l'ensemble et la reproductibilité parfois assez aléatoire.¹⁷⁸

2) Rétrosynthèse de 236

L'approche rétrosynthétique envisagée se décompose comme suit (Schéma III-4). La prodrogue cible **236** proviendrait, après déprotection exhaustive du motif glucuronique et du paclitaxel, du couplage entre l'alcool en 7 du noyau taxane protégé et le centre carbonylé activé du synthon **240** correctement protégé. Ce dernier découlerait du couplage glycosidique entre l'acide glucuronique **55** et le phénol **241** suivi du changement des groupes protecteurs du sucre.

Le composé **241** serait issu du 2-amino-4-nitrophénol commercial **242** et le bromosucrose de la glucurono-3,6-lactone **46** (cf. Chapitre I).

* La position 2' est déprotégée après activation de la position 7 par le CDI et avant couplage avec l'amine libre.

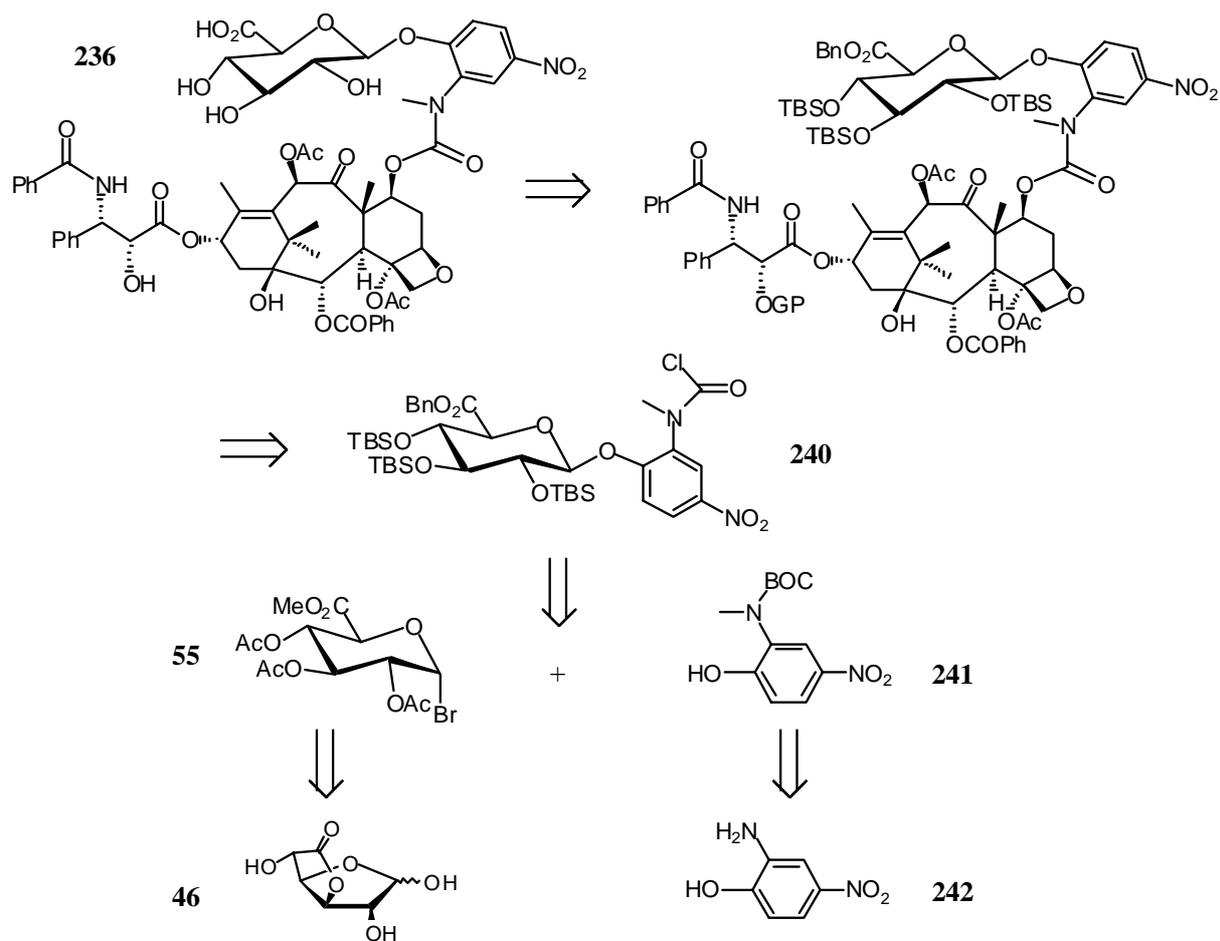


Schéma III-4

II) Protection du paclitaxel

D'un point de vue chimique, comme mentionné précédemment, l'hydroxyle en 2' est le plus réactif des trois présents sur le paclitaxel. Il convient donc d'abord de le protéger pour pouvoir ensuite envisager le couplage avec la partie espaceur **240**.

1) Bibliographie

La protection de l'hydroxyle 2' du paclitaxel par un éther de TBS est bien connue et s'effectue dans des conditions classiques. Malgré le nombre important d'équivalents d'agent silylant employé, la position 7 n'est jamais touchée et les rendements sont excellents (Tableau III-2).

L'introduction d'un TES sur cette même position est également documentée. Le nombre d'équivalents de réactif silylant est généralement moindre que dans les cas du TBS, de plus les rendements sont inférieurs car du paclitaxel est récupéré (Tableau III-2). Ceci s'explique en partie par la possible silylation de l'hydroxyle 7 ; ainsi il est préférable d'arrêter la réaction avant la formation de ce produit non désiré, même si le paclitaxel n'a pas complètement réagi.

On remarquera que la silylation de la position 7 par un TES de composés déjà protégés en 2' se fait dans des conditions plus dures que la simple silylation en 2' (Tableau III-2).

Produit de départ	Conditions réactionnelles	Rd ^t .	Réf.
2'-TBS-Paclitaxel			
Paclitaxel 1	TBSCl (10éq), Imid. (10éq) DMF, TA, 12h	quant.	261
Paclitaxel 1	TBSCl (10éq), DMAP (10éq) CH ₂ Cl ₂ , TA, 20h	95%	262
2'-TES-Paclitaxel			
Paclitaxel 1	TESCl (15éq), Pyridine (excès) CH ₂ Cl ₂ , TA, 20h	81% + 17% de 1	263
Silylation en 7 par TESCl			
2'-TBS-Paclitaxel	TESCl (10éq) Pyridine, TA, 12h	90%	261
2'-Bz-Paclitaxel	TESCl (5éq) Pyridine, 55°C, 15h	72%	263

Tableau III-2

L'importance d'un TBS en lieu et place d'un TES en position 2' est soulignée par le fait que la réactivité des composés est différente ; en particulier avec un TES, les phénomènes de type coupure de la chaîne latérale sont plus importants.²⁶¹

La protection de l'hydroxyle en 2' a été réalisée grâce à deux groupements silylés différents : le triéthylsilyle (TES) et le *tert*-butyldiméthylsilyle (TBS). Les avantages du

second sur le premier sont sa meilleure stabilité et un meilleur contrôle de la régiochimie de l'hydroxyle protégé ; par contre il peut, par son encombrement stérique, poser des problèmes de réactivité ou de conformation sur le composé protégé obtenu.

2) Protection par le TBS

Les premiers essais de protection du paclitaxel par du chlorure de TBS (TBSCl), à 25°C, que ce soit dans du CH₂Cl₂ avec de la DMAP ou dans le DMF avec de l'imidazole, se sont étonnamment révélés infructueux. Devant ce manque de réactivité, il a été décidé d'employer un réactif silylant plus puissant, en l'occurrence du TBSTf. En solution dans CH₂Cl₂, le paclitaxel s'est montré sensible au TBSTf et se décompose. Ceci est évité lorsque la réaction a pour solvant la pyridine, mais le paclitaxel ne réagit pas. En fin de compte, la protection a pu être effectuée en faisant réagir du TBSTf sur du paclitaxel en solution dans du CH₂Cl₂ et en présence de pyridine. L'inconvénient de la méthode est que le TBSTf est peu aisé à manipuler, surtout en petites quantités, et que, plus réactif que le TBSCl, il pourrait potentiellement silyler la position 7.

Ainsi, après qu'il eût été observé que, même en présence d'un grand excès de réactif silylant, seul l'hydroxyle en 2' était protégé, la méthode de choix qui s'est imposée a été de faire réagir un excès de TBSCl, en présence d'imidazole, dans CH₂Cl₂ en chauffant à 40°C (Schéma III-5).

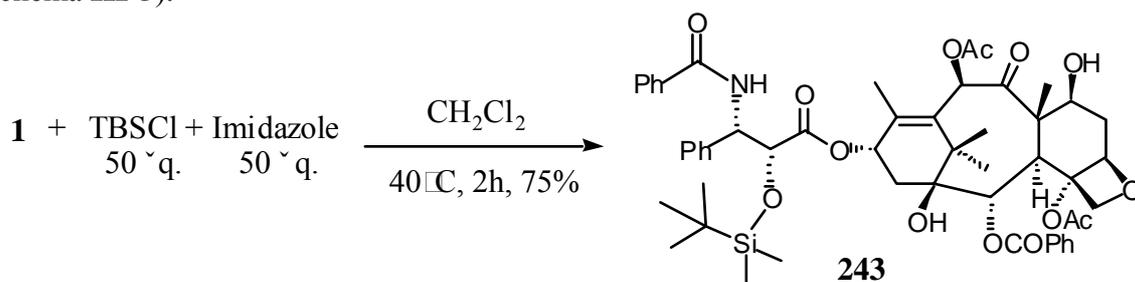


Schéma III-5

On peut déjà s'apercevoir ici de la difficulté d'accéder à la position 7, dans des conditions pourtant usuelles pour la silylation d'un hydroxyle secondaire (Protective Groups p127-132).

3) Protection par le TES

En ce qui concerne la protection par le TES, la problématique est opposée à la précédente. En effet, le TESCl est plus réactif que son homologue TBSCl du fait en particulier de sa taille plus réduite ; la difficulté n'a pas été de protéger la position 2' mais d'éviter de toucher à la position 7. Ceci étant d'autant plus mal aisé qu'il fallait quand même chauffer un peu le milieu pour avoir une réaction et donc jongler entre consommation du paclitaxel et formation du produit de bis-silylation. La mise au point de la réaction a toutefois permis d'obtenir les résultats satisfaisants, cohérents avec ceux décrits par ailleurs, détaillés dans le Schéma III-6.

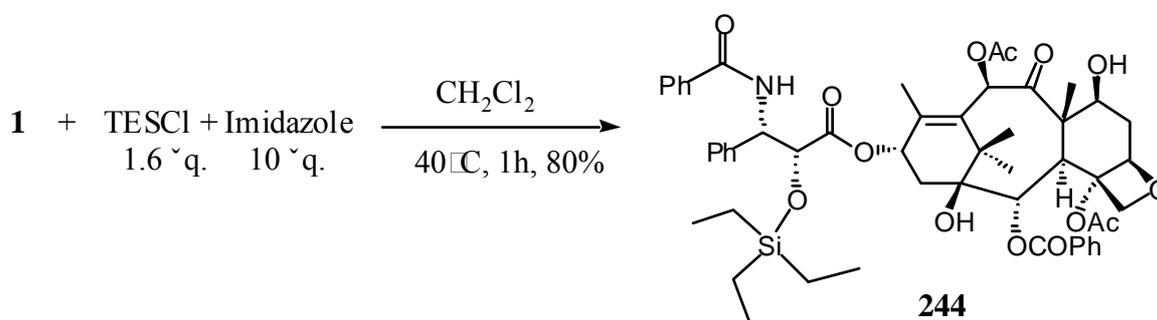


Schéma III-6

III) Préparation de l'intermédiaire 240

Le premier intermédiaire visé est celui issu du couplage glycosidique mais comportant les bons groupements protecteurs compatibles avec le paclitaxel.

Il faut en premier lieu obtenir l'analogue **246** avec les groupes acétates et ester méthylique sur le sucre.

1) Préparation de l'intermédiaire 246

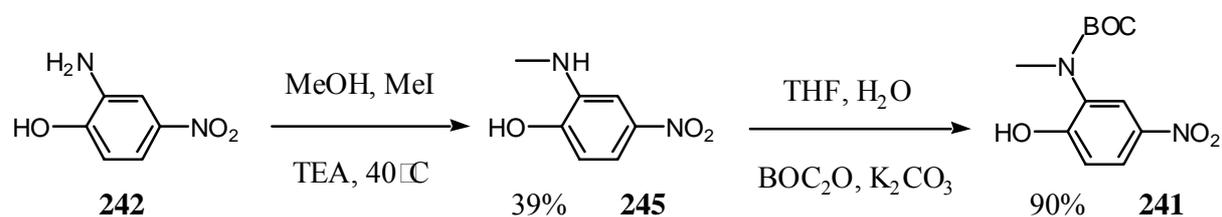
Il faut d'abord protéger convenablement le phénol **242** puis opérer un couplage avec le bromure **55**.

A partir du phénol commercial **242**, la première étape est une monométhylation, réaction assez délicate à effectuer. En effet dans les conditions d'Hoffman (MeI en présence de base),

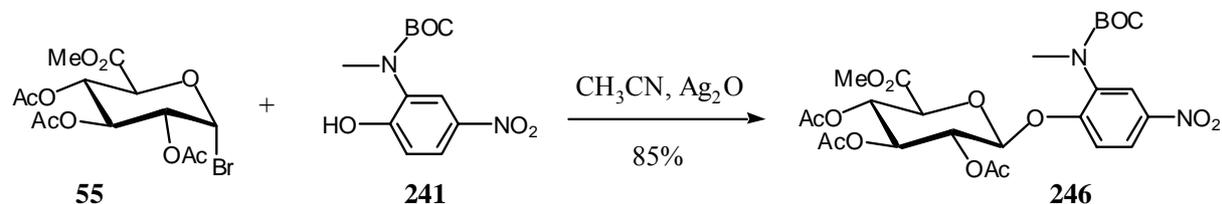
le produit de bis-méthylation est très souvent obtenu, et de manière non négligeable. Des aménagements expérimentaux permettent toutefois d'avoir de bons rendements.²⁶⁴

D'autres protocoles sont utilisés, du type Leuckart-Wallach reprenant la procédure d'Eschweiler-Clarke*, hydrogénation d'une imine intermédiaire²⁶⁵ ou encore *N*-formylation suivie d'une réduction au borane.²⁶⁶ L'inconvénient de ces modes opératoires est que le groupement nitro serait réduit dans ces conditions ; ils ne sont par conséquent pas applicables à notre cas.

Nous avons opté pour une méthylation classique au MeI sur un produit de départ commercial peu coûteux (Schéma III-7). L'aniline résultante **245** a ensuite été protégée par un BOC.



L'étape suivante est un couplage glycosidique classique entre un bromure et le phénol **241**. Les conditions usuelles de Koenigs-Knorr conduisent avec un bon rendement au composé **246** attendu (Schéma III-8).^{98, 99}

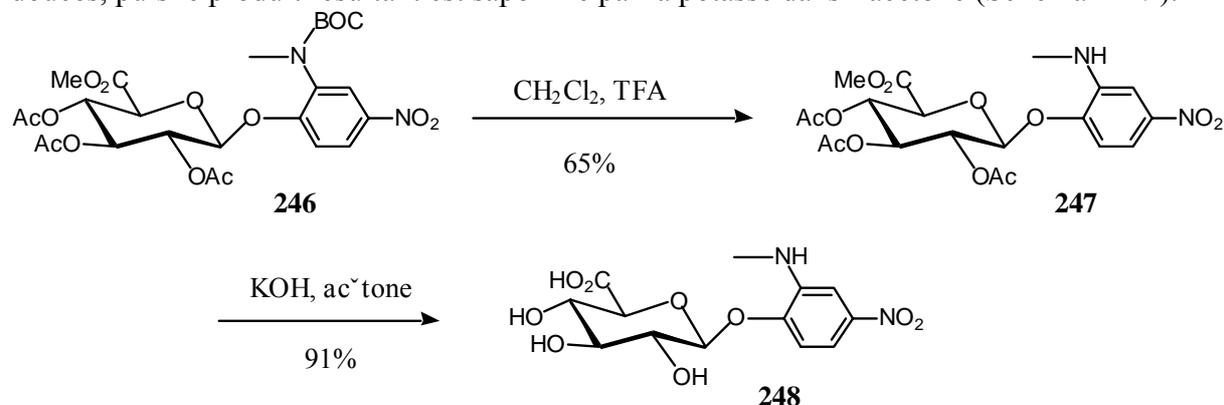


Il faut à présent changer les groupements protecteurs puisque nous nous trouvons dans la même situation qu'au Chapitre II avec le produit **168**.

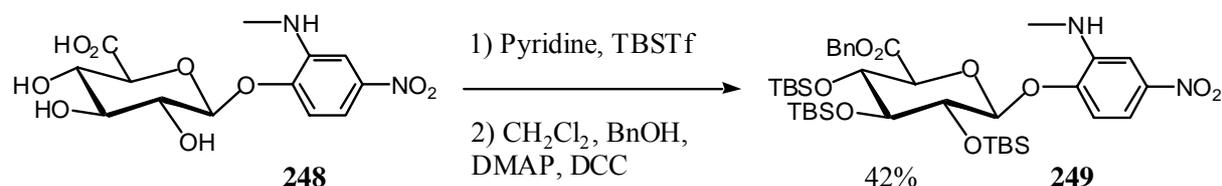
* Mélange d'acide formique et de formol, ce premier réduisant l'imine issu de la condensation de ce deuxième sur l'amine de départ.

2) Changement de groupements protecteurs

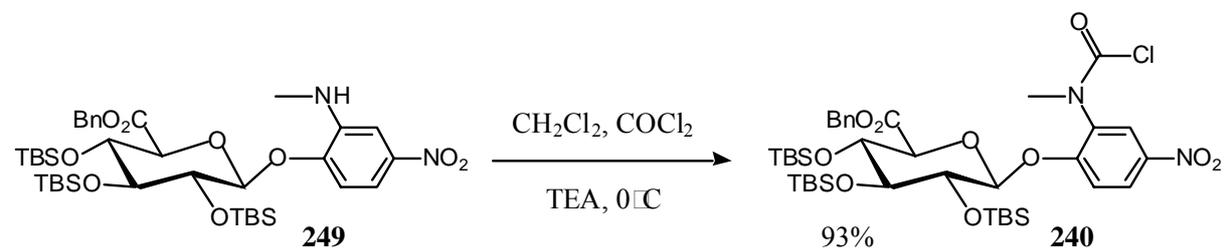
Le groupement BOC de **246** est d'abord hydrolysé en milieu acide dans des conditions douces, puis le produit résultant est saponifié par la potasse dans l'acétone (Schéma III-9).



Comme au paragraphe III.3 du Chapitre II, silylation et estérification sont opérées l'une à la suite de l'autre (Schéma III-10). Cependant ici le rendement des deux étapes est correct, bon même si on le compare au résultat du paragraphe sus-cité.



Enfin l'amine est activée classiquement par le phosgène pour mener au chlorure de carbamoyle **240**¹⁷² (Schéma III-11) chromatographiable prêt à être couplé.



Nous possédons à présent tous les éléments pour le couplage permettant l'accès à la prodrogue cible.

IV) Couplage

Pour le couplage, deux stratégies s'offrent *a priori* à nous. En effet, il faut dans cette réaction activer un des deux partenaires ; les deux voies correspondent donc à l'activation de l'un ou de l'autre.

1) Activation du paclitaxel

Nous avons d'abord pensé former un chloroformiate en position 7 pour le faire réagir sur l'amine **242** et établir le lien carbamate. Ceci est notamment utilisé pour la création de liaison ester ou carbonate sur cette position.¹⁷⁸ Le groupe de Dubowchik utilise ainsi le diphosgène pour former des liaisons carbamates en cette position, notamment lorsque l'emploi d'un carbonate activé se montre inefficace.⁵⁸

Le chloroformiate intermédiaire n'est évidemment pas purifié, le seul traitement est l'évaporation à la pompe à palettes du milieu réactionnel. Les essais avec du phosgène n'ont pas permis d'isoler le produit de couplage attendu, même lorsque une amine modèle simple comme la pipérazine était employée.

Par contre, une première tentative en utilisant cette fois le chloroformiate de trichlorométhyle (diphosgène) sur **243** puis addition d'une amine primaire, en l'occurrence la butylamine, a permis l'obtention du carbamate **252** caractérisé par RMN ¹H et SM (Schéma III-12). Cependant les limitations de cette procédure sont le faible rendement et l'emploi d'une amine primaire, qui semble un point important.

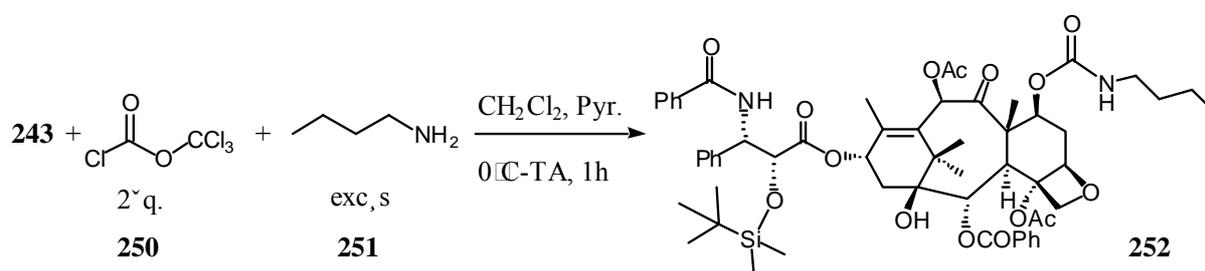


Schéma III-12

Ce protocole a toutefois été ensuite adapté à l'amine **249** ; aucune tentative, aussi bien sur le paclitaxel protégé par un TBS que par un TES, n'a permis l'obtention du carbamate visé. Les essais effectués n'ont donc pas permis de trouver des conditions satisfaisantes pour le

couplage et sont restés infructueux de par le contrôle délicat de la formation du chloroformiate intermédiaire et sa fragilité, et aussi largement du fait de la faible réactivité nucléophile de l'amine aromatique **249**.

Une activation par le chloroformiate de 4-nitrophénol a aussi été envisagée sur **244**, mais le composé ne semble pas assez réactif dans ces conditions (CH_2Cl_2 , TEA ou DIPEA, TA 24h) pour créer le carbonate activé. Enfin la méthode au CDI avec le 2'-TBS-paclitaxel en one-pot avec l'amine **249** n'a rien donné non plus.

Tout cela nous a conduits à abandonner cette approche pour nous tourner vers l'activation de l'amine.

2) Couplage avec l'amine activée

Notre seconde stratégie a alors consisté à utiliser la fonction amine de **249** activée sous forme d'un chlorure de carbamoyle **240**.

Les différents essais avec **243** et le chlorure de carbamoyle **240** sont rassemblés dans le Tableau III-3.

Réactifs	Solvant	Produits
DMAP (2éq.), TEA (2éq.)	CH_2Cl_2	Amine 240
DMAP (xs)	DMF	243
DMAP (xs)	CH_2Cl_2	243
DMAP (xs), DCC (5éq.)	reflux CH_2Cl_2 18h	243

Tableau III-3

L'usage de DCC et DMAP est très courant pour la formation d'esters en 7 du paclitaxel c'est pourquoi nous l'avons envisagé.^{179, 267} Malgré les nombreuses tentatives, le paclitaxel protégé par un TBS en 2' se montre peu réactif.

Paradoxalement, le couplage avec **244** dans les conditions DCC et DMAP a permis d'obtenir le carbamate **253** tant voulu (Schéma III-13). Certes le rendement est assez faible et le produit, même après chromatographies, encore impur (présence de DCU/DCC).

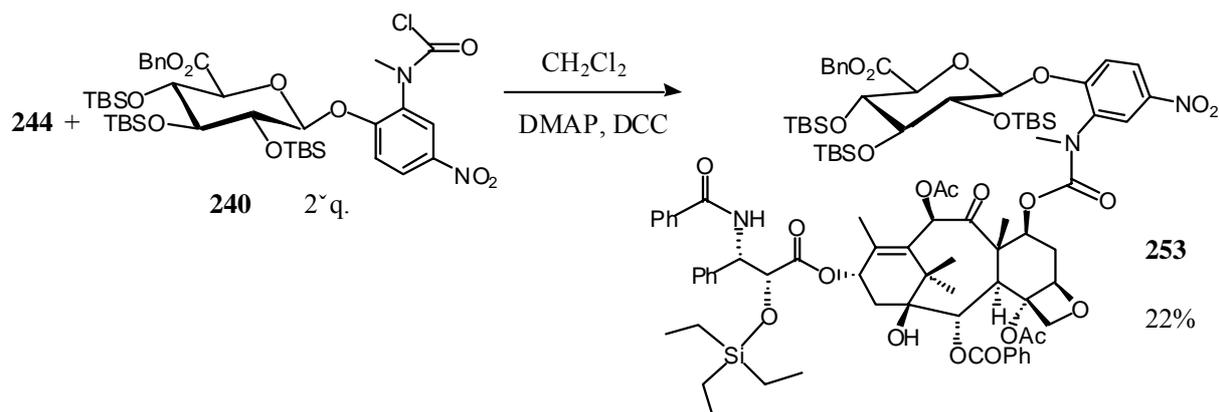


Schéma III-13

Maintenant que la prodrogue cible protégée a été obtenue, il faut effectuer les réactions de déprotections qui conduiront à **236**.

3) Déprotections de 253

Les deux hydrolyses successives, silyles puis ester benzylique, s'effectuent dans les conditions classiques déjà décrites dans ce document (Schéma III-14).

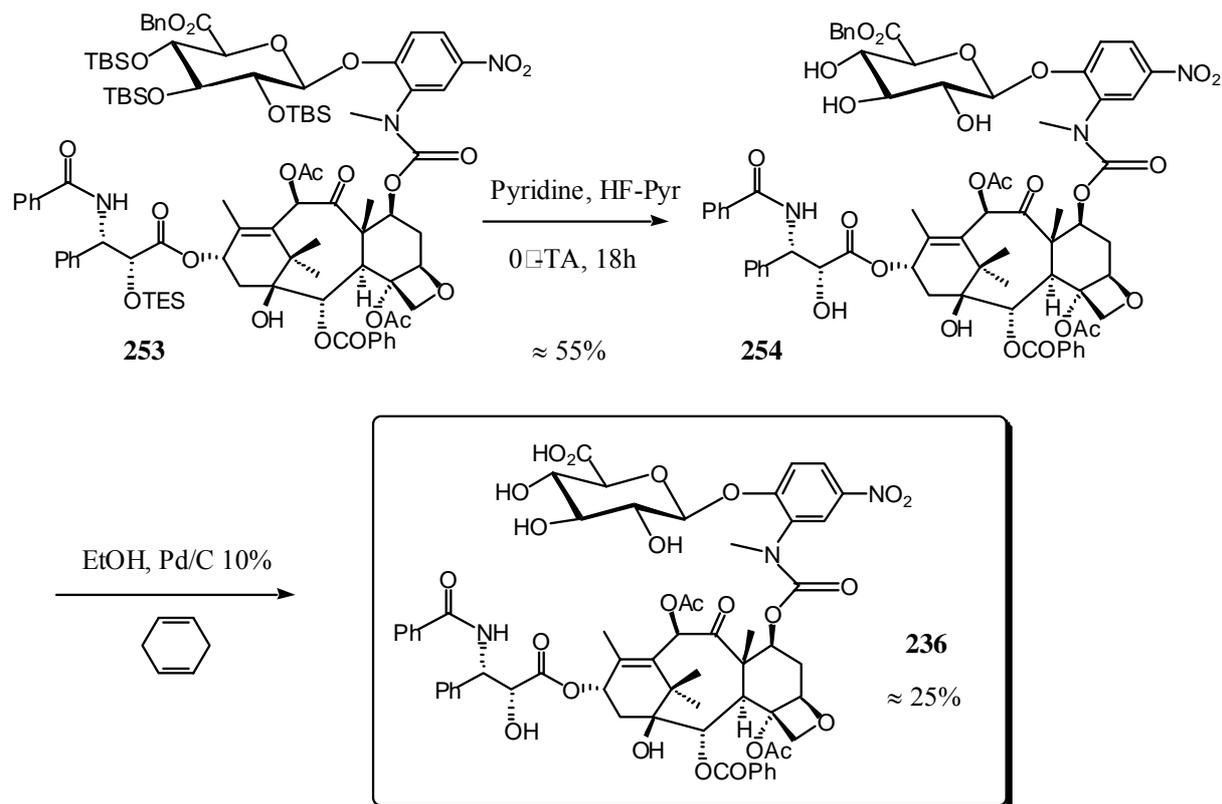


Schéma III-14

La prodrogue **236** a été obtenue sous sa forme déprotégée mais des problèmes majeurs de purification et de caractérisation, dus en partie aux faibles quantités mises en jeu, se posent encore. En effet, malgré les multiples chromatographies effectuées, la RMN ^1H n'est pas entièrement exploitable, seuls les spectres de masse effectués sur chaque intermédiaire permettant de s'assurer de la présence du bon produit et d'avancer un peu plus sûrement. L'acquisition d'une HPLC préparative moderne permettrait peut-être de résoudre ces problèmes de purification qui sont d'ailleurs souvent rencontrés avec des composés comportant un acide glucuronique libre.

Vu la faible quantité de prodrogue **236** isolée, et sa pureté insuffisante, aucune caractéristique biologique aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* n'a été effectuée. Cependant, c'est à notre connaissance, à ce jour, le seul carbamate tertiaire obtenu en position 7 du paclitaxel.

1. Wood, K.W., Cornwell, W.D. et Jackson, J.R., *Curr. Opin. Pharmacol.* **2001**, *1*(4), p. 370-377.
2. Alberts, B., Bray, D., Lewis, J.C., Raff, M., Roberts, K. et Watson, J.D., *Garland Publishing, Inc., New York (NY)* **1983**.
3. Nicolaou, K.C., Dai, W.-M. et Guy, R.K., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, p. 15-44.
4. Schiff, P.B., Fant, J. et Horwitz, S.B., *Nature* **1979**, *277*, p. 665-667.
5. Manfredi, J.J. et Horwitz, S.B., *Pharmac. Ther.* **1984**, *25*, p. 83-125.
6. Nogales, E., Wolf, S.G., Khan, I.A., Luduena, R.F. et Downing, K.H., *Nature (Lond.)* **1995**, *375*, p. 424-427.
7. Schiff, P.B. et Horwitz, S.B., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, *77*(3), p. 1561-1565.
8. Blagosklonny, M.V. et Fojo, T., *Int. J. Cancer* **1999**, *83*, p. 151-156.
9. Appendino, G., *Fitoterapia* **1993**, *1* (suppl. 1), p. 5-27.
10. Vohora, S.B. et Kumar, I., *Planta Med.* **1971**, *20*, p. 100-107.
11. Wall, M.E. et Wani, M.C., *Cancer Res.* **1995**, *55*, p. 753-760; Wall, M.E., *Med. Res. Rev.* **1998**, *18*(5), p. 299-314.
12. Wani, M.C., Taylor, H.L., Wall, M.E., Coggon, P. et McPhail, A.T., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*(9), p. 2325-2337.
13. Kingston, D.G.I., *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, p. 726-734.
14. Fuchs, D.A. et Johnson, R.K., *Cancer Treat. Rep.* **1978**, *62*, p. 1219-1222.
15. Le, X.F., Hittelman, W.N., Liu, J., McWatters, A., Li, C., Mills, G.B. et Bast, R.C., Jr., *Oncogene* **2003**, *22*(4), p. 484-497.
16. Yusuf, R.D., Duan, Z., Lamendola, D.E., Penson, R.T. et Seiden, M.V., *Current Cancer Drug Targets* **2003**, *3*(1), p. 1-19.
17. Eisenhauer, E.A. et Vermoken, J.B., *Drugs* **1998**, *55*, p. 5-30.
18. Samaranyake, G., Magri, N.F., Jitrangri, C. et Kingston, D.G., *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, p. 5114-5119; Chen, S.-H., Wei, J.-M. et Farina, V., *Tet. Lett.* **1993**, *34*(20), p. 3205-3206.
19. Holton, R.A., Somoza, C., Kim, H.-B., Liang, F., Biediger, R.J., Boatman, P.D., Shindo, M., Smith, C.C., Kim, S., Nadizadeh, H., Suzuki, Y., Tao, C., Vu, P., Tang, S., Zang, P., Murthi, K.K., Gentile, L.N. et Liu, J.H., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*(19), p. 1597-1598; Holton, R.A., Somoza, C., Kim, H.-B., Liang, F., Biediger, R.J., Boatman, P.D., Shindo, M., Smith, C.C., Kim, S., Nadizadeh, H., Suzuki, Y., Tao, C., Vu, P., Tang, S., Zang, P., Murthi, K.K., Gentile, L.N. et Liu, J.H., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*(19), p. 1599-1600; Nicolaou, K.C., Yang, Z., Liu, J.J., Ueno, H., Nantermet, P.G., Guy, R.K., Clairborne, C.F., Renaud, J., Couladouros, E.A., Paulvannan, K. et Sorensen, E.J., *Nature* **1994**, *367*, p. 630-634; Nicolaou, K.C., Nantermet, P.G., Ueno, H., Guy, R.K., Couladouros, E.A. et Sorensen, E.J., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(2), p. 624-633; Nicolaou, K.C., Liu, J.-J., Yang, Z., Ueno, H., Sorensen, E.J., Clairborne, C.F., Guy, R.K., Hwang, C.-K., Nakada, M. et Nantermet, P.G., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(2), p. 634-644; Nicolaou, K.C., Yang, Z., Liu, J.-J., Nantermet, P.G., Clairborne, C.F., Renaud, J., Guy, R.K. et Shibayama, K., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(2), p. 645-652; Nicolaou, K.C., Ueno, H., Liu, J.-J., Nantermet, P.G., Yang, Z., Renaud, J., Paulvannan, K. et Chadha, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(2), p. 653-659; Wender, P.A., Badham, N.F., Conway, S.P., Floreancig, P.E., Glass, T.E., Granicher, C., Houze, J.B., Janichen, J., Lee, D., Marquess, D.G., McGrane, P.L., Meng, W., Mucciario, T.P., Muhlebach, M., Natchus, M.G., Paulsen, H., Rawlins, D.B., Satkofsky, J., Shuker, A.J., Sutton, J.C., Taylor, R.E. et Tommoka, K., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, p. 2755-2756; Danishefsky, S.J., Masters, J.J., Young, W.B., Link, J.T., Snyder, L.B., Magee, T.V., Jung, D.K., Isaacs, R.C.A., Bornmann, W., Alaimo, C.A., Coburn, C.A. et Di Grandi, M.J., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, p. 2843-2859; Wender, P.A., Badham, N.F., Conway, S.P., Floreancig, P.E., Glass, T.E., Houze, J.B., Kraus, N.E., Lee, D., Marquess, D.G., McGrane, P.L., Meng, W., Natchus, M.G., Shuker, A.J., Sutton, J.C. et Taylor, R.E., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, p. 2756-2757;

- Mukaiyama, T., Shiina, I., Iwadare, H., Saito, H., Nishimura, T., Ohkawa, N., Sakoh, H., Nishimura, K., Tani, Y.-i., Hasegawa, M., Yamada, K. et Saitoh, K., *Chem. Eur. J.* **1999**, *5(1)*, p. 121-161; Kusama, H., Hara, R., Kawahara, S., Nishimori, T., Kashima, H., Nakamura, N., Morihira, K. et Kuwajima, I., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, p. 3811-3820.
20. Chauvière, G., Guénard, D., Picot, F., Sénilh, V. et Potier, P., *C. R. Acad. Sci. Paris, Ser. 2* **1981**, *293*, p. 501-503.
21. Sénilh, V., Guéritte, F., Guénard, D., Colin, M. et Potier, P., *C. R. Acad. Sci. Paris, Ser. 2* **1984**, *299*, p. 1039-1042.
22. Guéritte-Voegelein, F., Sénilh, V., David, B., Guénard, D. et Potier, P., *Tet.* **1986**, *42(16)*, p. 4451-4460.
23. Mangatal, L., Adeline, M.T., Guénard, D., Guéritte-Voegelein, F. et Potier, P., *Tet.* **1989**, *45(13)*, p. 4177-4190.
24. Slichenmyer, W.J. et Von Hoff, D.D., *Anti Cancer Drugs* **1991**, *2*, p. 519-530; Chabner, B.A., *Taxol. PPO Updates* **1991**, *5(9)*, p. 1-10; Szebeni, J., Muggia, F.M. et Alving, C.R., *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, *90*, p. 300-306.
25. Guénard, D., Guéritte-Voegelein, F. et Potier, P., *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, p. 160-167; Guéritte, F., *Curr. Pharm. Des.* **2001**, *7(13)*, p. 1229-1249.
26. Hepperle, M. et Georg, G.I., *Drugs of the Future* **1994**, *19(6)*, p. 573-584.
27. Dubois, J., Thoret, S., Guéritte, F. et Guénard, D., *Tet. Let.* **2000**, *41*, p. 3331-3334.
28. Guénard, D., Thoret, S., Dubois, J., Adeline, M.-T., Wang, Q. et Guéritte, F., *Bioorg. & Med. Chem.* **2000**, *8*, p. 145-156.
29. Lorenz, S.A., Bigwarfe, P.M., Balasubramanian, S.V., Fetterly, G.J., Straubinger, R.M. et Wood, T.D., *J. Pharm. Sci.* **2002**, *91(9)*, p. 2057-2066.
30. Dubowchik, G.M. et Walker, M.A., *Pharmacology and therapeutics* **1999**, *83(2)*, p. 67-123; Xu, G. et McLeod, H.L., *Clinical Cancer Research* **2001**, *7*, p. 3314-3324; Garnett, M.C., *Advan Drug Delivery Rev* **2001**, *53(2)*, p. 171-216; Denny, W.A., *Eur J Med Chem* **2001**, *36(7-8)*, p. 577-595.
31. Senter, P.D. et Springer, C.J., *Advan Drug Delivery Rev* **2001**, *53(3)*, p. 247-264; Monneret, C. et Florent, J.-C., *Bull. Cancer* **2000**, *87(11)*, p. 829-838.
32. Carter, P., *Nature Reviews Cancer* **2001**, *1*, p. 118-129.
33. Georg-Speyer-Haus, L., *Readings in Pharmacology* **1962**, Louis Shuster, Ed. (Little, Brown and Company, Boston, MA).
34. Mathé, G., Loc, T.B. et Bernard, J., *C. R. Acad. Sci. Paris* **1958**, *246*, p. 1626-1628.
35. Kohler, G. et Milstein, C., *Nature* **1975**, *256*, p. 495-507.
36. Dall'Acqua, W. et Carter, P., *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1998**, *8*, p. 443-450.
37. Koppel, G.A., *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1*, p. 13; Bundgard, H., *Drugs of the Future* **1991**, *16*, p. 443; Goldenberg, D.M., *American Journal of Medicine* **1993**, *14*, p. 297-312; Jungheim, L. et Sheperd, T., *Chem. Rev.* **1994**, *94*, p. 1553-1566.
38. Guillemard, V. et Saragovi, H.U., *Cancer Res.* **2001**, *61*, p. 694-699.
39. Ojima, I., Geng, X.D., Wu, X.Y., Qu, C.X., Borella, C.P., Xie, H.S., Wilhelm, S.D., Leece, B.A., Bartle, L.M., Goldmacher, V.S. et Chari, R.V.J., *J. Med. Chem.* **2002**, *45(26)*, p. 5620-5623.
40. Niculescu-Duvaz, I. et Springer, C.J., *Current Medicinal Chemistry* **1995**, *2*, p. 687-706.
41. Charpin, C., Bhan, A.K., Zurawski, V.R. et Scully, R.E., *Internat. Journal of Gynecol. Pathol.* **1982**, *1*, p. 231-245; Del Vecchio, S., Reynolds, J.C., Blasberg, R.G., Neumann, R.D., Carrasquillo, J.A., Hellstrom, I. et Larson, S.M., *Cancer Res.* **1988**, *48*, p. 5475-5481.
42. Del Vecchio, S., Reynolds, J.C., Carrasquillo, J.A., Blasberg, R.G., Neumann, R.D., Lotze, M.T. et Bryant, G.J., *Cancer Res.* **1989**, *49*, p. 2783-2789.
43. Pimm, M.V., *CRC Critical Review in Therapeutical Drug Carrier Systems* **1988**, *5*, p. 189-227.

44. Lewis, J.C., Bagshawe, K.D. et Keep, P.A., *Oncodevelopm. Biol. Medicine* **1982**, 3, p. 161-168.
45. Brinkley, M., *Bioconjugate Chem.* **1992**, 3, p. 2-13.
46. Breistol, K., Balzarini, J., Sandvold, M.L., Myhren, F., Martinsen, M., De Clercq, E. et Fodstad, O., *Cancer Res.* **1999**, 59, p. 2944-2949.
47. Torkelson, A.R., LaBudde, J.A. et Weikel, J.H., *Drug Met. Rev.* **1974**, 3, p. 131-165.
48. Bundgard, H., *Advan. Drug Deliv. Rev.* **1989**, 3(1), p. 39-65.
49. Bosslet, K., Czech, J. et Hoffmann, D., *Tumor Targeting* **1995**, 1, p. 45-50.
50. Bosslet, K., Straub, R., Blumrich, M., Czech, J., Gerken, M., Sperker, B., Kroemer, H.K., Gesson, J.-P., Koch, M. et Monneret, C., *Cancer research* **1998**, 58(6), p. 1195-1201.
51. Bosslet, K., Straub, R., Gerken, M., Petrul, H., Czech, J., Florent, J.-C., Koch, M., Tillequin, F., Schmidt, F., Monneret, C. et Gesson, J.-P., *4. Salzburger Symposium zur Lebensqualität chrinisch Kranker* **1996**, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, p. 123-130; Murdter, T.E., Sperker, B., Kivisto, K.T., McClellan, M., Fritz, P., Friedel, G., Linder, A., Bosslet, K., Toomes, H., Dierkesmann, R. et Kroemer, H.K., *Cancer Res.* **1997**, 57(12), p. 2440-2445.
52. Fishman, W., *J. Biol. Chem.* **1947**, 169, p. 449-450.
53. Cobb, L.M., Connors, T.A., Elson, L.A., Khan, A.H. et Mitchley, B.V.C., *Biochem. Pharmacol.* **1969**, 18, p. 1519-1527.
54. Knox, R.J., Friedlos, F., Marchbank, T. et Roberts, J.J., *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 42, p. 1691-1697.
55. Yamashita, J.-I. et Ogawa, M., *Int. J. Oncol.* **1997**, 10, p. 807-823.
56. Smal, M.A., Dong, Z., Cheung, H.T.A., Asano, Y., Escoffier, L., Costello, M. et Tattersall, M.H.N., *Biochem. Pharmacol.* **1995**, 49(4), p. 567-574.
57. Denmeade, S.R., Nagy, A., Gao, J., Lilja, H., Schally, A.V. et Isaacs, J.T., *Cancer Res.* **1998**, 58(12), p. 2537-2540.
58. Dubowchik, G.M. et Radia, S., *Tet. Lett.* **1997**, 38(30), p. 5257-5260; Dubowchik, G.M., Mosure, K., Knipe, J.O. et Firestone, R.A., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, p. 3347-3352.
59. Carl, P.L., Chakravarty, P.K., Katzenellenbogen, J.A. et Weber, M.J., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1980**, 77, p. 2224-2228.
60. de Groot, F.M.H., van Berkomp, L.W.A. et Scheeren, H.W., *J. Med. Chem.* **2000**, 43(16), p. 3093-3102.
61. Denny, W.A., Wilson, W.R. et Hay, M.P., *Brit. J. Cancer* **1996**, 74(Suppl. XXVII), p. 32-38.
62. Stubbs, M., Rodrigues, L., Howe, F.A., Wang, J.Y., Jeong, K.-S., Veech, R.L. et Griffiths, J.R., *Cancer Res.* **1994**, 54, p. 4011-4016.
63. Yamagata, M. et Tannock, I.F., *Brit. J. Cancer* **1996**, 73, p. 1328-1334.
64. Botero, D.P. et Liotta, L.A., *Nature* **2003**, 423, p. 593-595.
65. Höckel, M. et Vaupel, P., *Semin. Oncol.* **2001**, 28 (suppl. 8)(2), p. 36-41.
66. Pennacchietti, S., Michieli, P., Galluzzo, M., Mazzone, M., Giordano, S. et Comoglio, P.M., *Cancer Cell* **2003**, 3(4), p. 347-361.
67. Connors, T.A., *Gene therapy* **1995**, 2(10), p. 702-709.
68. NiculescuDuvaz, I., Spooner, R., Marais, R. et Springer, C.J., *Bioconjugate Chemistry* **1998**, 9(1), p. 4-22; Rigg, A. et Sikora, K., *Mol. Med. Today* **1997**, 3, p. 359-366; Springer, C.J. et NiculescuDuvaz, I., *J Clin Invest* **2000**, 105(9), p. 1161-1167.
69. Izquierdo, M., Martin, V., de Felipe, P., Izquierdo, J., Perez-Higueras, A., Cortes, M., Paz, J., Isla, A. et Blaquez, M., *Gene Therapy* **1996**, 3, p. 491-495.
70. Curiel, D.T., *Clin. Cancer Res.* **2000**, 6, p. 3395-3399; Grove, J.I., Searle, P.F., Weedon, S.J., Green, N.K., McNeish, I.A. et Kerr, D.J., *Anti Cancer Drug Des* **1999**, 14(6), p. 461-472.

71. Bagshawe, K.D., *Brit. J. Cancer* **1987**, *56*, p. 531-532; Senter, P.D., Saulnier, M.G. et Schreiber, G.J., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1988**, *85*, p. 4842-4846.
72. Jung, M., *Mini Rev. Med. Chem.* **2001**, *1(4)*, p. 399-407.
73. Bagshawe, K.D., Springer, C.J., Antoniow, P., Sharma, S.K., Melton, R.G. et Sherwood, R.F., *Brit. J. Cancer* **1988**, *58*, p. 700-703.
74. Bosslet, K., Czech, J., Lorenz, P., Sedlacek, H.H., Schuermann, M. et Seemann, G., *Brit. J. Cancer* **1992**, *65(2)*, p. 234-238.
75. Hellström, K.E. et Senter, P.D., *Eur. J. Cancer* **1991**, *27*, p. 1342-1343; Bagshawe, K.D., *Clinical Pharmacokinetics* **1994**, *27(5)*, p. 368-376.
76. Huennekens, F.M., *Tibtech* **1994**, *12*, p. 234.
77. Gold, P. et Freedman, S.O., *J. Exp. Med.* **1965**, *122*, p. 467-481.
78. Johnson, J.P., *Int. J. Clin. Lab. Res.* **1992**, *22*, p. 69-72.
79. Nap, M., Mollgard, K., Burtin, P. et Van Fleuren, G., *Tumor Biol.* **1988**, *9*, p. 145-153.
80. Pietersz, G.A. et MacKenzie, A.R., *Immunol. Rev.* **1992**, *129*, p. 57-80.
81. Slichenmyer, W.J., Bookman, M.A., Gilewski, T.A., Murray, J.L., Saleh, M.N., Dougan, M., Healey, D. et Onetto, N., *Abstracts of the 211th ACS conference, Washington DC: American Chemical Society* **1996**.
82. NiculescuDuvaz, I. et Springer, C.J., *Advan. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *26(2-3)*, p. 151-172; Deonarain, M.P. et Epenetos, A.A., *Brit. J. Cancer* **1994**, *70*, p. 786.
83. Atwell, G.J., Boyd, M., Palmer, B.D., Anderson, R.F., Pullen, S.M., Wilson, W.R. et Denny, W.A., *Anti Cancer Drug Design* **1996**, *11(7)*, p. 553-567.
84. Haisma, H.J., van-Muijen, M., Pinedo, H.M. et Boven, E., *Cell Biophys.* **1994**, *24*, p. 25185-25192.
85. Schmidt, F. et Monneret, C., *J Chem Soc Perkin Trans* **2002**, *1(10)*, p. 1302-1308.
86. Melton, R.G. et Sherwood, R.F., *Journal of the National Cancer Institute* **1996**, *88(3-4)*, p. 153-165; Melton, R.G., *Advan. Drug Delivery Rev.* **1996**, *22(3)*, p. 289-301.
87. Bagshawe, K.D. et Begent, R.H.J., *Advan. Drug Deliv. Rev.* **1996**, *22(3)*, p. 365-367.
88. Martin, J., Stribbling, S.M., Poon, G.K., Begent, R.H., Napier, M., Sharma, S.K. et Springer, C.J., *Cancer chemotherapy and pharmacology* **1997**, *40(3)*, p. 189-201.
89. Stein, R., Goldenberg, D.M., Ong, G.L., Thorpe, S.R. et Mattes, M.J., *J. Nucl. Med.* **1997**, *38*, p. 1392-1400.
90. Haisma, H.J., Van-Muijen, M., Scheffer, G., Scheper, R.J., Pinedo, H.M. et Boven, E., *Hybridoma* **1995**, *14(4)*, p. 377-382.
91. Bosslet, K., Czech, J. et Hoffmann, D., *Cancer Res.* **1994**, *54*, p. 2151-2159.
92. Connors, T.A., *Xenobiotica* **1986**, *16*, p. 975-988; Wilman, D.E.V., *Current Opinion in Therapeutic Patents* **1992**, p. 364-373.
93. Hay, M.P., Wilson, W.R. et Denny, W.A., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1995**, *5(23)*, p. 2829-2834.
94. Chen, B.M., Cheng, T.L., Tzou, S.C. et Roffler, S.R., *Int J Cancer* **2001**, *94(6)*, p. 850-858.
95. Shan, D.X., Nicolaou, M.G., Borchardt, R.T. et Wang, B.H., *J. Pharm. Sci.* **1997**, *86(7)*, p. 765-767.
96. Houba, P.H., Leenders, R.G., Boven, E., Scheeren, J.W., Pinedo, H.M. et Haisma, H.J., *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *52(3)*, p. 455-463.
97. de Bont, D.B., Leenders, R.G., Haisma, H.J., van-der-Meulen-Muileman, I. et Scheeren, H.W., *Bioorg. & Med. Chem.* **1997**, *5(2)*, p. 405-414.
98. Schmidt, F., Florent, J.-C., Monneret, C., Straub, R., Czech, J., Gerken, M. et Bosslet, K., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1997**, *7(8)*, p. 1071-1076.

99. Desbene, S., Van, H.D., Michel, S., Tillequin, F., Koch, M., Schmidt, F., Florent, J.-C., Monneret, C., Straub, R., Czech, J., Gerken, M. et Bosslet, K., *Anti cancer drug design* **1999**, *14*(2), p. 93-106.
100. Florent, J.-C., Dong, X., Gaudel, G., Mitaku, S., Monneret, C., Gesson, J.-P., Jacquesy, J.-C., Mondon, M., Renoux, B., Andrianomenjanahary, S., Michel, S., Koch, M., Tillequin, F., Gerken, M., Czech, J., Straub, R. et Bosslet, K., *Journal of medicinal chemistry* **1998**, *41*(19), p. 3572-3581.
101. Mindl, J., Hrabik, O., Sterba, V. et Kavalk, J., *Collect. Czech. Chem. Comm.* **2000**, *65*, p. 1262-1272.
102. Greenwald, R.B., Choe, Y.H., Conover, C.D., Shum, K., Wu, D. et Royzen, M., *J. Med. Chem.* **2000**, *43*(3), p. 475-487.
103. Wang, B., Zhang, H. et Wang, W., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*(8), p. 945-950.
104. Rieche, A., Gross, H. et Höft, E., *Chem. Ber.* **1960**, *93*, p. 88-94.
105. Gross, H., Rieche, A. et Matthey, G., *Chem. Ber.* **1963**, *96*, p. 308-313.
106. Suzuki, Y. et Takahashi, H., *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*(5), p. 1751-1753.
107. Lindoy, L.F., Meehan, G.V. et Svenstrup, N., *Synth.* **1998**, *7*, p. 1029-1032.
108. Aldred, R., Johnston, R., Levin, D. et Neilan, J., *J Chem Soc Perkin Trans 1* **1994**, p. 1823-1831.
109. Zondervan, C., van den Beuken, E.K., Kooijman, H., Spek, A.L. et Feringa, B.L., *Tet. Lett.* **1997**, *38*(17), p. 3111-3114.
110. Sharma, G.V.M., Ilangovan, A. et Lavanya, B., *Synth. Comm.* **2000**, *30*(3), p. 397-405.
111. MacKenzie, A.R., Moody, C.J. et Rees, C.W., *Tet.* **1986**, *42*(12), p. 3259-3268.
112. Furlano, D.C., Calderon, S.N., Chen, G. et Kirk, K.L., *J. Org. Chem.* **1988**, *53*(14), p. 3145-3147.
113. Mancini, M.L. et Honek, J.F., *Synth. Comm.* **1989**, *19*(11-12), p. 2001-2015.
114. Kawasaki, I., Matsuda, K. et Kaneko, T., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1971**, *44*(7), p. 1986-1987; Landini, D., Montanari, F. et Rolla, F., *Synth.* **1978**, *10*, p. 771-773.
115. Borch, R.F., Bernstein, M.D. et Dupont Durst, H., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*(12), p. 2897-2904.
116. Hara, H., Shirai, R., Hoshino, O. et Umezawa, B., *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*(8), p. 3107-3112.
117. Kametani, T., Takahashi, K. et Loc, C.V., *Tet.* **1975**, *31*(3), p. 235-238.
118. Cazaux, L. et Tisnès, P., *J. Het. Chem.* **1976**, *13*, p. 665-668.
119. Kitson, T.M. et Freeman, G.H., *Bioorg. Chemistry* **1993**, *21*, p. 354-365.
120. Neidigh, K.A., Avery, M.A., Williamson, J.S. et Bhattacharyya, S., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, *16*, p. 2527-2531.
121. Bouquillon, S., Hénin, F. et Muzart, J., *Synth. Comm.* **2001**, *31*(1), p. 39-45.
122. Frey, P.A., Kokesh, F.C. et Westheimer, F.H., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*(26), p. 7266-7269; Frey, P.A. et Westheimer, F.H., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*(26), p. 7270-7274.
123. Agami, C. et Couty, F., *Tet.* **2002**, *58*, p. 2701-2724.
124. Ponnusamy, E., Fotadar, U., Spisni, A. et Fiat, D., *Synth.* **1986**, *1*, p. 48-49.
125. Curphey, T.J., *J. Org. Chem.* **1979**, *44*(15), p. 2805-2807.
126. Taurog, A., Abraham, S. et Chaikoff, I.L., *J. Chem. Soc. (C)* **1953**, *75*, p. 3473-3477.
127. Stachulski, A.V. et Jenkins, G.N., *Nat. Prod. Rep.* **1998**, p. 173-186.
128. Müller, T., Schneider, R. et Schmidt, R.R., *Tet. Lett.* **1994**, *35*(27), p. 4763-4766.
129. Bollenback, G.N., Long, J.W., Benjamin, D.G. et Lidquist, J.A., *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, p. 3310.
130. Lunsford, C.D. et Murphey, R.S., *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *21*, p. 580-582.
131. Helferich, B. et Berger, A., *Chem. Ber.* **1957**, *90*, p. 2492-2498.

132. Berrang, B., Twine, C.E., Hennessee, G.L. et Carroll, F.I., *Synth. Comm.* **1975**, 5(3), p. 231-236.
133. Mahrwald, R., *Pharmazie* **1980**, 35, p. 460-462.
134. Casagrande, J., *Arzneim.-Forsch.* **1986**, 36 (I)(2a).
135. Goto, K., Nakamura, S., Morioka, Y., Kondo, M., Naito, S. et Tsutsumi, K., *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, 44(3), p. 547-551.
136. Diwu, Z., Lu, Y.X., Upson, R.H., Zhou, M.J., Klaubert, D.H. et Haugland, R.P., *Tetrahedron* **1997**, 53(21), p. 7159-7164.
137. Rossignol, J.-F. et Stachulski, A.V., *J. Chem. Res. (S)* **1999**, p. 44-45.
138. Hongu, M., Saito, K. et Tsujihara, K., *Synth. Comm.* **1999**, 29(16), p. 2775-2781.
139. Tropper, F.D., Andersson, F.O., Grand-Maitre, C. et Roy, R., *Synth.* **1991**, 9, p. 734-736.
140. Warder, D.E., *Carbohydrate Res.* **1981**, 94, p. 115-118.
141. Zhou, F.-Y., Sun, C.-J. et Li, J.-H., *Synth. Comm.* **2001**, 31(18), p. 2837-2840.
142. Yoshioka, T., Aizawa, Y., Fujita, T., Nakamura, K.-I., Sasahara, K., Kuwano, H., Kinoshita, T. et Horikoshi, H., *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39(8), p. 2124-2125.
143. Honma, K., Nakazima, K., Uematsu, T. et Hamada, A., *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, 24(3), p. 394-399.
144. Badman, G.T., Green, D.V.S. et Voyle, M., *J. Organomet. Chem.* **1990**, 388, p. 117-121.
145. Fischer, B., Nudelman, A., Ruse, M., Herzig, J., Gottlieb, H.E. et Keinan, E., *J. Org. Chem.* **1984**, 49(25), p. 4988-4993.
146. Schmidt, R.R. et Kinzy, W., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, 50, p. 21-123.
147. Jensen, K.J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, 20, p. 2219-2233.
148. Kolodziuk, R., Kryczka, B., Lhoste, P., Porwanski, S., Sinou, D. et Zawisza, D., *Synth. Comm.* **2001**, 31(24), p. 3863-3870.
149. Neumann, R. et Sasson, Y., *Synth.* **1986**, 7, p. 569-570.
150. Cheung, G.K., Downie, I.M., Earle, M.J., Heaney, H., Matough, M.F.S., Shuhaibar, K.F. et Thomas, D., *Synlett* **1992**, 1, p. 77-78.
151. Vlahov, J. et Snatzke, G., *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, p. 570-574.
152. Goenechea, S., Rucker, G. et Hubert, M.A., *Arch Pharm* **2001**, 334(3), p. 101-103.
153. Balderman, D. et Kalir, A., *Synth.* **1978**, 1, p. 24-26.
154. Kumar, H.M.S., Reddy, B.V.S., Anjaneyulu, S. et Yadav, J.S., *Tet. Lett.* **1998**, 39, p. 7385-7388.
155. Tomàs, S., Rotger, M.C., Gonzalez, J.F., Deyà, P.M., Ballester, P. et Costa, A., *Tet. Lett.* **1995**, 36(14), p. 2523-2526.
156. Tomàs, S., Prohens, R., Vega, M., Rotger, M.C., Deyà, P.M., Ballester, P. et Costa, A., *J. Org. Chem.* **1996**, 61(26), p. 9394-9401.
157. Kato-Toma, Y., Imajo, S. et Ishiguro, M., *Tet. Lett.* **1998**, 39(1), p. 51-54.
158. Hiruma, K., Kanie, O. et Wong, C.-H., *Tet.* **1998**, 54, p. 15781-15792.
159. Mikata, Y., Shinohara, Y., Yoneda, K., Nakamura, Y., Esaki, K., Tanahashi, M., Brudzińska, I., Hirohara, S., Yokoyama, M., Mogami, K., Tanase, T., Kitayama, T., Takashiba, K., Nabeshima, K., Takagi, R., Takatani, M., Okamoto, T., Kinoshita, I., Doe, M., Hamazawa, M., Morita, M., Nishida, F., Sakakibara, T., Orvig, C. et Yano, S., *J. Org. Chem.* **2001**, 66, p. 3783-3789.
160. Lee, C.-M., Plattner, J.J., Ours, C.W., Horrom, B.W., Smital, J.R., Pernet, A.G., Bunnell, P.R., El Masry, S.E. et Dodge, P.W., *J. Med. Chem.* **1984**, 27(12), p. 1579-1587.
161. Ariza, X., Pineda, O., Urpi, F. et Vilarrasa, J., *Tet. Lett.* **2001**, 42, p. 4995-4999.
162. Corbell, J.B., Lundquist, J.J. et Toone, E.J., *Tet. Asymmetry* **2000**, 11, p. 95-111.
163. Ram, S.R., Chary, K.P. et Iyengar, D.S., *Synth. Comm.* **2000**, 30(24), p. 4495-4500.
164. Lee, J.G., Choi, K.I., Koh, H.Y., Kim, Y., Kang, Y. et Cho, Y.S., *Synth.* **2001**, 1, p. 81-84.

165. Kamal, A., Ramana, K.V., Ankati, H.B. et Ramana, A.V., *Tet. Let.* **2002**, *43*, p. 6861-6863.
166. Reddy, G.V.S., Rao, G.V., Subramanyam, R.V.K. et Iyengar, D.S., *Synth. Comm.* **2000**, *30(12)*, p. 2233-2237.
167. Springer, C.J., Poon, G.K., Sharma, S.K. et Bagshawe, K.D., *Cell biophysics* **1993**, *22(1-3)*, p. 9-26; Springer, C.J. et Niculescu-Duvaz, I., *Anti cancer drug design* **1995**, *10(5)*, p. 361-372.
168. Artico, M. et Ross, W.C.J., *Biochem. Pharmacol.* **1968**, *17*, p. 893-898; Springer, C.J., Dowell, R., Burke, P.J., Hadley, E., Davis, D.H., Blakey, D.C., Melton, R.G. et Niculescu-Duvaz, I., *J. Med. Chem.* **1995**, *38(26)*, p. 5051-5065.
169. Edwards, P.D., Foster, D.L.D., Owen, L.N. et Pringle, M.J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1973**, p. 2397-2402.
170. Springer, C., Burke, P.J., Dowell, R. et Mauger, A.B., *Patent* **1994**, *WO 9402450*.
171. Jordan, A.M., Khan, T.H., Malkin, H. et Osborn, H.M.I., *Bioorg. & Med. Chem.* **2002**, *10(8)*, p. 2625-2633.
172. Schmidt, F., Ungureanu, I., Duval, R., Pompon, A. et Monneret, C., *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *11*, p. 2129-2134.
173. Jain, S., Drendel, W.B., Chen, Z.-W., Matthews, F.S., Sly, W.S. et Grubb, J.H., *Nature Structural Biology* **1996**, *3(4)*, p. 375-381.
174. de Groot, F.M.H., Loos, W.J., Koekoek, R., van Berkomp, L.W.A., Busscher, L.W.A., Seelen, A.E., Albrecht, C., de Bruijn, P. et W., S.H., *J. Org. Chem.* **2001**, *66(26)*, p. 8815-8830.
175. Carl, P.L., Chakravarty, P.K. et Katzenellenbogen, J.A., *J. Med. Chem.* **1981**, *24(5)*, p. 479-480.
176. Leenders, R.G.G., Damen, E.W.P., Bijsterveld, E.J.A., cheeren, J.W., Houba, P.H.J., van der Meulen-Muileman, I.H., Bove, E. et J., H.H., *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, p. 1597-1610.
177. Lougerstay-Madec, R., Florent, J.-C., Monneret, C., Nemati, F. et Poupon, M.-F., *Anti-Cancer Drug Des.* **1998**, *13(8)*, p. 995-1007.
178. Greenwald, R.B., Pendri, A. et Bolikal, D., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, p. 331-336.
179. Mathew, A.E., Mejillano, M.R., Nath, J.P., Himes, R.H. et Stella, V.J., *J. Med. Chem.* **1992**, *35(1)*, p. 145-151.
180. Magri, N.F. et Kingston, D.G., *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, p. 797; Magri, N.F. et Kingston, D.G.I., *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, p. 797-802.
181. King, S.A., *J. Org. Chem.* **1994**, *59(8)*, p. 2253-2256.
182. Alexander, E.R. et Busch, H.M., *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, p. 554-555.
183. Barrett, A.G.M. et Lee, A.C., *J. Org. Chem.* **1992**, *57(10)*, p. 2818-2824.
184. Francisco, C.G., Martin, C.G. et Suarez, E., *J. Org. Chem.* **1998**, *63(7)*, p. 2099-2109.
185. Momose, A., Kamei, K. et Nitta, Y., *Chem. Pharm. Bull.* **1966**, *14(3)*, p. 199-206.
186. Tanaka, M., Okita, M. et Yamatsu, I., *Carbohydrate Res.* **1993**, *241*, p. 81-88.
187. Nelson, T.D. et Crouch, R.D., *Synth.* **1994**, *9*, p. 1031-1069.
188. Halmos, T., Montserrat, R. et Antonalis, K., *Nucleic Acids Res.* **1989**, *17*, p. 7663.
189. Robins, M.J., Samano, V. et Johnson, M.D., *J. Org. Chem.* **1990**, *55(2)*, p. 410-412.
190. Martin, S.F., Dodge, J.A., Burgess, L.E. et Hartmann, M., *J. Org. Chem.* **1992**, *57(4)*, p. 1070-1072.
191. Marshall, J.A. et Yashunsky, D.V., *J. Org. Chem.* **1991**, *56(19)*, p. 5493-5495.
192. Yang, Y.-Y., Yang, W.-B., Teo, C.-H. et Lin, C.-H., *Synlett* **2000**, *11*, p. 1634-1636.
193. Baldwin, J.E., Adlington, R.M. et Mitchell, M.B., *Tet.* **1995**, *51(17)*, p. 5193-5206.
194. Nicolaou, K.C., Reddy, K.R., Skokotas, G., Sato, F. et Xiao, X.-Y., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114(20)*, p. 7935-7938.
195. Enholm, E.J., Satici, H. et Trivellas, A., *J. Org. Chem.* **1989**, *54(25)*, p. 5841-5843.

196. Ohmori, K., Suzuki, T., Miyazawa, K., Nishiyama, S. et Yamamura, S., *Tet. Let.* **1993**, *34(31)*, p. 4981-4984.
197. Evans, D.A., Gage, J.R. et Leighton, J.L., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114(24)*, p. 9434-9453.
198. Keck, G.E., A., P. et McHardy, S.F., *J. Org. Chem.* **1994**, *59(11)*, p. 3113-3122.
199. Panek, J.S., Yang, M. et Solomon, J., *Tet. Let.* **1995**, *36(7)*, p. 1003-1006.
200. Danishefsky, S.J., Armistead, D.M., Wincott, F.E., Selnick, H.G. et Hungate, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109(26)*, p. 8117-8119; Danishefsky, S.J., Armistead, D.M., Wincott, F.E., Selnick, H.G. et Hungate, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111(8)*, p. 2967-2980.
201. Williams, D.R., Reddy, J.P. et Amato, G.S., *Tet. Let.* **1994**, *35(35)*, p. 6417-6420.
202. Crich, D. et Hermann, F., *Tet. Lett.* **1993**, *34(21)*, p. 3385-3388.
203. Pilcher, A.S. et DeShong, P., *J. Org. Chem.* **1993**, *58(19)*, p. 5130-5134.
204. Kabat, M.M., Lange, M., Wovkulich, P.M. et Uskokovic, M.R., *Tet. Let.* **1992**, *33(50)*, p. 7701-7704.
205. Ankala, S.V. et Fenteany, G., *Tet. Let.* **2002**, *43*, p. 4729-4732.
206. Chen, M.-Y., Lu, K.-C., Lee, A.S.-Y. et Lin, C.-C., *Tet. Let.* **2002**, *43*, p. 2777-2780.
207. Feixas, J., Capdevilla, A. et Guerrero, A., *Tet.* **1994**, *50(28)*, p. 8539-8550.
208. Sabitha, G., Syamala, M. et Yadav, J.S., *Org. Lett.* **1999**, *1(11)*, p. 1701-1703.
209. Tsukada, N., Nishimada, T., Gyoung, Y.S., Asao, N. et Yamamoto, Y., *J. Org. Chem.* **1995**, *60(1)*, p. 143-148.
210. Cormier, J.F., *Tet. Let.* **1991**, *32(2)*, p. 187-188.
211. Lee, K. et Wiemer, D.F., *J. Org. Chem.* **1993**, *58(27)*, p. 7808-7812.
212. Tandon, M. et Begley, T.P., *Synth. Comm.* **1997**, *27(17)*, p. 2953-2959.
213. Farràs, J., Serra, C. et Vilarrasa, J., *Tet. Let.* **1998**, *39*, p. 327-330.
214. Mizuno, M., Kobayashi, K., Nakajima, H., Koya, M. et Inazu, T., *Synth. Comm.* **2002**, *32(11)*, p. 1665-1670.
215. Yang, W.-B., Tsai, C.-H. et Lin, C.-H., *Tet. Lett.* **2000**, *41*, p. 2569-2572.
216. Hanessian, S. et Lavallée, P., *Can. J. Chem.* **1975**, *53*, p. 2975-2977.
217. Rehwinkel, H. et Steglich, W., *Synth.* **1982**, *10*, p. 826-827; Krasik, P., *Tet. Lett.* **1998**, *39*, p. 4223-4226.
218. Seebach, D., Hungerbühler, E., Naef, R., Schnurrenberger, P., Weidmann, B. et Züger, M., *Synth.* **1982**, *2*, p. 138-141.
219. Mignet, N., Chaix, C., Rayner, B. et Imbach, J.L., *Carbohydrate Res.* **1997**, *303(1)*, p. 17-24.
220. Shekhani, M.S., Khan, K.M. et Mahmood, K., *Tet. Let.* **1988**, *29(47)*, p. 6161-6162.
221. Alpegiani, M., Perrone, E. et Franceschi, G., *Heterocycles* **1988**, *27(1)*, p. 49-55.
222. Barrish, J.C., Lee, H.L., Mitt, T., Pizzolato, G., Baggiolini, E.G. et Uskokovic, M.R., *J. Org. Chem.* **1988**, *53(18)*, p. 4282-4295.
223. Higashibayashi, S., Shinko, K., Ishizu, T., Hashimoto, K., Shirahama, H. et Nakata, M., *Synlett* **2000**, *9*, p. 1306-1308.
224. Yajima, A. et Mori, K., *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, p. 4079-4091.
225. Shekhani, M.S., Khan, K.M., Mahmood, K., Shah, P.M. et Malik, S., *Tet. Let.* **1990**, *31(12)*, p. 1669-1670.
226. Smith III, A.B. et Wan, Z., *J. Org. Chem.* **2000**, *65(12)*, p. 3738-3753.
227. Hatakeyama, S., Irie, H., Shintani, T., Noguchio, Y., Yamada, H. et Nishizawa, M., *Tet.* **1994**, *50(47)*, p. 13369-13376.
228. Prakash, C., Saleh, S. et Blair, I.A., *Tet. Let.* **1989**, *30(1)*, p. 19-22.
229. Zhang, W. et Robins, M.J., *Tet. Let.* **1992**, *33(9)*, p. 1177-1180.
230. Scheidt, K.A., Chen, H., Follows, B.C., Chemler, S.R., Coffey, D.S. et Roush, W.R., *J. Org. Chem.* **1998**, *63(19)*, p. 6436-6437.

231. Bartoli, G., Cupone, G., Dalpozzo, R., De Nino, A., Maiuolo, L., Procopio, A., Sambri, L. et Taragelli, A., *Tet. Let.* **2002**, *43*, p. 5945-5947.
232. Saari, W.S., Schwering, J.E., Lyle, P.A., Smith, S.J. et Engelhardt, E.L., *J. Med. Chem.* **1990**, *33(1)*, p. 97-101.
233. Sakaitani, M. et Ohfuné, Y., *J. Org. Chem.* **1990**, *55(3)*, p. 870-876.
234. Delle Monache, G., Misiti, D., Salvatore, P., Zappia, G. et Pierini, M., *Tet. Asymmetry* **2000**, *11*, p. 2653-2659.
235. Cavelier, F. et Enjalbal, C., *Tet. Let.* **1994**, *37(29)*, p. 5131-5134.
236. Boger, D.L., Patane, M.A. et Zhou, J., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116(19)*, p. 8544-8556.
237. Yokokawa, F., Inaizumi, A. et Shioiri, T., *Tet. Lett.* **2001**, *42*, p. 5903-5908.
238. Boger, D.L., McKie, J.A., Nishi, T. et Ogiku, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118(9)*, p. 2301-2302.
239. Churcher, I., Hallett, D. et Magnus, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120(14)*, p. 3518-3519.
240. Bose, D.S. et Lakshminarayana, V., *Tet. Lett.* **1998**, *39*, p. 5631-5634.
241. Bose, D.S. et Lakshminarayana, V., *Synth.* **1999**, *1*, p. 66-68.
242. Felix, A.M., Heimer, E.P., Lambros, T.J., Tzougraki, C. et Meienhofer, J., *J. Org. Chem.* **1978**, *43(21)*, p. 4194-4196; Johnstone, R.A.W. et Wilby, A.H., *Chem. Rev.* **1985**, *85(2)*, p. 129-170.
243. Wakselman, M., *Nouveau Journal de Chimie* **1983**, *7(7)*, p. 439-447; Greenwald, R.B., Pendri, A., Conover, C.D., Zhao, H., Choe, Y.H., Martinez, A., Shum, K. et Guan, S.Y., *J. Med. Chem.* **1999**, *42(18)*, p. 3657-3667.
244. Rodrigues, M.L., Carter, P., Wirth, C., Mullins, S., Lee, A. et Blackburn, B.K., *Chem. and Biol.* **1995**, *2*, p. 223-227.
245. Damen, E.W.P., Nevalainen, T.J., vandenBergh, T.J.M., deGroot, F.M.H. et Scheeren, H.W., *Bioorgan Med Chem* **2002**, *10(1)*, p. 71-77.
246. Desbene, S., Van, H.D.T., Michel, S., Koch, M., Tillequin, F., Fournier, G., Farjaudon, N. et Monneret, C., *Anti cancer drug design* **1998**, *13(8)*, p. 955-968.
247. Marder, R., Bricard, L., Dubois, J., Guénard, D. et Guéritte-Voegelein, F., *Tet. Let.* **1996**, *37(11)*, p. 1777-1780; Uoto, K., Mitsui, I., Terasawa, H. et Soga, T., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1997**, *7(23)*, p. 2991-2996; Iimura, S., Uoto, K., Ohsuki, S., Chiba, J., Yoshino, T., Iwahana, M., Jimbo, T., Terasawa, H. et Soga, T., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, p. 407-410; Nikolakakis, A., Haidara, K., Sauriol, F., Mamer, O. et Zamir, L.O., *Bioorg. & Med. Chem.* **2003**, *11(7)*, p. 1551-1556.
248. Marder-Karsenti, R., Dubois, J., Bricard, L., Guénard, D. et Guéritte-Voegelein, F., *J. Org. Chem.* **1997**, *62(19)*, p. 6631-6637.
249. Didier, E., Fouque, E., Taillepied, I. et Commerçon, A., *Tet. Let.* **1994**, *35(15)*, p. 2349-2352.
250. Didier, E., Fouque, E. et Commerçon, A., *Tet. Let.* **1994**, *35(19)*, p. 3063-3064.
251. Holton, R.A., Zhang, Z., Clarke, P.A., Nadizadeh, H. et Procter, J.D., *Tet. Lett.* **1998**, *39*, p. 2883-2886.
252. Appendino, G., Belloro, E., Jakupovic, S., Danieli, B., Jakupovic, J. et Bombardelli, E., *Tet.* **1999**, *55*, p. 6567-6576.
253. Damen, E.W.P., Braamer, L. et Scheeren, H.W., *Tet. Let.* **1998**, *39*, p. 6081-6082.
254. Adams, J.P., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, *23*, p. 2586-2597.
255. Pirrung, M.C., Shuey, S.H., Lever, D.C. et Fallon, L., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1994**, *4(11)*, p. 1345-1346.
256. Hutchins, J.E.C. et Fife, T.H., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95(7)*, p. 2282-2286.
257. Williams, A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1972**, p. 808812; Hegarty, A.F., Frost, L.N. et Coy, J.H., *J. Org. Chem.* **1974**, *39(8)*, p. 1089-1093.
258. Blitzke, T., Baranovsky, A. et Schneider, B., *Helv Chim Acta* **2001**, *84(7)*, p. 1989-1995.

259. Takahashi, T., Tsukamoto, H. et Yamada, H., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, p. 113-116.
260. Lee, J.W., Lu, J.Y., Low, P.S. et Fuchs, P.L., *Bioorgan Med Chem* **2002**, 10(7), p. 2397-2414.
261. Georg, G.I., Ali, S.M., Boge, T.C., Datta, A. et Falborg, L., *Tet. Lett.* **1994**, 35(48), p. 8931-8934.
262. Georg, G.I., Liu, Y., Boge, T.C. et Himes, R.H., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1997**, 7(14), p. 1829-1832.
263. Chen, S.H., Huang, S., Wei, J. et Farina, V., *Tet.* **1993**, 49(14), p. 2805-2828.
264. Schröder, E., Lehmann, M., Rufer, C. et Böttcher, I., *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.* **1982**, 17(2), p. 165-172.
265. Kessler, P., Chatrenet, B., Goeldner, M. et Hirth, C., *Synth.* **1990**, 11, p. 1065-1068.
266. Krishnamurthy, S., *Tet. Let.* **1982**, 23(33), p. 3315-3318.
267. Ueda, Y., Mikkilineni, A.B., Knipe, J.O., Rose, W.C., Casazza, A.M. et Vyas, D.M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993**, 3(8), p. 1761+1766; Damen, E.W.P., Wiegerinck, P.H.G., Braamer, L., Sperling, D., de Vos, D. et Scheeren, H.W., *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, p. 427-432; Wittman, M.D., Kadow, J.F., Vyas, D.M., Lee, F.L., Rose, W.C., Long, B.H., Fairchild, C. et Johnston, K., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, p. 811-814.

1- Solvants

a) Séchage

- Le dichlorométhane et l'acétate d'éthyle anhydres sont recueillis après reflux prolongé sur pentaoxyde de diphosphore (P_2O_5).
- Le tétrahydrofurane et l'éther éthylique sont obtenus après distillation sur un mélange sodium/benzophénone sous atmosphère d'argon.
- Le diméthylformamide et l'acétonitrile sont conservés sur TM 4Å activé par chauffage au four à micro-ondes, le méthanol sur TM de 3Å activé identiquement, et conservés sous atmosphère d'argon.
- La pyridine est distillée sur hydrure de calcium et conservée sur TM 4Å.
- Le toluène anhydre est obtenu par réduction du volume approprié de toluène "pure pour synthèse".

b) Chromatographies

Pour les chromatographies, les solvants (dichlorométhane, cyclohexane, acétate d'éthyle,...) de qualité "pure pour synthèse" sont utilisés tels que.

2- Chromatographies

Les analyses par **chromatographie sur couche mince (CCM)** ont été réalisées sur plaques de silice prêtes à l'emploi : gel de silice Kieselgel Merck 60 F₂₅₄ d'épaisseur 0.2 mm, déposé sur feuille d'aluminium. Elles sont utilisées, soit pour suivre l'avancement des réactions, soit pour optimiser le choix d'un mélange de solvants chromatographiques. Les produits sont élués avec des mélanges volume à volume de solvants.

La position des composés sur plaque est visualisée à l'aide d'une lampe Ultra-Violet ($\lambda = 254$ et 356 nm) et par usage d'un des révélateurs suivants (trempage puis chauffage au décapeur) :

- solution d'acide sulfurique à 5% dans l'éthanol (révélateur assez universel, carbohydrates).
- solution de 1.23g de *p*-anisidine et 1.66g d'acide phtalique dans 100 mL d'éthanol

95% (détection de carbohydrates ; tâche marron pour les acides uroniques).

- solution éthanolique à 1.2 g.L⁻¹ de ninhydrine (amines et dérivés).
- solution à 1% massique de tétrachloro-*p*-benzoquinone dans le toluène (révélateur des phénols)
- vanilline sulfurique 1% (entre autres pour les taxoïdes)

Sauf mention spéciale, les **séparations par chromatographie sur silice** ont été réalisées sur des gels de silice 60 A C.C 35-70 μm avec une masse de 50 à 100 fois celle du produit brut. Les fractions sont contrôlées par CCM dans les conditions énoncées précédemment.

3- Analyses physico-chimiques

• Les spectres de **Résonance Magnétique Nucléaire** ont été enregistrés sur un appareil BRUKER Avance 300. Les spectres proton ¹H ont été enregistrés à 300 MHz, tandis que les spectres ¹³C ont été enregistrés à 75 MHz. Le solvant deutérié employé est celui indiqué dans la section RMN de la partie ANALYSES de description des composés. Les déplacements chimiques des spectres proton sont exprimés en ppm (partie par million) et référencés par rapport au pic résiduel du solvant deutérié utilisé : 7.26 pour le chloroforme, 2.50 pour le diméthylsulfoxyde, 3.31 pour méthanol et 4.79 pour l'eau. Les déplacements chimiques des spectres carbone 13 sont exprimés en ppm et référencés par rapport au pic central du solvant deutérié utilisé : 77.1 pour CDCl₃, 39.5 pour (CD₃)₂SO et 49.0 pour CD₃OD.

La multiplicité des signaux est indiquée par les abréviations suivantes :

s pour singulet	se pour singulet élargi	d pour doublet	dd pour doublet de doublet
ddd pour doublet de doublet de doublet	t pour triplet	dt pour doublet de triplet	ABq pour quadruplet à effet toit
qt pour quintuplet	ht pour heptuplet	m pour multiplet	

Les constantes de couplage sont exprimées en Hertz (Hz). La numérotation des signaux des molécules a été choisie de manière arbitraire sauf en ce qui concerne le paclitaxel, le

docetaxel et leurs dérivés, pour permettre une uniformisation et une comparaison entre les différents composés synthétisés.

- Les **spectres de masse** d'ionisation chimique ($\text{IC}+\text{NH}_3^+$) et de Fast Atom Bombarding (FAB) avec matrice MB (Magic Bullet) ou NBA (NitroBenzylic Acid) ont été effectués sur un spectromètre de masse NERMAG R10-10C.

Les spectres électrospray (ESI) en mode positif ou négatif suivant la nature des composés, ont été effectués sur spectromètre de masse LCTOF (Micromass, Manchester, UK) équipé d'une source électrospray orthogonale (Z-spray) et d'un analyseur de temps de vol avec un réflectron réglé pour une résolution isotopique égale à 5500.

- Les spectres d'**infrarouge** ont été enregistrés sur un spectromètre à transformée de Fourier Perkin-Elmer 1710 en solution de CDCl_3 ou sur pastille de KBr ou de NaCl. Les fréquences d'absorption sont exprimées en cm^{-1} à leur maximum d'intensité.

- Les **points de fusion** ont été mesurés en tube capillaire sur appareil à point de fusion numérique Electrothermal et sont non corrigés.

- Les **pouvoirs rotatoires** $[\alpha]_D^{20}$ ont été déterminés au moyen d'un polarimètre Perkin-Elmer 241, pour la raie D du sodium (589 nm), à 20°C avec une concentration exprimée en g/100 mL.

- Les **études biochimique et analytique** ont été effectuées sur un appareil de HPLC Waters avec une pompe 600, un détecteur à barrettes de diodes 996, un injecteur manuel Rhéodyne et comme logiciel, Millennium³² version 3.2.

4- Conditions des études biochimique et analytique

- Les solutions employées pour l'appareil de HPLC ont été un tampon phosphate 0.02 M à pH 7.2 pour les études de stabilité et pour les études de cinétique enzymatique.

La colonne employée est une colonne LiChrospher[®] RP18e (250x4.5 mm).

- Les mesures de cytotoxicité (**IC₅₀**) ont été réalisées à l'Institut de Recherche Servier à Suresnes. Elles ont été mesurées sur des cellules de la lignée L1210 (cellules leucémiques de la souris) en utilisant le test MTA (Microculture Tetrazolium Assay).

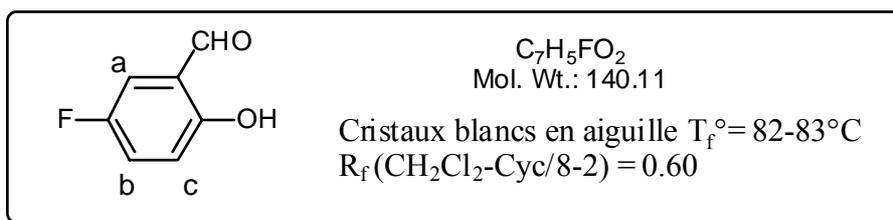
Cette partie comporte les modes opératoires, les données spectroscopiques et analytiques des produits préparés. Les descriptions des composés se trouvent aux pages suivantes :

Composé	Page	Composé	Page	Composé	Page
47	177	140	205	204	237
50	177	141	206	217	239
51	177	144	207	218	240
52	180	145	208	219	242
53	181	146	209	220	244
66	182	153	210	221	246
56	183	135	211	223a	248
71	185	155	212	223b	249
72	186	171	213	230	250
78	187	176	214	227	251
55	188	166	215	231	252
103	189	168	216	228	254
107	190	184	217	2	256
108	191	185	218	232	257
109	192	186	219	229	259
57	193	187	219	225	261
112	194	180	222	233	263
113	195	188	222	234	265
111	196	189	224	235	267
114	197	190	226	226	268
116	198	191	228	255	270
132	199	192	230	243	271
133	200	181	232	244	273
117	201	198	232	252	275
115	202	202	233	253	276
134	203	203	235	254	278
139	204	205	236	236	280

Cette partie comporte les modes opératoires, les données spectroscopiques et analytiques des produits préparés. Les descriptions des composés, classés par ordre croissant de numéro, se trouvent aux pages suivantes :

Composé	Page	Composé	Page	Composé	Page
2	256	135	211	204	237
47	177	139	204	205	236
50	177	140	205	217	239
51	177	141	206	218	240
52	180	144	207	219	242
53	181	145	208	220	244
55	188	146	209	221	246
56	183	153	210	223a	248
57	193	155	212	223b	249
66	182	166	215	225	261
71	185	168	216	226	268
72	186	171	213	227	251
78	187	176	214	228	254
103	189	180	222	229	259
107	190	181	232	230	250
108	191	184	217	231	252
109	192	185	218	232	257
111	196	186	219	233	263
112	194	187	219	234	265
113	195	188	222	235	267
114	197	189	224	236	280
115	202	190	226	243	271
116	198	191	228	244	273
117	201	192	230	252	275
132	199	198	232	253	276
133	200	202	233	254	278
134	203	203	235	255	270

5-Fluoro-2-hydroxybenzaldéhyde **47**



Méthode \supseteq : 25g (223 mmol) de 4-fluorophénol **48** commercial sont dissous dans 140 mL de TFA. 63g (2 \acute{e} q.) d’HMTA (hexaméthylènetétramine) sont ajoutés et le milieu chauffé à 100°C pendant 4 heures. Après refroidissement, le sirop orange obtenu est versé sur 55 mL d’H₂SO₄ dilué dans 750 mL d’eau et l’agitation poursuivie 1/2 heure. Après extraction par 3x300 mL de CH₂Cl₂, lavage à l’eau, séchage sur MgSO₄ et concentration de la phase organique, le composé est purifié sur colonne de gel de silice (éluant CH₂Cl₂-Cyc/8-2). 12.51g (89.2 mmol, 40%) de produit **47** sont isolés ainsi que 6.5g (44.6 mmol, 20%) du produit de bis formulation **50**. Ils sont tous les deux recristallisés dans l’heptane.

Méthode $\not\subset$: Une solution du phénol **48** (2.24g, 20 mmol) dans 80 mL de CH₂Cl₂ est refroidie par un bain eau-glace-sel et mis sous argon. 4.4 mL (2 \acute{e} q.) de TiCl₄ sont additionnés goutte-à-goutte (solution rouge sanguin) suivis de même de 3.0 mL (1.5 \acute{e} q.) de dichlorométhylméthyléther (important dégagement gazeux). Une fois revenu à TA et ce dégagement fini, le milieu est de nouveau refroidi par un bain et 20 mL d’HCl 5% ajoutés. Après décantation et séparation, la phase aqueuse est extraite par 3x20 mL d’ \acute{e} ther. Les phases organiques réunies sont lavées par K₂CO₃ *sat* et concentrées sous vide puis le résidu chromatographié (éluant CH₂Cl₂-MeOH/95-5). 1.13g (50%) du phénol de départ et 1.09g d’une huile incolore à l’odeur forte (7.8 mmol, 39%) identifiée comme le formiate de 4-fluorophénol **51** (voir analyses ci-dessous) sont récupérés.

Méthode \subset : A une solution de **48** (5g, 44.6 mmol), de MgCl₂ *anh* (6.37g, 66.9 mmol, 98% *anh.*, séché sur P₂O₅) et de TEA (23.5 mL, 167.3 mmol, séchée sur sodium) dans 223 mL de CH₃CN_{anh} sont ajoutés 9.4g (226 mmol) de paraformaldéhyde (96%, séché sur P₂O₅). Les dissolutions sont légèrement exothermiques et le mélange est agité vigoureusement 1/2 heure. Puis le milieu est porté à reflux 3 heures avec une montée en température progressive car la réaction peut devenir vive. Après retour à TA, le milieu est acidifié par HCl 5% et extrait à

l'éther diéthylique, séché sur MgSO₄ et chromatographié (éluant CH₂Cl₂-MeOH/95-5). 3.50g (56%) du benzaldéhyde sous forme de solide blanc floconneux sont obtenus.

Méthode \subseteq : 10.4g (67.4 mmol) de 4-fluoroanisole **53** dissous dans 10 mL de CH₂Cl₂ sont refroidis à -78°C par un bain éthanol-carboglance puis additionnés de 10 mL d'une solution molaire de BBr₃ dans CH₂Cl₂, suivi de 10 mL de BBr₃; on laisse revenir à l'ambiante durant la nuit. L'hydrolyse du milieu s'effectue par ajout très précautionneux de méthanol, le tout est ensuite évaporé sous pression réduite (Tmax du bain = 40°C). Le résidu est lavé par de la soude 2N et la phase aqueuse acidifiée par HCl concentré. On extrait ensuite à l'éther, lave par NaCl_{sat} jusqu'à pH \approx 4 et évapore. 2.7g (29%) d'un solide marron-beige sont récupérés; une tentative de recristallisation dans l'heptane ne donne rien; cependant la RMN est correcte.

Méthode \in : 5g (32. mmol) de l'anisole **53** sont suspendus dans 140 mL d'HBr aq. 40%. On porte à reflux (110°C), et une fois que la déméthylation a eu lieu, l'aldéhyde désiré s'évapore et recristallise dans le réfrigérant. Ce dernier est alors lavé au CH₂Cl₂, et la phase organique est extraite une fois par de l'eau puis séchée sur MgSO₄. Par évaporation, le 5-fluoro-2-hydroxybenzaldéhyde est obtenu de manière quantitative sous forme de cristaux blancs.

ANALYSES :

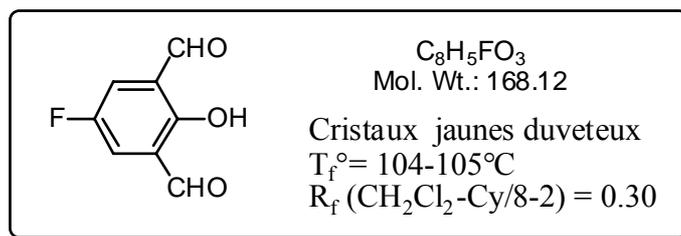
5-Fluoro-2-hydroxybenzaldéhyde 47 :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 10.78 (s, 1H, OH) ; 9.85 (s, 1H, CHO) ; 7.26 (m, 2H, H_{a,b}) ; 6.96 (dd, J = 8.7 et 4.1 Hz, 1H, H_c).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 195.5 (d, J = 1.9 Hz, CHO) ; 157.9 (C_q-OH) ; 155.7 (d, J = 240.1 Hz, C-F) ; 124.7 (d, J = 23.7 Hz, C_{a,b}) ; 120.1 (d, J = 6.1 Hz, C_q-CHO) ; 119.3 (d, J = 5.9 Hz, C_c) ; 118.1 (d, J = 22.6 Hz, C_{a,b}).

Analyse élémentaire (%) :

Calc. C : 60.01	H : 3.60	F : 13.56
Exp. C : 59.23	H : 3.47	F : 13.38

5-Fluoro-3-formyl-2-hydroxybenzaldéhyde 50 :

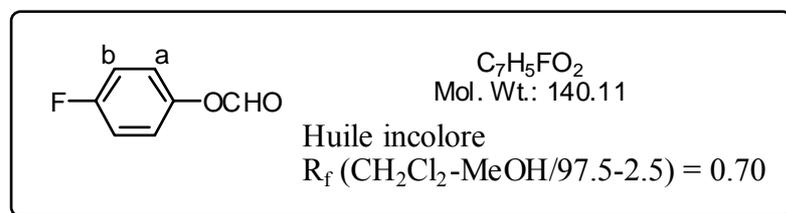
RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 11.37$ (s, 1H, OH) ; 10.18 (s, 2H, CHO) ; 7.66 (d, $J = 13.5$ Hz, 2H, H_{aro}).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 191.1$ (CHO) ; 159.8 (Cq-O) ; 155.5 (d, $J = 243.6$ Hz, Cq-F) ; 123.8 (Cq-CHO) ; 123.6 (d, $J = 23.7$ Hz, CH_{aro}).

Analyse élémentaire (%) :

Calc. C : 57.15 H : 3.00 F : 11.30

Exp. C : 57.01 H : 2.98 F : 11.09

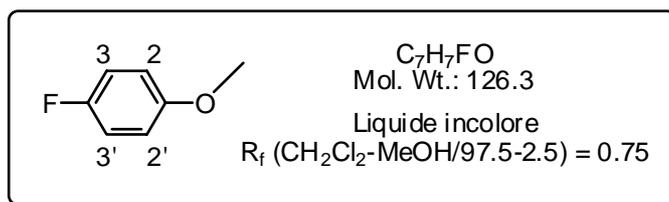
Formiate de 4-fluorophénol 51 :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 8.24$ (s, 1H, CHO) ; 7.06 (m, 4H).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 160.4$ (d, $J = 335.2$ Hz, Cq-F) ; 159.3 (CHO) ; 145.6 (d, $J = 3.4$ Hz, Cq-O) ; 122.6 (d, $J = 8.6$ Hz, C_a) ; 116.2 (d, $J = 23.5$ Hz, C_b).

MS ($Cl^- + NH_3$) : $m/z = 158$ [$M + NH_4$] $^+$

4-Fluoroanisole 52



A une solution de 5g (44.6 mmol) de 4-fluorophénol **48** dans 185 mL d'acétone sont additionnés 30.72g (5 équ.) de K_2CO_3 et 27.8 mL (10 équ.) de MeI. Le milieu est mis à reflux 1 nuit. Après filtration et évaporation le résidu est repris dans CH_2Cl_2 puis lavé à l'eau pour éliminer le carbonate de potassium résiduel. On sèche sur $MgSO_4$ et concentre sous vide pour obtenir 4.25g (76%) de l'anisole **52** sous forme d'un liquide incolore.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 6.91$ (m, 2H, $H_{2,2'}$) ; 6.85 (m, 2H, $H_{3,3'}$) ; 3.73 (s, 3H, CH_3O).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 157.1$ (d, $J = 237.3$ Hz, $Cq-F$) ; 155.8 (d, $J = 1.5$ Hz, $Cq-O$) ; 115.5 (d, $J = 23.1$ Hz, $C_{3,3'}$) ; 144.6 (d, $J = 7.9$ Hz, $C_{2,2'}$) ; 55.0 (CH_3O).

5-Fluoro-2-méthoxybenzaldéhyde 53

Une solution de 4.25g (33.7 mmol) de 4-fluoroanisole **52** dans 25 mL de CH₂Cl₂, refroidie à 0°C et sous argon, est additionnée goutte-à-goutte de 6.17 mL (1.67 éq.) de TiCl₄ suivi, précautionneusement, de 3.4 mL (1 éq.) de dichlorométhylméthyl éther. La solution rouge sang est laissée revenir à TA et agitée 8h de plus, après quoi elle prend une coloration verdâtre foncé. La mixture est versée sur un mélange eau-glace, extrait une fois par 65 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont lavées à l'eau 3x25 mL, par NaCl_{sat} et séchées sur Na₂SO₄. 5.10g (quant.) d'un liquide rouge sanguin qui se solidifie au bout d'un moment à TA sont récupérés.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 10.40 (d, J = 3.1 Hz, CHO) ; 7.48 (dd, J = 8.3 et 3.3 Hz, H_a) ; 7.25 (ddd, J = 10.9, .1 et 3.3 Hz, H_b) ; 6.95 (dd, J = 9.1 et 3.8 Hz, H_c) ; 3.91 (s, 3H, CH₃O).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 155.9 (d, J = 237.3 Hz, C_q-F) ; 152.1 (C_q-O) ; 123.5 (d, J = 5.7 Hz, CCHO) ; 118.0 (d, J = 2.0 Hz, C_c) ; 117.9 (d, J = 22.5 Hz, C_{a/b}) ; 116.1 (d, J = 22.5 Hz, C_{a/b}) ; 49.0 (CH₃O).

5-Fluoro-2-hydroxybenzaldéhyde-*N*-méthylimine 66

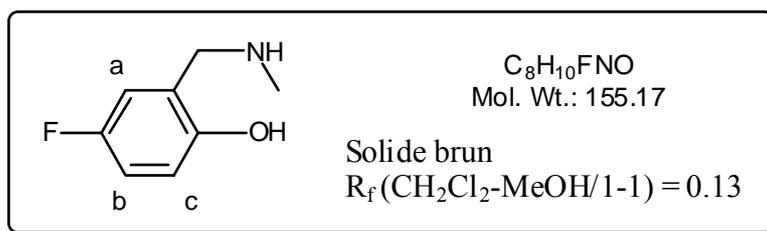
5.30g (37.9 mmol) de 5-fluorosalicylaldéhyde **47** sont mis en suspension dans 30 mL de méthanol. Puis 4.27 mL (61.1 mmol) d'une solution aqueuse à 40% de méthylamine sont additionnés. La solution se colore immédiatement en jaune et devient limpide au bout de 5 minutes. On peut noter une légère exothermie. Le milieu réactionnel est agité une heure à TA; son pH est de l'ordre de 8.

Ensuite on verse le tout sur 60 mL de NaCl_{sat} et extrait par 5x30 mL de chloroforme. La phase organique est séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide. 5.50g (95%) de l'imine **66** sous forme d'une huile incolore sont obtenus.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 13.18 (se, 1H, OH) ; 8.27 (d, J = 1.3Hz, 1H, HCN) ; 7.01(m, 1H, H_b) ; 6.92 (m, 2H, H_{a,c}) ; 3.49 (d, J = 1.4 Hz, 3H, CH₃N).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 165.2 (d, J = 2.4 Hz, HCN) ; 157.2 (C_q-O) ; 155.3 (d, J = 236.2 Hz, C_q-F) ; 119.0 (d, J = 23.2 Hz, C_b) ; 118.6 (d, J = 7.1 Hz, C_q-CN) ; 118.0 (d, J = 7.4 Hz, C_c) ; 116.2 (d, J = 23.2 Hz, C_a) ; 46.1 (CH₃N).

(5-Fluoro-2-hydroxybenzyl)méthylamine 56

Méthode ❶ : A 500mg (3.57 mmol) de 5-fluoro-2-hydroxybenzaldéhyde **47** dans 5 mL d'EtOH_{abs}, sous argon et à TA, sont ajoutés 1 mL (2 éq.) de TEA (la solution devient jaune canari) puis 2.14 mL (2 éq.) de Ti(*i*-PrO)₄ (la solution devient rouge orangé) et enfin 486 mg (2 éq.) de MeNH₂xHCl. Après agitation pendant 5h, 206 mg (5.4 mmol) de NaBH₄ sont ajoutés par portions et l'agitation poursuivie une nuit. Puis la réaction est quenchée par 15 mL d'ammoniaque 2M et extraite par 30 mL de CH₂Cl₂. Les phases organiques sont acidifiées par HCl 1M, la phase aqueuse extraite par 30 mL de CH₂Cl₂ puis basifiée par NaOH 2M et extraite une nouvelle fois par 30 mL de CH₂Cl₂. Après lavage par NaCl_{sat}, séchage sur MgSO₄ et chromatographie (éluant CH₂Cl₂-MeOH/1-1), 145mg (26%) de l'amine sont récupérés.

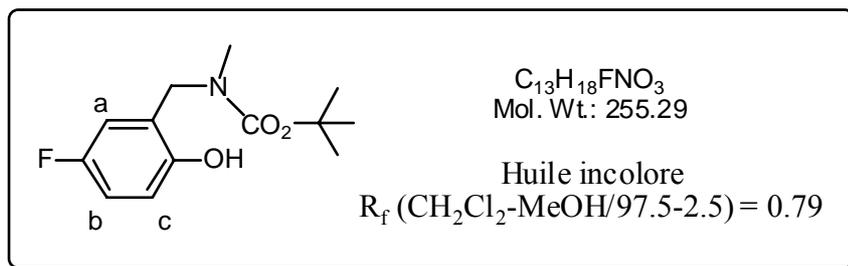
Méthode ❷ : A 1g (6.54 mmol) de l'imine **66** dissoute dans 50 mL de MeOH (solution jaune) sont additionnés 250mg (6.6 mmol) de NaBH₄. La solution devient blanche et se trouble. La réaction est terminée (suivi CCM) au bout de 3 heures. Le milieu est évaporé, repris dans 100 mL d'AcOEt et lavé par 10 mL de K₂CO_{3 sat}. Après traitement et purification sur colonne de gel de silice, éluant CH₂Cl₂-MeOH/1-1, 300mg (30%) d'amine (huile beige-marron) sont obtenus.

Méthode ❸ : A 1g (6.54 mmol) de l'imine **66** dissoute dans 60 mL de MeOH sont ajoutés 30mg de charbon palladié à 10%. Puis le milieu réactionnel est mis sous pression d'hydrogène (1 bar). Au bout d'une nuit, le milieu est filtré, concentré et purifié comme précédemment. L'amine est récupérée sous forme de 970mg (97%) d'une huile beige clair qui cristallise.

ANALYSES :

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta = 6.84$ (dt, $J = 8.7$ et 3.0 Hz, 1H, H_b) ; 6.71 (m, 2H, $\text{H}_{a,c}$) ; 5.61 (se, 2H, NH_2^+) ; 3.90 (s, 2H, CH_2N) ; 2.44 (s, 3H, CH_3N).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta = 155.9$ (d, $J = 236.0$ Hz, $\text{C}_{\text{q-F}}$) ; 154.1 ($\text{C}_{\text{q-O}}$) ; 123.0 (d, $J = 7.3$ Hz, $\text{C}_{\text{q-CH}_2}$) ; 116.8 (d, $J = 7.7$ Hz, C_c) ; 114.8 (d, $J = 23.6$ Hz, $\text{C}_{a/b}$) ; 114.7 (d, $J = 22.5$ Hz, $\text{C}_{a/b}$) ; 54.2 (CH_2) ; 35.0 (CH_3).

***N*-tert-Butoxycarbonyl-(5-fluoro-2-hydroxybenzyl) méthylamine 71**

Méthode ❶ : A 1g (5.5 mmol) de l'amine **56**, dans 12.5 mL de THF, sont ajoutés 3.12g de BOC₂O (2.6 éq.), puis 3.8g (27.5 mmol) de K₂CO₃ et en dernier 12.5 mL d'eau. La solution jaune pâle obtenue est laissée sous agitation 24h.

Il est alors procédé à une acidification par NH₄Cl_{sat}, suivie d'une extraction par 3x30 mL d'AcOEt, séchage sur Na₂SO₄ et concentration sous pression réduite. La RMN ¹H effectué sur cet extrait montre la présence du produit **70** *N*- et *O*-BOC. L'huile récupérée est remise en solution dans 30 mL de MeOH en présence de 3g de K₂CO₃ pendant 3h, à TA. Le même traitement que ci-dessus est réalisé. Le produit obtenu est purifié sur colonne de silice (éluant CH₂Cl₂ puis CH₂Cl₂-MeOH/97.5-2.5). 1.05g (67%) du composé *N*-BOC **71**, sous l'aspect d'une huile incolore, est récupéré.

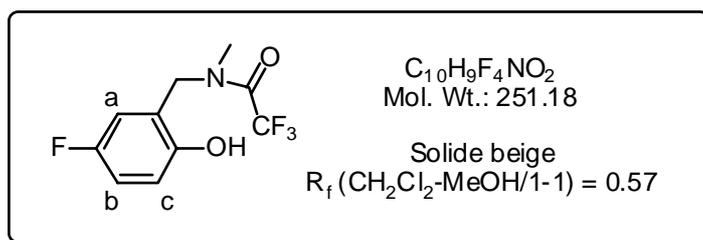
Méthode ❷ : 1g (5.5 mmol) de **56** dissous dans 15 mL de THF est additionnée de 1.66g (1.1 éq.) de BOC₂O et de 1.52g (2 éq.) de K₂CO₃. Le même traitement que précédemment fournit 772 mg (55%) de l'amine **71**.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 9.19 (se, 1H, OH) ; 6.84 (m, 2H, H_{aro}) ; 6.79 (dd, 1H, J = 8.7 et 2.9 Hz, H_{aro}) ; 4.30 et 4.26 (s, 2H, CH₂N) ; 2.88 (s, 3H, NCH₃) ; 1.47 (s, 9H, (CH₃)₃C).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 157.9 (NCO₂) ; 155.9 (d, J = 234.0 Hz, C_q-F) ; 152.1 (C_q-O) ; 123.6 (d, J = 5.5 Hz, C_q-CH₂) ; 118.1 (d, J = 6.1 Hz, C_c) ; 116.9 (d, J = 22.6 Hz, C_{a/b}) ; 116.1 (d, J = 22.1 Hz, C_{a/b}) ; 49.0 (CH₂) ; 34.1 (NCH₃) ; 28.3 ((C_qCH₃)₃C).

N-Trifluoroacétyl-(5-Fluoro-2-hydroxybenzyl)méthylamine 72

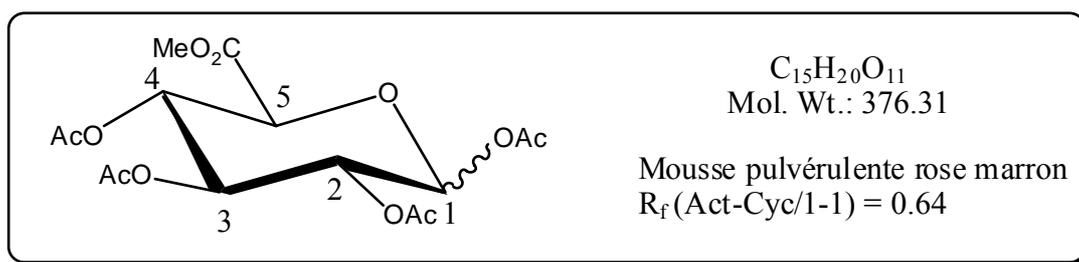


A 1g (6.4 mmol) de méthylamine libre **56** dissous dans 5 mL de MeOH et purgé à l'argon sont ajoutés 1.25 mL (1.6 équ.) de tétraméthylguanidine (TMG) puis 6.7 mL (56.3 mmol) de trifluoroacétate d'éthyle. Lorsque tout est bien dissous, cinq autres mL de MeOH sont rajoutés et le milieu refroidi à 10°C. Alors 2.56g de résine Dowex 50X2-200, lavés préalablement 3 fois au méthanol, sont versés. Après 10 minutes d'agitation, le milieu est filtré, concentré sous vide et chromatographié sur colonne de silice (éluant CH_2Cl_2 -MeOH/8-2). 1.7g (quant.) d'une huile brun rouge qui cristallise à TA est récupéré.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 7.64$ (s, OH) ; 6.97 (dd, $J = 8.6$ et 2.5 Hz, H_b) ; 6.87 (m, 2H, $H_{a,c}$) ; 4.06 (s, 2H, CH_2N) ; 2.61 (s, 3H, NCH_3).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 167.8$ (q, $J = 34.8$ Hz, $NC(O)$) ; 161.6 (d, $J = 236.6$ Hz, $Cq-F$) ; 158.3 ($Cq-OH$) ; 124.3 ($CqCH_2N$) ; 123.0 (d, $J = 23.7$ Hz, $C_{a/b}$) ; 122.8 (d, $J = 22.9$ Hz, $C_{a/b}$) ; 122.5 (q, $J = 292.6$ Hz, CF_3) ; 122.1 (d, $J = 7.8$ Hz, C_c) ; 44.5 (CH_2N) ; 37.8 (NCH_3).

1,2,3,4-Tétra-O-acétyl-D-glucopyranoside uronate de méthyle 78

37g (0.16 mmol) de D-glucopyranoside uronate de méthyle **112** sont dissous dans 150 mL de pyridine distillée. Le milieu est refroidi par un bain de glace et 100 mL d'anhydride acétique sont additionnés goutte-à-goutte (1.5 h). On laisse revenir à TA pendant la nuit, sous argon. Le milieu réactionnel est alors refroidi à 0°C puis versé sur 200 mL de glace et extrait par 2x150 mL de CH_2Cl_2 . La phase organique est lavée par 6x100 mL de H_2SO_4 1 M (jusqu'à $pH \approx 1$), puis par 100 mL d'eau et enfin par 2x100 mL de $NaHCO_3$ sat. Il est important de bien garder la phase organique à basse température lors des lavages. Après séchage sur $MgSO_4$, le milieu est concentré, ce qui donne une soixantaine de grammes d'une huile noire.

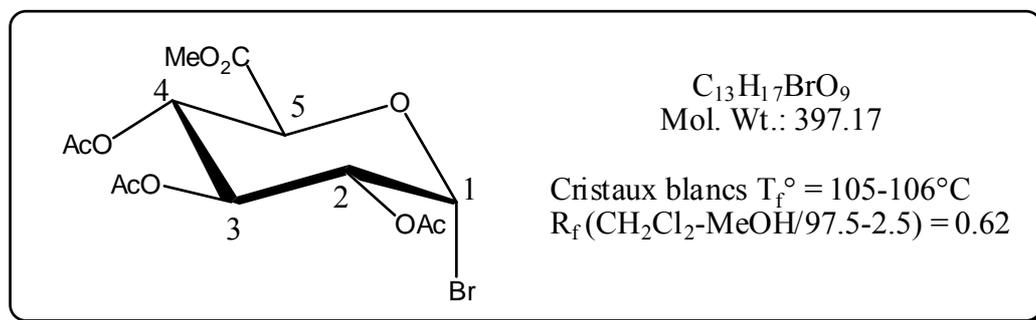
Cette huile est reprise à chaud par 100 mL de CH_2Cl_2 ; 150 mL d'*i*-PrOH sont ajoutés et la mixture mise au réfrigérateur. Le précipité récupéré est filtré sur fritté et lavé par *i*-PrOH. Après séchage à l'étude sous vide, 24.3g (40%) de produit tétraacétyl**78**, une mousse rose marron fine et légère, sont obtenus.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 5.75$ (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, H_1) ; 5.30 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H, H_3) ; 5.22 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H, H_4) ; 5.12 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H, H_2) ; 4.17 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H, H_5) ; 3.72 (s, 3H, CH_3O) ; 2.10 (s, 3H, $CH_3C(O)$) ; 2.02 et 2.01 (s, 9H, 3 $CH_3C(O)$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 169.9, 169.4, 169.1$ et 168.8 ($MeCO_2$) ; 166.8 (CO_2Me) ; 91.3 (C_1) ; 72.9 (C_5) ; 71.8 (C_2) ; 70.1 (C_3) ; 68.9 (C_4) ; 53.0 (CH_3O) ; $20.7, 20.5$ et 20.4 ($CH_3C(O)$).

Bromure de 2,3,4-tri-*O*-acétyl- α -D-glucopyranoside uronate de méthyle 55

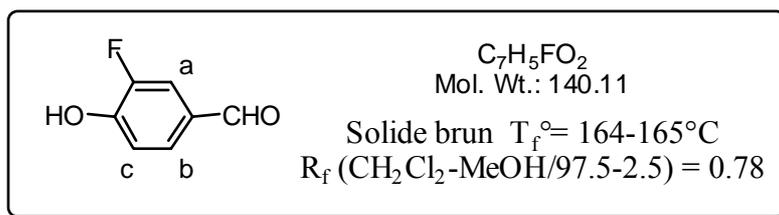


10g (26.6 mmol) de 1,2,3,4-tétra-*O*-acétyl- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle **78** est additionné par spatulées à 100 mL d'une solution d'acide bromhydrique 33% dans l'acide acétique glacial refroidie à 10°C au moyen d'un bain de glace. Le retour à TA fournit une huile brune foncée visqueuse. Le milieu réactionnel est de nouveau refroidi à 10°C et 100 mL de CH₂Cl₂ sont ajoutés. Le tout est versé sur 150g de glace. Après décantation et extraction par 2x50 mL de CH₂Cl₂, la phase organique est lavée par 100 mL d'eau puis 2x100 mL de NaHCO₃ sat., séchée sur MgSO₄ et concentrée sous vide. L'huile brune obtenue qui cristallise au réfrigérateur fournit, par recristallisation dans EtOH, 8.42g (78%) de cristaux blancs du composé bromé **55**.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta = 6.64$ (d, $J = 3.2$ Hz, 1H, H₁) ; 5.61 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H, H₃) ; 4.85 (dd, $J = 10.0$ et 3.5 Hz, 1H, H₂) ; 4.58 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, H₅) ; 3.76 (s, 3H, CH₃O) ; 2.10 , 2.05 et 2.04 (s, 3H) (CH₃C(O)).

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta = 169.6$ (2C) et 169.4 (MeC(O)) ; 166.6 (CO₂Me) ; 85.3 (C₁) ; 72.0 (C₅) ; 70.3 (C₂) ; 69.3 (C₃) ; 68.5 (C₄) ; 53.1 (CH₃O) ; 20.6 (2C) et 20.4 (CH₃C(O)).

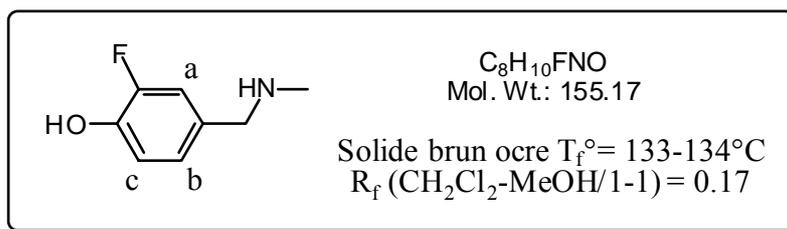
3-Fluoro-4-hydroxybenzaldéhyde 103

2.25g (14.6 mmol) de 3-fluoro-4-méthoxybenzaldéhyde **104** sont dissous à froid dans 32 mL d'une solution aqueuse hydrobromique à 47%, puis mis au reflux à 110°C pendant 2 jours. Après évaporation à la trompe à eau et reprise dans l'eau, le produit est chromatographié sur gel de silice (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/97.5-2.5$). 2g (98%) d'un composé brun-ocre sont obtenus.

ANALYSES :

RMN 1H (MeOD) : $\delta = 9.76$ (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, CHO) ; 7.58 (m, 2H, $H_{b,c}$) ; 7.05 (m, 1H, H_a).

RMN ^{13}C (MeOD) : $\delta = 199.0$ (CHO) ; 153.1 (d, $J = 244.0$ Hz, C_{q-F}) ; 152.9 (d, $J = 13.4$ Hz, C_{q-OH}) ; 130.6 (d, $J = 4.8$ Hz, C_{q-CHO}) ; 129.4 (d, $J = 2.3$ Hz, C_b) ; 118.9 (d, $J = 2.8$ Hz, C_c) ; 117.1 (d, $J = 18.6$ Hz, C_a).

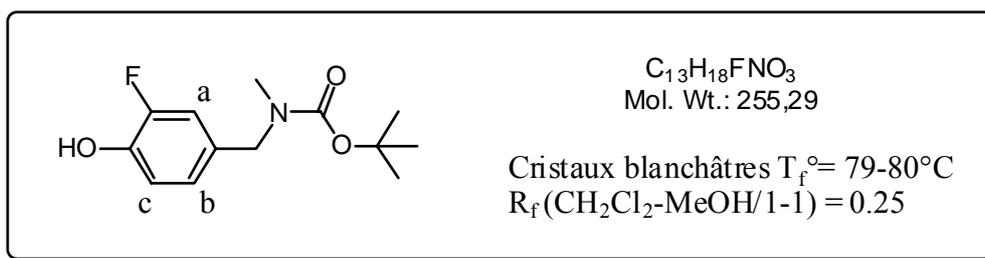
(3-Fluoro-4-hydroxybenzyl)méthylamine 107

1.55g (11.0 mmol) de 3-fluoro-4-hydroxybenzaldéhyde **103** dissous dans 15 mL de méthanol sont additionnés de 1.2 mL de MeNH₂ aq. 40% et agités 1.5h à TA. Puis l'ensemble est transvasé dans un réacteur d'hydrogénation, 48.9mg de Pd/C 10% ajoutés et le volume ajusté à 150 mL de méthanol. Le tout est vivement agité sous atmosphère d'hydrogène à 10 bars de pression durant une nuit. Après filtration sur Célite 545 et chromatographie (éluant CH₂Cl₂-MeOH/1-1), 1.26g (74%) d'un solide beige clair est récupéré.

ANALYSES :

RMN ¹H (MeOD) : $\delta = 6.98$ (dd, J = 12.1 et 2.0 Hz, 1H, H_a) ; 6.90 (dd, J = 8.3 et 1.8 Hz, 1H, H_b) ; 6.79 (m, 1H, H_c) ; 3.67 (s, 2H, CH₂N) ; 2.41 (s, 3H, NCH₃).

RMN ¹³C (MeOD) : $\delta = 153.7$ (d, J = 239.5 Hz, C_q-F) ; 148.8 (d, J = 12.8 Hz, C_q-O) ; 127.5 (d, J = 5.5 Hz, C_q-CH₂) ; 126.2 (d, J = 2.8 Hz, C_b) ; 119.7 (d, J = 3.6 Hz, C_c) ; 117.1 (d, J = 19.2 Hz, C_a) ; 54.9 (CH₂) ; 34.4 (CH₃).

***N*-tert-Butoxycarbonyl-(3-fluoro-4-hydroxybenzyl) méthylamine 108**

230mg (1.27 mmol) de (3-Fluoro-4-hydroxybenzyl)méthylamine **107** en solution dans 10 mL de THF sont additionnés de 304mg (1.1 éq.) de BOC_2O , 350mg (2 éq.) de K_2CO_3 et 10 mL d'eau. On laisse une nuit à TA. Le milieu est alors acidifié par NH_4Cl , extrait par 3x30 mL d'AcOEt; la phase organique est séchée sur Na_2SO_4 et concentrée sous vide. Une chromatographie sur silice (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/97.5-2.5$) conduit à 270mg (94%) du composé *N*-TFA **108** sous forme d'une huile qui cristallise.

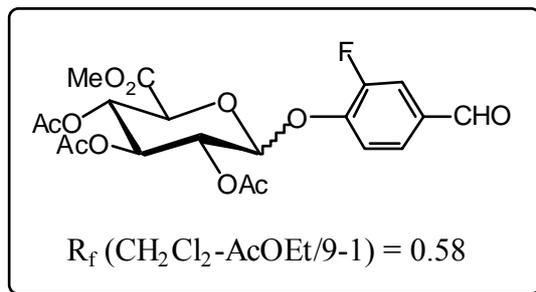
ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 7.00$ (se, 1H, OH) ; 6.90 (m, 2H, $H_{b,c}$) ; 6.80 (dd, $J = 8.3$ et 1.3 Hz, 1H, H_a) ; 4.29 (s, 2H, CH_2N) ; 2.78 (s, 3H, NCH_3) ; 1.47 (s, 9H, $(CH_3)_3C$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 156.1$ (NCO_2) ; 151.3 (d, $J = 245.4$ Hz, $Cq-F$) ; 143.4 (d, $J = 13.4$ Hz, $Cq-O$) ; 130.0 (d, $J = 4.7$ Hz, $Cq-CH_2$) ; 123.5 (C_b) ; 117.6 (d, $J = 1.7$ Hz, C_c) ; 114.9 (d, $J = 16.9$ Hz, C_a) ; 80.4 ($(CH_3)_3C$) ; 51.9 (CH_2N) ; 33.9 (NCH_3) ; 28.4 ($(CH_3)_3C$).

MS ($Cl^+ + NH_3$) : $m/z = 256 [M + NH_4]^+$

[(2-Fluoro-4-formylphényl)-2,3,4-tri-O-acétylcarbonyl]-D-glucopyranoside uronate de méthyle **109**



A une solution de 6.37g (16 mmol, 1.5 éq.) de bromosucrose **55** additionnée de 16g (40.13 mmol, 3.75 éq.) d'Ag₂O dans 100 mL de CH₃CN_{anh} sont ajoutés par spatulées 1.5g (10.7 mmol) de 3-fluoro-4-hydroxybenzaldéhyde **103**. On laisse agiter 24h à TA, à l'abri de la lumière. Après évaporation et reprise dans CH₂Cl₂, on filtre sur Celite 545 et chromatographie sur silice (éluant CH₂Cl₂-AcOEt/9-1→85-15). 3.7g d'une poudre blanche sont récupérés montrant la présence de deux composés (les isomères α et β) et de trace du bromo de départ.

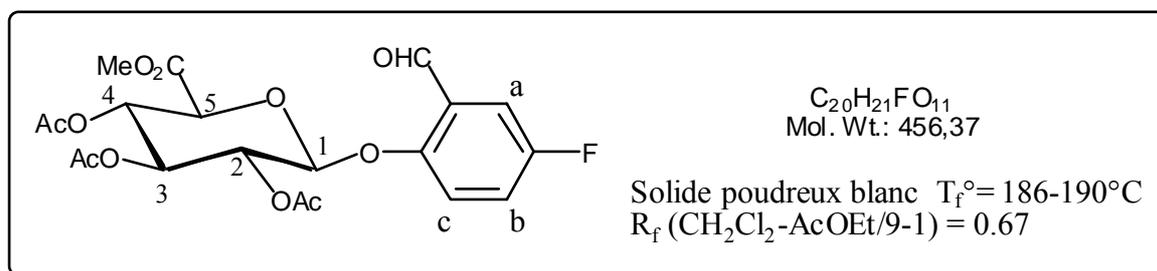
ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 9.84 (m, 1H, CHO) ; 7.58 (m, 2H, H_{a, b}) ; 7.25 (m, 1H, H_c) ; 5.25 (m, 4H, H_{1, 2, 3 et 4}) ; 4.21 (m, 1H, H₅) ; 3.67 (s, 3H, CH₃O) ; 2.03, 2.01 et 2.00 (s, 3H (CH₃C(O))).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 189.8 (CHO) ; 170.0, 169.1 et 168.0 (CH₃C(O)) ; 166.7 (CO₂Me) ; 153.1 (d, J = 251.8 Hz) et 152.4 (d, J = 249.5 Hz) (C_q-F) ; 149.2 (d, J = 11.1 Hz) et 148.4 (d, J = 10.9 Hz) (C_q-O) ; 132.7 (d, J = 5.1 Hz, C_q-CHO) ; 127.4 et 126.9 (C_b) ; 125.7 (d, J = 6.1 Hz, C_q-CHO) ; 118.9 (m, C_c) ; 118.3 (d, J = 20.0 Hz) et 116.5 (d, J = 18.9 Hz) (C_a) ; 99.4 et 99.2 (C₁) ; 72.5 (C₅) ; 71.2, 69.1 et 68.7 (C_{2,3,4}) ; 53.0 (CH₃O) ; 20.7, 20.5 et 20.4 (CH₃C(O)).

MS (CI⁺+NH₃) : m/z = 474 [M+NH₄]⁺

[(4-Fluoro-2-formylphényl)-2,3,4-tri-O-acétyl]- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle **57**



A une solution de 13.29g (33.46 mmol) de bromosucrose **55** additionnés de 18.13g (778.25 mmol) d'Ag₂O dans 200 mL de CH₃CN_{anh} sont ajoutés par spatulées 4.7g (33.55 mmol) de 5-fluoro-2-hydroxybenzaldéhyde **47**. On laisse agiter 24h à TA, à l'abri de la lumière. Après filtration sur Celite 545 et chromatographie sur silice (éluant CH₂Cl₂-AcOEt/95-5), le produit est recristallisé dans l'éthanol pour fournir 6.06g (40%) du composé de couplage **57**.

ANALYSES :

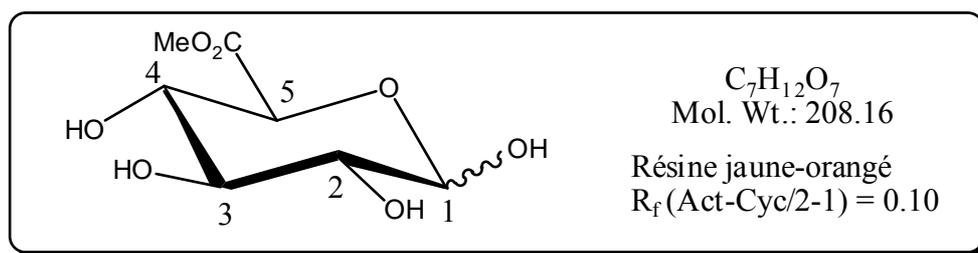
RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 10.28 (1H, CHO) ; 7.50 (dd, J = 8.1 et 3.2 Hz, 1H, H_a) ; 7.25 (ddd, J = 9.1, 7.4 et 3.2 Hz, 1H, H_b) ; 7.15 (dd, J = 9.1 et 4.1 Hz, 1H, H_c) ; 5.35 (m, 3H, H_{2,3} et 4) ; 5.20 (d, J = 6.8 Hz, 1H, H₁) ; 4.22 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H₅) ; 3.74 (s, 3H, CH₃O) ; 2.07, 2.06 et 2.05 (s, 3H) (CH₃C(O)).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 188.0 (CHO) ; 170.0, 169.4 et 169.2 (CH₃C(O)) ; 166.6 (CO₂Me) ; 158.8 (d, J = 246.1 Hz, C_q-F) ; 154.7 (d, J = 2.0 Hz, C_q-O) ; 127.7 (d, J = 6.3 Hz, C_q-CHO) ; 122.6 (d, J = 24.2 Hz, C_b) ; 118.7 (d, J = 7.5 Hz, C_c) ; 114.2 (d, J = 23.8 Hz, C_a) ; 99.6 (C₁) ; 72.6 (C₅) ; 71.4, 70.7 et 68.9 (C_{2,3,4}) ; 53.3 (CH₃O) ; 20.6 et 20.5 (CH₃C(O)).

MS (CI⁺+NH₃) : m/z = 474 [M+NH₄]⁺

HRMS : (C₂₀H₂₇O₁₁NF) m/z = 474.1412 calculé ; 474.1422 trouvé

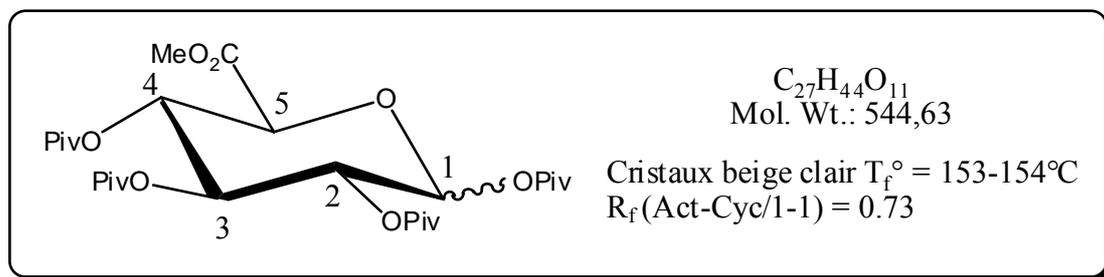
D-Glucopyranoside uronate de méthyle **112**



La D-glucurono-6,3-lactone **46** (28g, 0.16 mmol) est ajoutée par spatulées, durant environ une demi-heure, à une solution de 250mg (excès) de MeONa dans 210 mL de MeOH. Le milieu réactionnel est agité pendant une heure à TA. La solution devient jaune orange foncée.

Après concentration sous pression réduite (bain d'eau à 45°C), le résidu obtenu est séché à la pompe à palettes. 37g (quantitatif) d'une résine orange marron sont obtenus. Le composé **112** est mis en réaction tel quel.

1,2,3,4-Tétra-O-tert-butylcarbonyl-D-glucopyranoside uronate de méthyle 113



A 41.6g (0.18 mol) de D-glucopyranoside uronate de méthyle **112** dissous dans un mélange $CHCl_3/Py$ (215 mL/125 mL) sont additionnés goutte-à-goutte, durant 1.5h, 134 mL (15.55 mol) de chlorure de pivaloyle, en faisant bien attention à ce que la température ne dépasse pas les $50^\circ C$. Une vive agitation est maintenue pendant 5 jours. Après évaporation, le résidu est extrait par 5x200 mL de Et_2O . Ensuite il est procédé à plusieurs lavages: 200 mL H_2SO_4 2N, 300 mL $NaHCO_3$ sat et H_2O jusqu'à neutralité du jus aqueux; on sèche alors sur $MgSO_4$. Une fois concentré sous pression réduite, le produit est recristallisé dans l'éthanol pour fournir 48.8g (49%) de cristaux beige clair de bonne taille et d'aspect rhomboédrique.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 5.72$ (d, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_1) ; 5.39 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H, H_3) ; 5.21 (m, 2H, $H_{2,4}$) ; 4.15 (d, $J = 10.1$ Hz, 1H, H_5) ; 3.66 (s, 3H, CH_3O) ; 1.13 (s, 9H, $(CH_3)_3$) ; 1.08 (s, 9H, $(CH_3)_3$) ; 1.06 (s, 18H, $(CH_3)_3$).

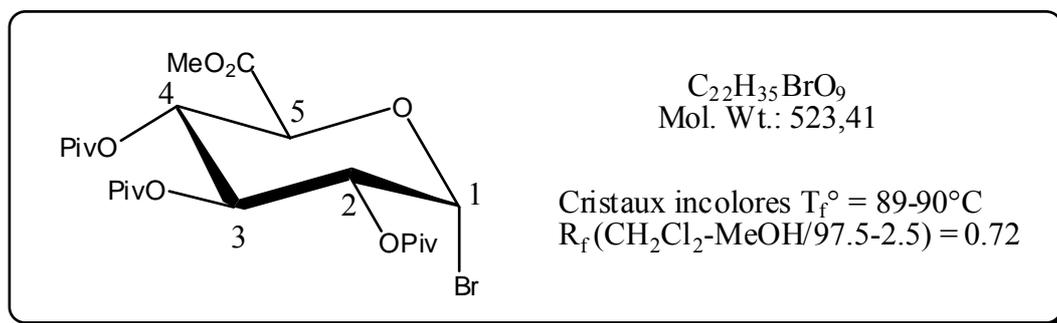
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 176.9, 176.5, 176.4$ et 176.2 (CO_2Piv) ; 166.8 (CO_2Me) ; 91.6 (C_1) ; 73.2 (C_5) ; 71.6 (C_3) ; 69.8 et 69.2 ($C_{2,4}$) ; 58.3 ($C(CH_3)_3$) ; 38.7 (CH_3O) ; $27.1, 27.1, 27.0$ et 26.8 ($(CH_3)_3C$).

Analyse élémentaire (%) :

Calc. C : 59.54 H : 8.14

Exp. C : 59.38 H : 8.08

Bromure de 2,3,4-tri-*O*-pivaloyl- α -D-glucopyranoside uronate de méthyle **111**



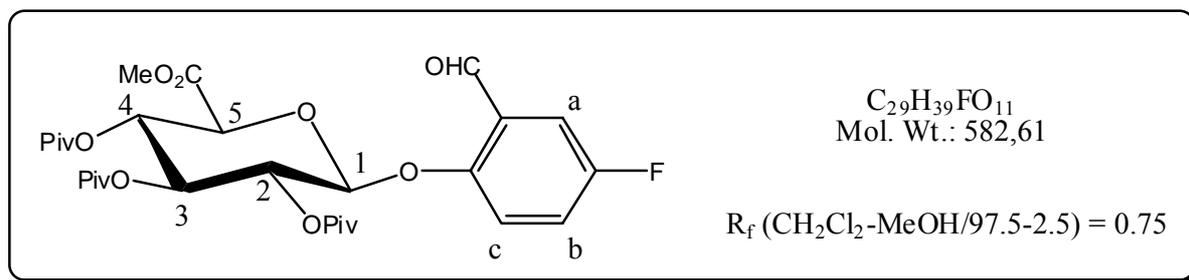
48.8g (89.7 mmol) de 1,2,3,4-tétra-*O*-pivaloyl- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle **113** sont dissous dans 55 mL de CH_2Cl_2 et refroidis à $0^\circ C$ sous forte agitation. 83 mL d'une solution d'acide bromhydrique 33% dans l'acide acétique sont additionnés goutte-à-goutte et l'agitation poursuivie 20h à TA. Après concentration, le résidu est repris dans 400 mL de CH_2Cl_2 , lavé par $NaHCO_3$ sat et H_2O glacés, séché sur $MgSO_4$, évaporé et recristallisé dans l'éthanol. 34.3g (73%) de cristaux incolores de produit bromé **111** sont collectés.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 6.58$ (d, $J = 4.1$ Hz, 1H, H_1) ; 5.60 (m, 1H, H_3) ; 5.23 (m, 1H, H_4) ; 4.79 (dd, $J = 9.9$ et 4.1 Hz, 1H, H_2) ; 4.50 (dd, $J = 10.3$ et 5.9 Hz, 1H, H_5) ; 3.67 (s, 3H, CH_3O) ; 1.12 , 1.10 et 1.07 (s, 9H) ($(CH_3)_3C$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 177.0$, 176.4 , 166.7 et 166.2 (Cq) ; 85.6 (C_1) ; 72.2 (C_5) ; 70.3 (C_2) ; 68.8 (C_3) ; 68.1 (C_4) ; 52.9 (CH_3O) ; 38.7 et 38.6 (C_{Me_3}) ; 27.1 , 27.0 et 26.9 ($(CH_3)_3$).

[(4-Fluoro-2-formylphényl)-2,3,4-tri-*O*-*tert*-butyl]- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle 114



7.5g (14.3 mmol) de bromure **111** sont mis en solution dans 200 mL de CH_3CN anh., sous argon. 14.5g d' Ag_2O sont versés et 3.20g (1.6 équ.) de 5-fluor-2-hydroxybenzaldéhyde **47** additionnés rapidement par cuillerées. L'agitation est poursuivie une nuit, la solution étant mise à l'abri de la lumière au moyen de feuilles d'aluminium toujours sous atmosphère d'argon.

Le milieu réactionnel est filtré deux fois sur Célite 545, concentré sous vide puis chromatographié (éluant Cyc- CH_2Cl_2 /7-3 puis CH_2Cl_2 -MeOH/97.5-2.5) pour fournir 1.25g (15%) d'un solide beige.

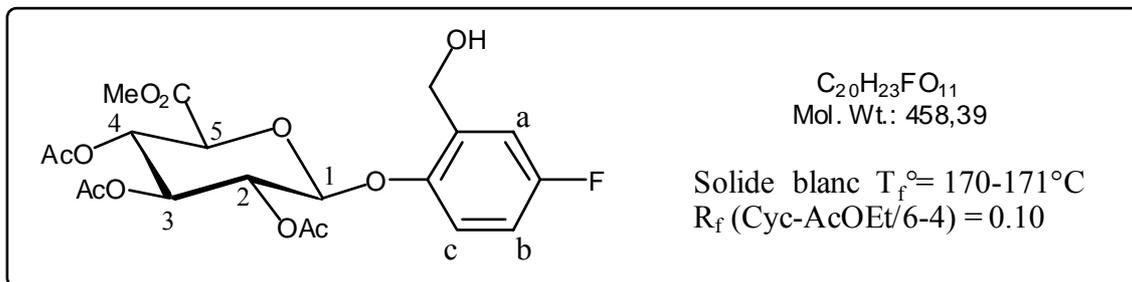
ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ = 10.27 (s, 1H, CHO) ; 7.50 (dd, J = 8.1 et 3.2 Hz, 1H, H_a) ; 7.26 (m, 1H, H_b) ; 7.07 (m, 1H, H_c) ; 5.46 (m, 2H, $H_{2,3}$) ; 5.35 (m, 1H, H_a) ; 5.18 (m, 1H, H_1) ; 4.20 (m, 1H, H_5) ; 3.73 (s, 3H, CH_3O) ; 1.14 (m, 27H, $(CH_3)_3C$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ = 188.2 (CHO) ; 177.1, 176.6 et 176.4 ($Me_3C(O)$) ; 166.6 (CO_2Me) ; 158.7 (d, J = 248.2 Hz, C_q-F) ; 154.7 (C_q-O) ; 127.5 (d, J = 5.8 Hz, C_q-CHO) ; 122.6 (d, J = 24.2 Hz, C_b) ; 117.9 (d, J = 7.5 Hz, C_c) ; 114.2 (d, J = 22.9 Hz, C_a) ; 99.8 (C_1) ; 73.0 (C_5) ; 71.1, 70.5 et 69.0 ($C_{2,3,4}$) ; 53.1 (CH_3O) ; 27.2 et 27.1 ($(CH_3)_3C$).

MS ($Cl^+ + NH_3$) : m/z = 600 [$M + NH_4$] $^+$

[(4-Fluoro-2-(hydroxyméthyl)phényl)-2,3,4-tri-O-acétyl]- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle 116



A 1g (2.2 mmol) de l'aldéhyde **57** en solution dans 102 mL d'un mélange $CHCl_3$ -*i*-PrOH/5-1, en présence de 10g de silice fine, sont ajoutés, à $0^{\circ}C$, 227mg (6.0 mmol) de $NaBH_4$ par spatulées. Au bout de 2h à $0^{\circ}C$, de l'eau est versée dans le milieu. Après filtration, décantation et séchage sur $MgSO_4$, le produit est purifié sur silice (éluant Tol-Act/2-1). 870mg (87%) d'un solide blanc plâtreux sont obtenus.

ANALYSES :

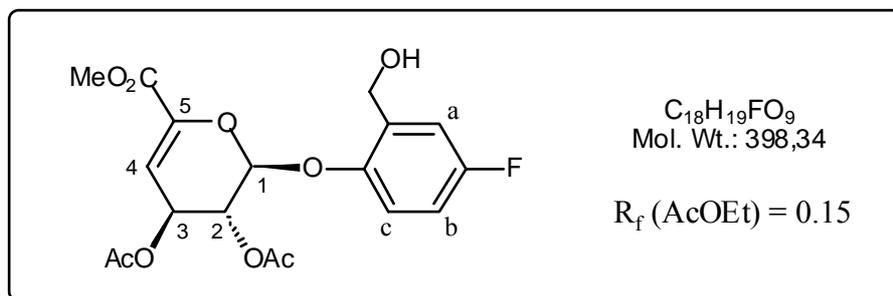
RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 7.00$ (dd, $J = 8.9$ et 2.9 Hz, 1H, H_a) ; 6.88 (dd, $J = 8.9$ et 4.5 Hz, 1H, H_c) ; 6.77 (m, 1H, H_b) ; 5.27 (t, $J = 9.3$ Hz, 1H, H_3) ; 5.16 (m, 2H, $H_{2,4}$) ; 4.99 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, H_1) ; 4.46 (ABq, $J = 13.6$ Hz, 2H, $\underline{CH_2OH}$) ; 4.11 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, H_5) ; 3.58 (s, 3H, CH_3O) ; 3.33 (se, 1H, OH) ; 1.97 , 1.93 et 1.93 (s, 3H) ($CH_3C(O)$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 171.0$, 169.8 et 169.3 ($CH_3C\underline{O}_2$) ; 166.8 (\underline{CO}_2Me) ; 158.8 (d, $J = 242.4$ Hz, Cq-F) ; 149.7 (d, $J = 2.0$ Hz, Cq-O) ; 134.3 (d, $J = 7.1$ Hz, $\underline{Cq-CH_2OH}$) ; 117.9 (d, $J = 8.3$ Hz, C_c) ; 115.3 (d, $J = 23.7$ Hz, C_a) ; 114.6 (d, $J = 23.6$ Hz, C_b) ; 100.0 (C_1) ; 71.7 (C_5) ; 71.4 (C_3) ; 70.7 et 68.8 ($C_{2,4}$) ; 59.2 (CH_2OH) ; 52.8 (CH_3O) ; 20.7 , 20.3 et 20.1 ($\underline{CH_3C(O)}$).

MS ($CI^+ + NH_3$) : $m/z = 476$ [$M + NH_4$] $^+$

HRMS : ($C_{20}H_{27}O_{11}NF$) $m/z = 476.1568$ calculé ; 476.1575 trouvé

[(4-Fluoro-2-(hydroxyméthyl)phényl)-2,3-di-O-acétyl]-4,5-déhydro- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle 132



700mg (1.53mmol) du dérivé hydroxylé **116**, 12.0mg (1.84 éq.) de NaN_3 et 84.2mg (2.1 éq.) de $P\phi_3$ sont chauffés à $90^\circ C$ dans 10 mL d'un mélange 4/1 DMF/ CCl_4 . Lorsque tout le produit de départ a disparu (suivi CCM), le milieu est quenché, à TA, par 5 mL d'eau. Après dilution par 25 mL d' Et_2O et lavages répétés à l'eau, la phase étherée est triturée pour faire cristalliser $P\phi_3O$ et filtrée subséquemment. La phase séchée sur Na_2SO_4 et concentrée est chromatographiée (éluant CH_2Cl_2 -MeOH/1-0 \rightarrow 97.5-2.5) pour fournir 200mg (30%) du produit d'élimination **132** sans désacétylation.

ANALYSES :

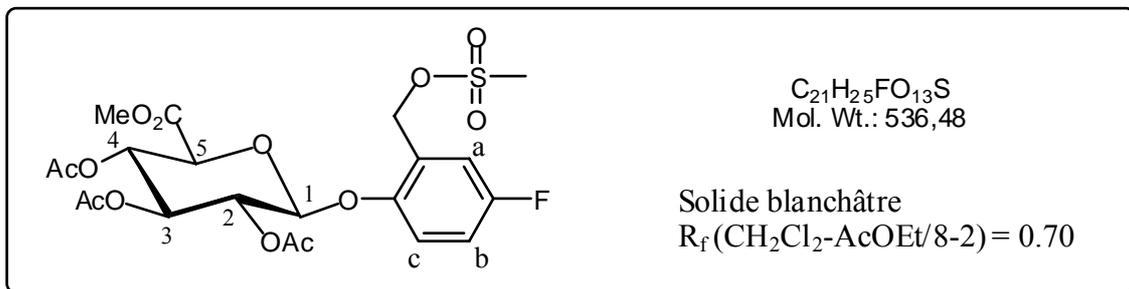
RMN 1H ($CDCl_3$) : δ = 7.16 (dd, J = 8.9 et 4.4 Hz, 1H, H_c) ; 6.99 (dd, J = 8.5 et 3.0 Hz, 1H, H_a) ; 6.92 (m, 1H, H_b) ; 6.26 (d, J = 4.7 Hz, 1H, H_4) ; 5.82 (d, J = 2.6, 1H, H_1) ; 5.30 (m, 1H, H_3) ; 5.25 (m, 1H, H_2) ; 4.55 (ABq, J = 13.3 Hz, 2H, CH_2OH) ; 3.76 (s, 3H, CH_3O) ; 2.98 (se, 1H, OH) ; 2.13 et 2.10 (s, 3H) ($CH_3C(O)$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ = 169.8 et 169.5 (CH_3CO_2) ; 161.71 (CO_2Me) ; 159.2 (d, J = 242.3 Hz, Cq-F) ; 149.8 (d, J = 2.3 Hz, Cq-O) ; 132.6 (d, J = 6.9 Hz, Cq- CH_2OH) ; 115.9 (d, J = 7.2 Hz, C_c) ; 115.7 (d, J = 22.9 Hz, C_a) ; 115.1 (d, J = 23.2 Hz, C_b) ; 107.2 (C_4) ; 94.1 (C_1) ; 67.8 (C_3) ; 63.8 (C_2) ; 61.1 (CH_2OH) ; 52.7 (CH_3O) ; 20.7 ($CH_3C(O)$).

MS (CI^+NH_3) : m/z = 416 [$M+NH_4$] $^+$

HRMS : ($C_{18}H_{23}O_9NF$) m/z = 416.1357 calculé ; 416.1360 trouvé

**[(4-Fluoro-2-(méthanesulfonyloxyméthyl)phényl)-2,3,4-tri-O-acétyl]-
β-D-glucopyranoside uronate de méthyle 133**



A une solution refroidie à 0°C de 1.9g (4.15 mmol) de l'alcool **116** et 0.85 mL de TEA dans 120 mL de CH₂Cl₂ est ajouté à la seringue 0.71 mL de MsCl. Après une nuit au réfrigérateur, le milieu réactionnel est versé sur un mélange de 30 ml de glace et 50 mL d'eau, extrait au dichlorométhane (2x100 et 1x50 mL) puis séché sur MgSO₄. Par purification sur colonne (élution successive CH₂Cl₂/AcOEt 8/2, 7/3 puis AcOEt pur) est récupéré 1.16g (52%) d'une huile blanche qui cristallise.

ANALYSES :

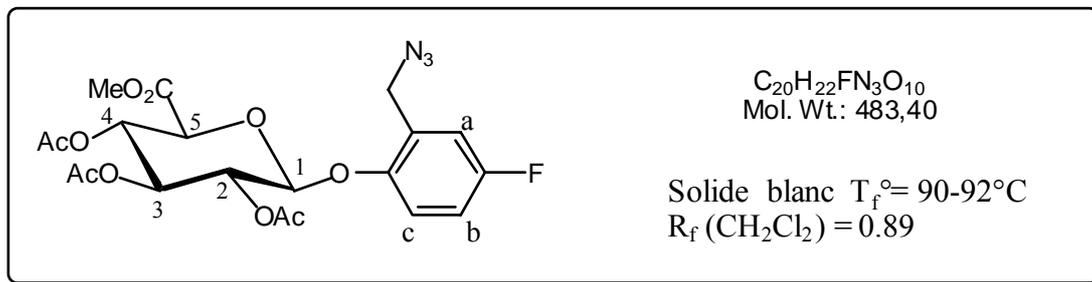
RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 7.03 (dd, J = 8.5 et 2.9 Hz, 1H, H_a) ; 7.00-6.88 (m, 2H, H_{b,c}) ; 5.32-5.14 (m, 3H, H_{2,3,4}) ; 5.10 (s, 2H, CH₂O) ; 5.06 (m, 1H, H₁) ; 4.18 (d, J = 9.5 Hz, 1H, H₅) ; 3.60 (s, 3H, CH₃O) ; 2.95 (s, 3H, CH₃S) ; 1.93, 1.92 et 1.90 (s, 3H) (CH₃C(O)).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 169.6, 169.2, 169.2 et 166.6 (3 MeC=O et C=O) ; 158.8 (d, J = 242.9 Hz, C_q-F) ; 150.1 (d, J = 2.3 Hz, C_q-O) ; 125.7 (d, J = 7.7 Hz, C_q-CH₂) ; 117.2 (d, J = 8.2 Hz, C_c) ; 116.7 (d, J = 23.0 Hz, C_b) ; 116.4 (d, J = 24.2 Hz, C_a) ; 99.2 (C₁) ; 72.0 (C₅) ; 71.2, 70.5 et 68.8 (C_{2,3,4}) ; 52.7 (CH₃O) ; 37.2 (CH₃S) ; 20.3, 20.2 et 20.1 (CH₃C(O)).

MS (CI⁺+NH₃) : m/z = 554 [M+NH₄]⁺

HRMS : (C₂₁H₂₉O₁₃NFS) m/z = 554.1344 calculé ; 554.1349 trouvé

[(4-Fluoro-2-(azidométhyl)phényl)-2,3,4-tri-O-acétyl]- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle 117



Un mélange de 1.15g (2.14 mmol) du dérivé mésylé **133** et de 209mg (1.5 équ.) de NaN_3 dans 25 ml de DMF_{anh} est agité 5h à TA. Après dilution par 30 mL d'eau, extraction à l'AcOEt (3x50 mL), séchage sur Na_2SO_4 , le produit est purifié sur colonne (éluant CH_2Cl_2 -AcOEt/9-1). 856mg (83%) d'un solide blanc sont obtenus.

ANALYSES :

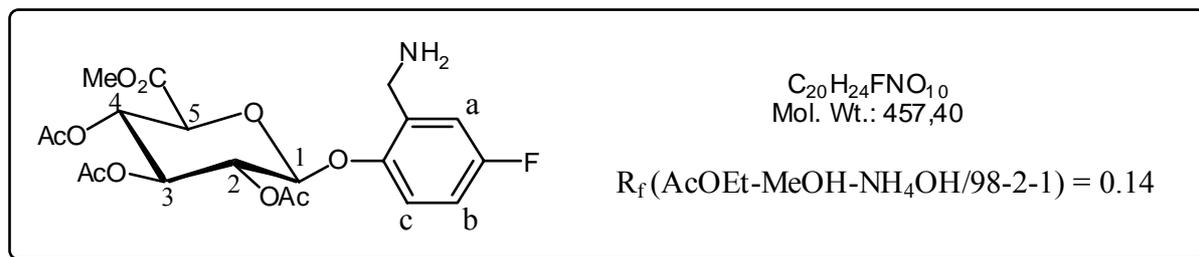
RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 7.01-6.96$ (m, 2H, $H_{a,c}$) ; 6.90 (m, 1H, H_b) ; 5.34-5.20 (m, 3H, $H_{2,3,4}$) ; 5.05 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_1) ; 4.26 (ABq, $J = 14.2$ Hz, 2H, CH_2N_3) ; 4.17 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H, H_5) ; 3.65 (s, 3H, CH_3O) ; 2.01, 1.97 et 1.96 (s, 3H) ($CH_3C(O)$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 170.9$ ($\underline{CO_2Me}$) ; 169.2, 169.1 et 166.7 ($Me\underline{CO_2}$) ; 158.1 (d, $J = 242.5$ Hz, $Cq-F$) ; 150.1 (d, $J = 2.2$ Hz, $Cq-O$) ; 129.0 (d, $J = 7.6$ Hz, $\underline{Cq-CH_2}$) ; 117.1 (d, $J = 7.9$ Hz, C_c) ; 117.0 (d, $J = 24.0$ Hz, C_a) ; 116.2 (d, $J = 23.1$ Hz, C_b) ; 99.0 (C_1) ; 71.9 (C_5) ; 71.3, 70.4 et 68.8 ($C_{2,3,4}$) ; 52.7 (CH_3O) ; 39.9 (CH_2N_3) ; 20.4, 20.2 et 20.1 ($\underline{CH_3C(O)}$).

MS (FAB^+ $MB+NaI$) : $m/z = 506.2$ [$M+Na$] $^+$

HRMS : ($C_{20}H_{22}O_{10}N_3FNa$) $m/z = 506.1187$ calculé ; 506.1182 trouvé

[(4-Fluoro-2-(aminométhyl)phényl)-2,3,4-tri-O-acétyl]- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle **115**



100mg (0.207mmol) d'azide **117** et 26mg de Pd/CaCO₃ 5% en solution dans 10 mL d'AcOEt sont agités 3h à TA sous pression d'hydrogène (1 bar). Par suite d'une filtration sur Célite 545, l'amine **115** est récupérée quantitativement.

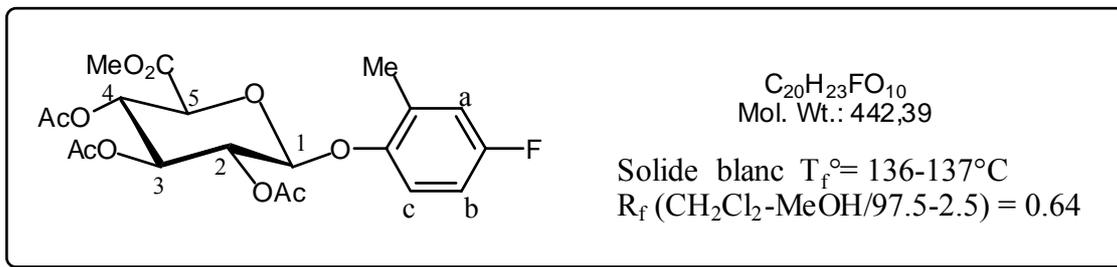
ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 7.05-6.97 (m, 3H, H_{a,b,c}) ; 5.342 (m, 3H, H_{2,3,4}) ; 5.07 (d, J = 6.3 Hz, 1H, H₁) ; 4.31 (ABq, J = 14.2 Hz, CH₂N) ; 4.15 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H₅) ; 3.72 (s, 3H, CH₃O) ; 2.08, 2.03 et 2.03 (s, 3H) (CH₃C(O)).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 170.1, 169.4 et 169.3 (MeCO₂) ; 166.7 (CO₂Me) ; 158.7 (d, J = 243.2 Hz, C_q-F) ; 150.4 (d, J = 2.3 Hz, C_q-O) ; 127.9 (d, J = 7.2 Hz, C_q-CH₂) ; 117.4 (d, J = 8.3 Hz, C_c) ; 116.6 (d, J = 23.9Hz, C_{a/b}) ; 116.0 (d, J = 23.2 Hz, C_{a/b}) ; 99.8 (C₁) ; 72.6 (C₅) ; 71.7, 70.9 et 69.1 (C_{2,3 et 4}) ; 53.1 (CH₃O) ; 49.0 (CH₂N) ; 20.7, 20.7 et 20.6 (CH₃C(O)).

MS (FAB⁺ MB) : m/z = 458.3 [M+H]⁺

**[(4-Fluoro-2-méthylphényl)-2,3,4-tri-O-acétyl]- β -D-glucopyranoside
uronate de méthyle 134**



ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 6.98-6.93$ (m, 1H, H_{aro}) ; $6.87-6.79$ (m, 2H, H_{aro}) ; 5.32 (m, 3H, $H_{2,3,4}$) ; 4.98 (m, 1H, H_1) ; 4.13 (m, 1H, H_5) ; 3.74 (s, 3H, CH_3O) ; 2.17 (s, 3H, CH_3) ; 2.07 , 2.05 et 2.04 (s, 3H) ($CH_3C(O)$).

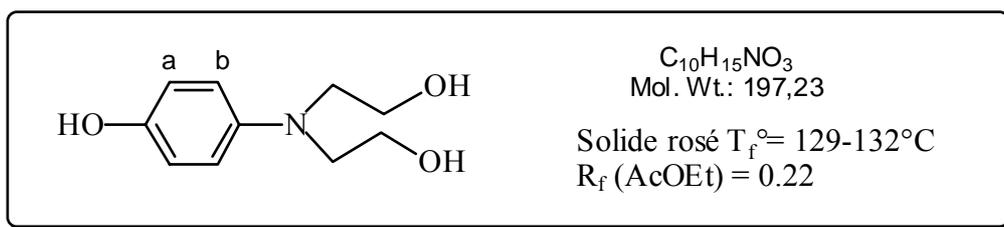
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 170.2$, 169.4 et 169.2 ($CH_3C(O)$) ; 166.9 (CO_2Me) ; 158.7 (d, $J = 241.6$ Hz, $Cq-F$) ; 151.1 ($Cq-O$) ; 130.6 (d, $J = 8.0$ Hz, $Cq-CH_3$) ; 117.5 (d, $J = 23.7$ Hz, $C_{a/b}$) ; 117.4 (d, $J = 9.4$ Hz, C_c) ; 113.1 (d, $J = 23.0$ Hz, $C_{a/b}$) ; 100.2 (C_1) ; 72.6 (C_5) ; 71.9 , 71.0 et 69.2 ($C_{2,3,4}$) ; 53.1 (CH_3O) ; 20.7 , 20.7 et 20.6 ($CH_3C(O)$) ; 16.2 (CH_3).

MS ($CI^+ + NH_3$) : $m/z = 460$ [$M + NH_4$] $^+$

MS ($FAB^+ MB + NaI$) : $m/z = 465.2$ [$M + Na$] $^+$

HRMS ($CI^+ + NH_3$) : ($C_{20}H_{27}O_9N_2F$) $m/z = 460.1619$ calculé ; 460.1613 trouvé

4-[Bis-(2-hydroxyéthyl)amino]phénol **139**

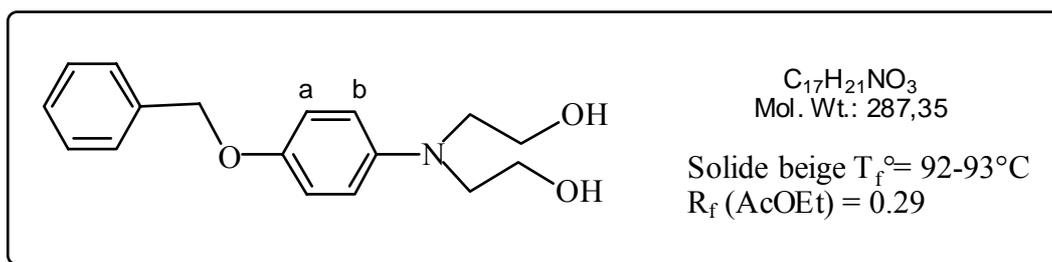


Dans un erlenmeyer à fermeture SVL, une solution de 10.9g (0.1mol) de 4-aminophénol **137** dans 500 mL d'un mélange 1/1 AcOH/H₂O est additionnée de 45.4 mL (0.91mol) d'oxyde d'éthylène. Au bout de 48h, le milieu est concentré à sec à la pompe à palettes. La gomme brune obtenue est chromatographiée (éluant AcOEt) et le solide récupéré recristallisé dans CHCl₃/EtOH pour fournir 8.35g (40%) de triol **139**.

ANALYSES :

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) : $\delta = 8.47$ (se, 1H, OH_{aro}) ; 6.56 (ABq, J = 9.2 Hz, H_{a,b}) ; 4.65 (t, J = 5.3 Hz, 2H, CH₂OH) ; 3.47 (m, 4H, CH₂OH) ; 3.27 (t, J = 6.4 Hz, 4H, CH₂N).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) : $\delta = 148.1$ (Cq-O) ; 141.6 (Cq-N) ; 115.8 (C_a) ; 113.4 (C_b) ; 58.5 (CH₂OH) ; 54.1 (CH₂N).

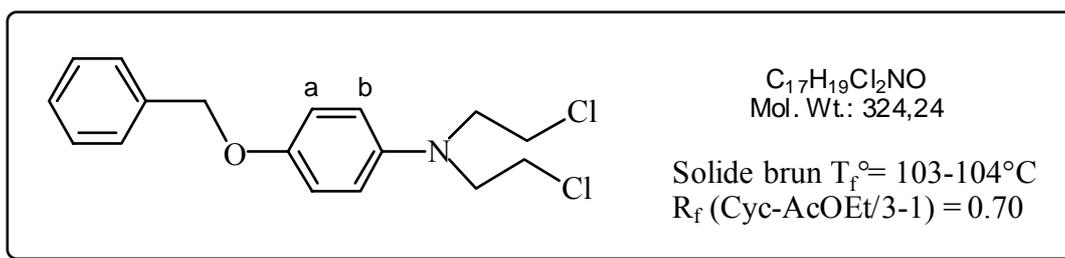
4-Benzyloxy-*N,N*-bis-(2-hydroxyéthyl)aniline 140

A une solution de 8.35g (42.3mmol) de triol **139** et de 5.1 mL (1 éq.) de BnBr dans 80 mL d'éthanol sont ajoutés 2.80g (1 éq.) de potasse et le tout porté à reflux durant 3h. Après concentration à sec, le résidu est repris dans l'eau et extrait par 3x40 mL d'AcOEt et séché sur Na_2SO_4 . Le produit recristallisé dans EtOH/EP donne 8.06g (66%) d'un solide beige.

ANALYSES :

RMN 1H (DMSO- d_6) : $\delta = 7.43-7.30$ (m, 5H, H Bn) ; 6.85 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H, H_a) ; 6.62 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, H_b) ; 4.98 (s, 2H, CH_2 Bn) ; 4.69 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H, CH_2OH) ; 3.50 (m, 4H, CH_2OH) ; 3.33 (m, 4H, CH_2N).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : $\delta = 149.3$ (C_q-O) ; 142.8 (C_q Bn) ; 137.8 (C_q-N) ; 115.9 (C_a) ; 112.6 (C_b) ; 69.8 (CH_2 Bn) ; 58.3 (CH_2OH) ; 53.8 (CH_2N).

4-Benzyloxy-*N,N*-bis-(2-chloroéthyl)aniline 141

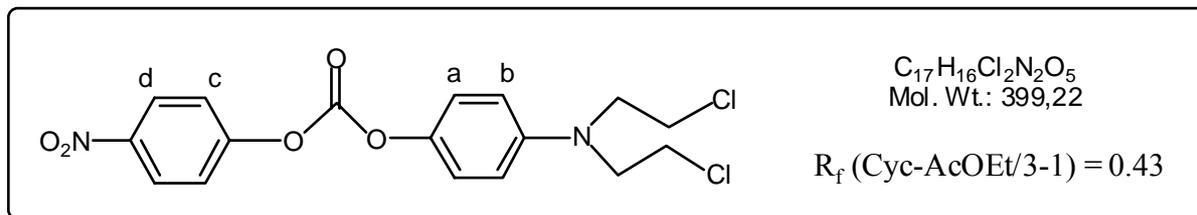
0.55 mL (excès) de MsCl sont ajoutés goutte-à-goutte à une solution refroidie à 0°C de 440mg (1.53mmol) de 4-benzyloxy-*N,N*-bis-(2-hydroxyéthyl)aniline **140** dans 2 mL de pyridine. Le milieu réactionnel est chauffé à 70°C pendant 1/4 d'heure ; on additionne alors prestement 129mg (2 éq.) de LiCl et chauffe de nouveau pendant 1/4 d'heure à 70°C. Après dilution par 20 mL d'AcOEt, une solution aqueuse saturée d'acide citrique est versée à la mixture résultante. Puis il est procédé à deux extractions par 20ml d'AcOEt, au séchage sur Na₂SO₄. Suite à une chromatographie (éluant Cyc-AcOEt/3-1), le composé est recristallisé dans EtOH/EP pour fournir 292mg (59%) du dérivé chloré benzylé **141**.

ANALYSES :

RMN ¹H (DMSO-*d*₆) : $\delta = 7.41$ (m, 5H, H Bn) ; 6.90 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H_a) ; 6.70 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H_b) ; 5.00 (s, 2H, CH₂O) ; 3.66 (m, 8H, CH₂N et CH₂Cl).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆) : $\delta = 150.5$ (Cq-O) ; 140.8 (Cq Bn) ; 137.6 (Cq-N) ; 116.0 (C_a) ; 113.7 (C_b) ; 69.6 (CH₂O) ; 52.7 (CH₂N) ; 41.3 (CH₂Cl).

Carbonate de 4-[*N,N*-bis-(2-chloroéthyl)]aminophénol et de 4-nitrophénol **144**

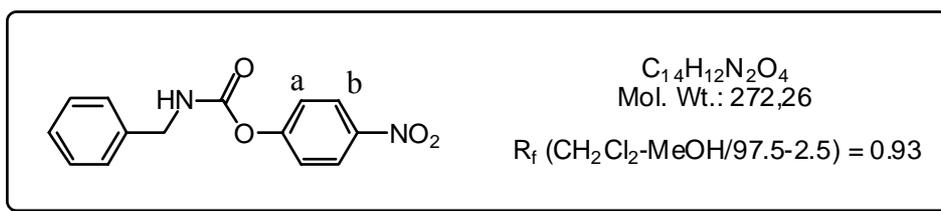


Par barbotage d'HCl (H₂SO₄ sur NaCl), le composé benzylé **141** (1.55g, 4.78mmol) est dissous dans 30 mL d'EtOH ; 250mg de charbon palladié 10% sont alors ajoutés et le milieu agité à TA sous atmosphère d'hydrogène (1 bar). Lorsque la réaction est terminée (suivi du volume d'hydrogène absorbé), on filtre sur Célite 545 et évapore pour recueillir 1.26g (quant.) du sel **142** sous l'aspect d'un solide blanc-gris. Ce dernier est alors mis en suspension dans 35 mL de chloroforme avec 1.07g (1.11 éq.) de 4-nitrophénylchloroformiate, et 1.70 mL de TEA sont alors additionnés goutte-à-goutte. Au bout de 2h, le milieu est concentré et chromatographié (éluant CH₂Cl₂-MeOH/1-0 → 97.2-2.5) pour fournir 1.83g d'un mélange comprenant le carbonate activé **144** (75%) et du 4-nitrophénol.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 9.28 (d, J = 9.1 Hz, 2H, H_d) ; 7.46 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H_c) ; 7.14 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H_a) ; 6.68 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H_b) ; 3.74 (m, 4H, CH₂Cl) ; 3.60 (m, 4H, CH₂N).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 171.1 (CO₂) ; 155.4, 151.6, 145.5 et 144.6 (C_qaro) ; 125.3 (C_d) ; 121.8 et 121.7 (C_{a,c}) ; 112.5 (C_b) ; 53.6 (CH₂N) ; 40.3 (CH₂Cl).

4-Nitrophénylbenzylcarbamate 145

50mg (0.47 mmol) de benzylamine et 94mg (1éq.) de chloroformiate **143** sont suspendus dans 5 ml de CH_3CN anhydre puis additionnés de TEA (0.318 mL, 1.1 éq.) pour donner une solution limpide puis jaune. Après 24h d'agitation, le milieu est concentré, repris dans 20 mL de CH_2Cl_2 , lavé à l'eau, $NaHCO_3$ et $NaCl$ sat. Après séchage sur Na_2SO_4 et chromatographie (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/97.5-2.5$), 109mg (85%) du carbamate **145** sont récupérés.

ANALYSES :

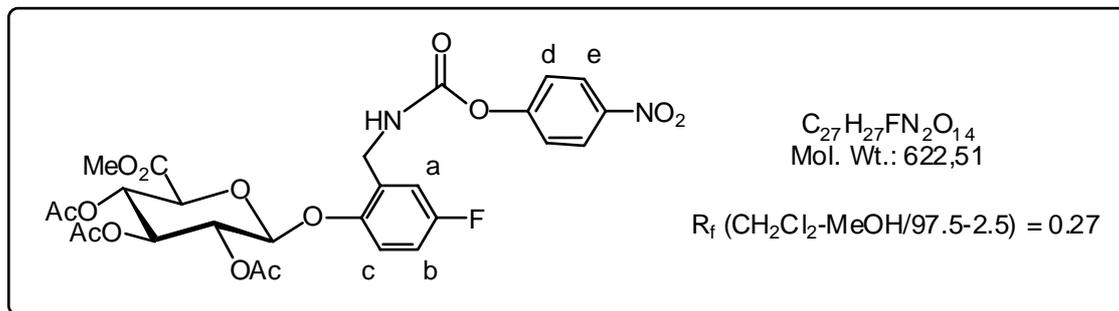
RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 8.24$ (m, 2H, $H_{a/b}$) ; 7.36 (m, 7H, $H_{a/b}$ et H_{aro} Bn) ; 5.50 (se, 1H, NH) ; 4.47 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H, CH_2).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 155.9$ (NCO_2) ; 153.3, 144.9 et 137.4 (C_{qaro}) ; 129.0 ($C_{o/m}$) ; 128.0 (C_p) ; 127.8 ($C_{o/m}$) ; 125.2 et 122.0 ($C_{a\text{ et }b}$) ; 45.5 (CH_2).

SM ($CI^+ + NH_3$) : $m/z = 290$ [$M + NH_4$] $^+$

SM ($FAB^+ MB + NaI$) : $m/z = 1793.9$ [$M + Na$] $^+$; 1794.9 [$M + Na + 1$] $^+$

4-Nitrophényl-[5-fluoro-2-(O-2, 3, 4-tri-O-acétylméthyl glucopyranurosiduronate)]benzylcarbamate **146**



28mg (44 μ mol) de l'amine **115** sont dissous dans 3 mL de CH₃CN anhydre puis additionnés de 13.7mg (1.1 éq.) de chloroformiate **143** suivis de 60 μ L de TEA (2.2 éq.). Le milieu réactionnel est concentré sous vide et le résidu chromatographié sur colonne de gel de silice et plaque préparative (éluant CH₂Cl₂-MeOH/97.5-2.5) pour fournir 12mg (44%) du carbamate **146** ainsi que l'urée symétrique **147**.

ANALYSES :

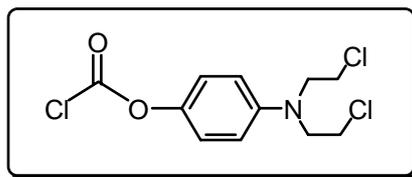
RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 8.15 (m, 2H, H_{c/d}) ; 7.26 (s, 1H, H_a) ; 7.01 (m, 2H, H_b et c) ; 6.90 (m, 2H, H_{c/d}) ; 6.58 (se, 1H, NH) ; 5.34 (m, 3H, H_{2,3} et 4) ; 5.10 (m, 1H, H₁) ; 4.47 (ABq, J = 14.3 Hz, 2H, CH₂) ; 4.15 (m, 1H, H₅) ; 3.73 (m, 3H, MeO) ; 2.13-2.05 (m, 9H, Ac).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 170.2, 169.6, 169.5 et 166.9 (CO₂) ; 161.7 (NCO₂) ; 150.4, 141.6, 125.2, 117.5 et 116.6 (C_{qaro}) ; 126.3 et 115.8 (C_d et e) ; 122.1 (C_a) ; 117.4 (C_b) ; 116.2 (C_c) ; 99.9 (C₁) ; 72.6, 71.8, 70.9 et 69.2 (C_{2,3,4} et 5) ; 53.2 (MeO) ; 49.1 (CH₂) 20.8, 20.7 et 20.6 (CH₃CO).

SM (FAB⁺ MB) : m/z = 623.2 [M+1]⁺

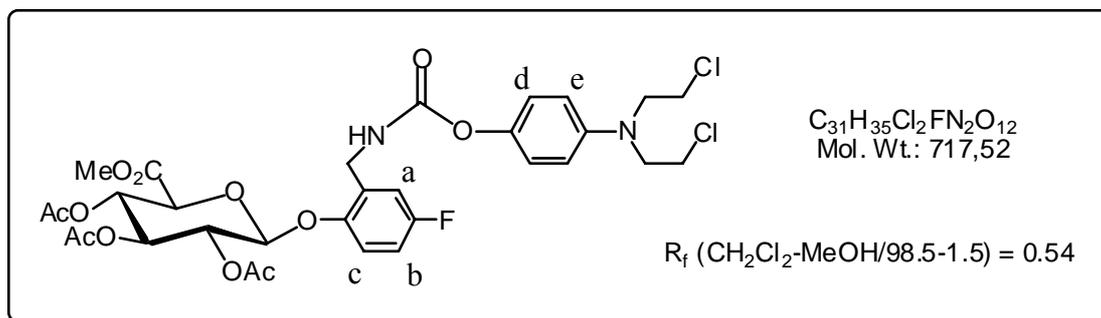
SM (FAB⁺ MB+NaI) : m/z = 645.2 [M+Na]⁺

Chloroformiate de 4-bis-(2-chloroéthyl)aminophénol **153**



Dans une suspension de phénol **142** (75 mg, 278 mmol) dans 5 mL de THF anhydre à 0°C sont ajoutés 1.2 mL (excès) de phosgène en solution dans le toluène suivi de 0.15 mL de TEA. Après agitation à 0°C pendant 1h et à TA pendant 2h, la mixture est filtrée, le filtrat évaporé à la pompe à palettes pour donner 80mg (93%) d'une laque jaune utilisée telle quelle par la suite.

4-Bis-(2-chloroéthyl)phényl-[5-fluoro-2-(O-2, 3, 4-tri-O-acétylméthyl glucopyranurosiduronate)]benzylcarbamate **135**



A une solution du chloroformiate de phénol **153** (80mg, 269mmol) dans 5 mL de THF anhydre est ajoutée l'amine **115** (91mm, 199 mmol) et 0.1 mL de DIPEA. On porte alors le milieu à reflux pendant 2h. Le tout est évaporé puis chromatographié sur colonne de gel de silice (éluant CH_2Cl_2 -MeOH/98.5-1.5). 42mg (29%) de la prodroque protégée **135** sont obtenus.

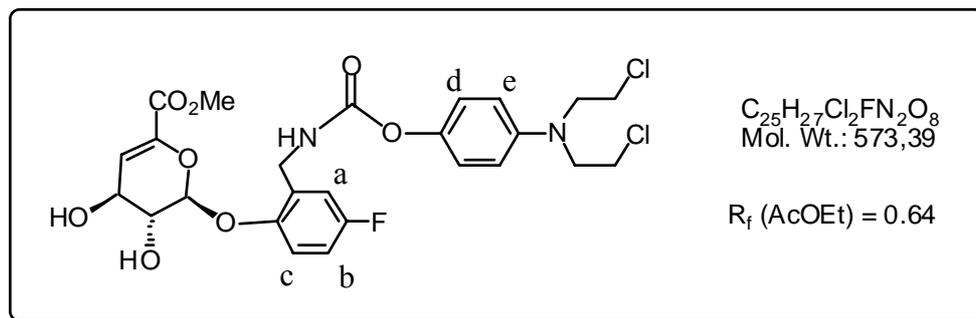
ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 7.18$ (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, H_a) ; 6.97 (m, 4H, $H_{b, c, d \text{ et } e}$) ; 6.63 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H, $H_{d/e}$) ; 6.02 (dd, $J = 7.2$ et 5.4 Hz, 1H, NH) ; 5.33 (m, 3H, $H_{2, 3 \text{ et } 4}$) ; 5.09 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H_1) ; 4.40 (dd, $J = 14.8$ et 7.7 Hz, 1H, CH_2) ; 4.28 (dd, $J = 14.8$ et 5.2 Hz, 1H, CH_2) ; 4.12 (d, $J = 9.5$ Hz 1H, H_5) ; 3.73 (m, 4H, CH_2Cl) ; 3.67 (s, 3H, MeO) ; 3.62 (m, 4H, CH_2N) ; 2.12, 2.07 et 2.05 (s, 3H, Ac).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 169.9, 169.6, 169.5$ et 166.7 (CO_2) ; 158.9 (d, $J = 243.8$ Hz, Cq-F) ; 155.5 (NCO_2) ; 150.4, 143.6 et 142.6 (Cq) ; 131.8 (d, $J = 7.6$ Hz, C_{q-CH_2}) ; 122.8 et 112.5 ($C_{d \text{ et } e}$) ; 117.9 (d, $J = 8.4$ Hz, C_c) ; 117.4 (d, $J = 23.5$ Hz, C_a) ; 115.5 (d, $J = 23.6$ Hz, C_c) ; 100.6 (C_1) ; 72.4 (C_5) ; 71.5, 71.1 et 69.0 ($C_{2, 3, \text{ et } 4}$) ; 53.8 (CH_2Cl) ; 53.2 (MeO) ; 40.4 (CH_2N) ; 39.8 (CH_2NH) ; 20.7, 20.6 et 20.4 (CH_3CO).

SM ($Cl^- + NH_3$) : $m/z = 717.2 [M+1]^+$; 734.2 $[M+NH_4]^+$

4-Bis-(2-chloroéthyl)phényl-[5-fluoro-2-(O-méthyl-4,5-déhydro-β-D-glucopyranurosiduronate)]benzylcarbamate 155



ANALYSES :

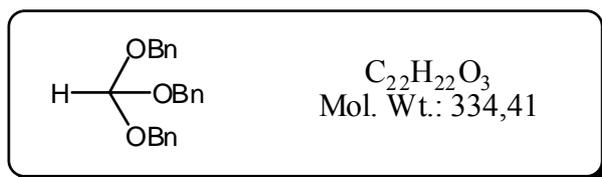
RMN 1H (CDCl₃) : δ = 7.32 (m, 1H, H_a) ; 7.01 (m, 4H, H_{b, c, d/ e}) ; 6.64 (d, J = 9.1 Hz, 2H, H_{d/e}) ; 6.16 (d, J = 3.0 Hz, 1H, H₄) ; 5.88 (m, 1H, NH) ; 5.35 (d, J = 6.6 Hz, 1H, H₁) ; 4.42 (m, 1H, H₃) ; 4.30 (CH₂NH) ; 3.96 (m, 1H, H₂) ; 3.81 (s, 1H, MeO) ; 3.77 (m, 2H, OH_{2 et 3}) ; 3.70-3.59 (m, 8H, CH₂Cl et CH₂N).

RMN ^{13}C (CDCl₃) : δ = 162.1 (CO₂) ; 150.5 (d, J = 224.7 Hz, C_q-F) ; 156.0 (NCO₂) ; 143.9, 141.0 et 112.3 (C_q) ; 122.8 et 112.7 (C_{d et e}) ; 117.0 (m, C_{a, b et c}) ; 112.4 (C₄) ; 102.3 (C₁) ; 71.4 (C₂) ; 68.0 (C₃) ; 53.9 (CH₂Cl) ; 52.8 (MeO) ; 51.0 (CH₂NH) ; 40.5 (CH₂N).

SM (CI⁺+NH₃) : m/z = 573 (100%) [M+1]⁺ ; 575 (67%) [M+1+2]⁺ ; 591 [M+NH₄]⁺

SM (FAB⁺ MB+NaI) : m/z = 595.1 (100%) [M+Na]⁺ ; 595.1 (63%) [M+2+Na]⁺

Orthoformiate de benzyle 171



74.1g (0.5 mol) d'orthoformiate d'éthyle et 216.28g (2éq.) de BnOH sont chauffés à 80°C. L'éthanol formé extemporanément est distillé pour déplacer les équilibres vers le produit désiré. Lorsque 85 mL (69g, 1.5 mol) d'éthanol ont été recueillis, le chauffage est arrêté.

ANALYSES :

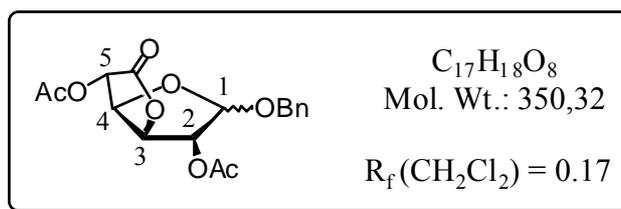
RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta = 7.46-7.36$ (m, 15H, H_{aro} ϕ) ; 5.55 (s, 1H, HCO₃) ; 4.77 (s, 6H, CH₂).

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta = 128.3$ et 127.7 (CH_o, *m*) ; 127.7 (CH_p) ; 127.5 (Cq) ; 111.3 (CH) ; 66.1 (CH₂).

SM (CI⁺+NH₃) : $m/z = 352$ [M+NH₄]⁺

SM (FAB⁺ MB) : $m/z = 335.1$ [M+1]⁺

SM (FAB⁺ MB + NaI) : $m/z = 357.2$ [M+Na]⁺

Benzyl-2,5-di-O-acétyl-D-glucurono-3,6-lactone 176

5g (23.6 mmol) d'acide glucuronique **175**, 100 mL de BnOH et 900mg (0.2 éq.) de TsOH sont chauffés 4h à 80°C. Lemilieu est alors neutralisé par une résine basique, la Dowex 1-X8. L'alcool benzylique est enlevé à la pompe à palettes et le résidu chromatographié sur colonne (éluant CH_2Cl_2 -MeOH/9-1). Un composé de $R_f = 0.22$ est récupéré mais sa formule ne peut être déterminée.

Ce dernier produit est utilisé directement dans une seconde étape d'acétylation par 3 mL d' Ac_2O dans 5 mL de pyridine, pendant 20h à TA. Le tout est versé sur de la glace puis extrait au CH_2Cl_2 . Après acidification par H_2SO_4 1N, lavage à l'eau et $NaHCO_3$ sat, on chromatographie le produit sur silice (éluant CH_2Cl_2). La lactone **176** décrite ci-dessous est récupérée.

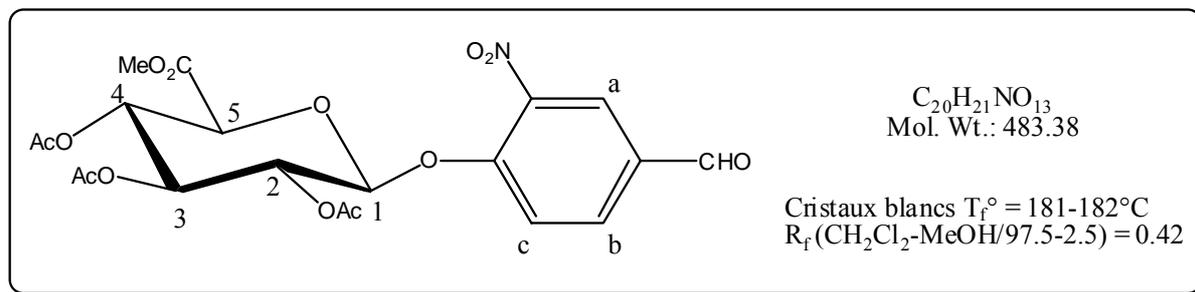
ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 7.33$ (m, 5H, Bn) ; 5.28 (m, 2H, H_4 et 5) ; 5.19 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, H_3) ; 5.16 (s, 1H, H_1) ; 5.00 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H, H_2) ; 4.64 (ABq, $J = 11.8$ Hz, 2H, CH_2) ; 2.25 (s, 3H) et 2.08 (s, 3H) (Me).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 170.0, 169.5$ et 169.2 (CO_2) ; 136.1 (C_q) ; 128.5 et 128.2 (CH_o et m) ; 128.1 (CH_p) ; 105.3 (C_1) ; 83.2 (C_5) ; 81.7 ($C_{2/3}$) ; 75.8 (C_4) ; 70.0 (CH_2) ; 69.0 ($C_{2/3}$) ; 20.6 et 20.3 (Me).

SM ($Cl^- + NH_3$) : $m/z = 368$ [$M + NH_4$] $^+$

**(2-Nitro-4-formylphényl)-2,3,4-tri-O-acétyl)- β -D-glucopyranoside
uronate de méthyle 166**



5.4g (13.5 mmol) de bromure **55** sont mis en solution dans 140 mL de CH_3CN_{anh} , sous argon. 13.5g d' Ag_2O sont versés et la solution devient vert foncé. Le 4-hydroxy-3-nitrobenzaldéhyde **182** (3.6g, 1.6 éq.) est additionné rapidement par cuillerées. L'agitation est poursuivie une nuit, la solution étant mise à l'abri de la lumière au moyen de feuilles d'aluminium, sous atmosphère d'argon.

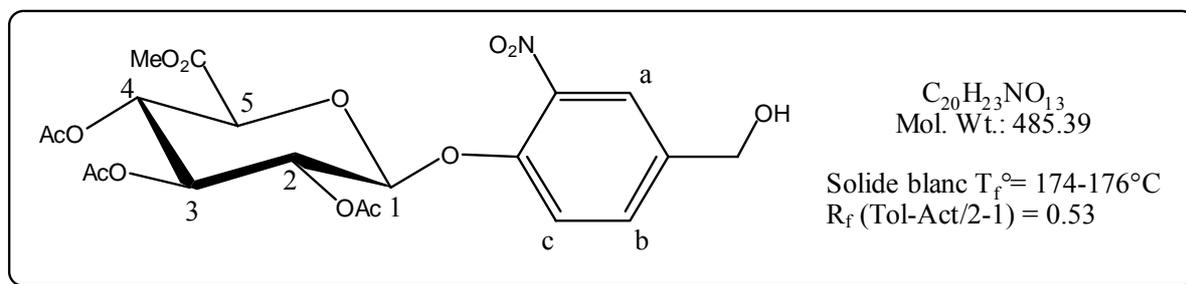
Le milieu réactionnel est filtré deux fois sur Célite 545, concentré sous vide puis chromatographié deux fois également ($CH_2Cl_2-MeOH/97.5-2.5$ puis $CH_2Cl_2-AcOEt/95-5$). Après recristallisation dans EtOH, 5.3g (89%) du produit de couplage **166** sont obtenus sous forme de cristaux blancs.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 9.97$ (s, 1H, CHO) ; 9.31 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H_a) ; 8.08 (dd, $J = 8.6$ et 2.0 Hz, 1H, H_b) ; 7.50 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.41 (m, 2H, $H_{1,4}$) ; 5.30 (m, 2H, $H_{2,3}$) ; 4.32 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, H_5) ; 3.70 (s, 3H, CH_3O) ; 2.18, 2.08 et 2.07 (s, 3H) ($CH_3C(O)$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 188.7$ (CHO) ; 170.0, 169.3 et 169.2 ($MeC(O)$) ; 166.7 ($\underline{CO_2Me}$) ; 153.4, 141.2 et 134.4 (C_{qaro}) ; 134.4 (C_b) ; 126.8 (C_a) ; 118.8 (C_c) ; 98.6 (C_1) ; 72.7 (C_5) ; 70.2 et 69.8 ($C_{2\text{ et }3}$) ; 68.2 (C_4) ; 52.3 (CH_3O) ; 20.6 ($\underline{CH_3C(O)}$).

[(2-Nitro-4-(hydroxyméthyl)phényl)-2,3,4-tri-O-acétyl]- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle 168



1.45g (3 mmol) de l'aldéhyde **166** sont dissous dans 20 mL de $CHCl_3$ et 5 mL d'*i*-PrOH et la solution dégazée à l'argon. Après ajout de 2.25g de silice fine, le milieu est refroidi à $0^{\circ}C$ et $NaBH_4$ (230mg, 12 éq.) ajouté par portions. Après 1 h à $0^{\circ}C$ on laisse revenir à TA. La solution est filtrée sur Célite 545 et lavée par 20 mL de CH_2Cl_2 . Le filtrat est concentré sous vide, et le produit recristallisé dans l'éthanol ; 1.36g (94%) de cristaux poudreux du produit de réduction **168** sont collectés.

ANALYSES :

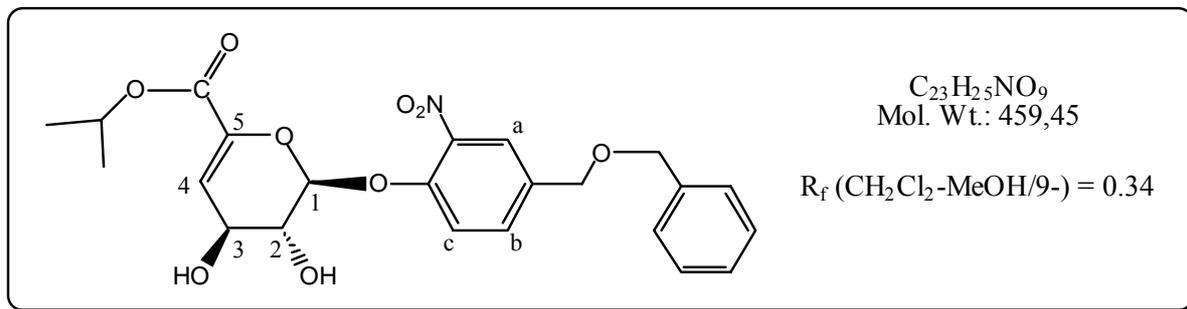
RMN 1H (DSMO- d_6) : $\delta = 7.80$ (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H_a) ; 7.62 (dd, $J = 8.3$ et 1.3 Hz, 1H, H_b) ; 7.38 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.71 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H_1) ; 5.45 (m, 2H, H_3 et OH) ; 5.11 (m, 2H, $H_{2,4}$) ; 4.72 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H, H_5) ; 4.51 (s, 2H, CH_2OH) ; 3.64 (s, 3H, CH_3O) ; 2.01 (s, 9H, $CH_3C(O)$).

RMN ^{13}C (DSMO- d_6) : $\delta = 169.5, 169.3$ et 168.8 ($MeC(O)$) ; 167.0 (CO_2Me) ; 146.9, 140.2 et 138.6 (C_{qaro}) ; 132.0 (C_b) ; 122.3 (C_a) ; 117.7 (C_c) ; 98.1 (C_1) ; 71.0 (C_5) ; 70.8 (C_3) ; 70.0 (C_2) ; 68.7 (C_4) ; 61.3 (CH_2OH) ; 52.7 (CH_3O) ; 20.6 ($CH_3C(O)$).

Analyse élémentaire (%) :

Calc. C : 49.49	H : 4.78	N : 2.89	O : 42.85
Exp. C : 49.75	H : 4.81	N : 2.96	

[2-Nitro-4-(benzyloxyméthyl)phényl-4,5-déhydro]- β -D-glucopyranoside uronate d'isopropyle 184



A une solution de 0.5 mL de BnOH_{anh} et 20mg (0.25 éq.) d'une suspension de NaH à 60% w/w dans l'huile dans 5 mL d'*i*-PrOH_{anh} refroidie à -15°C sont ajoutés 100mg (0.2 mmol) de [(2-Nitro-4-(hydroxyméthyl)phényl)-2,3,4-tri-*O*-acétyl- β -D-glucopyranoside] uronate de méthyle **168**. Après 48h, le milieu, toujours à -15°C, est neutralisé par une résine acide Dowex 50x2-200 "neuve". La chromatographie (gradient d'éluant CH₂Cl₂-MeOH/97.5-2.5 [9/1) fournit 18mg (24%) du composé benzylé **184**.

ANALYSES :

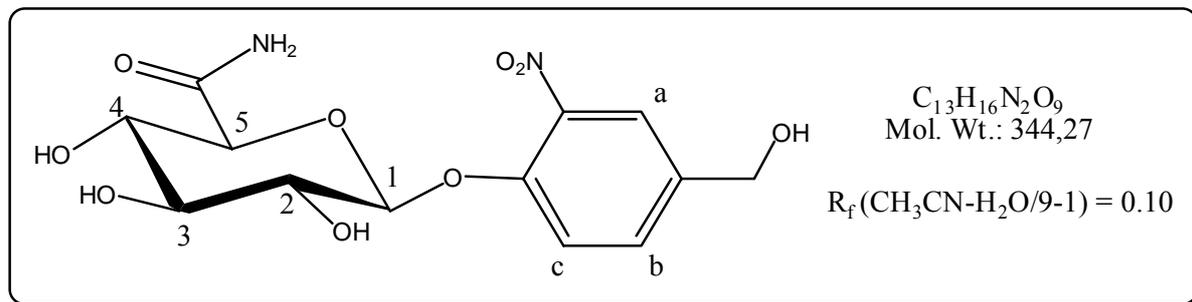
RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 7.96 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H_a) ; 7.62 (dd, J = 8.7 et 1.9 Hz, 1H, H_b) ; 7.55 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H_c) ; 7.32 (m, 5H, H_{aro} ϕ) ; 6.38 (dd, J = 4.7 et 1.0 Hz, 1H, H₄) ; 5.90 (d, J = 2.7 Hz, 1H, H₁) ; 5.08 (h, J = 6.3 Hz, 1H, CHMe₂) ; 4.70 (s, 4H, CH₂O) ; 4.27 (s, 1H, H₂) ; 4.12 (s, 1H, H₃) ; 1.29 et 1.27 (d, J = 6.2 Hz, 3H) (CH₃CH).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 161.3 (CO₂) ; 148.6, 140.9, 139.7, 139.5 et 136.6 (4 C_{q,aro} et C_{q=CH}) ; 133.6 (C_b) ; 128.7 et 127.1 (CH_{o,m} ϕ) ; 127.8 (CH_p ϕ) ; 124.5 (C_a) ; 117.9 (C_c) ; 112.3 (C₄) ; 97.7 (C₁) ; 69.9 (Me₂CH) ; 69.1 (C₂) ; 65.5 (CH₂ ϕ) ; 65.0 (C₃) ; 63.4 (CH₂) ; 21.8 (CH₃).

SM (CI⁺+NH₃) : m/z = 477 [M+NH₄]⁺ ; 387 [M+NH₄-Bn]⁺

SM (FAB⁺ MB+NaI) : m/z = 392.2 [M+Na-Bn]⁺

[2-Nitro-4-(hydroxyméthyl)phényl]- β -D-glucopyranoside uronamide 185



A 100mg (0.2 mmol) du composé **168** dans 4 mL de MeOH_{anh} est ajoutée une solution ammoniacale de méthanol (≈ 1.7 M) jusqu'à dissolution complète. Le milieu est laissé une nuit sous argon. Après évaporation et chromatographie (éluant CH₃CN-H₂O/9-1), 18mg (18%) de produit de départ et 45mg (65%, 80% / cv) d'amide **185** sont obtenus.

ANALYSES :

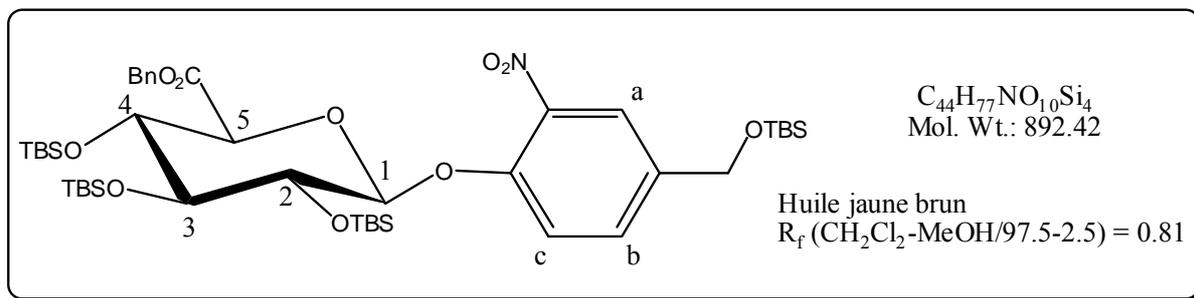
RMN ¹H (MeOD) : $\delta = 7.79$ (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H_a) ; 7.58 (d, $J = 8.6$ et 2.1 Hz, 1H, H_b) ; 7.40 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.14 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H, H₁) ; 4.61 (s, 2H, CH₂OH) ; 3.93 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, H₅) ; 3.53 (m, 3H, H_{2,3,4}).

RMN ¹³C (MeOD) : $\delta = 173.9$ (CONH₂) ; 149.9 , 142.5 et 138.3 (C_{q,aro}) ; 133.2 (C_b) ; 124.1 (C_a) ; 119.2 (C_c) ; 102.6 (C₁) ; 77.4 , 76.2 et 73.1 (C_{2,3,4}) ; 74.2 (C₅) ; 63.5 (CH₂OH).

SM (FAB⁺ MB) : $m/z = 345.4$ [M+NH₄]⁺

SM (FAB⁺ MB+NaI) : $m/z = 367.4$ [M+Na]⁺

[(2-Nitro-4-(*O*-*tert*-butyldiméthylsilylméthyl)phényl)-2,3,4-tri-(*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl)]-β-D-glucopyranoside uronate de benzyle 186



1.6g (3.3 mmol) d'alcool benzylique **168** est dissous dans 40 mL d'acétone, à 0°C. 25 mL d'une solution molaire de soude aqueuse sont additionnés goutte-à-goutte et l'agitation est poursuivie 5 minutes. Le milieu est ensuite neutralisé par HCl 1M. Le produit est alors purifié sur colonne de gel de silice (éluant CH₃CN-H₂O/7-3).

Le composé récupéré est dissous dans 15 mL de pyridine distillée en présence de 5.6mg de DMAP. Après refroidissement à 0°C et mise sous argon, 15 mL de TBSTf sont ajoutés goutte-à-goutte au milieu. On laisse la réaction se poursuivre 18 h à TA. Le milieu réactionnel est alors concentré, le résidu repris dans 120 mL de toluène et le sel insoluble de triflate de pyridinium filtré. Le filtrat est lavé par 20 mL d'eau, décanté et séché sur MgSO₄. Enfin la phase organique est concentrée sous pression réduite.

Le résidu est ensuite remis en solution dans 10 mL de CH₂Cl₂ anhydre, sous argon, en présence de 200mg de DMAP. Le mélange est mis à 0°C, 0.4 mL d'alcool benzylique (1 éq.) ajouté ainsi que 770mg (1 éq.) de DCC, en solution dans 3 mL de CH₂Cl₂ anhydre. On laisse tourner à TA une nuit. La solution est concentrée, repris dans le cyclohexane, l'urée insoluble filtrée, et le produit chromatographié deux fois: CH₂Cl₂-CyH/5-1 puis Tol-MeOH/1-0 → 97.5-2.5. 230mg (7%) d'une huile jaune sont finalement obtenus.

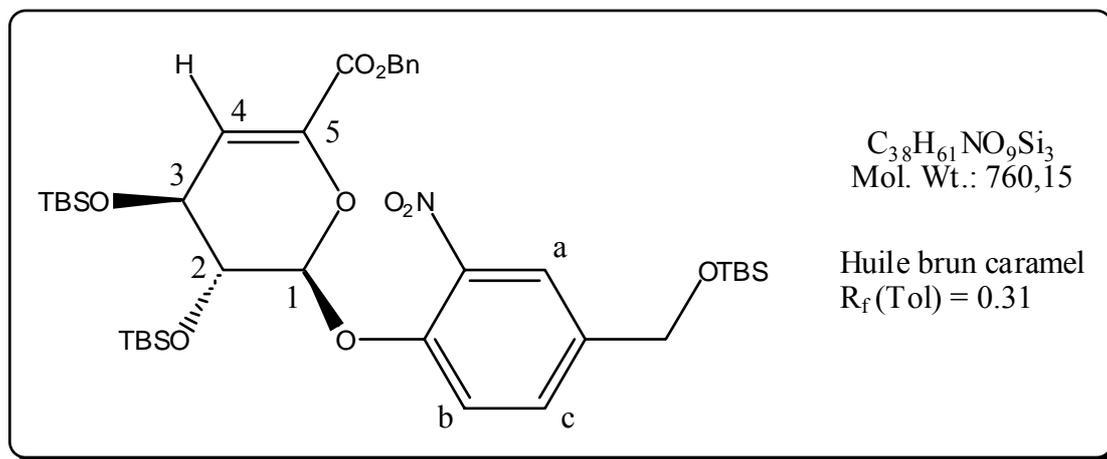
ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 7.73 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H_a) ; 7.38 (dd, J = 8.7 et 2.1 Hz, 1H, H_b) ; 7.30 (m, 5H, Bn) ; 7.08 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H_c) ; 5.52 (d, J = 5.7 Hz, 1H, H₁) ; 5.11 (s, 2H, CH₂φ) ; 4.65 (s, 2H, CH₂OSi) ; 4.44 (d, J = 1.8 Hz, 1H, H₃) ; 4.37 (m, 1H, H₄) ; 4.03 (d, J = 5.6 Hz, 1H, H₂) ; 3.82 (d, J = 3.7 Hz, 1H, H₅) ; 0.90, 0.87, 0.83 et 0.80 (s, 9H) ((CH₃)₃C) ; 0.14 (s, 3H), 0.11 (s, 3H), 0.03 (s, 3H) et -0.02 (s, 3H) et 0.07 (s, 6H) (CH₃Si).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta = 168.6$ (CO_2) ; 149.1 et 140.2 (C_{qaro}) ; 135.3 (2 C_{qaroC}) ; 131.4 (C_b) ; 128.6, 128.4 et 128.4 (CH_{aro}) ; 123.1 (C_a) ; 116.9 (C_c) ; 99.7 (C_1) ; 78.8 (C_3) ; 77.0 (C_5) ; 75.2 (C_2) ; 72.3 (C_4) ; 67.0 ($\text{CH}_2 \text{Bn}$) ; 63.6 (CH_2OTBS) ; 26.0, 25.9 et 25.8 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$) ; 18.5, 18.1 et 18.0 (Me_3CSi) ; -4.4, -4.5, -4.6, -4.7, -4.9, -5.0 et -5.2 (CH_3Si).

SM ($\text{Cl}^+ + \text{NH}_3$) : $m/z = 909.5$ [$\text{M} + \text{NH}_4$] $^+$

Au cours de cette synthèse peut également se former le produit par élimination en 4,5 d'une molécule de *tert*-butyldiméthylsilanol du [2-Nitro-4-(*O-tert*-butyldiméthylsilylméthyl)phényl-2,3-di-(*O-tert*-butyldiméthylsilyl)-4,5-déhydro]- β -D-glucopyranoside uronate de benzyle **187** :



ANALYSES :

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta = 7.74$ (d, $J = 1.7$ Hz, H_a) ; 7.46-7.35 (m, 7H, H_{aro}) ; 7.21 (dd, $J = 4.6$ et 1.1 Hz, 1H, H_4) ; 5.55 (d, $J = 1.4$ Hz, H_1) ; 5.28 (ABq, $J = 12.4$ Hz, CH_2Bn) ; 4.72 (s, 2H, CH_2OSi) ; 4.24 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, H_2) ; 4.09 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H, H_3) ; 0.90 (m, 27H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$) ; 0.15 (m, 18H, CH_3Si).

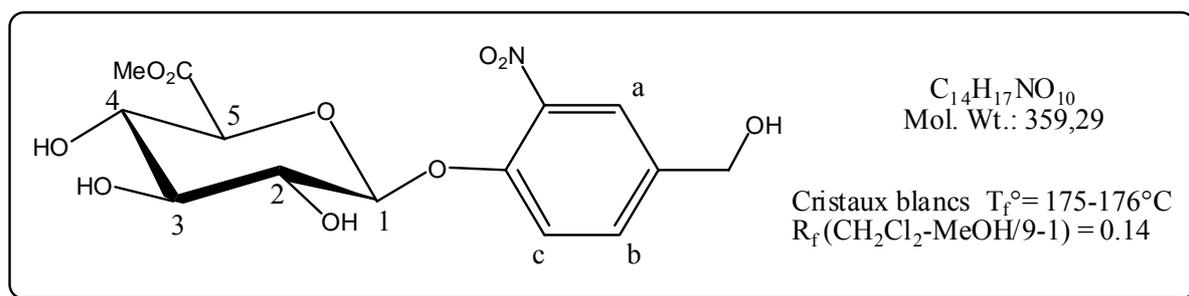
RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta = 162.7$, 149.1, 142.7, 139.8, 138.2 et 135.8 (C_q) ; 131.5, 129.0, 128.8, 128.7, 128.4, 122.9 et 122.6 (CH_{aro}) ; 129.4 (C_a) ; 113.9 (C_4) ; 100.5 (C_1) ; 71.3 (C_3) ; 67.5 ($\text{CH}_2 \phi$) ; 66.8 (C_3) ; 63.9 (CH_2OSi) ; 26.3, 26.2 et 26.1 ($(\text{CH}_3)_3\text{C}$) ; 18.8, 18.5 et 18.3 (CMe_3) ; -4.2, -4.3 et -4.9 (CH_3Si).

SM (CI⁺+NH₃) : m/z = 777 [M+NH₄]⁺

SM (FAB⁺ MB+NaI) : m/z = 782.5 [M+Na]⁺

SMHR : (C₃₈H₆₁O₉N₁Si₃Na) m/z = 782.3552 calculé ; 782.3559 trouvé

[2-Nitro-4-(hydroxyméthyl)phényl]- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle **180**



A une solution de 2g (4.12 mmol) de l'alcool benzylique triacétylé **168** dans 40 mL de méthanol refroidie $-15^\circ C$ (bain glace-acétone) sont ajoutés 84mg (0.5 éq.) de MeONa. On laisse revenir à TA durant une nuit. Le milieu est ensuite neutralisé par une résine Dowex 50X8-200 et le produit chromatographié sur colonne de gel de silice (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/9-1$). Après recristallisation dans l'éthanol, le produit désacétylé **180** est obtenu sous forme d'un solide blanc pulvérulent (958mg, 65%).

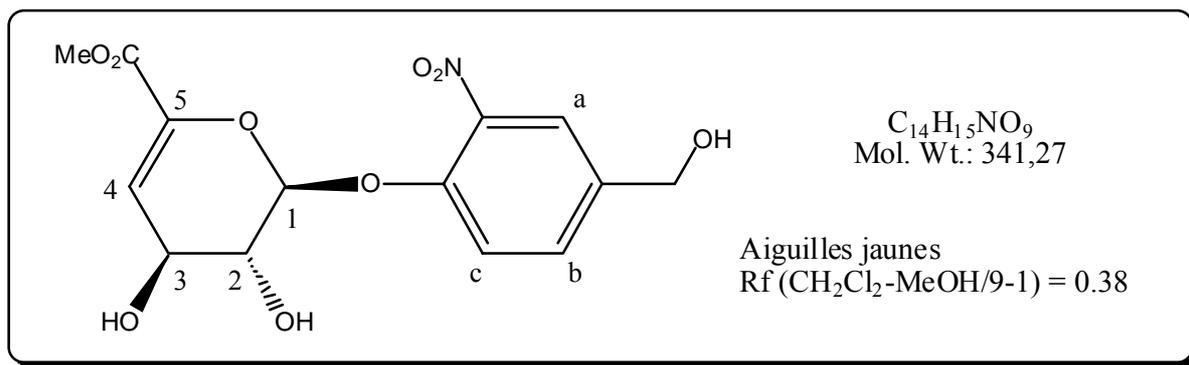
ANALYSES :

RMN 1H (MeOD) : $\delta = 7.80$ (d, $J = 2.0$, Hz, 1H, H_a) ; 7.56 (dd, $J = 8.7$ et 2.1 Hz, 1H, H_b) ; 7.36 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.16 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, H_1) ; 4.61 (s, 2H, CH_2OH) ; 4.08 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, H_5) ; 3.76 (s, 3H, CH_3O) ; 3.64 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H, H_4) ; $3.56-3.46$ (m, 2H, H_2 et 3).

RMN ^{13}C (MeOD) : $\delta = 171.1$ (CO_2) ; 150.3 , 142.7 et 138.5 (C_{qaro}) ; 133.5 , 124.6 et 119.3 (CH_{aro}) ; 103.0 (C_1) ; 77.5 ($C_{2/3}$) ; 77.2 (C_5) ; 74.8 ($C_{2/3}$) ; 73.1 (C_4) ; 64.0 (CH_2OH) ; 58.7 (CH_3O).

SM (Cl^-+NH_3) : $m/z = 377.2$ [$M+NH_4$] $^+$

Par le mécanisme d'élimination en 4,5 se forme toujours, en quantité plus ou moins importante (5-20%) du [2-Nitro-4-(hydroxyméthyl)phényl]-4,5-déhydro- β -D-glucuronate de méthyle **188** :



ANALYSES :

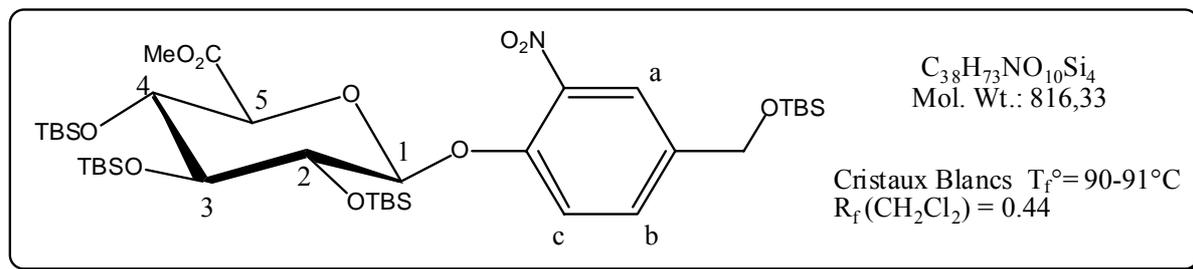
RMN 1H (MeOD) : $\delta = 7.89$ (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, H_a) ; 7.63 (dd, $J = 8.6$ et 2.1 Hz, 1H, H_b) ; 7.55 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H_c) ; 6.28 (m, 1H, H_4) ; 5.89 (m, 1H, H_4) ; 4.62 (s, 2H, CH_2OH) ; 4.09 (m, 2H, H_2 et 3) ; 3.77 (s, 3H, CH_3O).

RMN ^{13}C (MeOD) : $\delta = 163.8$ (CO_2) ; 149.5 , 141.9 et 138.9 (C_{qaro}) ; 140.9 (C_5) ; 133.8 (C_b) ; 124.6 (C_a) ; 120.0 (C_c) ; 113.9 (C_4) ; 99.9 (C_1) ; 70.3 (C_2) ; 66.5 (C_3) ; 63.4 (CH_2OH) ; 53.0 (CH_3O).

SM ($Cl^- + NH_3$) : $m/z = 359$ [$M + NH_4$] $^+$

SMHR : ($C_{14}H_{19}O_9N_2$) $m/z = 359.1091$ calculé ; 359.1088 trouvé

(2-Nitro-4-(*O*-*tert*-butyldiméthylsilylméthyl)phényl)-2,3,4-tri-(*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl)]-β-D-glucopyranoside uronate de méthyle **189**



A 470mg (1.3 mmol) du produit désacétylé **180** dans 10 mL de DMF sont ajoutés 875mg (5.8 mmol) de TBSCl, 792mg d'imidazole et 79mg de DMAP. La solution est portée à 80°C pendant 2 jours, puis après retour à l'ambiante, 5g de TBSTf sont additionnés goutte-à-goutte suivis de 5 mL de pyridine anhydre. Après évaporation, le résidu est repris dans le toluène et le triflate de pyridinium insoluble filtré. Après lavage à l'eau et NaCl_{sat} puis séchage sur MgSO₄, le composé est purifié sur silice (éluant CH₂Cl₂). Une huile est obtenue, qui cristallise ; après recristallisation dans l'éthanol, 900mg (85%) de cristaux blancs de l'ester méthylique **189** sont collectés.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 7.79 (d, J = 2.1 Hz, 1H, H_a) ; 7.47 (dd, J = 8.7 et 2.1 Hz, 1H, H_b) ; 7.12 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H_c) ; 5.58 (d, J = 5.9 Hz, 1H, H₁) ; 4.70 (s, 2H, CH₂O) ; 4.51 (d, J = 1.4 Hz, 1H, H₃) ; 4.39 (d, J = 6.0 Hz, 1H, H₄) ; 4.04 (d, J = 5.9 Hz, 1H, H₂) ; 3.84 (d, J = 3.8 Hz, 1H, H₅) ; 3.72 (s, 3H, CH₃O) ; 0.94 (s, 18H), 0.87 et 0.83 (s, 9H) ((CH₃)₃CSi) ; 0.17-0.09 (m, 18H), 0.07 et 0.00 (s, 3H) (CH₃Si).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 169.6 (CO₂) ; 149.1, 140.0 et 135.3 (C_qaro) ; 131.5 (C_b) ; 123.2 (C_a) ; 116.4 (C_c) ; 99.4 (C₁) ; 79.0 (C₃) ; 77.0 (C₂) ; 75.4 (C₅) ; 72.5 (C₄) ; 63.6 (CH₂O) ; 52.5 (CH₃O) ; 26.0, 25.9 (2C) et 25.8 ((CH₃)₃C) ; 18.5, 18.1 (2C) et 18.0 (Me₃CSi) ; -4.4, -4.5, -4.6, -4.6, -4.7-5.0, -5.1 et -5.2 (2C) (CH₃Si).

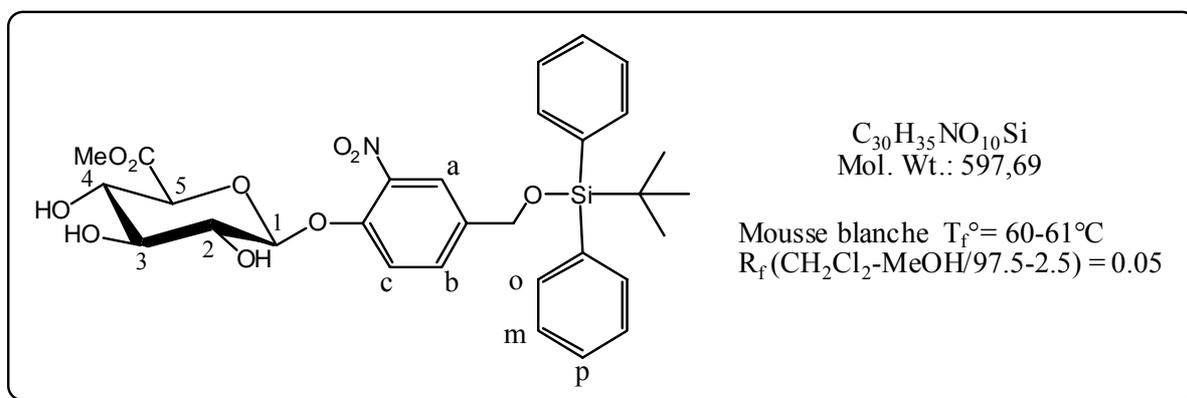
SM (Cl⁺+NH₃) : m/z = 833.6 [M+NH₄]⁺

Analyse élémentaire (%) :

Calc. C : 55.91 H : 9.01 N : 1.72 Si : 13.76

Exp. C : 55.62 H : 9.17 N : 1.74 Si : 13.85

[2-Nitro-4-(*O*-*tert*-butyldiphénylsilylméthyl)phényl]- β -D-glucopyranoside uronate de méthyle **190**



A 400mg (1.11 mmol) de l'ester méthylique **180** et 173mg (2.3éq.) d'imidazole en solution dans 10 ml de DMF_{anh} sont additionnés goutte-à-goutte 0.49 mL (1.7 éq.) de TPSCl ; au bout de 3 heures 0.1 mL supplémentaire est ajouté. Après en tout 5h d'agitation à TA, 30 mL d'eau sont versés au milieu qui est conséquemment extrait par 4x20 mL d'AcOEt. Suivant le séchage sur MgSO₄ et à la pompe à palettes, le composé est chromatographié sur colonne de gel de silice (éluant CH₂Cl₂-MeOH/97.5-2.5). 676mg (quant.) du composé monosilylé (mousse blanche) sont obtenus.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta = 7.68$ (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, H_a) ; 7.61 (dd, $J = 7.5$ et 1.4 Hz, 4H, H_o ϕ_2 Si) ; 7.42 (dd, $J = 8.8$ et 1.7 Hz, 1H, H_b) ; 7.35 (m, 6H, H_{m,p} ϕ_2 Si) ; 7.26 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.17 (s, 1H, OH) ; 5.07 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H, H₁) ; 4.83 (s, 1H, OH) ; 4.67 (s, 1H, OH) ; 4.64 (s, 2H, CH₂O) ; 4.12 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, H₅) ; 3.89 (m, 1H, H₄) ; 3.79 (m, 2H, H_{2,3}) ; 3.76 (s, 3H, CH₃O) ; 1.05 (s, 9H, (CH₃)₃CSi).

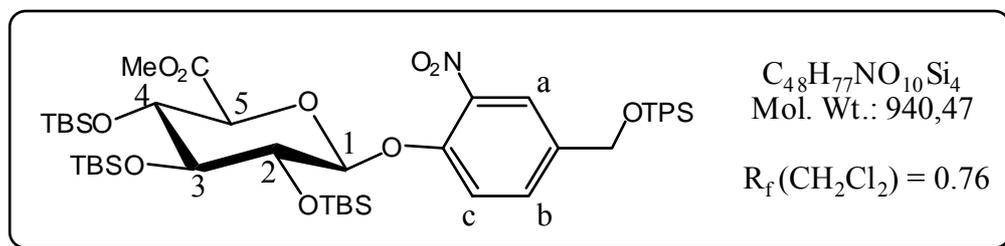
RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta = 168.9$ (CO₂) ; 148.9, 140.1 et 136.1 (C_{q,aro}) ; 135.1 (CH_{o/m} ϕ_2 Si) ; 132.8 (C_{q,aro} ϕ_2 Si) ; 131.7 (C_b) ; 129.9 (CH_p ϕ_2 Si) ; 127.8 (CH_{o/m} ϕ_2 Si) ; 122.7 (C_a) ; 118.1 (C_c) ; 101.9 (C₁) ; 75.2 (C_{2/3}) ; 75.0 (C₅) ; 72.7 (C_{2/3}) ; 71.0 (C₄) ; 64.0 (CH₂) ; 52.7 (CH₃O) ; 26.7 ((CH₃)₃C) ; 19.2 (Me₃C_{Si}).

SM (CI⁺+NH₃) : $m/z = 615 [M+NH_4]^+$

SM (FAB⁺ MB+NaI) : $m/z = 620 [M+Na]^+$

SMHR : (C₃₀H₃₉O₁₀N₂Si) $m/z = 615.2374$ calculé ; 615.2369 trouvé

[[2-Nitro-4-(*O*-*tert*-butyldiphénylsilylméthyl)phényl]-2,3,4-tri-(*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl)]-β-D-glucopyranoside uronate de méthyle 191



568mg (0.95 mmol) du produit monosilylé **190**, 6.25 mL de pyridine et 187.5mg de DMAP sont dissous dans 50 mL de CH_2Cl_2 fraîchement distillé, mis sous argon et refroidis par un bain eau-glace. 5.5 mL de TBSTf sont précautionneusement ajoutés goutte-à-goutte. Le milieu réactionnel est laissé revenir à TA pendant une nuit. Après évaporation, le résidu est repris dans le toluène, l'insoluble filtré, la phase organique lavée à $NaCl_{sat}$ et séchée sur $MgSO_4$. Après chromatographie (éluant CH_2Cl_2), 775mg (84%) d'une huile légèrement teintée de jaune sont récupérés.

ANALYSES :

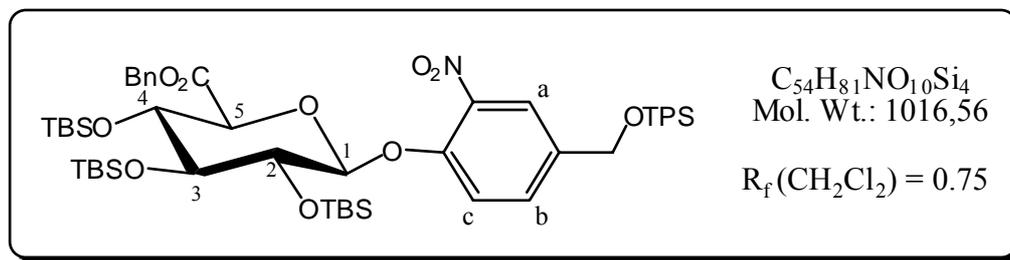
RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 7.77$ (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, H_a) ; 7.69 (m, 4H, H_o ϕ_2Si) ; 7.48 (dd, $J = 8.8$ et 2.0 Hz, 1H, H_b) ; 7.42 (m, 6H, $H_{m,p}$ ϕ_2Si) ; 7.15 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.61 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, H_1) ; 4.73 (s, 2H, CH_2O) ; 4.53 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, H_3) ; 4.43 (dd, $J = 3.6$ et 1.6 Hz, 1H, H_4) ; 4.10 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, H_2) ; 3.88 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H, H_5) ; 3.74 (s, 3H, CH_3O) ; 1.11 (s, 9H, $(CH_3)_3CSi\phi_2$) ; 0.96, 0.90 et 0.86 (s, 9H, $(CH_3)_3CSiMe_2$) ; 0.19 (s, 6H), 0.17, 0.16, 0.10 et 0.04 (s, 3H) (CH_3Si).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 169.6$ (CO_2) ; 149.1, 140.1 et 134.9 (C_{qaro}) ; 135.6 ($CH_{o/m}$ ϕ_2Si) ; 133.1 (C_{qaro} ϕ_2Si) ; 131.5 (C_b) ; 130.0 (CH_p ϕ_2Si) ; 127.9 ($CH_{o/m}$ ϕ_2Si) ; 123.3 (C_a) ; 116.5 (C_c) ; 99.5 (C_1) ; 78.9 (C_3) ; 77.0 (C_5) ; 75.4 (C_2) ; 72.5 (C_4) ; 64.3 (CH_2) ; 52.4 (CH_3O) ; 26.9 ($(CH_3)_3CSi\phi_2$) ; 25.9 et 25.8 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; 19.3 ($Me_3CSi\phi_2$) ; 18.1, 18.0 et 18.0 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; -4.4, -4.5, -4.6, -4.7, -4.9 et -5.0 (CH_3Si).

SM (Cl⁺+NH₃) : m/z = 957.5 [M+NH₄]⁺

SMHR : (C₄₈H₈₁O₁₀N₂Si₄) m/z = 957.4968 calculé ; 957.4977 trouvé

[(2-Nitro-4-(*O*-*tert*-butyldiphénylsilylméthyl)phényl)-2,3,4-tri-(*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl)]-β-D-glucopyranoside uronate de benzyle **192**



775mg (0.827 mmol) d'uronate de méthyle **191**, 2 mL de BnOH, 0.2 mL de $Ti(OEt)_4$ *pract.* sont portés au reflux de 30 mL toluène anhydre dans un montage équipé d'un Dean-Starck rempli de 5g de tamis moléculaire 4Å. Au bout de 24h, la mixture est diluée par 50 mL d'eau et extraite par 5x30 mL d' Et_2O , lavée successivement par de l'eau et $NaCl_{sat}$, et enfin séchée sur $MgSO_4$ et longuement tirée à la pompe à palettes. Après chromatographie (éluant CH_2Cl_2) 836mg (quant.) de l'ester benzylique **192** sont obtenus sous forme d'une huile incolore.

ANALYSES :

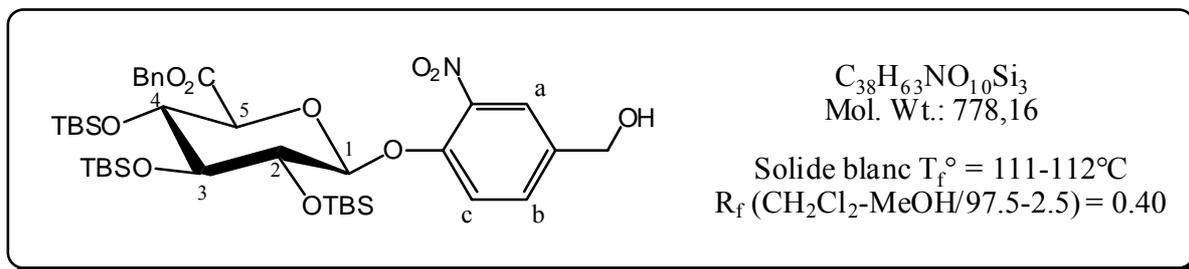
RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 7.71$ (d, $J = 2.3$ Hz, 1H, H_a) ; 7.66 (m, 5H, H_o ϕ_2Si et H_b) ; 7.42 (m, 6H, $H_{m,p}$ ϕ_2Si) ; 7.31 (m, 5H, $CH_2\phi$) ; 7.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.56 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, H_1) ; 5.15 (s, 2H, $CH_2\phi$) ; 4.69 (s, 2H, CH_2O) ; 4.52 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, H_3) ; 4.42 (m, 1H, H_4) ; 4.07 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, H_2) ; 3.86 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H_5) ; 1.10 (s, 9H, $(CH_3)_3CSi\phi_2$) ; 0.91, 0.88 et 0.85 (s, 9H) $(CH_3)_3CSiMe_2$) ; 0.17, 0.12, 0.07 et 0.03 (s, 3H), 0.13 (s, 6H) (CH_3Si).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 168.6$ (CO_2) ; 149.1, 140.2, 135.4 et 134.9 (C_{qaro}) ; 135.6 ($CH_{o/m}$ ϕ_2Si) ; 133.1 (C_{qaro} ϕ_2Si) ; 131.4 (C_b) ; 130.0 (CH_p ϕ_2Si) ; 128.6 et 128.4 ($CH_{o,m}$ Bn) ; 128.4 (CH_p Bn) ; 127.9 ($CH_{o/m}$ ϕ_2Si) ; 123.2 (C_a) ; 117.0 (C_c) ; 99.7 (C_1) ; 78.8 (C_3) ; 77.0 (C_5) ; 75.2 (C_2) ; 72.4 (C_4) ; 67.1 (CH_2 Bn) ; 64.3 (CH_2OSi) ; 26.9 ($(CH_3)_3CSi\phi_2$) ; 25.9 (2C) et 25.8 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; 19.4 ($Me_3CSi\phi_2$) ; 18.1, 18.1 et 18.0 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; -4.4, -4.5, -4.6, -4.7, -4.9 et -4.9 (CH_3Si).

SM (Cl⁺+NH₃) : m/z = 1033.6 [M+NH₄]⁺

SMHR : (C₅₄H₈₅O₁₀N₂Si₄) m/z = 1033.5281 calculé ; 1033.5288 trouvé

[[2-Nitro-4-hydroxyméthylphényl)-2,3,4-tri-(*O*-tert-butylidiméthylsilyl)]-β-D-glucopyranoside uronate de benzyle 181



276mg (0,298 mmol) de **192** et 17 μL (1 eq.) d'acide acétique glacial sont solubilisés dans 15 mL de DMF_{anh} et mis sous argon. 298 μL (1 eq.) de TBAF 1M dans le THF sont alors additionnés goutte-à-goutte. La réaction est contrôlée par suivi CCM ; elle est notablement plus longue si de plus grandes quantités sont employées. Le milieu réactionnel est alors quenché par 15g de glace et extrait par 6x20 mL d'éther. Après lavage par $NaHCO_3_{sat}$ puis H_2O , séchage sur $MgSO_4$ et concentration à sec, le composé est purifié sur colonne (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/98-2$) pour fournir 198mg (85%) de l'alcool benzylique **181** sous la forme d'un solide blanc.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 7.77$ (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H_a) ; 7.44 (dd, $J = 8.7$ et 2.1 Hz, 1H, H_b) ; 7.31 (m, 5H, $CH_2\phi$) ; 7.12 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.56 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, H_1) ; 5.14 (s, 2H, $CH_2\phi$) ; 4.66 (s, 2H, CH_2OH) ; 4.52 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H, H_3) ; 4.41 (m, 1H, H_4) ; 4.05 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, H_2) ; 3.85 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H_5) ; 2.03 (se, 1H, OH) ; 0.91 , 0.88 et 0.83 (s, 9H) (CH_3) $_3CSiMe_2$) ; 0.16 , 0.11 , 0.06 et 0.00 (s, 3H), 0.12 (s, 6H) (CH_3Si).

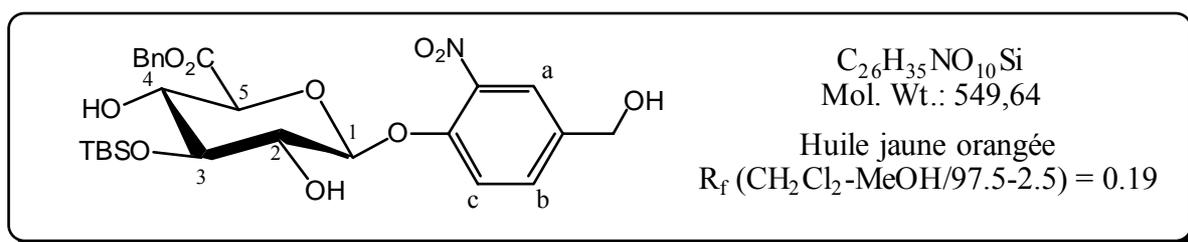
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 168.6$ (CO_2) ; 149.4 , 140.1 , 135.3 et 134.8 (C_{qaro}) ; 132.3 (C_b) ; 128.6 et 128.4 ($CH_{o,m}$ Bn) ; 128.4 (CH_p Bn) ; 123.8 (C_a) ; 116.9 (C_c) ; 99.6 (C_1) ; 78.9 (C_3) ; 76.8 (C_5) ; 75.2 (C_2) ; 72.2 (C_4) ; 67.1 (CH_2 Bn) ; 63.7 (CH_2OH) ; 25.9 (2C) et 25.8 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; 18.1 (2C) et 18.0 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; -4.4 , -4.5 , -4.6 , -4.7 , -5.0 et -5.0 (CH_3Si).

SM ($Cl^+ + NH_3$) : $m/z = 795.5$ [$M + NH_4$] $^+$

SMHR : (C₃₈H₆₇O₁₀N₂Si₃) m/z = 795.4104 calculé ; 795.4096 trouvé

Sur de grandes quantités, l'ajout du TBAF se fait à 0°C, de même que l'hydrolyse de fin de réaction. De plus il a été possible d'isoler un sous produit, dû à une polydésilylation, dont les caractéristiques sont données ci-dessous.

[(2-Nitro-4-hydroxyméthylphényl)-3-O-tert-butyl-diméthylsilyl]-β-D-glucopyranoside uronate de benzyle 198:



ANALYSES :

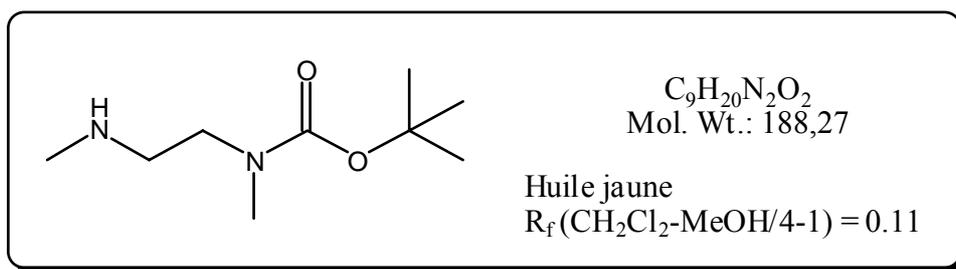
RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 7.81 (d, J = 2.0 Hz, 1H, H_a) ; 7.44 (dd, J = 8.7 et 2.1 Hz, 1H, H_b) ; 7.36 (m, 5H, H_{aro} Bn) ; 7.31 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H_c) ; 5.26 (s, 2H, CH₂Bn) ; 4.88 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H₁) ; 4.67 (d, J = 2.9 Hz, 2H, CH₂OH) ; 4.02 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H₅) ; 3.83 (m, 1H, H₄) ; 3.69 (m, 1H, H₂) ; 3.64 (d, J = 7.6 Hz, 1H, H₃) ; 3.14 (d, J = 3.2 Hz, 1H, OH₂) ; 2.82 (d, J = 3.0 Hz, 1H, OH₄) ; 2.27 (se, 1H, CH₂OH) ; 0.92 (s, 9H, (CH₃)₃CSiMe₂) ; 0.16 et 0.14 (s, 3H) (CH₃Si).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 168.5 (CO₂) ; 149.5, 140.3, 136.7 et 135.0 (C_{qaro}) ; 132.7 (C_b) ; 128.8 et 128.3 (CH_{o,m} Bn) ; 128.7 (CH_p Bn) ; 123.7 (C_a) ; 119.2 (C_c) ; 103.3 (C₁) ; 76.4 (C₂) ; 74.7 (C₅) ; 73.6 (C₃) ; 71.8 (C₄) ; 67.7 (CH₂ Bn) ; 63.5 (CH₂OH) ; 25.9 ((CH₃)₃CSiMe₂) ; 18.4 ((CH₃)₃C_{Si}Me₂) ; -4.3 et -4.6 (CH₃Si).

SM (Cl⁺+NH₃) : m/z = 567 [M+NH₄]⁺

SMHR : (C₂₆H₃₉O₁₀N₂Si₁) m/z = 567.2374 calculé ; 567.2372 trouvé

N-BOC-N,N'-Diméthyléthylèndiamine 202



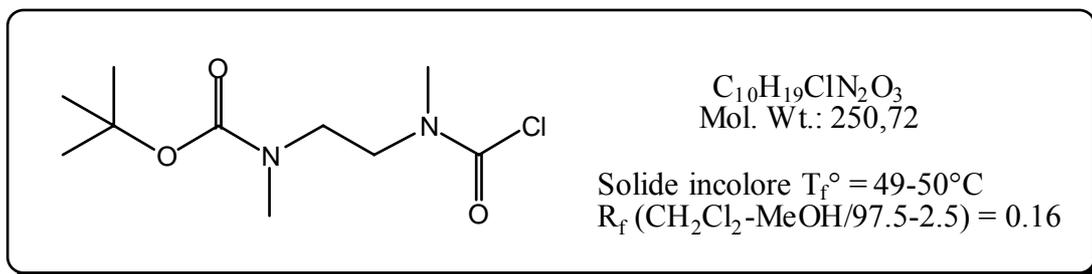
A une solution de 5 mL de N,N'-Diméthyléthylèndiamine **201** dans 100 mL de THF refroidie 0°C est ajoutée g. à g. pendant une heure environ une solution de BOC₂O dans 25 mL de THF. Après une nuit à TA, le THF est évaporé et le résidu partitionné entre NaCl_{sat} et AcOEt. On lave à NaCl_{sat}, sèche sur Na₂SO₄ et chromatographie (éluant CH₂Cl₂-MeOH/9-1) pour récupérer 1.914g (74%) d'une huile incolore.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 3.23 (t, J = 6.3 Hz, 2H, CH₂NBOC) ; 2.78 (s, 3H, CH₃NBOC) ; 2.63 (t, J = 6.6 Hz, 2H, CH₂NH) ; 2.35 (s, 3H, CH₃NH) ; 1.94 (s, 1H, NH) ; 1.36 (s, 9H, (CH₃)₃C).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 155.2 (CO₂) ; 78.6 (Me₃C) ; 49.1 (CH₂NBOC) ; 47.8 (CH₂NH) ; 35.7 (CH₃NBOC) ; 34.1 (CH₃NH) ; 27.8 ((CH₃)₃C).

Chlorure de carbamoyle de *N'*-BOC-*N,N'*-diméthyléthylèndiamine 203



A une solution refroidie à 0°C, et sous argon, de la diamine *mono*-BOC **202** (1.128g, 6 mmol) dans 20 mL de CH_2Cl_2 anh sont ajoutés successivement 6 mL ($\approx 1.5-2$ éq.) d'une solution de phosgène dans le toluène et 3.22 mL (2 éq.) de TEA. La température est maintenue 2h à 0°C puis 15 mL d'eau sont versés au milieu. Après lavage à $NaCl_{sat}$, séchage sur Na_2SO_4 et colonne (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/97.5-2.5$), 450mg (30%) d'une huile, qui cristallise au réfrigérateur, sont obtenus.

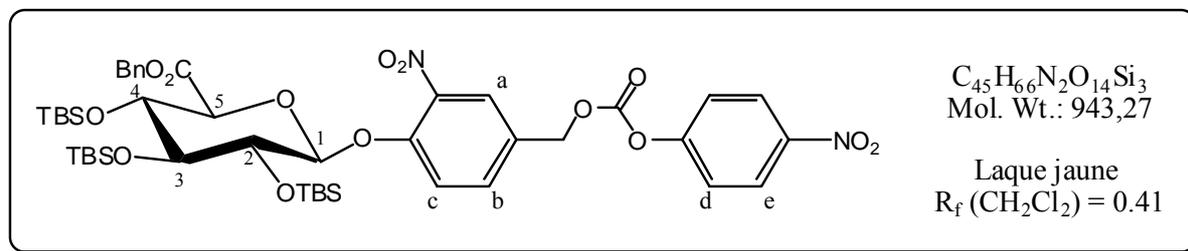
ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 3.43$ et 3.30 (m, 2H) (CH_2NBOC et $CH_2NC(O)$) ; 2.97 et 2.75 (m, 3H) (CH_3NBOC et $CH_3NC(O)$) ; 1.31 (s, 9H, $(CH_3)_3C$).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 155.6$, 155.4 et $155.0(2)$ (CO_2) ; 149.7 , 149.2 et $148.5(2)$ (CCl) ; 79.8 , $79.6(2)$ et 79.4 (Me_3C) ; 50.4 , 50.3 , 49.0 et 48.2 (CH_2) ; 46.6 , 46.0 , 45.8 et 45.1 (CH_2) ; 39.2 , 38.6 , 37.3 et 36.8 (CH_3) ; 35.1 , 34.4 , 34.3 et 34.1 (CH_3) ; 28.0 ($(CH_3)_3C$).

SM (Cl^-+NH_3) : $m/z = 268$ $[M+NH_4]^+$

Carbonate de 4-nitrophénol et de l'alcool 4-[2,3,4-tri-(*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl)- β -D-glucopyranosyl uronate de benzyl]-3-nitro-4-hydroxybenzylique **205**



145mg (0,187 mmol) de **181** additionnés d'une goutte de pyridine anhydre sont dissous dans 5 mL de CH_2Cl_2 anh et placés sous argon. 85mg (2.3 équ.) de chloroformiate de 4-nitrophényle sont versés au milieu en une fois. Après une nuit à TA, de l'eau est ajoutée et la phase organique soigneusement lavée par $NaHCO_3$ sat puis H_2O et enfin séchée sur $MgSO_4$. Après chromatographie sur silice (éluant CH_2Cl_2) 95mg (54%) du carbonate activé **205** sont obtenus sous la forme d'une laque jaune.

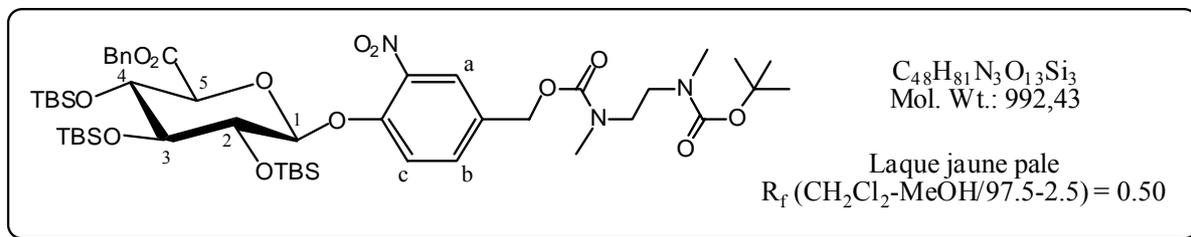
ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 8.27$ (d, $J = 9.2$ Hz, 2H, H_e) ; 7.90 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H_a) ; 7.53 (dd, $J = 8.7$ et 2.1 Hz, 1H, H_b) ; 7.38 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H, H_d) ; 7.31 (m, 5H, $CH_2\phi$) ; 7.19 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.60 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, H_1) ; 5.23 (s, 2H, $CH_2\phi$) ; 5.13 (s, 2H, CH_2O) ; 4.52 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H_3) ; 4.41 (m, 1H, H_4) ; 4.06 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, H_2) ; 3.86 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H_5) ; 0.90 , 0.88 et 0.83 (s, 9H) ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; 0.16 , 0.11 , 0.06 et 0.01 (s, 3H), 0.12 (s, 6H) (CH_3Si).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 168.4$ (CO_2) ; 155.4 , 152.4 , 150.6 , 145.5 , 140.1 et 135.1 (C_{qaro} et CO_3) ; 134.3 (C_b) ; 128.5 et 128.4 ($CH_{o,m,p}$ Bn) ; 127.8 (C_{qaro}) ; 126.1 (C_a) ; 125.4 (C_e) ; 121.8 (C_d) ; 115.7 (C_c) ; 99.5 (C_1) ; 78.9 (C_3) ; 76.6 (C_5) ; 75.1 (C_2) ; 72.1 (C_4) ; 69.2 (CH_2 Bn) ; 67.1 (CH_2O) ; 25.8 (2C) et 25.8 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; 18.0 (2C) et 18.0 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; -4.5 , -4.6 , -4.6 , -4.8 et -5.0 (2C) (CH_3Si).

SM ($Cl^- + NH_3$) : $m/z = 960.3$ [$M + NH_4$] $^+$

N,N*-diméthyl-*N*-[4(-2,3,4-tri-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl)- β -D-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-nitrobenzyloxycarbonyl]-*N'*-(*tert*-butoxycarbonyl)éthylène diamine **204*



Méthode ❶ : 50mg (0.054 mmol) de l'alcool benzylique **181** et 24.4mg (1.5 équ.) du chlorure de carbamoyle **203** en solution dans 5 mL de CH₂Cl₂ anh sont additionnés d'une goutte de TEA, de 5mg (0.5 équ.) de DMAP, puis le tout est porté à reflux pendant 4h. Après un lavage à l'eau et séchage sur MgSO₄, le produit est purifié par chromatographie sur silice (éluant CH₂Cl₂-MeOH/97.5-2.5). 17mg (27%) du produit de couplage désiré et 19mg (38%) du produit de départ sont récupérés.

Méthode ❷ : à 81mg (0.085 mmol) du carbonate activé **205** et 170mg (11 équ.) de l'amine *mono*-BOC **202** en solution dans 5 mL de CH₂Cl₂ anh sont ajoutées 3 gouttes de pyridine. Le mélange est agité 5h à TA. Après dilution par 20 mL de CH₂Cl₂ et 10 mL d'eau, on extrait par 3x30 mL d'une solution de NaHCO₃ sat et sèche sur Na₂SO₄. 38mg (45%) du composé diamino sont obtenus après purification par chromatographie (éluant CH₂Cl₂-MeOH/98.5-1.5).

Méthode ❸ : 600mg (0.771 mmol) de l'alcool benzylique **181** et 4 gouttes de TEA sont solubilisés dans 30 mL de CH₂Cl₂ anh et mis sous argon. 250mg (1.265 mmol) de chloroformiate de 4-nitrophényle **143** en solution dans 5 mL de CH₂Cl₂ anh sont ajoutés goutte-à-goutte. Après 2.5h d'agitation à TA, 1.5g (excès) d'amine **202** est additionné au milieu et l'agitation poursuivie une nuit. Le même traitement que dans la méthode ❷ ci-dessus est utilisé pour fournir 488mg (64%) du composé de couplage **204**.

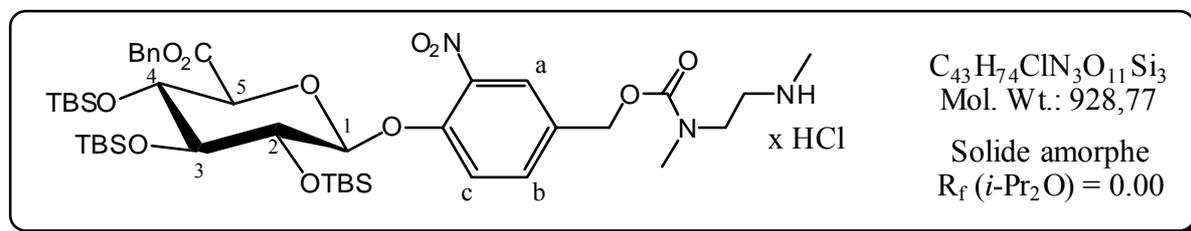
ANALYSES :

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta = 7.81$ (s, 1H, H_a) ; 7.44 (m, 1H, H_b) ; 7.31 (m, 5H, $\text{CH}_2\phi$) ; 7.14 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 5.57 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H, H_1) ; 5.13 (s, 2H, $\text{CH}_2\phi$) ; 5.06 (s, 2H, CH_2O) ; 4.51 (s, 1H, H_3) ; 4.40 (m, 1H, H_4) ; 4.05 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, H_2) ; 3.85 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H, H_5) ; 3.38 (m, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{N}$) ; 2.95 (s, 3H, CH_3N) ; 2.87 - 2.80 (m, 3H, CH_3N) ; 1.43 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3\text{CO}$) ; 0.90 , 0.87 et 0.83 (s, 9H) (CH_3) $_3\text{CSiMe}_2$) ; 0.16 , 0.06 et 0.01 (s, 3H), 0.11 (s, 9H) (CH_3Si).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta = 168.5$ (CO_2) ; 155.8 et 149.9 (NCO_2) ; 140.1 , 135.3 (2C) et 130.5 (C_{qaro}) ; 133.5 (C_b) ; 128.6 et 128.4 ($\text{CH}_{o,m,p}$ Bn) ; 125.1 (C_a) ; 117.0 (C_c) ; 99.4 (C_1) ; 79.7 (Me_3CO) ; 78.8 (C_3) ; 76.8 (C_5) ; 75.2 (C_2) ; 72.2 (C_4) ; 67.1 (CH_2 Bn) ; 65.7 et 65.4 (CH_2O) ; 46.8 (m, 2C, CH_2N) ; 35.5 , 35.0 et 34.6 (2C, CH_3N) ; 28.5 ($(\text{CH}_3)_3\text{CO}$) ; 25.9 et 25.8 (2C) ($(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$) ; 18.1 (2C) et 18.0 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$) ; -4.4 , -4.5 , -4.6 , -4.7 , -4.9 et -5.0 (CH_3Si).

SM ($\text{Cl}^+ + \text{NH}_3$) : $m/z = 1009.4$ [$\text{M} + \text{NH}_4$] $^+$

Chlorhydrate de *N,N'*-diméthyl-*N*-[4-(2,3,4-tri-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl)- β -D-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-nitrobenzyloxycarbonyl]]éthylène diamine 217



270mg (0.27 mmol) du composé BOC **204** sont mis en suspension dans 20 mL d'HCl \approx 3M dans l'AcOEt préalablement refroidis à 0°C. On laisse agiter à cette température jusqu'à disparition complète du composé BOC (suivi CCM). Le milieu réactionnel est alors évaporé à sec et le sel obtenu quantitativement utilisé tel quel par la suite.

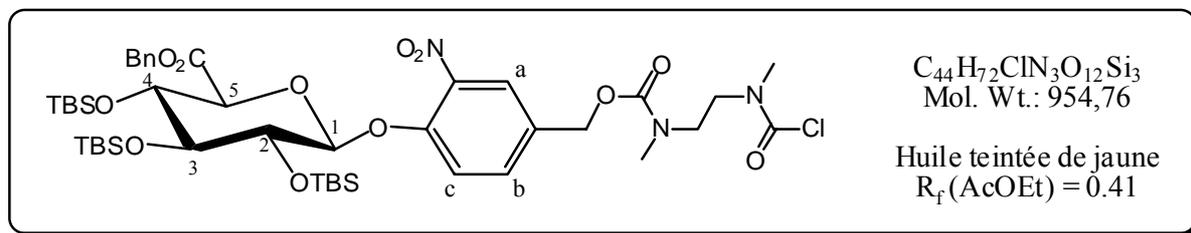
ANALYSES :

RMN 1H (MeOD) : $\delta = 7.91$ (s, 1H, H_a) ; 7.64 (m, 1H, H_b) ; 7.36 (m, 5H, $CH_2\phi$) ; 7.27 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H, H_c) ; 5.65 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, H_1) ; 5.16 (s, 4H, $CH_2\phi$ et CH_2O) ; 4.71 (s, 1H, H_3) ; 4.46 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H_4) ; 4.01 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, H_2) ; 3.91 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H, H_5) ; 3.63 (m, 2H, CH_2N) ; 3.21 (m, 2H, CH_2N) ; 3.00 (s, 3H, CH_3N) ; 2.72 (s, 3H, CH_3N) ; 0.94 , 0.90 et 0.85 (s, 9H) (CH_3) $_3$ CSiMe $_2$) ; 0.16 , 0.15 , 0.08 et 0.00 (s, 3H), 0.14 (s, 6H) (CH_3 Si).

RMN ^{13}C (MeOD) : $\delta = 170.0$ (CO_2) ; 150.5 (NCO_2) ; 141.5 , 136.6 (2C) et 129.6 (C_{qaro}) ; 132.2 (C_b) ; 129.5 et 129.4 ($CH_{o,m,p}$ Bn) ; 129.2 (C_a) ; 117.4 (C_c) ; 100.4 (C_1) ; 80.3 (C_3) ; 78.2 (C_5) ; 77.1 (C_2) ; 73.5 (C_4) ; 68.3 (CH_2 Bn) ; 67.1 (CH_2O) ; 49.4 (m, 2C, CH_2N) ; 34.0 (2C, CH_3N) ; 26.4 , 26.3 et 26.2 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; 18.9 ($(CH_3)_3CSiMe_2$) ; -4.2 , -4.2 , -4.5 , -4.6 , -4.6 et -4.8 (CH_3 Si).

SM (FAB $^+$ MB) : $m/z = 892.2$ [$M+H-HCl$] $^+$

Chlorure de *N,N*-diméthyl-*N'*-[4-(2,3,4-tri-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl)- β -*D*-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-nitrobenzyloxycarbonyl]éthylènediamine carbamoyle **218**



250mg (0.027 mmol) du sel **217** et 0.1 mL (excès) de phosgène en solution dans le toluène sont suspendus dans 50 mL de CH_2Cl_2 anhydre, mis sous atmosphère d'argon et refroidis à 0°C. 3 gouttes de TEA sont alors ajoutées et la température maintenue à 0°C durant 2.5h après quoi le milieu réactionnel est concentré à sec. Par purification sur colonne (éluant AcOEt), 230mg (90%) de chlorure de carbamoyle **218** sont obtenus sous l'aspect d'une huile légèrement teintée de jaune pâle.

ANALYSES :

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta = 7.82$ (s, 1H, H_a) ; 7.47 (m, 1H, H_b) ; 7.31 (m, 5H, Bn) ; 7.15 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, H_c) ; 5.58 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H, H_1) ; 5.13 (s, 2H, CH_2Bn) ; 5.07 (s, 2H, CH_2O) ; 4.51 (s, 1H, H_3) ; 4.40 (m, 1H, H_4) ; 4.05 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, H_2) ; 3.85 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H_5) ; 3.75-3.35 (m, 4H, CH_2N) ; 3.13-2.96 (m, 6H, CH_3N) ; 0.90, 0.87 et 0.83 (s, 9H) ($(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$) ; 0.16, 0.12, 0.11, 0.07, 0.06 et 0.01 (s, 3H) (CH_3Si).

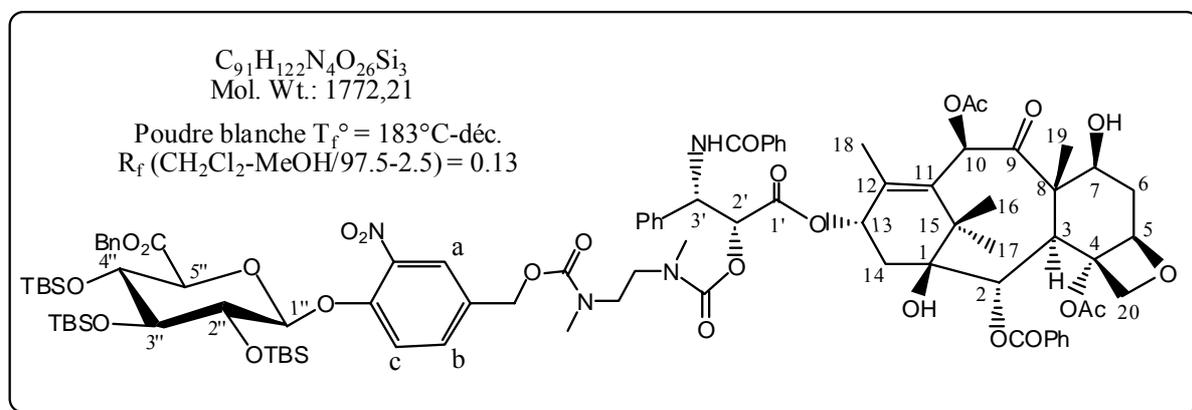
RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta = 168.1$ (CO_2) ; 156.0, 155.8, 155.4 et 155.3 (NCO_2) ; 149.9, 149.7, 149.5 et 149.5 (NCOCl) ; 148.5, 139.8 et 135.0 (C_{qaro}) ; 133.9, 133.4 et 133.2 (C_b) ; 130.4, 130.3, 130.1 et 130.0 (C_{qaro}) ; 130.0 ($\text{CH}_{\text{olm}} \text{Bn}$) ; 128.3 (CH_{olm} et $\text{CH}_p \text{Bn}$) ; 125.3, 125.2, 124.8 et 124.8 (C_a) ; 116.6 (C_c) ; 99.1 (C_1) ; 78.6 (C_3) ; 76.6 (C_5) ; 75.0 (C_2) ; 71.9 (C_4) ; 66.3 ($\text{CH}_2 \text{Bn}$) ; 65.7, 65.5, 65.4 et 65.3 (CH_2O) ; 50.4, 50.1, 48.9 et 48.2 (CH_2N) ; 46.8, 46.4, 46.0 et 45.7 (CH_2N) ; 38.9, 38.6, 37.0 et 36.8 (CH_3N) ; 35.2, 35.0, 34.9 et 34.4 (CH_3N) ; 25.6 (2C) et 25.5 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$) ; 17.8 (2C) et 17.7 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$) ; -4.7, -4.8, -4.9, -5.0, -5.2 et -5.3 (CH_3Si).

SM (Cl⁺+NH₃) : m/z = 971.5 [M+NH₄]⁺

SMHR : (C₄₄H₇₆O₁₂N₄³⁵ClSi₃) m/z = 971.4456 calculé ; 971.4451 trouvé

(C₄₄H₇₆O₁₂N₄³⁷ClSi₃) m/z = 973.4427 calculé ; 973.4450 trouvé

2'-O-[N,N'-diméthyl-N'-[4-(2,3,4-tri-O-tert-butylidiméthylsilyl-β-D-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-nitrobenzyloxycarbonyl]]éthylènediamin]paclitaxel 219



80mg (0.083 mmol) de chlorure de carbamoyle **218** et 116mg (≈ 10 éq.) de DMAP sont dissous dans 10 mL de CH_2Cl_2 fraîchement distillé sur P_2O_5 . Sous argon, 32mg (0.037 mmol) de paclitaxel sont alors ajoutés puis, goutte-à-goutte, 0.2 mL de TEA. Au bout de 6h, la solution est diluée par 20 mL de CH_2Cl_2 puis lavée par H_2O et NaCl_{sat} et séchée sur Na_2SO_4 . La purification, effectuée sur colonne de silice fine (Gel de Silice 60, 0.015-0.040 mm, Merck) (éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}/98\text{-}2$), permet d'isoler 57mg (87%) du produit de couplage **212** sous forme d'une mousse blanche.

ANALYSES :

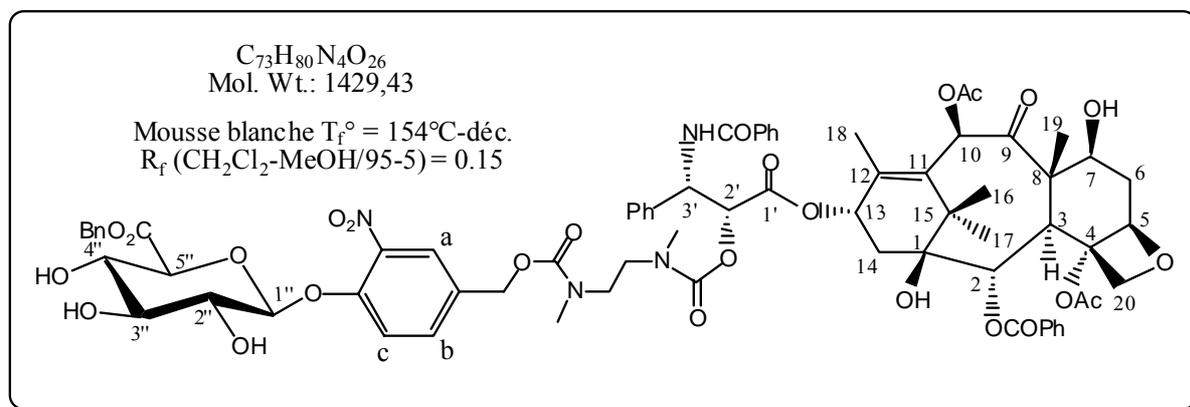
RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta = 8.53$ (d, $J = 9.7$ Hz, 1H, NH_3^+) ; 8.15 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H, H_oBz_2) ; 7.78 (m, 3H, H_mBz et H_a) ; $7.65\text{-}7.15$ (m, 17H, H_{aro}) ; 7.10 (m, 1H, H_c) ; 6.30 (m, 2H, H_{10} et H_{13}) ; 6.12 (m, 1H, $\text{H}_{3'}$) ; 5.66 (m, 1H, H_2) ; 5.57 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H, $\text{H}_{1''}$) ; 5.48 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{2'}$) ; 5.13 (m, 2H, CH_2Bn) ; 4.98 (m, 1H, H_5) ; 4.64 (ABq, $J = 12.6$ Hz, 2H, CH_2O) ; 4.50 (m, 1H, $\text{H}_{3''}$) ; 4.47 (m, 1H, H_7) ; 4.40 (s, 1H, $\text{H}_{4''}$) ; 4.17 (ABq, $J = 8.6$ Hz, 2H, H_{20}) ; 4.05 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, $\text{H}_{2''}$) ; 3.84 (m, 2H, H_3 et $\text{H}_{5''}$) ; $3.65\text{-}3.02$ (m, 4H, CH_2N) ; $2.95\text{-}2.89$ (m, 6H, CH_3N) ; 2.58 (s, 3H, CH_3Ac_4) ; 2.52 (m, 1H, $\text{H}_{6\alpha}$) ; 2.42 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H, H_{14}) ; 2.21 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{Ac}_{10}$) ; 2.09 (m, 3H, H_{18}) ; 2.00 (m, 1H, $\text{H}_{6\beta}$) ; 1.68 (s, 3H, H_{19}) ; 1.22 (s, 3H, H_{16}) ; 1.11 (s, 3H, H_{17}) ; 0.90 , 0.87 et 0.83 (s, 9H) (CH_3) $_3\text{CSiMe}_2$) ; 0.16 , 0.06 , et 0.00 (s, 3H), 0.12 (s, 9H) (CH_3) $_3\text{Si}$).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta = 204.1$ (C_9) ; 171.4, 170.1, 169.0, 168.4, 168.3 et 167.1 ($\text{MeC}(\text{O})\text{C}_4$, $\text{MeC}(\text{O})\text{C}_{10}$, ϕCO_2 , $\phi\text{C}(\text{O})\text{N}_3$, C_1 et CO_2Bn) ; 155.9 et 149.9 (NCO_2) ; 154.9, 143.3, 140.1 (C_{12}), 137.6, 135.2, 134.6, 132.5, 130.0 et 129.3 (7 C_{qaro} et C_{11}) ; 133.6, 133.3, 131.4, 130.3, 129.0, 128.8 (2C), 128.6, 128.4, 128.1, 127.9, 127.1, 126.7 et 125.0 (14 CH_{aro}) ; 116.8 (C_c) ; 99.4 ($\text{C}_{1''}$) ; 84.5 (C_5) ; 81.0 (C_4) ; 79.2 (C_1) ; 78.9 ($\text{C}_{3''}$) ; 76.7, 75.7 (2C) et 75.2 (2C) ($\text{C}_{2, 10, 2', 2''}$ et $5''$) ; 72.2 (C_7 et $4''$) ; 71.4 (C_{13}) ; 76.5 (C_{20}) ; 67.1 (CH_2Bn) ; 65.5 (CH_2O) ; 58.5 (C_8) ; 52.8 ($\text{C}_{3'}$) ; 47.4 et 46.1 (CH_2N) ; 45.6 (C_3) ; 43.2 (C_{15}) ; 35.7 (CH_3N) ; 35.6 (C_6) ; 26.8 (C_{16}) ; 25.9 (2C) et 25.8 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$) ; 22.8 (C_{14} et CH_3Ac_4) ; 22.4 (C_{17}) ; 20.9 ($\text{CH}_3\text{Ac}_{10}$) ; 18.0 (2C) et 18.0 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSiMe}_2$) ; 14.9 (C_{18}) ; 9.7 (C_{19}) ; -4.5, -4.6, -4.6, -4.8, -5.0 et -5.0 (CH_3Si).

SM (FAB⁺ MB+NaI) : $m/z = 1793.9$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$; 1794.9 $[\text{M}+\text{Na}+1]^+$

SMHR : ($\text{C}_{91}\text{H}_{122}\text{O}_{26}\text{N}_4\text{Si}_3\text{Na}$) $m/z = 1793.7553$ calculé ; 1793.7540 trouvé

2'-O-[N,N'-diméthyl-N'-[4-(β-D-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-nitrobenzyloxycarbonyl]]éthylènediamin]paclitaxel 220



150mg (0.085 mmol) de prodrogue protégée **219** dissous dans 5 mL de $\text{CH}_3\text{CN}_{\text{anh}}$ et 0.3 mL de $\text{Pyridine}_{\text{anh}}$ sont additionnés goutte-à-goutte, à 0°C et sous argon, de 0.8 mL de complexe HF-Pyridine à 70%. Après 3h à 0°C , on laisse la température remonter et poursuit l'agitation une nuit. L'hydrolyse s'effectue à 0°C par 125 mL de $\text{NaHCO}_3_{\text{sat}}$, puis le milieu est extrait par 3x50 mL d'AcOEt, séché sur Na_2SO_4 , concentré et chromatographié sur silice (éluant $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-MeOH}/95\text{-}5$). 90mg (76%) d'une mousse blanche correspondant au composé désilylé **220** sont ainsi isolés.

ANALYSES :

RMN ^1H (CDCl_3) : $\delta = 8.43$ (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, NH_3^+) ; 8.13 (2H, H_o Bz₂) ; 7.78 (m, 3H, H_m Bz et H_a) ; 7.65-7.24 (m, 18H, H_{aro}) ; 6.28 (m, 2H, H_{10} et H_{13}) ; 6.12 (dd, $J = 9.3$ et 3.0 Hz, 1H, $H_{3'}$) ; 5.66 (m, 1H, H_2) ; 5.46 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H, H_2') ; 5.23 (2H, CH_2 Bn) ; 4.94 (m, 1H, H_5) ; 4.88 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H, $H_{1''}$) ; 4.64 (ABq, $J = 13$ Hz, 2H, CH_2O) ; 4.50 (m, 1H, $H_{3''}$) ; 4.47 (m, 1H, H_7) ; 4.10 (ABq, $J = 8.4$ Hz, 2H, H_{20}) ; 3.95 (1H, $H_{5''}$) ; 3.88 (m, 1H, $H_{4''}$) ; 3.80-3.05 (m, 9H, H_3 , $H_{3''}$, CH_2N et $\text{OH}_{2''}$, $3''$ et $4''$) ; 2.93-2.88 (m, 6H, CH_3N) ; 2.55 (s, 3H, CH_3 Ac₄) ; 2.45 (m, 1H, $H_{6\alpha}$) ; 2.39 (m, 2H, H_{14}) ; 2.21 (s, 3H, CH_3 Ac₁₀) ; 1.98 (s, 3H, H_{18}) ; 1.88 (m, 1H, $H_{6\beta}$) ; 1.67 (s, 3H, H_{19}) ; 1.18 (s, 3H, H_{16}) ; 1.11 (s, 3H, H_{17}).

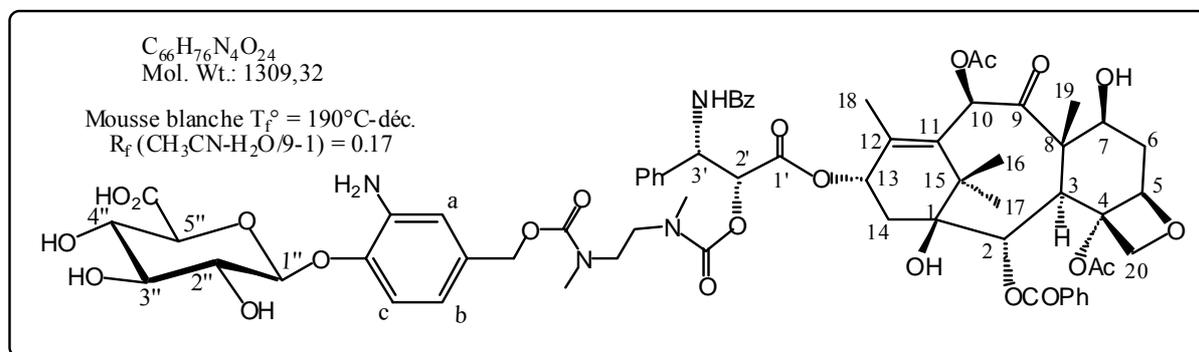
RMN ^{13}C (CDCl_3) : $\delta = 204.0$ (C_9) ; 171.4, 170.1, 169.0, 168.4, 168.2 et 167.1 ($\text{MeC}(\text{O})\text{C}_4$, $\text{MeC}(\text{O})\text{C}_{10}$, $\phi\text{C}(\text{O})_2$, $\phi\text{C}(\text{O})\text{N}_{3'}$, $\text{C}_{1'}$ et CO_2Bn) ; 155.9 et 149.9 (NCO_2) ; 154.9,

143.2, 140.3 (C₁₂), 137.5, 134.9, 134.5, 132.6 132.1 et 129.3 (7 C_qaro et C₁₁); 133.7, 131.5, 130.4, 128.8 (2C), 128.7 (2C), 128.7, 128.3, 128.1, 128.0, 127.1, 126.7 et 124.7 (14 CH_{aro}); 119.1 (C_c); 102.7 (C_{1''}); 84.5 (C₅); 81.0 (C₄); 79.3 (C₁); 75.7 (2C), 75.2, 75.0 et 74.8 (C_{2, 10, 2', 2''/3'' et 5''}); 76.8 (C₂₀); 72.8, 72.1, 71.4 et 70.9 (C_{7, 13, 2''/3'' et 4''}); 67.7 (CH₂ Bn); 65.4 (CH₂O); 58.5 (C₈); 53.0 (C_{3'}); 47.4 et 46.1 (CH₂N); 45.7 (C₃); 43.2 (C₁₅); 35.7 (CH₃N); 35.6 (C₆); 26.8 (C₁₆); 22.8 (C₁₇); 22.6 (C₁₄); 22.3 (CH₃ Ac₄); 20.9 (CH₃ Ac₁₀); 15.0 (C₁₈); 9.7 (C₁₉).

SM (FAB⁺ NBA+NaI) : m/z = 1451.3 [M+Na]⁺

SMHR : (C₇₃H₈₀O₂₆N₄Na) m/z = 1451.4959 calculé ; 1451.4979 trouvé

2'-O-[N,N'-diméthyl-N'-[4-(β-D-glucopyranoside uronate)-3-amino benzyloxycarbonyl]]éthylènediamin]paclitaxel **221**



90mg (0.063 mmol) de composé benzylé **220** et 100mg de Pd/C 10 % sont suspendus dans 10 mL d'EtOH abs. 0.3 mL (50éq.) de cyclohexadiène 1,4 sont alors ajoutés et le milieu chauffé à 45°C pendant 24h. Après filtration sur Célite 545, le produit est chromatographié sur colonne de gel de silice (éluant CH₃CN-H₂O/9-1) et lyophilisé ; 20mg (24%) de la prodrogue aminée **221** sont obtenus.

ANALYSES :

RMN ¹H (MeOD) : δ = 9.12 (m, 1H, NH₃'⁺) ; 8.13 (2H, H_o Bz₂) ; 7.81 (m, 2H, H_m Bz) ; 7.67-7.28 (m, 10H, H_{aro}) ; 7.05 (m, 1H, H_b) ; 6.67 (m, 1H, H_a) ; 6.50 (m, 1H, H_c) ; 6.46 (m, 1H, H₁₀) ; 6.15 (m, 1H, H₁₃) ; 6.05 (m, 1H, H₃'⁺) ; 5.64 (m, 1H, H₂) ; 5.40 (m, 1H, H₂'⁺) ; 4.99 (m, 1H, H₅) ; 4.76 (m, 1H, H₁'⁺) ; 4.70 (m, 2H, CH₂O) ; 4.35 (m, 1H, H₇) ; 4.19 (m, 4H, H₂₀ et CH₂O) ; 3.83 (m, 2H, H₃ et H₅'⁺) ; 3.60-3.34 (m, 7H, H₂'⁺, 3'' et 4'' et CH₂N) ; 2.99-2.81 (m, 6H, CH₃N) ; 2.49-2.39 (m, 4H, H_{6α} et CH₃ Ac₄) ; 2.19 (m, 2H, H₁₄) ; 2.16 (s, 3H, CH₃ Ac₁₀) ; 1.97 (m, 3H, H₁₈) ; 1.80 (m, 1H, H_{6β}) ; 1.66 (s, 3H, H₁₉) ; 1.12 (s, 6H, H₁₆ et H₁₇).

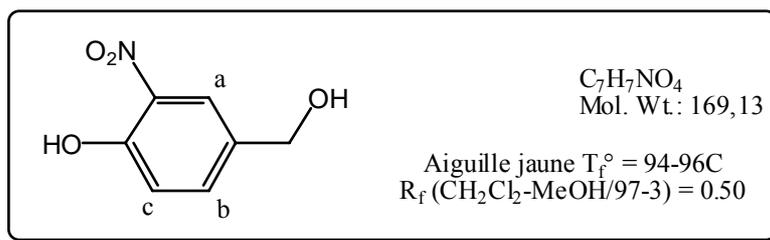
RMN ¹³C (MeOD) : δ = 205.3 (C₉) ; 171.6, 171.3, 171.0, 170.9, 167.7 (MeC(O)C₄, MeC(O)C₁₀, φC(O)₂, φC(O)N₃'⁺ et C₁'⁺) ; 158.0 et 146.6 (NCO₂) ; 156.7, 142.5 et 138.3 (C_{qaro}) ; 135.7, 134.8, 133.8, 131.4, 131.1, 130.5, 130.0, 129.5, 129.1, 128.7, 128.4, 128.1 et 124.4 (C_{aro}) ; 118.6 (C_b et C_c) ; 117.4 (C_a) ; 104.6 (C₁'⁺) ; 85.9 (C₅) ; 82.2 (C₄) ; 78.0, 77.4, 76.9 (2C) et 76.3 (2C) (C₂, 10, 20, 2', 3'' et 5'') ; 74.6, 73.3, 72.7 et 72.2 (C₇, 13, 2'' et 4'') ; 69.7 (CH₂O) ; 59.2

(C₈) ; 54.8 (C₃') ; 47.5 (C₃) ; 47.1 et 46.9 (CH₂N) ; 44.5 (C₁₅) ; 37.5 (C₆) ; 37.1-35.2 (CH₃N) ; 27.2 (C₁₆) ; 23.3, 22.5 et 22.4 (C₁₄, C₁₇ et CH₃ Ac₄) ; 20.8 (CH₃ Ac₁₀) ; 14.7 (C₁₈) ; 10.5 (C₁₉).

SM (ESI⁺) : m/z = 1309.5 [M+H]⁺

SMHR : (C₆₆H₇₇O₂₄N₄) m/z = 1309.4928 calculé ; 1309.4926 trouvé

2-Nitro-4-hydroxyméthylphénol **223a**



Une solution de 200mg (1.19 mmol) de 4-hydroxy-3-nitrobenzaldéhyde **182** dissous dans 20 mL de méthanol est refroidie à 0°C par un bain de glace; 100mg (excès) de NaBH₄ sont ajoutés par spatulées. On laisse remonter à TA et agiter 4h. Le milieu est quenché par 50 mL d'eau et le méthanol évaporé. Après extraction par 3x50 mL d'AcOEt puis séchage sur Na₂SO₄, le brut est chromatographié (éluant CH₂Cl₂-MeOH/97-3) et pour fournir 141mg (70%) du solide **223a** cristallisant sous forme d'aiguilles jaunes.

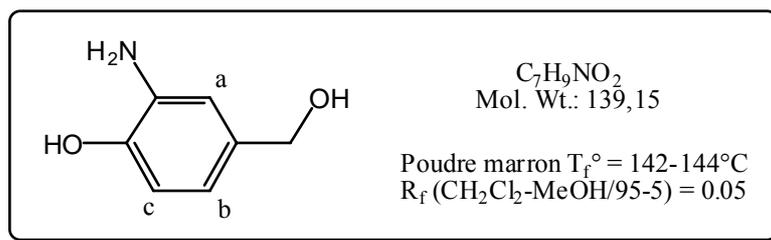
ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta = 10.56$ (se, 1H, OH) ; 8.11 (d, J = 2.2 Hz, 1H, H_a) ; 7.60 (dd, J = 8.6 et 2.2 Hz, 1H, H_b) ; 7.16 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H_c) ; 4.69 (s, 2H, CH₂).

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta = 154.5$ (C_q-O) ; 136.3 (C_b) ; 135.6 et 133.2 (C_q) ; 123.0 (C_a) ; 120.2 (C_c) ; 63.6 (CH₂).

SM (CI⁺ + NH₃) : m/z = 170 [M+H]⁺

SMHR : (C₇H₁₀NO₂) m/z = 170.0453 calculé ; 170.0459 trouvé

2-Amino-4-hydroxyméthylphénol 223b

Méthode **1** : 205mg (1.23 mmol) de nitrobenzaldéhyde **182** dissous dans 20 mL d'EtOH abs. avec 206mg de Pd/C 10% sont agités sous atmosphère d'hydrogène pendant 2h. Après filtration sur Célite 545 et chromatographie (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/95-5$), 60mg (25%) d'une poudre marron correspondant à l'amino alcool **223b** sont récupérés.

Méthode **2** : 141mg (0.833 mmol) du nitrophénol **223a** et 96mg de Pd/C 10% en suspension dans 20 mL de méthanol sont placés sous atmosphère d'hydrogène durant 4h. Le même traitement que précédemment fournit 47mg (40%) du composé **223b**.

ANALYSES :

RMN 1H (MeOD) : $\delta = 6.75$ (d, $J = 1.7$ Hz, 1H, H_a) ; 6.66 (dd, $J = 8.0$ Hz, 1H, H_c) ; 6.58 (dd, $J = 8.0$ et 1.7 Hz, 1H, H_b) ; 4.42 (s, 2H, CH_2).

RMN 1H (DMSO- d_6) : $\delta = 8.80$ (se, 1H, OH) ; 6.56 (m, 2H, H_a et c) ; 6.33 (dd, $J = 7.9$ et 1.4 Hz, 1H, H_b) ; 4.80 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H, CH_2OH) ; 4.44 (se, 2H, NH_2) ; 4.25 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H, CH_2).

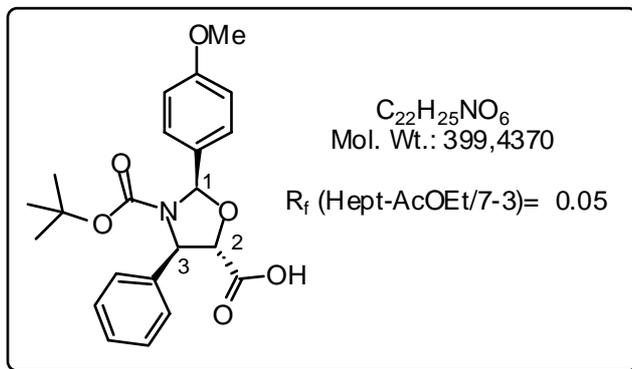
RMN ^{13}C (MeOD) : $\delta = 145.6$ (C_{q-O}) ; 135.6 et 133.8 (C_q) ; 119.2 (C_b) ; 116.5 (C_a) ; 115.1 (C_c) ; 65.2 (CH_2).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6) : $\delta = 142.8$ (C_{q-O}) ; 136.2 et 133.5 (C_q) ; 114.9 (C_b) ; 113.8 et 113.4 (C_a et c) ; 63.2 (CH_2).

SM ($Cl^+ + NH_3$) : $m/z = 140 [M+H]^+$

SMHR : ($C_7H_{10}NO_2$) $m/z = 140.0712$ calculé ; 140.0710 trouvé

Ester 3-tert-butyle de l'acide 2-(4-Méthoxyphényl)-4-phényl-oxazolidine-3,5-dicarboxylique (POMA) 230

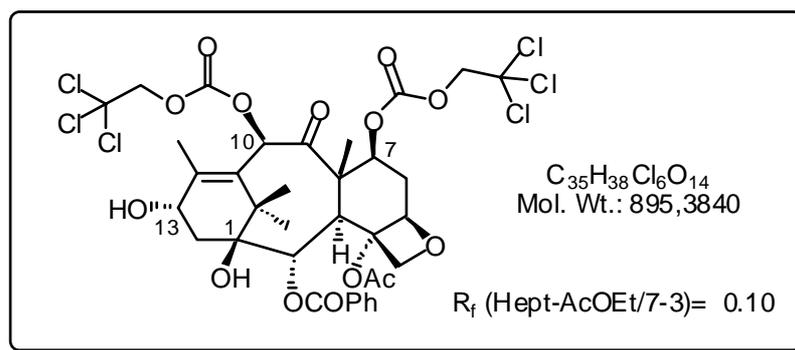


ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ = 8.54 (se, 1H, CO_2H) ; 7.39 (m, 7H, 5H ϕ_3 et 2H $MeO\phi$) ; 6.92 (d, J = 8.7 Hz, 2H, $MeO\phi$) ; 6.38 (s, 1H, H_1) ; 5.39 (s, 1H, H_3) ; 4.61 (d, J = 4.3 Hz, 1H, H_2) ; 3.81 (s, 3H, MeO) ; 1.06 (s, 9H, BOC).

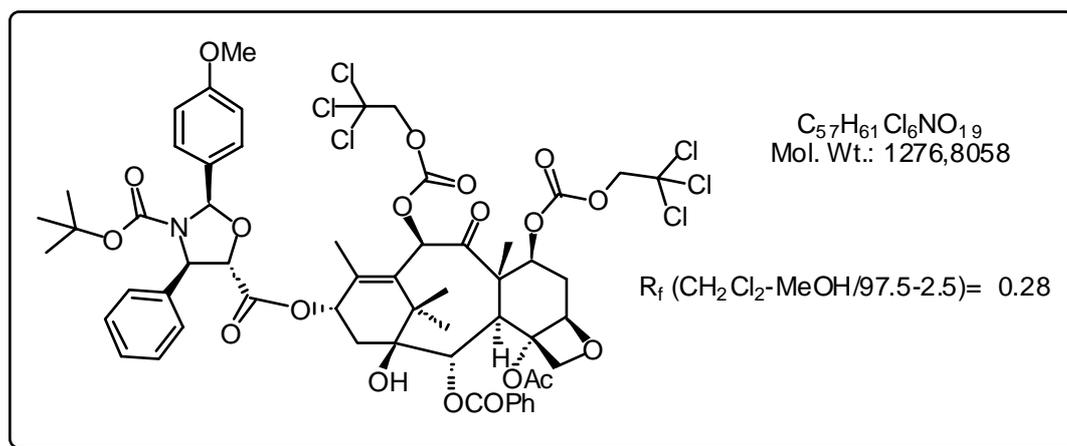
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ = 172.8 (CO_2H) ; 1660.5 (NCO_2) ; 151.8 (C_q) ; 129.0, 128.4, 128.2, 126.4 et 114.0 (CH_{aro}) ; 92.5 (C_1) ; 82.6 (C_2) ; 81.2 (Me_3C) ; 63.7 (C_3) ; 55.4 (MeO) ; 27.9 (Me_3).

7,10-Ditroc-10-décétylbaccatine III 227

**ANALYSES :**

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ = 8.08 (m, 2H, H_o Bz₂) ; 7.61 (t, J = 7.4 Hz, 1H, H_p Bz₂) ; 7.45 (m, 2H, H_m Bz₂) ; 6.26 (s, 1H, H_{10}) ; 5.63 (d, J = 6.8 Hz, 1H, H_2) ; 5.59 (dd, J = 10.6 et 7.2 Hz, 1H, H_5) ; 4.98 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H_7) ; 4.91 (m, 1H, H_{13}) ; 4.90 (m, 1H) et 4.60 (d, J = 11.8 Hz, 1H) (ABq, CH_2CCl_3) ; 4.77 (ABq, J = 11.9 Hz, 2H, CH_2CCl_3) ; 4.23 (ABq, J = 8.4 Hz, 2H, H_{20}) ; 3.96 (d, J = 6.9 Hz, 1H, H_3) ; 2.62 (m, 1H, $H_{6\alpha}$) ; 2.31 (m, 5H, H_{14} et CH_3 Ac₄) ; 2.15 (s, 3H, H_{18}) ; 2.03 (m, 1H, $H_{6\beta}$) ; 1.98 (s, 3H, H_{19}) ; 1.70 (s, 1H, OH_{13}) ; 1.14 (s, 3H, H_{17}) ; 1.10 (s, 3H, H_{16}).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ = 201.3 (C_9) ; 170.9 et 167.0 ($MeC(O)C_4$ et ϕCO_2) ; 153.3 et 153.2 (CO_3) ; 146.6 (C_{12}) ; 133.9 (CH_p Bz₂) ; 130.9 (C_{11}) ; 130.1 (CH_o) ; 129.2 (C_q) ; 128.8 (CH_m) ; 94.3 et 94.3 (CCl_3) ; 83.8 (C_7) ; 80.4 (C_4) ; 79.8 (C_{10}) ; 78.7 (C_1) ; 77.4 et 77.1 (CH_2CCl_3) ; 76.7 (C_5) ; 76.3 (C_{20}) ; 74.2 (C_2) ; 67.9 (C_{13}) ; 56.3 (C_8) ; 47.4 (C_3) ; 42.7 (C_{15}) ; 38.4 (C_{14}) ; 33.3 (C_6) ; 26.6 (C_{16}) ; 22.6 (CH_3 Ac₄) ; 20.2 (C_{17}) ; 15.5 (C_{18}) ; 10.7 (C_{19}).

POMA-ditroc-10-DAB **231**

197.7mg (0.221 mmol) de ditroc-10-DAB **227** en solution dans 10 mL de toluène sec sont ajoutés 40.6mg (1.5 éq.) de DMAP et 114.0mg (1.5 éq.) de DCC. Puis une solution de 176.4mg (2éq.) de POMA **230** dans 10 mL de toluène sec est versée au milieu. Après 1h à TA, on lave par 30 mL d'eau, sèche sur Na_2SO_4 et concentre la phase organique. Le brut est chromatographié deux fois sur colonne de gel de silice (éluant Hept-AcOEt/7-3 et éluant $CH_2Cl_2-MeOH/98.5-1.5$) pour fournir 263mg (93%) du produit **231**.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 8.01$ (d, $J = 7.3$ Hz, 2H, H_o Bz₂) ; 7.63 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H_p Bz₂) ; 7.50 (m, 2H, H_m Bz₂) ; 7.41 (m, 7H, H_{aro}) ; 6.92 (d, $J = 8.7$ Hz, $H_{o/m}$ MeO ϕ) ; 6.38 (se, 1H, $H_{1'}$) ; 6.10 (m, 2H, $H_{10, 13}$) ; 5.60 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, H_2) ; 5.49 (dd, $J = 10.7$ et 7.1 Hz, 1H, H_5) ; 5.41 (se, 1H, $H_{3'}$) ; 4.91 (m, 1H, H_7) ; 4.87 (m, 1H) et 4.60 (m, 1H) (CH_2CCl_3) ; 4.77 (s, 2H, CH_2CCl_3) ; 4.57 (m, 1H, $H_{2'}$) ; 4.17 (ABq, $J = 8.5$ Hz, 2H, H_{20}) ; 3.81 (s, 3H, MeO) ; 3.78 (m, 1H, H_3) ; 2.57 (m, 1H, $H_{6\alpha}$) ; 2.26-2.08 (m, 2H, H_{14}) ; 2.02 (m, 1H, $H_{6\beta}$) ; 1.95 (s, 3H, CH_3 Ac₄) ; 1.84 (s, 3H, H_{19}) ; 1.63 (s, 3H, H_{18}) ; 1.22 (s, 3H, H_{16}) ; 1.13 (s, 3H, H_{17}) ; 1.04 (s, 9H, CH_3 BOC).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 200.8$ (C_9) ; 170.1, 169.5 et 166.8 ($MeC(O)C_4$, ϕCO_2 et $C_{1'}$) ; 160.5 (NCO_2) ; 153.2 et 153.1 (CO_3) ; 151.5 (C_q POMA) ; 142.8 (C_{12}) ; 134.0 (CH_p Bz₂) ; 131.7 (C_{11}) ; 130.1 ($CH_{o/m}$) ; 129.0, 128.7, 128.6, 128.2 et 126.6 (CH_{aro}) ; 114.0 ($CH_{o/m}$) ; 94.2 (CCl_3) ; 92.6 ($C_{1'}$) ; 83.7 (C_7) ; 83.3 ($C_{2'}$) ; 80.9 (C_4) ; 80.4 (Me_3C) ; 79.0 ($C_{1, 10}$) ; 77.4

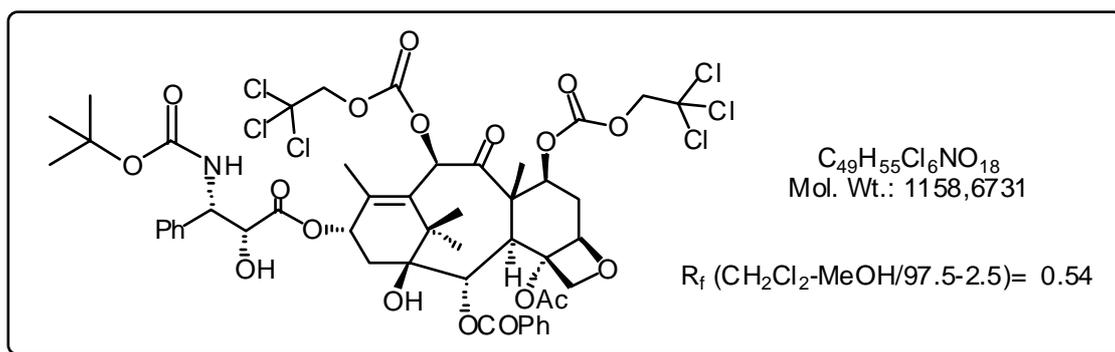
(CH₂CCl₃); 76.3 (C₅); 76.2 (C₂₀); 74.3 (C₂); 71.5 (C₁₃); 63.6 (C_{3'}); 56.0 (C₈); 55.4 (MeO); 46.9 (C₃); 43.0 (C₁₅); 35.5 (C₁₄); 33.1 (C₆); 27.8 (Me BOC); 26.3 (C₁₆); 21.5 (CH₃ Ac₄); 21.1 (C₁₇); 14.0 (C₁₈); 10.8 (C₁₉).

SM (FAB⁺ MB) : m/z = 1276.2 [M]⁺

SMHR : (C₅₇H₆₂O₁₉N³⁵Cl₆) m/z = 1274.2047 calculé ; 1274.1997 trouvé

(C₅₇H₆₂O₁₉N³⁵Cl₅³⁷Cl) m/z = 1276.2018 calculé ; 1276.2028 trouvé

(C₅₇H₆₂O₁₉N³⁵Cl₄³⁷Cl₂) m/z = 1278.1988 calculé ; 1278.2037 trouvé

7,10-Ditroc-docetaxel **228**

263mg (0.206 mmol) de l'oxazoline **231** dissous dans 20 mL de méthanol anhydre sont additionnés de 43.1mg (1.1 éq.) de TsOH. Au bout de 2h d'agitation à TA, le milieu réactionnel est concentré à sec puis repris dans 30 mL d'AcOEt. Après lavage par H₂O et NaCl_{sat} et séchage sur Na₂SO₄, les 355mg de brut récupérés sont purifiés sur colonne (éluant CH₂Cl₂-MeOH/97.5-2.5) pour fournir 172mg (73%) du composé ditroc-docetaxel **228**.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 8.08 (d, J = 7.5 Hz, 2H, H_o Bz₂) ; 7.61 (m, 1H, H_p Bz₂) ; 7.49 (m, 2H, H_m Bz₂) ; 7.34 (m, 5H, H_{aro} Bn) ; 6.38 (se, 1H, H_{1'}) ; 6.20 (m, 2H, H_{10,13}) ; 5.67 (d, J = 6.8 Hz, 1H, H₂) ; 5.54 (m, 1H, H₅) ; 5.47 (se, 1H, NH) ; 5.26 (m, 1H, H_{3'}) ; 4.96 (m, 1H, H₇) ; 4.90 (m, 1H) et 4.62 (m, 1H) (CH₂CCl₃) ; 4.77 (s, 2H, CH₂CCl₃) ; 4.58 (m, 1H, H_{2'}) ; 4.24 (ABq, J = 8.5 Hz, 2H, H₂₀) ; 3.89 (d, J = 6.6 Hz, 1H, H₃) ; 3.41 (s, 1H, OH_{2'}) ; 2.62 (m, 1H, H_{6α}) ; 2.39 (s, 3H, CH₃ Ac₄) ; 2.31 (m, 2H, H₁₄) ; 2.02 (m, 1H, H_{6β}) ; 1.94 (s, 3H, H₁₈) ; 1.84 (s, 3H, H₁₉) ; 1.33 (s, 9H, CH₃ BOC) ; 1.22 (s, 3H, H₁₆) ; 1.18 (s, 3H, H₁₇).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 200.8 (C₉) ; 172.9, 170.4 et 166.9 (MeC(O)C₄, φCO₂ et C_{1'}) ; 155.4 (NCO₂) ; 153.3 et 153.2 (CO₃) ; 142.6 (C₁₂) ; 138.3 (C_q) ; 133.9 (CH_p Bz₂) ; 132.0 (C₁₁) ; 130.2 (CH_{o/m}) ; 128.9, 128.9, 128.8, 128.1 et 126.8 (CH_{aro}) ; 94.2 et 94.2 (CCl₃) ; 83.7 (C₇) ; 80.7 (C₄) ; 80.3 (Me₃C) ; 79.2 (C₁₀) ; 78.6 (C₁) ; 77.4 et 77.1 (CH₂CCl₃) ; 76.4 (C₅) ; 76.3 (C₂₀) ; 74.2 (C₂) ; 73.6 (C_{2'}) ; 72.2 (C₁₃) ; 56.2 (C_{3'}) ; 53.5 (C₈) ; 46.9 (C₃) ; 43.1 (C₁₅) ; 35.3 (C₁₄) ; 33.3 (C₆) ; 28.2 (Me BOC) ; 26.3 (C₁₆) ; 22.6 (CH₃ Ac₄) ; 21.1 (C₁₇) ; 14.7 (C₁₈) ; 10.7 (C₁₉).

SM (FAB⁺ MB) : $m/z = 1158.1 [M+2+1]^+$

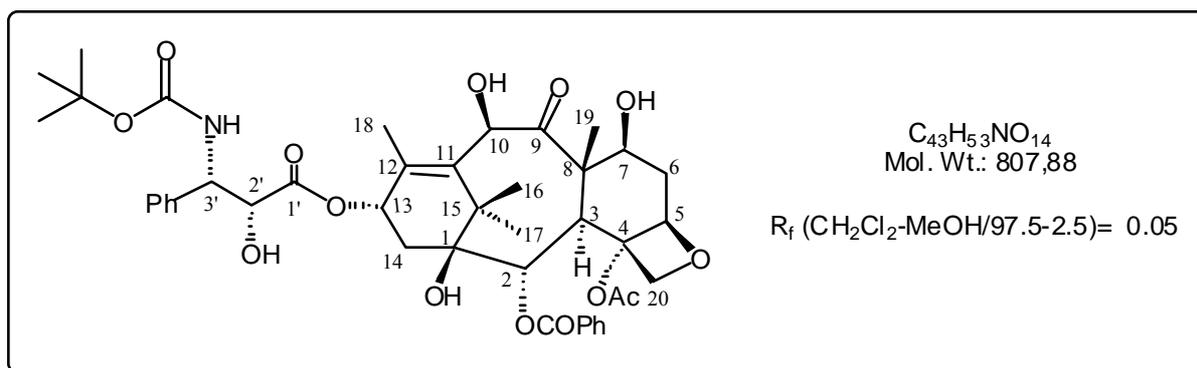
SM (FAB⁺ MB+Na) : $m/z = 1178.1 [M+Na]^+, 1180.0 [M+2+Na]^+$

SMHR : (C₄₉H₅₅O₁₈N³⁵Cl₆Na) $m/z = 1178.1448$ calculé ; 1178.1439 trouvé

(C₅₇H₆₂O₁₉N₃³⁵Cl₅³⁷ClNa) $m/z = 1180.1418$ calculé ; 1180.1439 trouvé

(C₅₇H₆₂O₁₉N₃³⁵Cl₄³⁷Cl₂Na) $m/z = 1182.1389$ calculé ; 1182.1455 trouvé

Docetaxel 2



500mg (0.475 mmol) de ditroc baccatine **228** en présence de 1g de Zinc pulvérulent et de 5 mL d'AcOH en suspension dans 100 mL d'AcOEt sont chauffés à 45°C sous atmosphère d'argon durant environ 5h. Après filtration, on lave à l'eau et sèche sur Na₂SO₄ puis chromatographie (éluant CH₂Cl₂-MeOH/97.5-2.5). 245mg (63%) de docetaxel **2** sont obtenus.

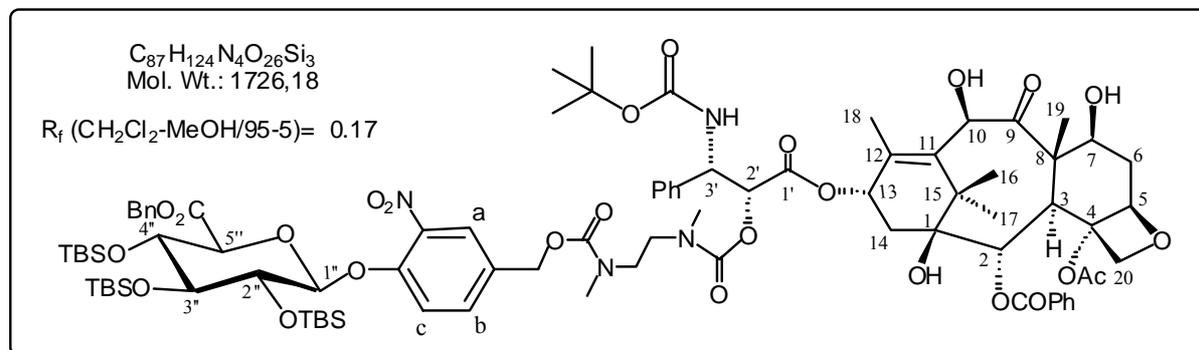
ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 8.07 (d, J = 7.5 Hz, 2H, H_o Bz₂) ; 7.59 (m, 1H, H_p Bz₂) ; 7.47 (m, 2H, H_m Bz₂) ; 7.36 (m, 5H, H_{aro} Bn) ; 6.18 (m, 1H, H₁₃) ; 5.69 (se, 1H, NH) ; 5.63 (d, J = 6.9 Hz, 1H, H₂) ; 5.25 (m, 2H, H_{10, 3'}) ; 5.26 (m, 1H, H_{3'}) ; 4.92 (d, J = 9.4 Hz, 1H, H₅) ; 4.60 (s, 1H, H_{2'}) ; 4.28-4.14 (m, 3H, H_{7, 20}) ; 3.85 (d, J = 6.7 Hz, 1H, H₃) ; 2.50 (m, 1H, H_{6 α}) ; 2.34 (s, 3H, CH₃ Ac₄) ; 2.15 (m, 2H, H₁₄) ; 1.83 (s, 3H, H₁₈) ; 1.81 (m, 1H, H_{6 β}) ; 1.70 (s, 3H, H₁₉) ; 1.31 (s, 9H, CH₃ BOC) ; 1.20 (s, 3H, H₁₆) ; 1.09 (s, 3H, H₁₇).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 211.2 (C₉) ; 172.9, 170.4 et 170.0 (MeC(O)C₄, ϕ C(O)₂ et C_{1'}) ; 155.6 (NCO₂) ; 138.5, 135.9 et 129.2 (C₁₁, C₁₂ et C_q) ; 133.7 (CH_p Bz₂) ; 130.2 (CH_{o/m}) ; 128.8, 128.7, 128.0, et 126.8 (CH_{aro}) ; 84.3 (C₅) ; 81.1 (Me₃C) ; 80.2 (C₁) ; 78.8 (C₂₀) ; 75.0 (C₂) ; 74.5 (C_{10, 3'}) ; 73.8 (C_{2'}) ; 72.2 (C₁₃) ; 71.8 (C₇) ; 57.7 (C₈) ; 46.5 (C₃) ; 43.1 (C₁₅) ; 36.7 (C₆) ; 35.6 (C₁₄) ; 28.2 (Me BOC) ; 26.5 (C₁₆) ; 22.6 (CH₃ Ac₄) ; 20.8 (C₁₇) ; 14.3 (C₁₈) ; 9.9 (C₁₉).

SM (FAB⁺ MB) : m/z = 830.4 [M+Na]⁺

2'-O-[N,N'-diméthyl-N'-[4-(2,3,4-tri-O-tert-butylidiméthylsilyl-β-D-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-nitrobenzyloxycarbonyl]]éthylènediamin]docetaxel 232



200mg (0.248 mmol) de docetaxel **2** et un large excès de DMAP (300mg) sont dissous dans 20 mL de CH_2Cl_2 fraîchement distillé et mis sous atmosphère d'argon. Puis 284mg (1.1 éq) du chlorure de carbamoyle **218** sont ajoutés, et 0.2 mL de TEA additionnées goutte à goutte. Au bout de 6h, le milieu est dilué par 20 mL de CH_2Cl_2 , lavé à l'eau et $NaCl_{sat}$, et le produit purifié sur colonne (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/97.5-2.5 \rightarrow 95/5$). 267mg (73%) du produit de couplage **232** sont obtenus.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 8.15$ (m, 2H, $H_o Bz_2$) ; 7.85 (m, 1H, H_a) ; 7.48 (m, 4H, $H_m Bz$, $H_p Bz$ et H_b) ; 7.30 (m, 10H, H_{aro}) ; 7.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_c) ; 6.99 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, NH) ; 6.32 (m, 1H, H_{13}) ; 5.65 (m, 1H, $H_{3'}$) ; 5.58 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, $H_{1''}$) ; 5.48-5.24 (m, 3H, $H_{2, 3}$ et 10) ; 5.13 (m, 2H, $CH_2 Bn$) ; 5.09 (m, 2H, CH_2O) ; 4.98 (m, 1H, H_5) ; 4.50 (m, 1H, $H_{3''}$) ; 4.40 (s, 1H, $H_{4''}$) ; 4.29-4.06 (m, 3H, H_7 et H_{20}) ; 4.17 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, $H_{2''}$) ; 4.00 (m, 1H, $H_{2'}$) ; 3.89 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H, $H_{5''}$) ; 3.62-3.02 (m, 4H, CH_2N) ; 2.92-2.81 (m, 6H, CH_3N) ; 2.52 (m, 4H, $H_{6\alpha}$ et $CH_3 Ac_4$) ; 2.43-2.15 (m, 2H, H_{14}) ; 1.96 (s, 3H, H_{18}) ; 1.84 (m, 1H, $H_{6\beta}$) ; 1.73 (m, 3H, H_{19}) ; 1.28 (m, 9H, Me BOC) ; 1.21 (s, 3H, H_{16}) ; 1.10 (s, 3H, H_{17}) ; 0.89, 0.87 et 0.83 (s, 9H) (CH_3) $_3$ CSiMe $_2$) ; 0.16, 0.11, 0.11, 0.10, 0.05 et 0.01 (s, 3H) (CH_3 Si).

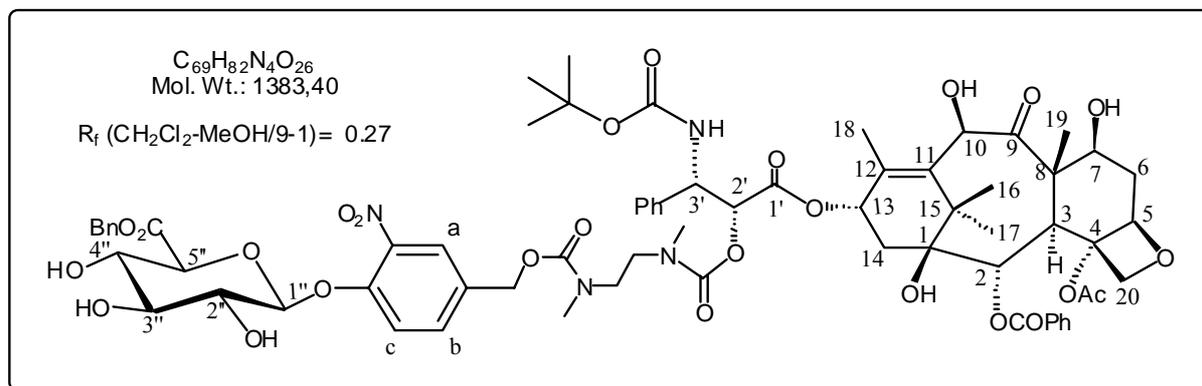
RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 211.5$ (C_9) ; 169.8, 168.9, 168.3 et 167.0 (MeC(O) C_4 , ϕCO_2 , $C_{1'}$ et CO_2Bn) ; 155.9, 154.9 et 149.9 (NCO $_2$) ; 140.1, 139.3, 138.0, 135.4, 135.1 et 129.3 (C_{qaro} , C_{11} et C_{12}) ; 133.9, 133.5, 130.2, 128.7, 128.5, 128.3, 127.7 et 126.3 (CH_{aro}) ; 125.5

(C_a) ; 116.8 (C_c) ; 99.3 (C_{1''}) ; 84.4 (C₅) ; 81.0 (C₄) ; 79.5 (Me₃C) ; 78.9 (C₁) ; 78.8 (C_{3''}) ; 76.6 (C₂₀) ; 77.8, 75.8 et 75.5 (C_{2/10}, C_{2''} et C_{5''}) ; 75.2 (C_{3'}) ; 74.5 (C_{2/10}) ; 72.2 (C_{4''}) ; 71.7 (C₁₃) ; 71.5 (C₇) ; 67.0 (CH₂ Bn) ; 65.7 (CH₂O) ; 57.5 (C₈) ; 54.2 (C₃) ; 50.6, 47.4, 47.0 et 46.2 (CH₂N) ; 46.5 (C_{2'}) ; 43.1 (C₁₅) ; 36.8 (C₆) ; 35.6 et 35.5 (CH₃N) ; 28.2 et 28.2 (Me BOC) ; 26.3 (C₁₆) ; 25.8 (2C) et 25.7 ((CH₃)₃CSiMe₂) ; 22.7 (CH₃ Ac₄) ; 22.6 (C₁₄) ; 21.0 (C₁₇) ; 18.0 (2C) et 17.9 ((CH₃)₃CSiMe₂) ; 14.3 (C₁₈) ; 10.0 (C₁₉) ; -4.5, -4.6, -4.7, -4.8, -5.0 et -5.1 (CH₃Si).

SM (FAB⁺ MB+NaI) : m/z = 1747.8 [M+Na]⁺ ; 1748.8 [M+Na+1]⁺

SMHR : (C₈₇H₁₂₄O₂₆N₄Si₃Na) m/z = 1747.7709 calculé ; 1747.7657 trouvé

2'-O-[N,N'-diméthyl-β-D-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-nitrobenzyloxycarbonyl]éthylènediamin]docetaxel **229**



267mg (0.155 mmol) du composé silylé **232** sont dissous dans 10 mL de CH₃CN_{anh} en présence de 0.5 mL de pyridine anhydre. Le milieu réactionnel est mis sous argon et porté à 0°C par un bain de glace. On ajoute alors goutte à goutte 1.5 mL du complexe HF-pyridine à 70% et laisse revenir à TA pendant une nuit. Le lendemain on refroidit de nouveau la solution, la dilue avec 50 mL d'AcOEt puis verse 50 mL de NaHCO₃ sat. Après extraction par 2x50 mL d'AcOEt et séchage sur Na₂SO₄, le brut réactionnel est purifié sur colonne de gel de silice (éluant CH₂Cl₂-MeOH/95-5→9/1) pour fournir 185mg (87%) de composé désilylé **229**, ainsi que 10mg de produit de départ et 50mg d'un composé monosilylé.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 8.07 (s, 2H, H_o BZ₂) ; 7.79 (m, 1H, H_a) ; 7.56 (m, 1H, H_p Bz) ; 7.48 (m, 3H, H_m Bz, et H_b) ; 7.32 (m, 11H, H_{aro}) ; 6.63 (m, 1H, NH) ; 6.19 (m, 1H, H₁₃) ; 5.60 (s, 1H, H_{3'}) ; 5.50-4.94 (m, 5H, H_{2, 3, 5, 10} et 1'') ; 5.17 (m, 4H, CH₂ Bn et CH₂O) ; 4.46 (s, 1H, H₇) ; 4.26 (s, 1H, H_{3''}) ; 4.14 (s, 1H, H_{4''}) ; 4.26 et 4.14 (s, 1H) (H₂₀) ; 3.87 (m, 2H, H_{2'} et 5'') ; 3.76 (m, 4H, H_{2''}, OH 2', 3' et 4') ; 3.33-3.00 (m, 4H, CH₂N) ; 2.91-2.76 (m, 6H, CH₃N) ; 2.67 (m, 1H, H_{6α}) ; 2.60-2.20 (m, 2H, H₁₄) ; 2.44 (s 3H, CH₃ Ac₄) ; 1.88 (s, 3H, H₁₈) ; 1.86 (m, 1H, H_{6β}) ; 1.28 (s, 9H, Me BOC) ; 1.14 (s, 3H, H₁₆) ; 1.05 (s, 3H, H₁₇).

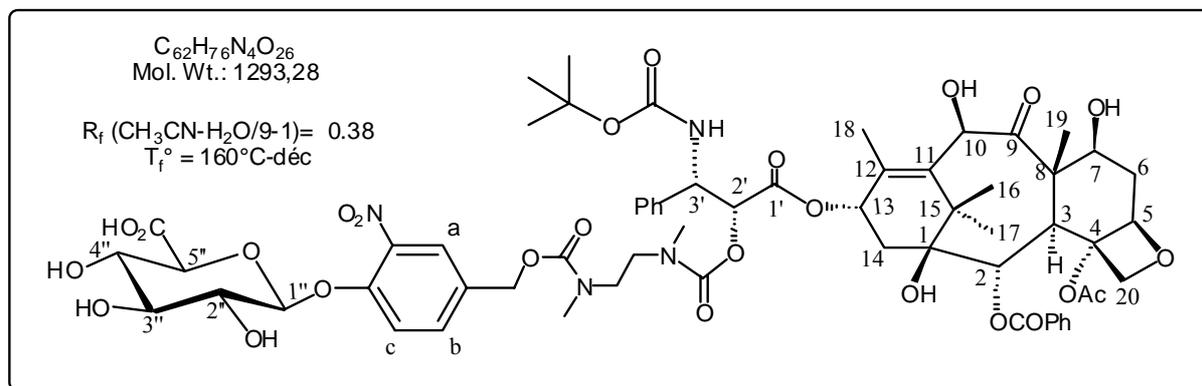
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 211.5 (C₉) ; 170.1, 169.0, 168.4 et 167.0 (MeC(O)C₄, φCO₂, C_{1'} et CO₂Bn) ; 155.7, 155.2 et 149.8 (NCO₂) ; 140.2, 139.4, 137.8, 135.4, 135.1, 131.9 et 129.4 (C_qaro, C₁₁ et C₁₂) ; 133.6, 130.2, 128.8, 128.6, 128.4, 128.1 et 126.5 (CH_{aro}) ; 124.9

(C_a) ; 118.4 (C_c) ; 101.7 (C_{1''}) ; 84.4 (C₅) ; 81.0 (C₁) ; 80.3 (Me₃C) ; 78.9 (C₄) ; 76.5 (C₂₀) ; 75.2, 75.0, 74.5, 72.7, 71.7 et 70.8 (C_{2, 7, 10, 13, 2'', 3'', 4'' et 5''}) ; 67.4 (CH₂ Bn) ; 65.7 (CH₂O) ; 57.5 (C₈) ; 54.5 (C₃) ; 46.5 (C_{2'}) ; 47.7 et 46.3 (CH₂N) ; 43.1 (C₁₅) ; 36.6 (C₆) ; 35.4 (CH₃N) ; 34.5 (C₁₄) ; 28.3 et 28.2 (Me BOC) ; 26.4 (C₁₆) ; 22.6 (CH₃ Ac₄) ; 21.0 (C₁₇) ; 14.3 (C₁₈) ; 10.1 (C₁₉).

SM (FAB⁺ MB+NaI) : m/z = 1405.8 [M+Na]⁺

SMHR : (C₆₉H₈₂O₂₆N₄Na) m/z = 1405.5115 calculé ; 1405.5145 trouvé

2'-O-[N,N'-diméthyl-β-D-glucopyranoside-uronate)-3-nitrobenzyloxycarbonyl]éthylènediamin]docetaxel 225



64mg (46 μmol) du composé benzylé nitré **229** en solution dans 4 mL d'EtOH abs en présence de 60mg de Pd/C 10% est chauffé à 40-50°C. 50 μL de cyclohexadiène (10 équ.) sont ajoutés au milieu, au bout de 2h 50 μL de diène sont de nouveau versés et la réaction est poursuivie une nuit à TA. Un troisième équivalent de diène est rajouté et au bout de 24h d'agitation supplémentaire on procède au traitement. Après simple filtration sur Célite 545, le produit est chromatographié sur silice (éluant CH₃CN-H₂O/9-1) pour fournir 43mg (53%) de la prodrogue nitro **225**.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 8.12 (d, J = 6.4 Hz, 2H, H_o Bz) ; 7.83 (m, 1H, H_a) ; 7.63-7.39 (m, 9H, H_{p et m} Bz, H_{aro} et H_b) ; 7.24 (1H, H_c) ; 6.09 (m, 1H, H₁₃) ; 5.63 (d, J = 6.4 Hz, 1H, H_{3'}) ; 5.46 (se, 1H, NH) ; 5.29 (s, 2H, H₃ et 10) ; 5.16-5.00 (m, 5H, H_{2, 5} et 1'' et CH₂O) ; 4.19 (s, 3H, H₇ et H₂₀) ; 3.82 (m, 2H, H_{2'} et 5'') ; 3.75-3.50 (m, 8H, H_{2'', 3''} et 4'' et CH₂N) ; 3.02-2.78 (m, 6H, CH₃N) ; 2.41 (m, 4H, H_{6α} et CH₃ Ac₄) ; 2.60-2.20 (m, 2H, H₁₄) ; 1.93 (s, 3H, H₁₈) ; 1.82 (m, 1H, H_{6β}) ; 1.68 (s, 3H, H₁₉) ; 1.38 (s, 9H, Me BOC) ; 1.14 (s, 3H, H₁₆) ; 1.12 (s, 3H, H₁₇).

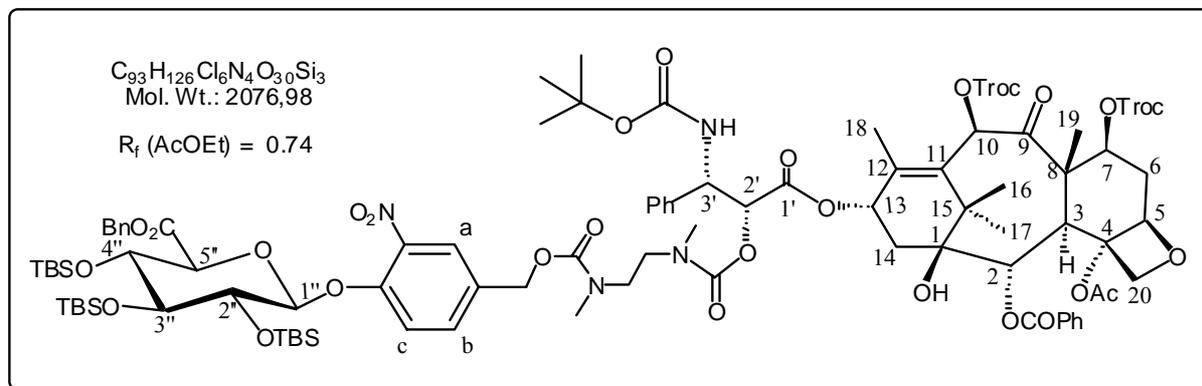
RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 211.4(C₉) ; 171.5, 171.0, 167.7 (MeC(O)C₄, φCO₂, et C_{1'}) ; 157.9, 157.1 et 151.2 (NCO₂) ; 141.7, 140.0, 139.8, 139.0, 137.7 et 130.0 (C_{qaro}, C₁₁ et C₁₂) ; 134.7 (C_b) ; 132.7, 131.4, 131.2, 129.8, 129.6 et 128.2 (CH_{aro}) ; 123.1 (C_a) ; 117.5 (C_c) ; 102.3 (C_{1''}) ; 82.2, 80.8 et 79.2 (C_{1, 4} et Me₃C) ; 77.5, 77.2, 76.6, 76.5, 75.6, 74.5, 73.4 et 73.1 (C_{2, 7, 10, 20, 3', 2'', 3'', 4''} et 5'') ; 66.9 (CH₂O) ; 58.8 (C₈) ; 56.4 (C₃) ; 49.6, 49.3 et 49.0 (CH₂N) ; 47.7

(C₂) ; 44.4 (C₁₅) ; 37.5 (C₆) ; 36.6 (CH₃N) ; 28.8 (Me BOC) ; 28.0 (C₁₆) ; 23.3 (CH₃ Ac₄) ;
21.9 (C₁₇) ; 20.5 (C₁₄) ; 14.8 (C₁₈) ; 10.5 (C₁₉).

SM (ESI) : m/z = 1291.5 [M-H]⁻

SMHR : (C₆₂H₇₆O₂₆N₄) m/z = 1291.4670 calculé ; 1291.4608 trouvé

2'-O-[N,N'-diméthyl-N'-[4-(2,3,4-tri-O-tert-butylidiméthylsilyl-β-D-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-nitrobenzyloxycarbonyl]]éthylènediamin]-7,10-ditroc-docetaxel **233**



100mg (97 μ mol) de ditroc-docetaxel **228** et 174mg de DMAP solutionnés dans 15 mL de CH_2Cl_2 sont additionnés de 131mg (1.3 eq.) du carbamoyle **218** dissous dans 1.5 mL de CH_2Cl_2 . Après 2h, le milieu est dilué par CH_2Cl_2 puis lavé à l'eau et $NaCl_{\text{sat}}$ et enfin séché sur Na_2SO_4 . Après chromatographie (éluant CH_2Cl_2 -MeOH/98-2) 187mg (93%) du produit de couplage **233** sont récupérés.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ = 8.11 (m, 2H, H_o Bz₂) ; 7.86 (m, 1H, H_a) ; 7.60 (m, 1H, H_p Bz) ; 7.52 (m, 3H, H_m Bz, et H_b) ; 7.31 (m, 10H, H_{aro}) ; 7.13 (d, J = 8.7 Hz, 1H, H_c) ; 7.04 (d, J = 10.6 Hz, 1H, NH) ; 6.34 (m, 1H, H_{13}) ; 6.26 (s, 1H, H_{10}) ; 5.70 (s, 1H, H_2) ; 5.58 (m, 2H, H_5 et $1''$) ; 5.36 (m, 2H, CH_2O) ; 5.23 (m, 1H, $H_{3'}$) ; 5.13 (s, 2H, CH_2 Bn) ; 5.00 (m, 2H, H_7 , $2'$) ; 4.89 (m, 1H) et 4.59 (m, 1H) (CH_2CCl_3) ; 4.76 (m, 2H, CH_2CCl_3) ; 4.50 (s, 1H, $H_{3''}$) ; 4.40 (s, 1H, $H_{4''}$) ; 4.33 et 4.18 (m, 1H) (H_{20}) ; 4.05 (d, J = 5.6 Hz, 1H, $H_{2''}$) ; 3.94 (m, 1H, H_3) ; 3.84 (d, J = 3.6 Hz, 1H, $H_{5''}$) ; 3.75-3.00 (m, 4H, CH_2N) ; 2.88 (m, 6H, CH_3N) ; 2.67 (m, 1H, $H_{6\alpha}$) ; 2.62 (s, 3H, CH_3 Ac₄) ; 2.43 (m, 2H, H_{14}) ; 2.09 (s, 3H, H_{18}) ; 2.05 (m, 1H, $H_{6\beta}$) ; 1.85 (s, 3H, H_{19}) ; 1.34 (s, 3H, H_{16}) ; 1.27 (s, 9H, Me BOC) ; 1.18 (s, 3H, H_{17}) ; 0.90 (m, 9H), 0.87 et 0.83 (s, 9H) ($(CH_3)_3CSi$) ; 0.16, 0.05 et 0.00 (s, 3H) et 0.11 (s, 9H) (CH_3Si).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ = 201.1 (C_9) ; 170.1, 169.1, 168.4 et 167.0 ($MeC(O)C_4$, ϕCO_2 , $C_{1'}$ et CO_2Bn) ; 156.0, 154.8, 153.3, 153.1, et 150.0 (NCO_2) ; 143.8, 140.2, 138.0, 135.2 et

129.1 (C_qaro, C₁₁ et C₁₂) ; 133.9 (C_b) ; 131.4, 130.3, 128.8, 128.6, 128.4, 127.8, 126.4 et 125.6 (CH_{aro}) ; 125.1 (C_a) ; 116.9 (C_c) ; 99.4 (C_{1''}) ; 94.2 (CCl₃) ; 83.8 (C₅) ; 80.7 (C₄) ; 80.3 (Me₃C) ; 79.6 (C₁₀) ; 79.3 (C_{3''/4''}) ; 75.8 (CH₂O) ; 75.2 (C_{3'}) ; 74.4 (C₂) ; 72.2 (C_{3''/4''}) ; 71.4 (C₄) ; 67.1 (CH₂ Bn) ; 65.8 (C_{2'}) ; 76.8 (CH₂CCl₃) ; 76.5 (C_{5''}) ; 75.2 (C₂₀) ; 74.4 (C_{2''}) ; 56.1 (C₃) ; 50.9 (C₈) ; 46.9 (m, CH₂N) ; 43.2 (C₁₅) ; 35.6 (m, CH₃N) ; 33.3 (C₆) ; 28.3 et 28.2 (Me BOC) ; 26.3 (C₁₆) ; 25.9 (2C) et 25.8 ((CH₃)₃CSi) ; 22.7 (CH₃ Ac₄) ; 22.6 (C₁₄) ; 21.3 (C₁₇) ; 18.0 (2C) et 17.9 ((CH₃)₃C_{Si}) ; 14.7 (C₁₈) ; 10.8 (C₁₉) ; -4.5, -4.6, -4.6, -4.7 -4.9 et -5.0 (CH₃Si).

SM (FAB⁺ NBA+NaI) : m/z = 2097.8 [M+Na+2]⁺ (88%), 2098.8 [M+Na+3]⁺ (88%), 2099.8 [M+Na+3]⁺ (100%)

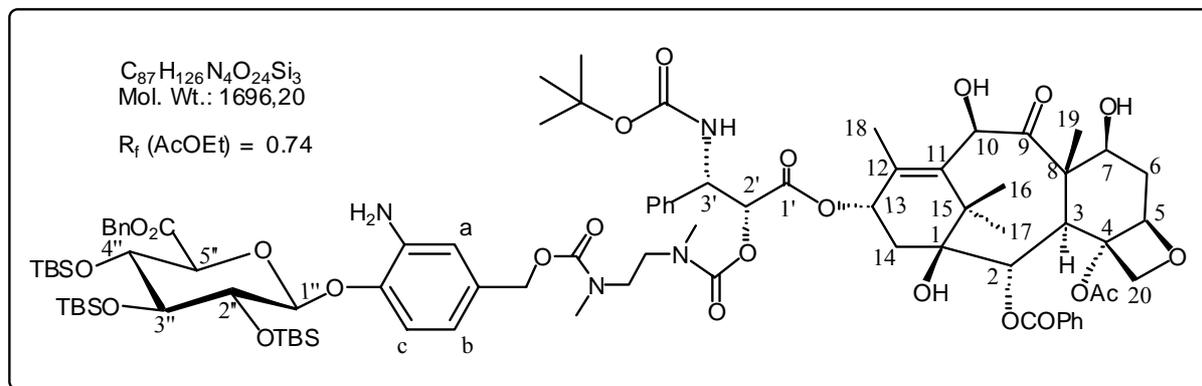
SMHR : (C₁₃₉H₁₂₆O₃₀N₄³⁵Cl₆Si₃Na) m/z = 2095.5794 calculé ; 2095.5823 trouvé (32%)

(C₁₃₉H₁₂₆O₃₀N₄³⁵Cl₅³⁷ClSi₃Na) m/z = 2097.5764 calculé ; 2097.5806 trouvé (77%)

(C₁₃₉H₁₂₆O₃₀N₄³⁵Cl₄³⁷Cl₂Si₃Na) m/z = 2099.5837 calculé ; 2099.5734 trouvé (100%)

(C₁₃₉H₁₂₆O₃₀N₄³⁵Cl₃³⁷Cl₃Si₃Na) m/z = 2101.5702 calculé ; 2101.5823 trouvé (67%)

2'-O-[N,N'-diméthyl-N'-[4-(2,3,4-tri-O-tert-butylidiméthylsilyl-β-D-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-aminobenzoyloxycarbonyl]]éthylènediamin]-docetaxel **234**



Le produit **233** (187mg, 0.09 mmol) dissous dans 20 mL d'AcOEt est soumise à une vive agitation en présence d'un très large excès de zinc (environ 250mg) et 2 mL d'AcOH. Après chauffage à 45°C pendant 4h, le milieu réactionnel est filtré sur fritté puis quenché à l'eau et extrait par 2x30 mL d'AcOEt. Les phases organiques sont lavées à l'eau et par NaCl sat puis séchées sur Na₂SO₄. Une chromatographie avec l'AcOEt comme éluant permet d'obtenir 85mg (56%) du composé aminé **234**.

ANALYSES :

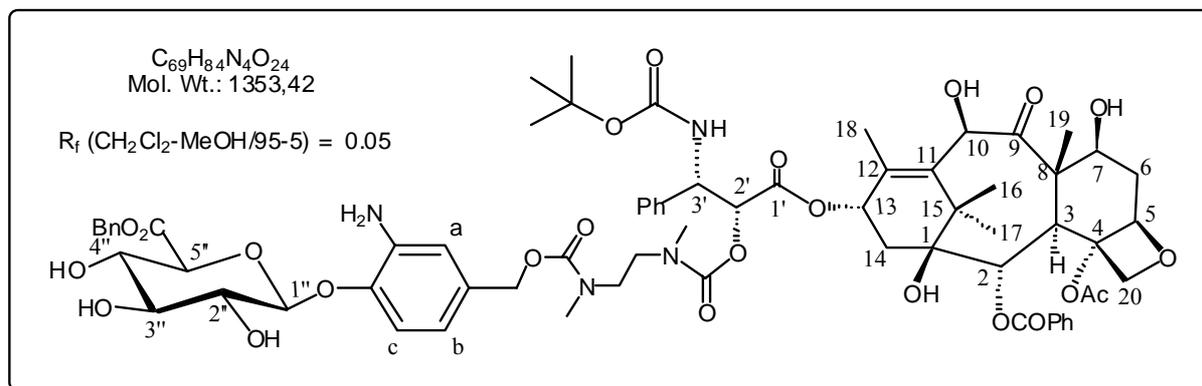
RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 8.11 (m, 2H, H_o Bz₂) ; 7.52 (m, 1H, H_p Bz₂) ; 7.48 (m, 2H, H_m Bz) ; 7.31 (m, 11H, H_{aro} et NH) ; 6.82-6.70 (m, 3H, H_{a, b} et c) ; 6.30 (m, 2H, H₁₃) ; 5.67 (m, 2H, H₂ et 10) ; 5.47 (m, 1H, H_{1''}) ; 5.24 (m, 1H, H_{3'}) ; 5.12 (s, 2H, CH₂ Bn) ; 4.98 (m, 1H, H₅) ; 4.80 (m, 2H, CH₂O) ; 4.44 (m, 1H, H_{3''}) ; 4.29-4.13 (m, 5H, H_{7, 20, 2'} et 4'') ; 3.96 (m, 2H, H₃ et 2'') ; 3.84 (m, 1H, H_{5''}) ; 3.60-3.00 (m, 4H, CH₂N) ; 2.88-2.80 (m, 6H, CH₃N) ; 2.58 (m, 1H, H_{6α}) ; 2.54 (s, 3H, CH₃ Ac₄) ; 2.44 (m, 2H, H₁₄) ; 1.97 (s, 3H, H₁₈) ; 1.85 (m, 1H, H_{6β}) ; 1.74 (s, 3H, H₁₉) ; 1.31 (s, 3H, H₁₆) ; 1.25 (s, 9H, Me BOC) ; 1.11 (s, 3H, H₁₇) ; 0.88 (s, 18H) et 0.82 (s, 9H) ((CH₃)₃CSi) ; 0.15 et 0.11 (s, 3H) et 0.09 et 0.05 (s, 6H) (CH₃Si).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 211.6 (C₉) ; 171.2, 169.9, 168.8 et 167.1 (MeC(O)C₄, φCO₂, C_{1'} et CO₂Bn) ; 156.4, 155.9, 155.2 et 154.9 (NCO₂) ; 144.5, 139.4, 138.5, 138.2, 135.3, 131.5 et 129.4 (C_{qaro}, C₁₁ et C₁₂) ; 133.5, 130.2, 128.7, 128.5, 128.3, 128.3, 127.6 et 126.4

(CH_{aro}) ; 118.4, 116.0 et 115.9 (C_{a, b et c}) ; 100.3 (C_{1''}) ; 84.4 (C₅) ; 81.0 (C₄) ; 80.0 (C₁) ; 79.2 (C_{3''}) ; 76.6 (C₂₀) ; 76.5 et 75.4 (C_{2'' et 4''}) ; 76.1 (C₁₀) ; 74.9 (C₂) ; 74.5 (C_{3'}) ; 72.5 (C_{7 et 2'}) ; 71.7 (C₁₃) ; 67.9 (CH₂ Bn) ; 67 ; 4 (C_{5'''}) ; 66.9 (CH₂O) ; 57.6 (C₈) ; 47.7 et 46.4 (CH₂N) ; 43.2 (C₁₅) ; 46.5 (C₃) ; 43.1 (C₁₅) ; 35.5 (CH₃N) ; 29.7 (C₆) ; 28.2 (Me BOC) ; 25.9 (2C) et 25.8 ((CH₃)₃CSi) ; 25.6 (C₁₄) ; 22.7 (CH₃ Ac₄) ; 21.0 (C₁₇) ; 18.0, 18.0 et 17.9 ((CH₃)₃CSi) ; 14.3 (C₁₈) ; 11.5 (C₁₉) ; -4.1, -4.6, -4.6, -4.7 -4.8 et -5.0 (CH₃Si).

SM (FAB⁺ NBA+NaI) : m/z = 1718.5 (100%) [M+Na+1]⁺ ; 1717.5 (100%) [M+Na]⁺

2'-O-[N,N'-diméthyl-N'-[4-(β-D-glucopyranoside uronate de benzyl)-3-aminobenzoyloxycarbonyl]]éthylènediamin]-docetaxel **235**



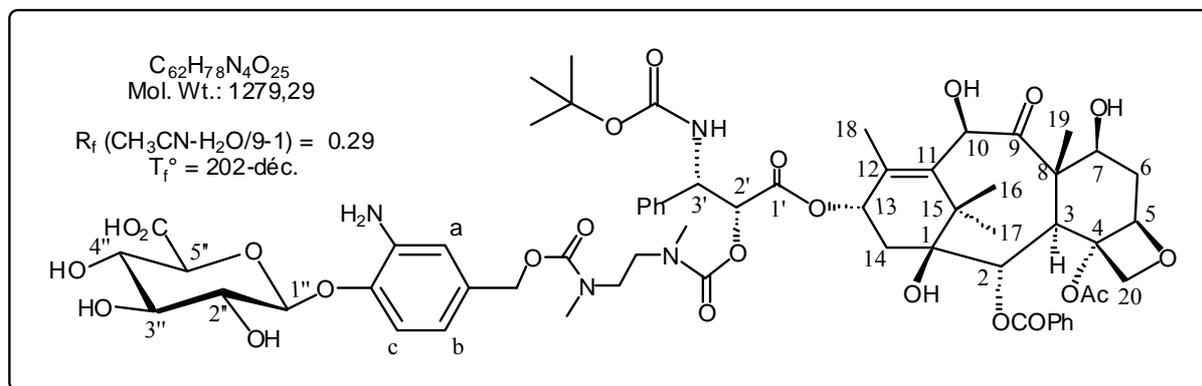
110mg (0.80 mmol) de l'amine **234** dissous dans 5 mL de CH_3CN anhydre et 0.5 mL de pyridine, refroidis à $0^\circ C$, sont additionnés goutte à goutte de 1 mL de complexe HF-Pyridine. On laisse remonter en température et l'agitation est poursuivie 48h. la réaction n'arrive pas à complétion, des produits de polarité intermédiaire ayant subi des désilylations partielles sont isolés et caractérisés par masse.

L'ensemble des produits est repris, dissous dans 5 mL de THF anh (TM 4Å) puis additionné de 0.1 mL (1.5 éq.) de TEAx3HF. Au bout de 4h, après ajout de TEA, le milieu est concentré et chromatographié (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/95-5$ Π 9-1) permettant d'isoler 22mg (20%) du composé désilylé **235**. Les problèmes rencontrés lors de la mise en réaction et de purification du produit final ne permettent pas de présenter une caractérisation complète de **235** ; seule l'analyse de spectroscopie de masse est présentée.

ANALYSE :

SM (FAB⁺ MB) : $m/z = 1353.9 [M+1]^+$

2'-O-[N,N'-diméthyl-N'-(4-β-D-glucopyranoside uronate)-3-aminobenzoyloxycarbonyl]éthylènediamin]-docetaxel **226**



Méthode ❶ : 18mg (13 μ mol) du composé benzylé **235** sont dissous dans 5 mL d'éthanol absolu en présence de 60mg de Pd/C 10% puis agité 24h sous atmosphère d'hydrogène (1 bar de pression). Après filtration sur Célite 545 et concentration du filtrat, le composé est chromatographié (éluant CH₃CN-H₂O/9-1) pour fournir 11mg (67%) de la prodrogue **226**.

Méthode ❷ : 35mg (25 μ mol) de produit nitrobenzylé **229** sont mis en suspension dans 5 mL d'EtOH abs avec 60mg Pd/C 10% puis agité 4h sous atmosphère d'hydrogène (1 bar de pression). Après filtration sur Célite 545 et concentration du filtrat, le composé est chromatographié (éluant CH₃CN-H₂O/9-1) pour fournir 32mg (quant.) de la prodrogue **226**.

Les deux quantités préparées de **226** sont réunies et lyophilisées.

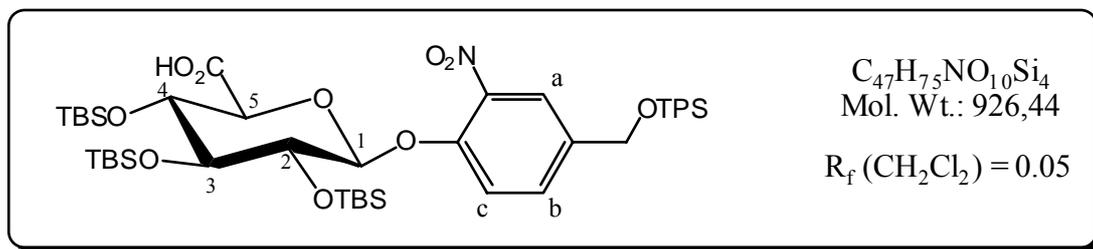
ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 8.12 (m, 2H, H_o Bz₂) ; 7.64 (m, 1H, H_p Bz₂) ; 7.57 (m, 2H, H_m Bz) ; 7.38 (m, 4H, H_{aro}) ; 7 ; 10 (m, 1H, H_{aro}) ; 6.99-6.64 (m, 3H, H_{a, b et c}) ; 6.09 (m, 2H, H₁₃) ; 5.64 (m, 1H, H₂) ; 5.44 (m, 2H, H_{10 et 3'}) ; 5.12 (m, 1H, H₅) ; 5.01 (m, 2H, CH₂O) ; 4.65 (m, 1H, H_{1''}) ; 4.19 (m, 3H, H_{7 et 20}) ; 3.88 (m, 2H, H₃) ; 3.72 (m, 1H, H_{2'}) ; 3.50 (m, 4H, H_{2'', 3'', 4'' et 5''}) ; 3.39-3.01 (m, 4H, CH₂N) ; 2.86 (m, 6H, CH₃N) ; 2.44 (m, 1H, H_{6 α}) ; 2.40 (s, 3H, CH₃ Ac₄) ; 2.18 (m, 1H, H_{14 α}) ; 2.05 (m, 1H, H_{14 β}) ; 1.93 (s, 3H, H₁₈) ; 1.86 (m, 1H, H_{6 β}) ; 1.68 (s, 3H, H₁₉) ; 1.39 (s, 9H, Me BOC) ; 1.15 (s, 3H, H₁₆) ; 1.12 (s, 3H, H₁₇).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ = 211.3 (C_9) ; 171.5, 170.3 et 167.8 (MeC(O)C_4 , ϕCO_2 et $\text{C}_{1'}$) ; 157.8 (m, NCO_2) ; 146.8, 145.0, 139.9, 139.6, 137.7 et 135.0 (C_{qaro} , C_{11} et C_{12}) ; 134.5, 131.4, 131.2, 129.9, 129.7, 129.3, 128.3 et 127.9 (CH_{aro}) ; 118.8, 118.2 et 113.9 ($\text{C}_{\text{a, b et c}}$) ; 104.6 ($\text{C}_{1''}$) ; 86.0 (C_5) ; 82.2 (C_4) ; 80.8 (C_1) ; 79.2 (C_{20}) ; 77.6, 77.5, 74.7 et 73.4 ($\text{C}_{2''}$, $3''$, $4''$ et $5''$) ; 76.5 (C_2) ; 75.6 (C_{10}) ; 73.0 (C_{13}) ; 72.6 (C_7) ; 68.9 ($\text{C}_{2'}$) ; 68.4 (CH_2O) ; 58.8 (C_8) ; 56.4 ($\text{C}_{3'}$) ; 47.9 (C_3) ; 44.5 (C_{15}) ; 46.5 (C_3) ; 43.1 (C_{15}) ; 39.7 (m, CH_2N) ; 37.5 (C_6) ; 35.3 (CH_3N) ; 28.7 (Me BOC) ; 23.3 (CH_3 Ac₄) ; 22.1 (C_{14}) ; 21.7 (C_{17}) ; 14.8 (C_{18}) ; 10.5 (C_{19}).

SMHR (ESI^+) : ($\text{C}_{139}\text{H}_{126}\text{O}_{30}\text{N}_4$) m/z = 1263.5096 calculé ; 1263.5084 trouvé

Acide [(2-Nitro-4-(*O*-*tert*-butyldiphénylsilylméthyl)phényl)-2,3,4-tri-(*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl)]-β-D-glucopyranoside uronique 255



114mg (0.112 mmol) de l'ester benzyle **194** et 108mg de Pd/C 10% sont suspendus dans 5 mL d'EtOH absolu et le milieu porté à 45°C. 0.106 mL de cyclohexadiène (10 équ.) sont alors ajoutés en une seule fois. Au bout d'une heure et demie le milieu est filtré sur Célite 545. Après évaporation, 85 mg (82%) d'une huile jaune correspondant à l'acide libre sont recueillis.

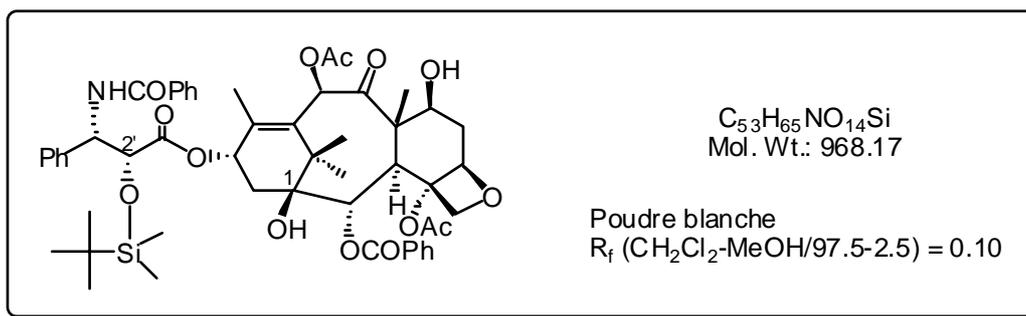
ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : $\delta = 7.79$ (s, 1H, H_a) ; 7.67 (m, 4H, H_o ϕ_2 Si) ; 7.49 (m, 1H, H_b) ; 7.41 (m, 6H, H_{m,p} ϕ_2 Si) ; 7.03 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H_c) ; 5.69 (d, J = 6.5 Hz, 1H, H₁) ; 4.73 (s, 2H, CH₂O) ; 4.45 (s, 1H, H₃) ; 4.36 (m, 1H, H₄) ; 4.00 (d, J = 6.4 Hz, 1H, H₂) ; 3.86 (d, J = 3.5 Hz, 1H, H₅) ; 3.71 (se, 1H, CO₂H) ; 1.11 (s, 9H, (CH₃)₃CSi ϕ_2) ; 0.94, 0.86 et 0.83 (s, 9H) (CH₃)₃CSiMe₂) ; 0.21, 0.16, 0.15, 0.11, 0.08 et 0.01 (s, 3H) (CH₃Si).

RMN ¹³C (CDCl₃) : $\delta = 170.4$ (CO₂) ; 148.5, 140.4, 135.8 et 131.7 (C_qaro) ; 135.6 (CH_{o/m} ϕ_2 Si) ; 132.9 (C_b) ; 130.0 (CH_p ϕ_2 Si) ; 127.9 (CH_{o/m} ϕ_2 Si) ; 123.3 (C_a) ; 116.0 (C_c) ; 99.6 (C₁) ; 80.0 (C₃) ; 77.1 (C₅) ; 76.5 (C₂) ; 72.5 (C₄) ; 58.4 (CH₂OSi) ; 26.9 ((CH₃)₃CSi ϕ_2) ; 25.9, 25.8 et 25.8 ((CH₃)₃CSiMe₂) ; 19.3 (Me₃C ϕ_2 Si) ; 18.1, 18.0 et 18.0 ((CH₃)₃C ϕ_2 SiMe₂) ; -4.6, -4.7, -4.8, -4.9(2C) et -5.0 (CH₃Si).

SM (FAB⁺ NBA+NaI) : m/z = 970.5 [M-H+2Na]⁺ (40%), 948.5 [M+Na]⁺ (100%)

SMHR (FAB⁺ NBA+NaI) : (C₄₇H₇₅O₁₀NSi₄Na) m/z = 948.4366 calculé ; 948.4377 trouvé

2'-O-tert-Butyldiméthylsilylpaclitaxel 243

Méthode ❶ : 20mg (23.4 μ mol) de paclitaxel **1** sont dissous dans 3 mL de CH_2Cl_2 fraîchement distillé, avec 2-3 gouttes de pyridine distillée, le tout soigneusement mis sous atmosphère d'argon. 5 μ L de TBSTf sont ajoutés. Au bout d'une heure le milieu est concentré et le composé purifié sur colonne de gel de silice (éluant CH_2Cl_2 -MeOH/97.5-2.5). 13mg (67%) du produit **243** sont obtenus.

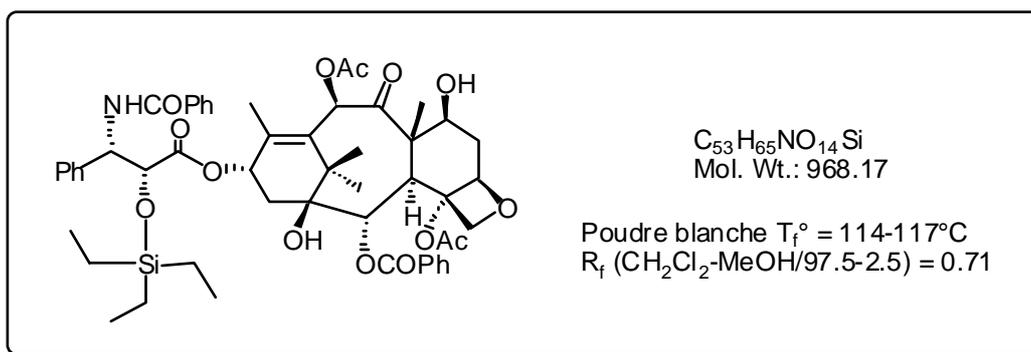
Méthode ❷ : 20mg (23.4 μ mol) de paclitaxel **1** sont dissous dans 3 mL de CH_2Cl_2 fraîchement distillé, en présence de 8mg d'imidazole (50 éq.) et de 17mg (50 éq.) de TBSCl. Le milieu est légèrement chauffé (40°C) pendant 2 heures et la réaction se poursuit une nuit. On procède à la même purification que précédemment pour un rendement de 75% en produit silylé **243**.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : δ = 8.15 (d, J = 7.0 Hz, 2H, $H_O \phi CO_2$) ; 7.75 (d, J = 7.1 Hz, 2H, $H_O \phi CONH$) ; 7.61-7.26 (m, 11H, H_{aro}) ; 7.07 (d, J = 9.1 Hz, NH) ; 6.30 (s, 1H, H_{10}) ; 6.27 (t, J = 9.1 Hz, 1H, H_{13}) ; 5.74 (dd, J = 1.5 et 9.0 Hz, 1H, $H_{3'}$) ; 5.69 (d, J = 7.1 Hz, 1H, H_2) ; 4.98 (d, J = 7.9 Hz, 1H, H_5) ; 4.67 (d, J = 2.1 Hz, 1H, $H_{2'}$) ; 4.42 (dd, J = 6.5 et 10.9 Hz, 1H, H_7) ; 4.33 (d, J = 8.4 Hz, 1H, $H_{20\alpha}$) ; 4.23 (d, J = 8.4 Hz, 1H, $H_{20\beta}$) ; 3.83 (d, J = 6.9 Hz, 1H, H_3) ; 2.57 (s, 3H, CH_3 Ac₄) ; 2.41 (dd, J = 9.5 et 15.4 Hz, 1H, $H_{6\alpha}$) ; 2.35 (t, J = 9.6 Hz, $C_{14}H_2$) ; 2.22 (s, 3H, CH_3 Ac₁₀) ; 1.91 (s, 3H, $C_{18}H_3$) ; 1.87 (d, J = 11.1 Hz, 1H, $H_{6\beta}$) ; 1.69 (s, 3H, $C_{19}H_3$) ; 1.24 (s, 3H, $C_{16}H_3$) ; 1.14 (s, 3H, $C_{17}H_3$) ; 0.80 (s, 9H, $(CH_3)_3CSi$) ; -0.04 et -0.28 (s, 3H, CH_3Si).

RMN ^{13}C (CDCl_3) : δ = 203.7 (C_{13}) ; 171.4 ($\text{C}_{1'}$) ; 171.3 ($\text{MeC}(\text{O})\text{C}_{10}$) ; 170.1 ($\text{MeC}(\text{O})\text{C}_4$) ; 167.0 ($\phi\text{C}(\text{O})\text{N}$) ; 166.9 (ϕCO_2) ; 142.5 (C_{12}) ; 138.2, 134.0, 132.9 et 129.1 (3 C_{qaro} et C_{11}) ; 133.7, 131.8, 130.2, 128.7 (3C), 128.0, 127.0 et 126.4 (9 CH_{aro}) ; 84.4 (C_5) ; 81.1 (C_4) ; 79.2 (C_1) ; 77.2 (C_{20}) ; 75.5 (C_{10}) ; 75.2 ($\text{C}_{2'}$) ; 75.1 (C_2) ; 72.1 (C_{13}) ; 71.4 (C_7) ; 58.5 (C_8) ; 55.6 ($\text{C}_{3'}$) ; 45.5 (C_3) ; 43.2 (C_{15}) ; 35.8 (C_{14}) ; 35.5 (C_6) ; 26.8 (C_{16}) ; 25.6, 25.5 et 25.3 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$) ; 23.0 ($\text{CH}_3 \text{Ac}_4$) ; 22.3 (C_{17}) ; 20.8 ($\text{CH}_3 \text{Ac}_{10}$) ; 18.1 ($(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$) ; 14.9 (C_{18}) ; 9.6 (C_{19}) ; -3.6, -5.3 et -5.8 (CH_3Si).

SM ($\text{DCI}^+ + \text{NH}_3$) : m/z = 985.6 [$\text{M} + \text{NH}_4$] $^+$; 871.7 [$\text{Paclitaxel} + \text{NH}_4$] $^+$; 854.5 [Paclitaxel] $^+$; 586.4 [Baccatine] $^+$; 526.4 [$\text{Décacétylbaccatine}$] $^+$; 286.3 [$\text{Chaîne latérale} + \text{H}$] $^+$.

2'-O-Triéthylsilylpaclitaxel 244

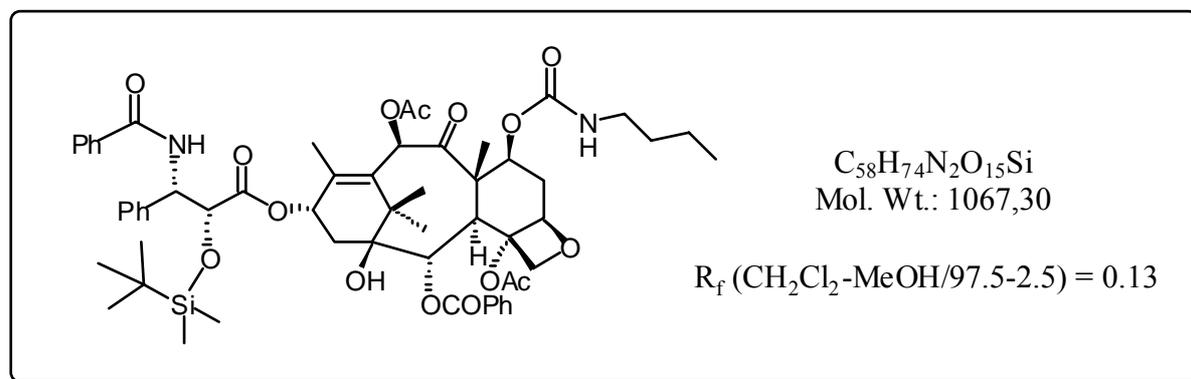
20mg (23.4 μ mol) de paclitaxel **1** sont dissous dans 3 mL de CH_2Cl_2 fraîchement distillé, en présence d'imidazole (17.5mg, 11 éq.), le tout bien dégazé à l'argon. Le TESCl (5.7 μ L, 1.6 éq.) est additionné lentement au moyen d'une seringue, à TA. Le mélange est agité vivement pendant 4 heures qui comprennent 2 heures de chauffage à $45^\circ C$. La solution est diluée par 5 mL de CH_2Cl_2 , quenchée par 5 mL d'eau; la phase organique est séchée sur $MgSO_4$, concentrée sous vide. Le produit est purifié sur colonne de gel de silice (éluant $CH_2Cl_2-MeOH/97.5-2.5$). 17.8mg (80%) du composé **244** silylé en 2' sont récupérés.

ANALYSES :

RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 8.12$ (d, $J = 7$ Hz, 2H, $H_O \phi CO_2$) ; 7.73 (d, $J = 7.0$ Hz, 2H, $H_O \phi CONH$) ; $7.59-7.31$ (m, 11H, H_{aro}) ; 7.12 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, NH) ; 6.45 (s, 1H, H_{10}) ; 6.22 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H, H_{13}) ; 5.71 (m, 2H, H_2 et $H_{3'}$) ; 4.95 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H, H_5) ; 4.70 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H_2) ; 4.47 (dd, $J = 6.5$ et 10.3 Hz, 1H, H_7) ; 4.32 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H, $H_{20\alpha}$) ; 4.22 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, $H_{20\beta}$) ; 3.83 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H, H_3) ; 2.53 (s, 3H, CH_3 Ac_4) ; 2.37 (dd, $J = 9.4$ et 15.5 Hz, 1H, $H_{6\alpha}$) ; 2.19 (s, 3H, CH_3 Ac_{10}) ; 2.01 (m, 2H, $C_{14}H_2$) ; 1.90 (m, 1H, $H_{6\beta}$) ; 1.85 (s, 3H, $C_{18}H_3$) ; 1.70 (s, 3H, $C_{19}H_3$) ; 1.22 (s, 3H, $C_{16}H_3$) ; 1.18 (s, 3H, $C_{17}H_3$) ; 0.81 (t, $J = 8.0$ Hz, 9H, CH_3CH_2Si) ; 0.45 (p, $J = 8.1$ Hz, 6H, CH_3CH_2Si).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 201.7$ (C_9) ; 171.6 , 170.0 , 169.3 , 167.0 et 167.0 ($MeC(O)C_4$, $MeC(O)C_{10}$, ϕCO_2 , $\phi C(O)N_{3'}$ et $C_{1'}$) ; 140.1 (C_{12}) ; 138.4 , 134.0 , 133.5 , et 129.2 (3 C_{qaro} et C_{11}) ; 133.7 , 131.7 , 130.2 , 128.3 (3C), 127.9 , 127.0 et 126.4 (9 CH_{aro}) ; 84.2 (C_5) ; 81.1 (C_4) ; 78.8 (C_1) ; 77.2 (C_{20}) ; 75.6 (C_{10}) ; 74.9 ($C_{2'}$) ; 74.8 (C_2) ; 72.2 (C_{13}) ; 71.5 (C_7) ;

58.4 (C₈) ; 55.7 (C_{3'}) ; 46.6 (C₃) ; 43.3 (C₁₅) ; 37.2 (C₁₄) ; 35.5 (C₆) ; 26.5 (C₁₆) ; 23.0 (CH₃ Ac₄) ; 21.5 (C₁₇) ; 20.8 (CH₃ Ac₁₀) ; 14.1 (C₁₈) ; 10.1 (C₁₉) ; 6.7, 6.5 et 6.5 (CH₃CH₂Si) ; 5.7, 5.3 et 4.3 (CH₃CH₂Si).

2'-O-tert-Butyldiméthylsilyl-7-O-carbonyl-(N-butylamino)paclitaxel**252**

20mg (21 μ mol) de **243** dissous dans 5 mL de CH₂Cl₂ en présence de 0.1 mL de pyridine sont refroidis à 0°C sous atmosphère d'argon. 12 μ L de diphosgène **250** sont ensuite ajoutés et le milieu réactionnel agité 1h jusqu'à remontée de température ; un large excès de *n*-butylamine est alors additionné. Après chromatographie (éluant CH₂Cl₂-MeOH/97.5-2.5), 5mg (24%) du carbamate **252** sont isolés.

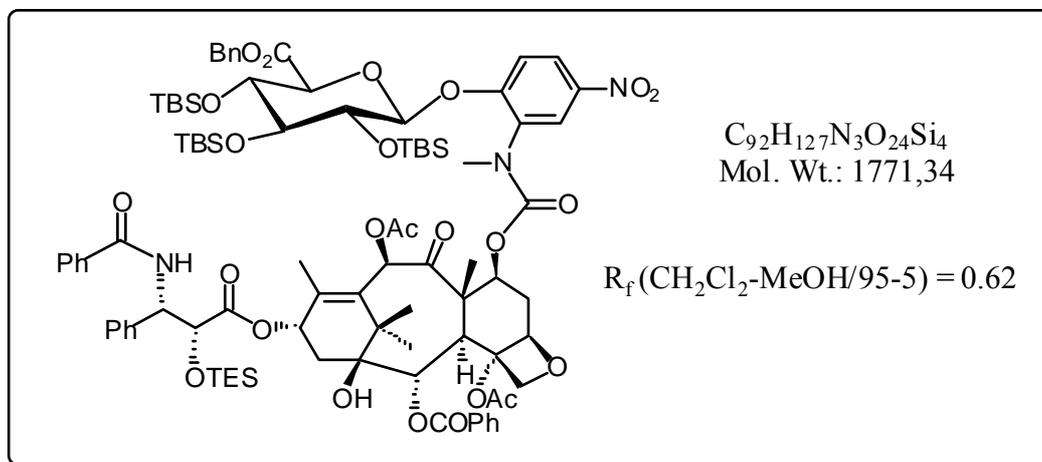
ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 8.15 (m, 2H, H_o Bz₂) ; 7.76 (m, 2H, H_o N₃CO ϕ) ; 7.63-7.33 (m, 11H, H_{aro}) ; 7.11 (d, J = 8.8 Hz, 1H, NH) ; 6.45 (s, 1H, H₁₀) ; 6.27 (m, 1H, H₁₃) ; 5.72 (m, 1H, H₂) ; 5.51 (d, J = 6.8 Hz, 1H, H_{3'}) ; 5.00 (d, J = 8.4 Hz, 1H, H₅) ; 4.69 (d, J = 1.9 Hz, 1H, H_{2'}) ; 4.62 (m, 1H, H₇) ; 4.28 (ABq, J = 8.5 et 8.3 Hz, 2H, H₂₀) ; 3.99 (d, J = 6.8 Hz, 1H, H₃) ; 3.27 (m, 2H, CH₂NH) ; 2.43 (s, 3H, CH₃ Ac₄) ; 2.17 (m, 1H, H_{6 α}) ; 2.16 (s, 3H, CH₃ Ac₁₀) ; 2.05 (s, 2H, CH₂CH₂NH) ; 1.90 (m, 1H, H_{6 β}) ; 1.80 (s, 3H, H₁₈) ; 1.61 (s, 3H, H₁₉) ; 1.30 (m, 2H, H₁₄) ; 1.22 (s, 3H, H₁₆) ; 1.19 (s, 3H, H₁₇) ; 0.94 (m, 5H, CH₂CH₃) ; 0.81 (s, 9H, Me₃CSi) ; -0.00 et -0.30 (s, 3H) (MeSi).

SM (FAB⁺ MB) : m/z = 1067.5 [M+H]⁺

SM (FAB⁺ NBA+NaI) : m/z = 1089.4 [M+Na]⁺

2'-Triéthylsilyl-7-O-Carbonyl-[N-méthylamino-[2-(2,3,4-tri-O-tert-butylidiméthylsilyl)- β -D-glucopyranoside uronate de benzyl]]-5-nitrophényl]paclitaxel **253**



30mg (36 mmol) de 2'-triéthylsilylpaclitaxel **244** et 10mg de DMAP sont dissous dans 10 mL de CH_2Cl_2 fraîchement distillé, dégazé à l'argon puis additionnés de 60mg (2 éq.) de **240** et de 15g (2 éq.) de DCC. Le tout est porté à reflux durant une nuit. Après chromatographie (éluant CH_2Cl_2 -MeOH/1-0 Π 97.5-2.5), 12mg (22%) du produit de couplage **253** sont récupérés.

ANALYSES :

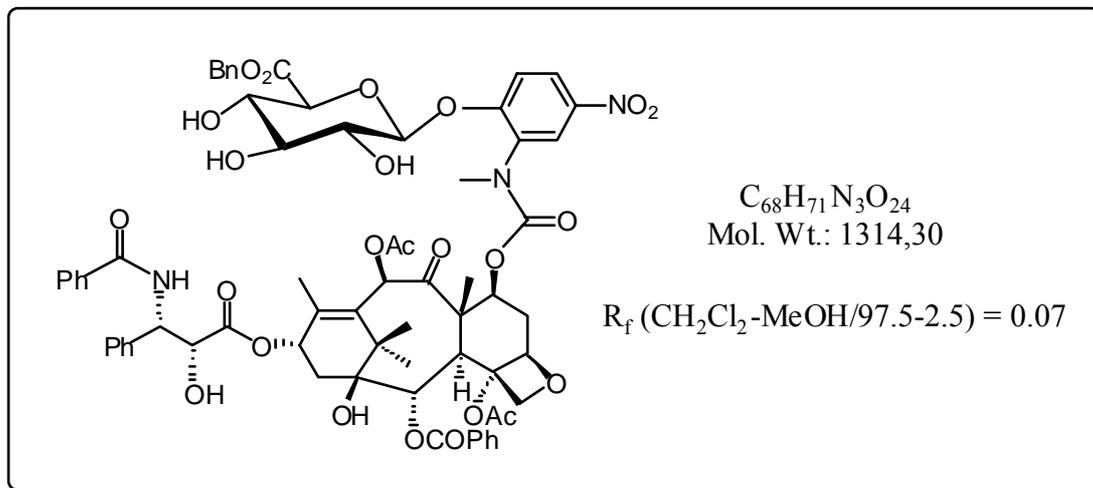
RMN 1H ($CDCl_3$) : $\delta = 8.13$ (d, $J = 7.1$ Hz, 2H, H_o Bz₂) ; 7.75 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H, H_o N₃·CO ϕ) ; 7.54 - 7.28 (m, 19H, H_{aro}) ; 7.12 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, NH) ; 6.45 (s, 1H, H_{10}) ; 6.26 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, H_{13}) ; 5.70 (m, 3H, H_2 , $3'$ et $1''$) ; 5.14 (m, 2H, CH_2 Bn) ; 4.95 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, H_5) ; 4.70 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H, H_2') ; 4.50 (m, 1H, H_7) ; 4.27 (ABq, $J = 8.5$ et 7.9 Hz, 2H, H_{20}) ; 4.11 (m, 3H, $H_{3''}$, $4''$ et $5''$) ; 3.84 (m, 2H, H_3 et $2''$) ; 3.47 (m, 3H, CH_3N) ; 2.54 (s, 3H, CH_3 Ac₄) ; 2.52 (m, 1H, $H_{6\alpha}$) ; 2.42 (dd, $J = 15.2$ et 9.5 Hz, 1H, $H_{14\alpha}$) ; 2.17 (s, 3H, CH_3 Ac₁₀) ; 2.10 (m, 1H, $H_{14\beta}$) ; 1.90 (s, 3H, H_{18}) ; 1.81 (m, 1H, $H_{6\beta}$) ; 1.70 (s, 3H, H_{19}) ; 1.22 (s, 3H, H_{16}) ; 1.18 (s, 3H, H_{17}) ; 0.98 - 0.80 (m, 27H, Me_3CSi) ; 0.81 (t, $J = 8.0$ Hz, 9H, CH_3CH_2Si) ; 0.47 (m, 6H, CH_3CH_2Si) ; 0.13 (m, 18H, MeSi).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : $\delta = 201.8$ (C₉) ; 171.7 , 170.2 , 169.4 , 167.2 et 167.1 (MeC(O)C₄, MeC(O)C₁₀, ϕ CO₂, ϕ C(O)N₃ et C_{1'}) ; 160.6 (CO₂Bn) ; 156.8 (NCO₂) ; 151.3 , 145.9 , 140.3

(C₁₂), 140.0, 138.5 et 134.2 (C_q) ; 133.8, 133.7, 131.9, 130.3, 129.3, 128.8 (2C), 128.6, 128.5, 128.4, 128.1, 127.1, 126.6, 124.1 et 122.7 (CH_{aro}) ; 99.0 (C_{1''}) ; 84.3 (C₅) ; 81.3 (C₄) ; 78.9 (C₁) ; 77.3, 77.2, 77.0 et 76.1 (C_{2''}, 3'', 4'' et 5'') ; 76.7 (C₂₀) ; 75.1, 75.0 et 74.9 (C_{2, 10 et 2'}) ; 72.3 (C₇) ; 71.6 (C₁₃) ; 67.9 (m, CH₂Bn) ; 58.5 (C₈) ; 55.8 (C_{3'}) ; 47.4 et 46.1 (CH₂N) ; 46.8 (C₃) ; 43.4 (C₁₅) ; 38.8 (CH₃N) ; 37.3 (C₁₄) ; 35.6 (C₆) ; 29.0 (C₁₆) ; 25.8 et 25.7 (2C) ((CH₃)₃CSi) ; 23.2 (CH₃ Ac₄) ; 21.0 (C₁₇) ; 18.0 (CH₃ Ac₁₀) ; 18.0 (2C) et 18.0 ((CH₃)₃CSi) ; 14.3 (C₁₈) ; 10.2 (C₁₉) ; 6.8 et 6.6 (CH₃CH₂Si) ; 5.4 et 4.5 (CH₃CH₂Si) ; -4.7 et -4.9 (m, CH₃Si).

SM (FAB⁺ NBA+NaI) : m/z = 1792.9 (91%) [M+Na]⁺; 1793.9 (100%) [M+Na+1]⁺

7-O-Carbonyl-[N-méthylamino-(2-β-D-glucopyranoside uronate de benzyl)-5-nitrophényl]paclitaxel **254**



50mg (28.3 μ mol) de **253** dissous dans 2 mL de pyridine anhydre sont refroidis à 0°C et mis sous atmosphère d'argon. 1 mL (large excès) de complexe HF-Pyridine est alors ajoutée précautionneusement goutte à goutte. Après 3h d'agitation à cette température puis 15h à l'ambiante, le milieu réactionnel est concentré et purifié (éluant CH_2Cl_2 -MeOH/97.5-2.5) pour donner 16mg (55%) du composé désilylé **254**.

ANALYSES :

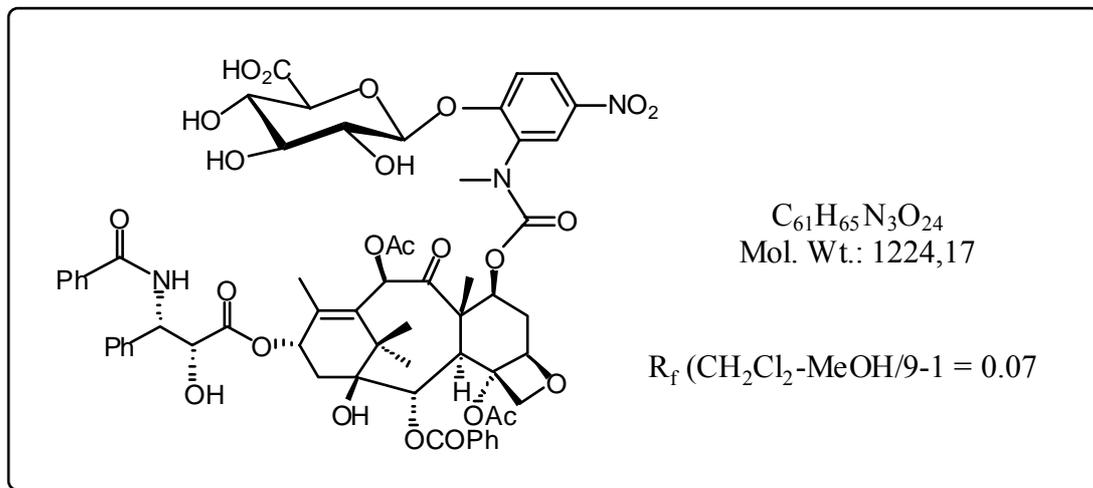
RMN 1H ($CDCl_3$) : δ = 8.15 (m, 2H, H_o Bz₂) ; 7.89 (m, 1H, H_a) ; 7.75 (m, 2H, H_o N₃·CO ϕ) ; 7.70-7.28 (m, 18H, H_{aro}) ; 7.13 (d, J = 8.9 Hz, 1H, NH) ; 6.29 (s, 1H, H_{10}) ; 6.25 (m, 1H, H_{13}) ; 5.81 (dd, J = 9.0 et 2.4 Hz, 1H, $H_{3'}$) ; 5.69 (d, J = 7.1 Hz, 1H, H_2) ; 5.28 (m, 1H, $H_{1''}$) ; 5.01 (s, 2H, CH₂ Bn) ; 4.97 (d, J = 7.8 Hz, 1H, H_5) ; 4.81 (d, J = 2.6 Hz, 1H, $H_{2'}$) ; 4.40 (dd, J = 10.8 et 6.6 Hz, 1H, H_7) ; 4.33 (m, 1H, $H_{4''}$) ; 4.25 (ABq, J = 8.5 Hz, 2H, H_{20}) ; 4.13 (m, 1H, $H_{2''}$) ; 3.81 (d, J = 6.9 Hz, 1H, H_3) ; 3.72 et 3.48 (m, 1H) ($H_{3''}$ et $5''$) ; 3.30 (s, 3H, CH₃N) ; 2.60 (m, 1H, $H_{6\alpha}$) ; 2.40 (s, 3H, CH₃ Ac₄) ; 2.19 (s, 3H, CH₃ Ac₁₀) ; 1.95 (m, 1H, $H_{14\alpha}$) ; 1.91 (m, 1H, $H_{6\beta}$) ; 1.82 (s, 3H, H_{18}) ; 1.70 (s, 3H, H_{19}) ; 1.26 (s, 3H, H_{16}) ; 1.20 (m, 1H, $H_{14\beta}$) ; 1.16 (s, 3H, H_{17}).

RMN ^{13}C ($CDCl_3$) : δ = 203.8 (C_9) ; 172.9, 171.4, 170.5, 169.1, 167.3 et 167.1 (MeC(O) C_4 , MeC(O) C_{10} , ϕ C(O)₂, ϕ C(O)N₃, $C_{1'}$, et CO₂Bn) ; 152.3 (NCO₂) ; 149.7, 142.1,

138.1, 136.2, 136.0, 134.6, 133.8, 133.7, 133.2, 132.1, 131.0, 130.3, 129.9, 129.3, 129.1 (2C), 128.8, 128.8, 128.6, 128.4, 127.7, 127.2 et 127.1 (C_q et CH_{aro}) ; 84.5 (C₅) ; 81.2 (C₄) ; 79.2 (CH₂Bn) ; 79.1 (C₁) ; 76.9 (C₂₀) ; 75.7 (C₁₀) ; 75.0 (C₂) ; 73.39 (C_{2'}) ; 72.4 (C₇) ; 72.3 (C₁₃) ; 67.2 (C_{1''}) ; 58.7 (C₈) ; 55.2 (C_{3'}) ; 45.7 (C₃) ; 43.3 (C₁₅) ; 34.0 (CH₃N) ; 29.8 (C₆) ; 27.3 (C₁₄) ; 26.9 (C₁₆) ; 22.7 (CH₃ Ac₄) ; 21.9 (C₁₇) ; 21.0 (CH₃ Ac₁₀) ; 14.9 (C₁₈) ; 9.7 (C₁₉).

SM (FAB⁺ NBA+NaI) : m/z = 1336.3 [M+Na]⁺

7-O-Carbonyl-[N-méthylamino-(2-β-D-glucopyranoside uronate)-5-nitrophényl]paclitaxel **236**



16mg (12 μmol) de **254** sont mis en suspension dans 0.5 mL d'EtOH abs en présence de 20mg de Pd/C 10% puis dégazé à l'argon. 12μL de cyclohexadiène sont alors ajoutés goutte à goutte. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé à 45°C pendant 24h puis filtré sur Célite 545. Le filtrat est évaporé et le résidu est chromatographié (éluant CH₂Cl₂-MeOH/1-0 Π 9-1) pour fournir 4mg (25%) de la prodrogue **236**.

ANALYSES :

RMN ¹H (CDCl₃) : δ = 8.13 (m, 2H, H_o Bz₂) ; 7.74 (m, 2H, H_o N₃·COφ) ; 7.60 (m, 1H, H_a) ; 7.53-7.35 (m, 13H, H_{aro}) ; 7.02 (d, J = 8.3 Hz, 1H, NH) ; 6.27 (s, 1H, H₁₀) ; 6.23 (m, 1H, H₁₃) ; 5.80 (m, 1H, H_{3'}) ; 5.68 (d, J = 6.8 Hz, 1H, H₂) ; 5.34 (m, 1H, H_{1''}) ; 4.95 (d, J = 8.6 Hz, 1H, H₅) ; 4.79 (d, J = 2.4 Hz, 1H, H_{2'}) ; 4.40 (m, 1H, H₇) ; 4.32 (m, 1H, H_{4''}) ; 4.25 (ABq, J = 8.7 Hz, 2H, H₂₀) ; 4.08 (m, 2H, H_{2''} et 3'') ; 3.79 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H₃) ; 3.67 (m, 1H, H_{5''}) ; 3.48 (m, 3H, CH₃N) ; 2.55 (m, 1H, H_{6α}) ; 2.39 (s, 3H, CH₃ Ac₄) ; 2.30 (m, 2H, H₁₄) ; 2.24 (s, 3H, CH₃ Ac₁₀) ; 1.85 (m, 1H, H_{6β}) ; 1.80 (s, 3H, H₁₈) ; 1.66 (s, 3H, H₁₉) ; 1.22 (s, 3H, H₁₆) ; 1.12 (s, 3H, H₁₇).

RMN ¹³C (CDCl₃) : δ = 203.7 (C₉) ; 173.3, 172.8, 171.3, 170.4 et 167.0 (MeC(O)C₄, MeC(O)C₁₀, φCO₂, φC(O)N₃ et C_{1'}) ; 156.9 (NCO₂) ; 142.1, 138.2, 133.8, 133.3, 132.6 (2C), 132.0, 130.9, 130.3, 129.3 (2C), 129.1, 128.9, 128.8, 128.7 (2C), 128.4, 127.2 et 127.1 (Cq et

CH_{aro}) ; 84.5 (C₅) ; 81.3 (C₄) ; 79.1 (C₁) ; 76.9 (C₂₀) ; 75.7 (C₁₀) ; 75.0 (C₂) ; 73.3 (C_{2'}) ; 72.4 (C₁₃) ; 72.3 (C₇) ; 69.0 (C_{1''}) ; 62.2, 58.7, 56.5 et 55.4 (C_{2''}, 3'', 4'' et 5'') ; 57.1 (C₈) ; 55.2 (C_{3'}) ; 45.8 (C₃) ; 43.3 (C₁₅) ; 33.9 (CH₃N) ; 29.8 (C₆) ; 27.5 (C₁₄) ; 26.8 (C₁₆) ; 21.9 (CH₃ Ac₄) ; 20.9 (C₁₇) ; 18.6 (CH₃ Ac₁₀) ; 14.9 (C₁₈) ; 9.6 (C₁₉).

SM (ESI⁺ +KI) : m/z = 1261.7 [M+K-H]⁺ ; 854.5 [paclitaxel +1]⁺

1. Wood, K.W., Cornwell, W.D. et Jackson, J.R., *Curr. Opin. Pharmacol.* **2001**, *1*(4), p. 370-377.
2. Alberts, B., Bray, D., Lewis, J.C., Raff, M., Roberts, K. et Watson, J.D., *Garland Publishing, Inc., New York (NY)* **1983**.
3. Nicolaou, K.C., Dai, W.-M. et Guy, R.K., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, p. 15-44.
4. Schiff, P.B., Fant, J. et Horwitz, S.B., *Nature* **1979**, *277*, p. 665-667.
5. Manfredi, J.J. et Horwitz, S.B., *Pharmacol. Ther.* **1984**, *25*, p. 83-125.
6. Nogales, E., Wolf, S.G., Khan, I.A., Luduena, R.F. et Downing, K.H., *Nature (Lond.)* **1995**, *375*, p. 424-427.
7. Schiff, P.B. et Horwitz, S.B., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, *77*(3), p. 1561-1565.
8. Blagosklonny, M.V. et Fojo, T., *Int. J. Cancer* **1999**, *83*, p. 151-156.
9. Appendino, G., *Fitoterapia* **1993**, *1* (suppl. 1), p. 5-27.
10. Vohora, S.B. et Kumar, I., *Planta Med.* **1971**, *20*, p. 100-107.
11. Wall, M.E. et Wani, M.C., *Cancer Res.* **1995**, *55*, p. 753-760; Wall, M.E., *Med. Res. Rev.* **1998**, *18*(5), p. 299-314.
12. Wani, M.C., Taylor, H.L., Wall, M.E., Coggon, P. et McPhail, A.T., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*(9), p. 2325-2337.
13. Kingston, D.G.I., *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, p. 726-734.
14. Fuchs, D.A. et Johnson, R.K., *Cancer Treat. Rep.* **1978**, *62*, p. 1219-1222.
15. Le, X.F., Hittelman, W.N., Liu, J., McWatters, A., Li, C., Mills, G.B. et Bast, R.C., Jr., *Oncogene* **2003**, *22*(4), p. 484-497.
16. Yusuf, R.D., Duan, Z., Lamendola, D.E., Penson, R.T. et Seiden, M.V., *Current Cancer Drug Targets* **2003**, *3*(1), p. 1-19.
17. Eisenhauer, E.A. et Vermoken, J.B., *Drugs* **1998**, *55*, p. 5-30.
18. Samaranayake, G., Magri, N.F., Jitrangri, C. et Kingston, D.G., *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, p. 5114-5119; Chen, S.-H., Wei, J.-M. et Farina, V., *Tet. Lett.* **1993**, *34*(20), p. 3205-3206.
19. Holton, R.A., Somoza, C., Kim, H.-B., Liang, F., Biediger, R.J., Boatman, P.D., Shindo, M., Smith, C.C., Kim, S., Nadizadeh, H., Suzuki, Y., Tao, C., Vu, P., Tang, S., Zang, P., Murthi, K.K., Gentile, L.N. et Liu, J.H., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*(19), p. 1597-1598; Holton, R.A., Somoza, C., Kim, H.-B., Liang, F., Biediger, R.J., Boatman, P.D., Shindo, M., Smith, C.C., Kim, S., Nadizadeh, H., Suzuki, Y., Tao, C., Vu, P., Tang, S., Zang, P., Murthi, K.K., Gentile, L.N. et Liu, J.H., *J. Am. Chem. Soc.*

- 1994**, *116*(19), p. 1599-1600; Nicolaou, K.C., Yang, Z., Liu, J.J., Ueno, H., Nantermet, P.G., Guy, R.K., Clairborne, C.F., Renaud, J., Couladouros, E.A., Paulvannan, K. et Sorensen, E.J., *Nature* **1994**, *367*, p. 630-634; Nicolaou, K.C., Nantermet, P.G., Ueno, H., Guy, R.K., Couladouros, E.A. et Sorensen, E.J., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(2), p. 624-633; Nicolaou, K.C., Liu, J.-J., Yang, Z., Ueno, H., Sorensen, E.J., Clairborne, C.F., Guy, R.K., Hwang, C.-K., Nakada, M. et Nantermet, P.G., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(2), p. 634-644; Nicolaou, K.C., Yang, Z., Liu, J.-J., Nantermet, P.G., Clairborne, C.F., Renaud, J., Guy, R.K. et Shibayama, K., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(2), p. 645-652; Nicolaou, K.C., Ueno, H., Liu, J.-J., Nantermet, P.G., Yang, Z., Renaud, J., Paulvannan, K. et Chadha, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*(2), p. 653-659; Wender, P.A., Badham, N.F., Conway, S.P., Floreancig, P.E., Glass, T.E., Granicher, C., Houze, J.B., Janichen, J., Lee, D., Marquess, D.G., McGrane, P.L., Meng, W., Mucciario, T.P., Muhlebach, M., Natchus, M.G., Paulsen, H., Rawlins, D.B., Satkofsky, J., Shuker, A.J., Sutton, J.C., Taylor, R.E. et Tommoka, K., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, p. 2755-2756; Danishefsky, S.J., Masters, J.J., Young, W.B., Link, J.T., Snyder, L.B., Magee, T.V., Jung, D.K., Isaacs, R.C.A., Bornmann, W., Alaimo, C.A., Coburn, C.A. et Di Grandi, M.J., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, p. 2843-2859; Wender, P.A., Badham, N.F., Conway, S.P., Floreancig, P.E., Glass, T.E., Houze, J.B., Kraus, N.E., Lee, D., Marquess, D.G., McGrane, P.L., Meng, W., Natchus, M.G., Shuker, A.J., Sutton, J.C. et Taylor, R.E., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, p. 2756-2757; Mukaiyama, T., Shiina, I., Iwadare, H., Saito, H., Nishimura, T., Ohkawa, N., Sakoh, H., Nishimura, K., Tani, Y.-i., Hasegawa, M., Yamada, K. et Saitoh, K., *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*(1), p. 121-161; Kusama, H., Hara, R., Kawahara, S., Nishimori, T., Kashima, H., Nakamura, N., Morihira, K. et Kuwajima, I., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, p. 3811-3820.
20. Chauvière, G., Guénard, D., Picot, F., Sénilh, V. et Potier, P., *C. R. Acad. Sci. Paris, Ser. 2* **1981**, *293*, p. 501-503.
21. Sénilh, V., Guéritte, F., Guénard, D., Colin, M. et Potier, P., *C. R. Acad. Sci. Paris, Ser. 2* **1984**, *299*, p. 1039-1042.
22. Guéritte-Voegelein, F., Sénilh, V., David, B., Guénard, D. et Potier, P., *Tet.* **1986**, *42*(16), p. 4451-4460.
23. Mangatal, L., Adeline, M.T., Guénard, D., Guéritte-Voegelein, F. et Potier, P., *Tet.* **1989**, *45*(13), p. 4177-4190.

24. Slichenmyer, W.J. et Von Hoff, D.D., *Anti Cancer Drugs* **1991**, 2, p. 519-530; Chabner, B.A., *Taxol. PPO Updates* **1991**, 5(9), p. 1-10; Szebeni, J., Muggia, F.M. et Alving, C.R., *J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, 90, p. 300-306.
25. Guénard, D., Guéritte-Voegelein, F. et Potier, P., *Acc. Chem. Res.* **1993**, 26, p. 160-167; Guéritte, F., *Curr. Pharm. Design.* **2001**, 7(13), p. 1229-1249.
26. Hepperle, M. et Georg, G.I., *Drugs of the Future* **1994**, 19(6), p. 573-584.
27. Dubois, J., Thoret, S., Guéritte, F. et Guénard, D., *Tet. Lett.* **2000**, 41, p. 3331-3334.
28. Guénard, D., Thoret, S., Dubois, J., Adeline, M.-T., Wang, Q. et Guéritte, F., *Bioorg. & Med. Chem.* **2000**, 8, p. 145-156.
29. Lorenz, S.A., Bigwarfe, P.M., Balasubramanian, S.V., Fetterly, G.J., Straubinger, R.M. et Wood, T.D., *J. Pharm. Sci.* **2002**, 91(9), p. 2057-2066.
30. Dubowchik, G.M. et Walker, M.A., *Pharmacol. Ther.* **1999**, 83(2), p. 67-123; Xu, G. et McLeod, H.L., *Clinical Cancer Research* **2001**, 7, p. 3314-3324; Garnett, M.C., *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, 53(2), p. 171-216; Denny, W.A., *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, 36(7-8), p. 577-595.
31. Senter, P.D. et Springer, C.J., *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, 53(3), p. 247-264; Monneret, C. et Florent, J.-C., *Bull. Cancer* **2000**, 87(11), p. 829-838.
32. Carter, P., *Nature Reviews Cancer* **2001**, 1, p. 118-129.
33. Georg-Speyer-Haus, L., *Readings in Pharmacology* **1962**, Louis Shuster, Ed.(Little, Brown and Company, Boston, MA).
34. Mathé, G., Loc, T.B. et Bernard, J., *C. R. Acad. Sci. Paris* **1958**, 246, p. 1626-1628.
35. Kohler, G. et Milstein, C., *Nature* **1975**, 256, p. 495-507.
36. Dall'Acqua, W. et Carter, P., *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1998**, 8, p. 443-450.
37. Koppel, G.A., *Bioconjugate Chem.* **1990**, 1, p. 13; Bundgard, H., *Drugs of the Future* **1991**, 16, p. 443; Goldenberg, D.M., *American Journal of Medicine* **1993**, 14, p. 297-312; Jungheim, L. et Sheperd, T., *Chem. Rev.* **1994**, 94, p. 1553-1566.
38. Guillemard, V. et Saragovi, H.U., *Cancer Res.* **2001**, 61, p. 694-699.
39. Ojima, I., Geng, X.D., Wu, X.Y., Qu, C.X., Borella, C.P., Xie, H.S., Wilhelm, S.D., Leece, B.A., Bartle, L.M., Goldmacher, V.S. et Chari, R.V.J., *J. Med. Chem.* **2002**, 45(26), p. 5620-5623.
40. Niculescu-Duvaz, I. et Springer, C.J., *Curr. Med. Chem.* **1995**, 2, p. 687-706.
41. Charpin, C., Bhan, A.K., Zurawski, V.R. et Scully, R.E., *Int. J. Gynecol. Pathol.* **1982**, 1, p. 231-245; Del Vecchio, S., Reynolds, J.C., Blasberg, R.G., Neumann, R.D., Carrasquillo, J.A., Hellstrom, I. et Larson, S.M., *Cancer Res.* **1988**, 48, p. 5475-5481.

42. Del Vecchio, S., Reynolds, J.C., Carrasquillo, J.A., Blasberg, R.G., Neumann, R.D., Lotze, M.T. et Bryant, G.J., *Cancer Res.* **1989**, 49, p. 2783-2789.
43. Pimm, M.V., *CRC Critical Review in Therapeutical Drug Carrier Systems* **1988**, 5, p. 189-227.
44. Lewis, J.C., Bagshawe, K.D. et Keep, P.A., *Oncodev. Biol. Med.* **1982**, 3, p. 161-168.
45. Brinkley, M., *Bioconjugate Chem.* **1992**, 3, p. 2-13.
46. Breistol, K., Balzarini, J., Sandvold, M.L., Myhren, F., Martinsen, M., De Clercq, E. et Fodstad, O., *Cancer Res.* **1999**, 59, p. 2944-2949.
47. Torkelson, A.R., LaBudde, J.A. et Weikel, J.H., *Drug Met. Rev.* **1974**, 3, p. 131-165.
48. Bundgard, H., *Advan. Drug Deliv. Rev.* **1989**, 3(1), p. 39-65.
49. Bosslet, K., Czech, J. et Hoffmann, D., *Tumor Targeting* **1995**, 1, p. 45-50.
50. Bosslet, K., Straub, R., Blumrich, M., Czech, J., Gerken, M., Sperker, B., Kroemer, H.K., Gesson, J.-P., Koch, M. et Monneret, C., *Cancer Res.* **1998**, 58(6), p. 1195-1201.
51. Bosslet, K., Straub, R., Gerken, M., Petrul, H., Czech, J., Florent, J.-C., Koch, M., Tillequin, F., Schmidt, F., Monneret, C. et Gesson, J.-P., *4. Salzburger Symposium zur Lebensqualität chronisch Kranker* **1996**, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-New York, p. 123-130; Murdter, T.E., Sperker, B., Kivisto, K.T., McClellan, M., Fritz, P., Friedel, G., Linder, A., Bosslet, K., Toomes, H., Dierkesmann, R. et Kroemer, H.K., *Cancer Res.* **1997**, 57(12), p. 2440-2445.
52. Fishman, W., *J. Biol. Chem.* **1947**, 169, p. 449-450.
53. Cobb, L.M., Connors, T.A., Elson, L.A., Khan, A.H. et Mitchley, B.V.C., *Biochem. Pharmacol.* **1969**, 18, p. 1519-1527.
54. Knox, R.J., Friedlos, F., Marchbank, T. et Roberts, J.J., *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 42, p. 1691-1697.
55. Yamashita, J.-I. et Ogawa, M., *Int. J. Oncol.* **1997**, 10, p. 807-823.
56. Smal, M.A., Dong, Z., Cheung, H.T.A., Asano, Y., Escoffier, L., Costello, M. et Tatersall, M.H.N., *Biochem. Pharmacol.* **1995**, 49(4), p. 567-574.
57. Denmeade, S.R., Nagy, A., Gao, J., Lilja, H., Schally, A.V. et Isaacs, J.T., *Cancer Res.* **1998**, 58(12), p. 2537-2540.
58. Dubowchik, G.M. et Radia, S., *Tet. Lett.* **1997**, 38(30), p. 5257-5260; Dubowchik, G.M., Mosure, K., Knipe, J.O. et Firestone, R.A., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, p. 3347-3352.

59. Carl, P.L., Chakravarty, P.K., Katzenellenbogen, J.A. et Weber, M.J., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1980**, 77, p. 2224-2228.
60. de Groot, F.M.H., van Berkorn, L.W.A. et Scheeren, H.W., *J. Med. Chem.* **2000**, 43(16), p. 3093-3102.
61. Denny, W.A., Wilson, W.R. et Hay, M.P., *Brit. J. Cancer* **1996**, 74(Suppl. XXVII), p. 32-38.
62. Stubbs, M., Rodrigues, L., Howe, F.A., Wang, J.Y., Jeong, K.-S., Veech, R.L. et Griffiths, J.R., *Cancer Res.* **1994**, 54, p. 4011-4016.
63. Yamagata, M. et Tannock, I.F., *Brit. J. Cancer* **1996**, 73, p. 1328-1334.
64. Botero, D.P. et Liotta, L.A., *Nature* **2003**, 423, p. 593-595.
65. Höckel, M. et Vaupel, P., *Semin. Oncol.* **2001**, 28 (suppl. 8)(2), p. 36-41.
66. Pennacchietti, S., Michieli, P., Galluzzo, M., Mazzone, M., Giordano, S. et Comoglio, P.M., *Cancer Cell* **2003**, 3(4), p. 347-361.
67. Connors, T.A., *Gene Therapy* **1995**, 2(10), p. 702-709.
68. NiculescuDuvaz, I., Spooner, R., Marais, R. et Springer, C.J., *Bioconjugate Chemistry* **1998**, 9(1), p. 4-22; Rigg, A. et Sikora, K., *Mol. Med. Today* **1997**, 3, p. 359-366; Springer, C.J. et NiculescuDuvaz, I., *J Clin. Invest.* **2000**, 105(9), p. 1161-1167.
69. Izquierdo, M., Martin, V., de Felipe, P., Izquierdo, J., Perez-Higueras, A., Cortes, M., Paz, J., Isla, A. et Blaquez, M., *Gene Therapy* **1996**, 3, p. 491-495.
70. Curiel, D.T., *Clin. Cancer Res.* **2000**, 6, p. 3395-3399; Grove, J.I., Searle, P.F., Weedon, S.J., Green, N.K., McNeish, I.A. et Kerr, D.J., *Anti Cancer Drug Design* **1999**, 14(6), p. 461-472.
71. Bagshawe, K.D., *Brit. J. Cancer* **1987**, 56, p. 531-532; Senter, P.D., Saulnier, M.G. et Schreiber, G.J., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1988**, 85, p. 4842-4846.
72. Jung, M., *Mini Rev. Med. Chem.* **2001**, 1(4), p. 399-407.
73. Bagshawe, K.D., Springer, C.J., Antoniow, P., Sharma, S.K., Melton, R.G. et Sherwood, R.F., *Brit. J. Cancer* **1988**, 58, p. 700-703.
74. Bosslet, K., Czech, J., Lorenz, P., Sedlacek, H.H., Schuermann, M. et Seemann, G., *Brit. J. Cancer* **1992**, 65(2), p. 234-238.
75. Hellström, K.E. et Senter, P.D., *Eur. J. Cancer* **1991**, 27, p. 1342-1343; Bagshawe, K.D., *Clinical Pharmacokinetics* **1994**, 27(5), p. 368-376.
76. Huennekens, F.M., *Tibtech* **1994**, 12, p. 234.
77. Gold, P. et Freedman, S.O., *J. Exp. Med.* **1965**, 122, p. 467-481.
78. Johnson, J.P., *Int. J. Clin. Lab. Res.* **1992**, 22, p. 69-72.

79. Nap, M., Mollgard, K., Burtin, P. et Van Fleuren, G., *Tumor Biol.* **1988**, 9, p. 145-153.
80. Pietersz, G.A. et MacKenzie, A.R., *Immunol. Rev.* **1992**, 129, p. 57-80.
81. Slichenmyer, W.J., Bookman, M.A., Gilewski, T.A., Murray, J.L., Saleh, M.N., Dougan, M., Healey, D. et Onetto, N., *Abstracts of the 211th ACS conference, Washington DC: American Chemical Society* **1996**.
82. NiculescuDuvaz, I. et Springer, C.J., *Advan. Drug Deliv. Rev.* **1997**, 26(2-3), p. 151-172; Deonarain, M.P. et Epenetos, A.A., *Brit. J. Cancer* **1994**, 70, p. 786.
83. Atwell, G.J., Boyd, M., Palmer, B.D., Anderson, R.F., Pullen, S.M., Wilson, W.R. et Denny, W.A., *Anti Cancer Drug Design* **1996**, 11(7), p. 553-567.
84. Haisma, H.J., van-Muijen, M., Pinedo, H.M. et Boven, E., *Cell Biophys.* **1994**, 24, p. 25185-25192.
85. Schmidt, F. et Monneret, C., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, 1(10), p. 1302-1308.
86. Melton, R.G. et Sherwood, R.F., *J. Natl. Cancer Inst.* **1996**, 88(3-4), p. 153-165; Melton, R.G., *Advan. Drug Delivery Rev.* **1996**, 22(3), p. 289-301.
87. Bagshawe, K.D. et Begent, R.H.J., *Advan. Drug Deliv. Rev.* **1996**, 22(3), p. 365-367.
88. Martin, J., Stribbling, S.M., Poon, G.K., Begent, R.H., Napier, M., Sharma, S.K. et Springer, C.J., *Cancer Chemotherapy & Pharmacology* **1997**, 40(3), p. 189-201.
89. Stein, R., Goldenberg, D.M., Ong, G.L., Thorpe, S.R. et Mattes, M.J., *J. Nucl. Med.* **1997**, 38, p. 1392-1400.
90. Haisma, H.J., Van-Muijen, M., Scheffer, G., Scheper, R.J., Pinedo, H.M. et Boven, E., *Hybridoma* **1995**, 14(4), p. 377-382.
91. Bosslet, K., Czech, J. et Hoffmann, D., *Cancer Res.* **1994**, 54, p. 2151-2159.
92. Connors, T.A., *Xenobiotica* **1986**, 16, p. 975-988; Wilman, D.E.V., *Current Opinion in Therapeutic Patents* **1992**, p. 364-373.
93. Hay, M.P., Wilson, W.R. et Denny, W.A., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1995**, 5(23), p. 2829-2834.
94. Chen, B.M., Cheng, T.L., Tzou, S.C. et Roffler, S.R., *Int. J. Cancer* **2001**, 94(6), p. 850-858.
95. Shan, D.X., Nicolaou, M.G., Borchardt, R.T. et Wang, B.H., *J. Pharm. Sci.* **1997**, 86(7), p. 765-767.
96. Houba, P.H., Leenders, R.G., Boven, E., Scheeren, J.W., Pinedo, H.M. et Haisma, H.J., *Biochem. Pharmacol.* **1996**, 52(3), p. 455-463.

97. de Bont, D.B., Leenders, R.G., Haisma, H.J., van-der-Meulen-Muileman, I. et Scheeren, H.W., *Bioorg. & Med. Chem.* **1997**, *5*(2), p. 405-414; Houba, P.H., Leenders, R.G., Boven, E., Scheeren, J.W., Pinedo, H.M. et Haisma, H.J., *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *52*(3), p. 455-463.
98. Schmidt, F., Florent, J.-C., Monneret, C., Straub, R., Czech, J., Gerken, M. et Bosslet, K., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*(8), p. 1071-1076.
99. Desbene, S., Van, H.D., Michel, S., Tillequin, F., Koch, M., Schmidt, F., Florent, J.-C., Monneret, C., Straub, R., Czech, J., Gerken, M. et Bosslet, K., *Anti Cancer Drug Design* **1999**, *14*(2), p. 93-106.
100. Florent, J.-C., Dong, X., Gaudel, G., Mitaku, S., Monneret, C., Gesson, J.-P., Jacquesy, J.-C., Mondon, M., Renoux, B., Andrianomenjanahary, S., Michel, S., Koch, M., Tillequin, F., Gerken, M., Czech, J., Straub, R. et Bosslet, K., *J. Med. Chem.* **1998**, *41*(19), p. 3572-3581.
101. Mindl, J., Hrabik, O., Sterba, V. et Kavalk, J., *Collect. Czech. Chem. Comm.* **2000**, *65*, p. 1262-1272.
102. Greenwald, R.B., Choe, Y.H., Conover, C.D., Shum, K., Wu, D. et Royzen, M., *J. Med. Chem.* **2000**, *43*(3), p. 475-487.
103. Wang, B., Zhang, H. et Wang, W., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*(8), p. 945-950.
104. Rieche, A., Gross, H. et Höft, E., *Chem. Ber.* **1960**, *93*, p. 88-94.
105. Gross, H., Rieche, A. et Matthey, G., *Chem. Ber.* **1963**, *96*, p. 308-313.
106. Suzuki, Y. et Takahashi, H., *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, *31*(5), p. 1751-1753.
107. Lindoy, L.F., Meehan, G.V. et Svenstrup, N., *Synth.* **1998**, *7*, p. 1029-1032.
108. Aldred, R., Johnston, R., Levin, D. et Neilan, J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1994**, p. 1823-1831.
109. Zondervan, C., van den Beuken, E.K., Kooijman, H., Spek, A.L. et Feringa, B.L., *Tet. Lett.* **1997**, *38*(17), p. 3111-3114.
110. Sharma, G.V.M., Ilangovan, A. et Lavanya, B., *Synth. Comm.* **2000**, *30*(3), p. 397-405.
111. MacKenzie, A.R., Moody, C.J. et Rees, C.W., *Tet.* **1986**, *42*(12), p. 3259-3268.
112. Furlano, D.C., Calderon, S.N., Chen, G. et Kirk, K.L., *J. Org. Chem.* **1988**, *53*(14), p. 3145-3147.
113. Mancini, M.L. et Honek, J.F., *Synth. Comm.* **1989**, *19*(11-12), p. 2001-2015.
114. Kawasaki, I., Matsuda, K. et Kaneko, T., *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1971**, *44*(7), p. 1986-1987; Landini, D., Montanari, F. et Rolla, F., *Synth.* **1978**, *10*, p. 771-773.

115. Borch, R.F., Bernstein, M.D. et Dupont Durst, H., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93(12), p. 2897-2904.
116. Hara, H., Shirai, R., Hoshino, O. et Umezawa, B., *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33(8), p. 3107-3112.
117. Kametani, T., Takahashi, K. et Loc, C.V., *Tet.* **1975**, 31(3), p. 235-238.
118. Cazaux, L. et Tisnès, P., *J. Het. Chem.* **1976**, 13, p. 665-668.
119. Kitson, T.M. et Freeman, G.H., *Bioorg. Chem.* **1993**, 21, p. 354-365.
120. Neidigh, K.A., Avery, M.A., Williamson, J.S. et Bhattacharyya, S., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1998**, 16, p. 2527-2531.
121. Bouquillon, S., Hénin, F. et Muzart, J., *Synth. Comm.* **2001**, 31(1), p. 39-45.
122. Frey, P.A., Kokesh, F.C. et Westheimer, F.H., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93(26), p. 7266-7269; Frey, P.A. et Westheimer, F.H., *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93(26), p. 7270-7274.
123. Agami, C. et Couty, F., *Tet.* **2002**, 58, p. 2701-2724.
124. Ponnusamy, E., Fotadar, U., Spisni, A. et Fiat, D., *Synth.* **1986**, 1, p. 48-49.
125. Curphey, T.J., *J. Org. Chem.* **1979**, 44(15), p. 2805-2807.
126. Taurog, A., Abraham, S. et Chaikoff, I.L., *J. Chem. Soc. (C)* **1953**, 75, p. 3473-3477.
127. Stachulski, A.V. et Jenkins, G.N., *Nat. Prod. Rep.* **1998**, p. 173-186.
128. Müller, T., Schneider, R. et Schmidt, R.R., *Tet. Lett.* **1994**, 35(27), p. 4763-4766.
129. Bollenback, G.N., Long, J.W., Benjamin, D.G. et Lidquist, J.A., *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, p. 3310.
130. Lunsford, C.D. et Murphey, R.S., *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 21, p. 580-582.
131. Helferich, B. et Berger, A., *Chem. Ber.* **1957**, 90, p. 2492-2498.
132. Berrang, B., Twine, C.E., Hennessee, G.L. et Carroll, F.I., *Synth. Comm.* **1975**, 5(3), p. 231-236.
133. Mahrwald, R., *Pharmazie* **1980**, 35, p. 460-462.
134. Casagrande, J., *Arzneim.-Forsch.* **1986**, 36 (I)(2a).
135. Goto, K., Nakamura, S., Morioka, Y., Kondo, M., Naito, S. et Tsutsumi, K., *Chem. Pharm. Bull.* **1996**, 44(3), p. 547-551.
136. Diwu, Z., Lu, Y.X., Upson, R.H., Zhou, M.J., Klaubert, D.H. et Haugland, R.P., *Tet.* **1997**, 53(21), p. 7159-7164.
137. Rossignol, J.-F. et Stachulski, A.V., *J. Chem. Res. (S)* **1999**, p. 44-45.
138. Hongu, M., Saito, K. et Tsujihara, K., *Synth. Comm.* **1999**, 29(16), p. 2775-2781.

139. Tropper, F.D., Andersson, F.O., Grand-Maître, C. et Roy, R., *Synth.* **1991**, 9, p. 734-736.
140. Warder, D.E., *Carbohydrate Res.* **1981**, 94, p. 115-118.
141. Zhou, F.-Y., Sun, C.-J. et Li, J.-H., *Synth. Comm.* **2001**, 31(18), p. 2837-2840.
142. Yoshioka, T., Aizawa, Y., Fujita, T., Nakamura, K.-I., Sasahara, K., Kuwano, H., Kinoshita, T. et Horikoshi, H., *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39(8), p. 2124-2125.
143. Honma, K., Nakazima, K., Uematsu, T. et Hamada, A., *Chem. Pharm. Bull.* **1976**, 24(3), p. 394-399.
144. Badman, G.T., Green, D.V.S. et Voyle, M., *J. Organomet. Chem.* **1990**, 388, p. 117-121.
145. Fischer, B., Nudelman, A., Ruse, M., Herzig, J., Gottlieb, H.E. et Keinan, E., *J. Org. Chem.* **1984**, 49(25), p. 4988-4993.
146. Schmidt, R.R. et Kinzy, W., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1994**, 50, p. 21-123.
147. Jensen, K.J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, 20, p. 2219-2233.
148. Kolodziuk, R., Kryczka, B., Lhoste, P., Porwanski, S., Sinou, D. et Zawisza, D., *Synth. Comm.* **2001**, 31(24), p. 3863-3870.
149. Neumann, R. et Sasson, Y., *Synth.* **1986**, 7, p. 569-570.
150. Cheung, G.K., Downie, I.M., Earle, M.J., Heaney, H., Matough, M.F.S., Shuhaibar, K.F. et Thomas, D., *Synlett* **1992**, 1, p. 77-78.
151. Vlahov, J. et Snatzke, G., *Liebigs Ann. Chem.* **1983**, p. 570-574.
152. Goenechea, S., Rucker, G. et Hubert, M.A., *Arch. Pharm.* **2001**, 334(3), p. 101-103.
153. Balderman, D. et Kalir, A., *Synth.* **1978**, 1, p. 24-26.
154. Kumar, H.M.S., Reddy, B.V.S., Anjaneyulu, S. et Yadav, J.S., *Tet. Lett.* **1998**, 39, p. 7385-7388.
155. Tomàs, S., Rotger, M.C., Gonzalez, J.F., Deyà, P.M., Ballester, P. et Costa, A., *Tet. Lett.* **1995**, 36(14), p. 2523-2526.
156. Tomàs, S., Prohens, R., Vega, M., Rotger, M.C., Deyà, P.M., Ballester, P. et Costa, A., *J. Org. Chem.* **1996**, 61(26), p. 9394-9401.
157. Kato-Toma, Y., Imajo, S. et Ishiguro, M., *Tet. Lett.* **1998**, 39(1), p. 51-54.
158. Hiruma, K., Kanie, O. et Wong, C.-H., *Tet.* **1998**, 54, p. 15781-15792.
159. Mikata, Y., Shinohara, Y., Yoneda, K., Nakamura, Y., Esaki, K., Tanahashi, M., Brudzińska, I., Hirohara, S., Yokoyama, M., Mogami, K., Tanase, T., Kitayama, T., Takashiba, K., Nabeshima, K., Takagi, R., Takatani, M., Okamoto, T., Kinoshita, I.,

- Doe, M., Hamazawa, M., Morita, M., Nishida, F., Sakakibara, T., Orvig, C. et Yano, S., *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, p. 3783-3789.
160. Lee, C.-M., Plattner, J.J., Ours, C.W., Horrom, B.W., Smital, J.R., Pernet, A.G., Bunnell, P.R., El Masry, S.E. et Dodge, P.W., *J. Med. Chem.* **1984**, *27(12)*, p. 1579-1587.
161. Ariza, X., Pineda, O., Urpi, F. et Vilarrasa, J., *Tet. Lett.* **2001**, *42*, p. 4995-4999.
162. Corbell, J.B., Lundquist, J.J. et Toone, E.J., *Tet. Asymmetry* **2000**, *11*, p. 95-111.
163. Ram, S.R., Chary, K.P. et Iyengar, D.S., *Synth. Comm.* **2000**, *30(24)*, p. 4495-4500.
164. Lee, J.G., Choi, K.I., Koh, H.Y., Kim, Y., Kang, Y. et Cho, Y.S., *Synth.* **2001**, *1*, p. 81-84.
165. Kamal, A., Ramana, K.V., Ankati, H.B. et Ramana, A.V., *Tet. Lett.* **2002**, *43*, p. 6861-6863.
166. Reddy, G.V.S., Rao, G.V., Subramanyam, R.V.K. et Iyengar, D.S., *Synth. Comm.* **2000**, *30(12)*, p. 2233-2237.
167. Springer, C.J., Poon, G.K., Sharma, S.K. et Bagshawe, K.D., *Cell biophysics* **1993**, *22(1-3)*, p. 9-26; Springer, C.J. et Niculescu-Duvaz, I., *Anti Cancer Drug Design* **1995**, *10(5)*, p. 361-372.
168. Artico, M. et Ross, W.C.J., *Biochem. Pharmacol.* **1968**, *17*, p. 893-898; Springer, C.J., Dowell, R., Burke, P.J., Hadley, E., Davis, D.H., Blakey, D.C., Melton, R.G. et Niculescu-Duvaz, I., *J. Med. Chem.* **1995**, *38(26)*, p. 5051-5065.
169. Edwards, P.D., Foster, D.L.D., Owen, L.N. et Pringle, M.J., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1973**, p. 2397-2402.
170. Springer, C., Burke, P.J., Dowell, R. et Mauger, A.B., *Patent* **1994**, *WO 9402450*.
171. Jordan, A.M., Khan, T.H., Malkin, H. et Osborn, H.M.I., *Bioorg. & Med. Chem.* **2002**, *10(8)*, p. 2625-2633.
172. Schmidt, F., Ungureanu, I., Duval, R., Pompon, A. et Monneret, C., *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *11*, p. 2129-2134.
173. Jain, S., Drendel, W.B., Chen, Z.-W., Matthews, F.S., Sly, W.S. et Grubb, J.H., *Nature Structural Biology* **1996**, *3(4)*, p. 375-381.
174. de Groot, F.M.H., Loos, W.J., Koekoek, R., van Berkomp, L.W.A., Busscher, L.W.A., Seelen, A.E., Albrecht, C., de Bruijn, P. et W., S.H., *J. Org. Chem.* **2001**, *66(26)*, p. 8815-8830.
175. Carl, P.L., Chakravarty, P.K. et Katzenellenbogen, J.A., *J. Med. Chem.* **1981**, *24(5)*, p. 479-480.

176. Leenders, R.G.G., Damen, E.W.P., Bijsterveld, E.J.A., Scheeren, J.W., Houba, P.H.J., van der Meulen-Muileman, I.H., Bove, E. et J., H.H., *Bioorg. & Med. Chem.* **1999**, *7*, p. 1597-1610.
177. Lougerstay-Madec, R., Florent, J.-C., Monneret, C., Nemati, F. et Poupon, M.-F., *Anti Cancer Drug Design.* **1998**, *13(8)*, p. 995-1007.
178. Greenwald, R.B., Pendri, A. et Bolikal, D., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, p. 331-336.
179. Mathew, A.E., Mejillano, M.R., Nath, J.P., Himes, R.H. et Stella, V.J., *J. Med. Chem.* **1992**, *35(1)*, p. 145-151.
180. Magri, N.F. et Kingston, D.G., *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, p. 797; Magri, N.F. et Kingston, D.G.I., *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, p. 797-802.
181. King, S.A., *J. Org. Chem.* **1994**, *59(8)*, p. 2253-2256.
182. Alexander, E.R. et Busch, H.M., *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, p. 554-555.
183. Barrett, A.G.M. et Lee, A.C., *J. Org. Chem.* **1992**, *57(10)*, p. 2818-2824.
184. Francisco, C.G., Martin, C.G. et Suarez, E., *J. Org. Chem.* **1998**, *63(7)*, p. 2099-2109.
185. Momose, A., Kamei, K. et Nitta, Y., *Chem. Pharm. Bull.* **1966**, *14(3)*, p. 199-206.
186. Tanaka, M., Okita, M. et Yamatsu, I., *Carbohydrate Res.* **1993**, *241*, p. 81-88.
187. Nelson, T.D. et Crouch, R.D., *Synth.* **1994**, *9*, p. 1031-1069.
188. Halmos, T., Montserrat, R. et Antonalis, K., *Nucleic Acids Res.* **1989**, *17*, p. 7663.
189. Robins, M.J., Samano, V. et Johnson, M.D., *J. Org. Chem.* **1990**, *55(2)*, p. 410-412.
190. Martin, S.F., Dodge, J.A., Burgess, L.E. et Hartmann, M., *J. Org. Chem.* **1992**, *57(4)*, p. 1070-1072.
191. Marshall, J.A. et Yashunsky, D.V., *J. Org. Chem.* **1991**, *56(19)*, p. 5493-5495.
192. Yang, Y.-Y., Yang, W.-B., Teo, C.-H. et Lin, C.-H., *Synlett* **2000**, *11*, p. 1634-1636.
193. Baldwin, J.E., Adlington, R.M. et Mitchell, M.B., *Tet.* **1995**, *51(17)*, p. 5193-5206.
194. Nicolaou, K.C., Reddy, K.R., Skokotas, G., Sato, F. et Xiao, X.-Y., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114(20)*, p. 7935-7938.
195. Enholm, E.J., Satici, H. et Trivellas, A., *J. Org. Chem.* **1989**, *54(25)*, p. 5841-5843.
196. Ohmori, K., Suzuki, T., Miyazawa, K., Nishiyama, S. et Yamamura, S., *Tet. Lett.* **1993**, *34(31)*, p. 4981-4984.
197. Evans, D.A., Gage, J.R. et Leighton, J.L., *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114(24)*, p. 9434-9453.
198. Keck, G.E., A., P. et McHardy, S.F., *J. Org. Chem.* **1994**, *59(11)*, p. 3113-3122.
199. Panek, J.S., Yang, M. et Solomon, J., *Tet. Lett.* **1995**, *36(7)*, p. 1003-1006.

200. Danishefsky, S.J., Armistead, D.M., Wincott, F.E., Selnick, H.G. et Hungate, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*(26), p. 8117-8119; Danishefsky, S.J., Armistead, D.M., Wincott, F.E., Selnick, H.G. et Hungate, R., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*(8), p. 2967-2980.
201. Williams, D.R., Reddy, J.P. et Amato, G.S., *Tet. Lett.* **1994**, *35*(35), p. 6417-6420.
202. Crich, D. et Hermann, F., *Tet. Lett.* **1993**, *34*(21), p. 3385-3388.
203. Pilcher, A.S. et DeShong, P., *J. Org. Chem.* **1993**, *58*(19), p. 5130-5134.
204. Kabat, M.M., Lange, M., Wovkulich, P.M. et Uskokovic, M.R., *Tet. Lett.* **1992**, *33*(50), p. 7701-7704.
205. Ankala, S.V. et Fenteany, G., *Tet. Lett.* **2002**, *43*, p. 4729-4732.
206. Chen, M.-Y., Lu, K.-C., Lee, A.S.-Y. et Lin, C.-C., *Tet. Lett.* **2002**, *43*, p. 2777-2780.
207. Feixas, J., Capdevilla, A. et Guerrero, A., *Tet.* **1994**, *50*(28), p. 8539-8550.
208. Sabitha, G., Syamala, M. et Yadav, J.S., *Org. Lett.* **1999**, *1*(11), p. 1701-1703.
209. Tsukada, N., Nishimada, T., Gyoung, Y.S., Asao, N. et Yamamoto, Y., *J. Org. Chem.* **1995**, *60*(1), p. 143-148.
210. Cormier, J.F., *Tet. Lett.* **1991**, *32*(2), p. 187-188.
211. Lee, K. et Wiemer, D.F., *J. Org. Chem.* **1993**, *58*(27), p. 7808-7812.
212. Tandon, M. et Begley, T.P., *Synth. Comm.* **1997**, *27*(17), p. 2953-2959.
213. Farràs, J., Serra, C. et Vilarrasa, J., *Tet. Lett.* **1998**, *39*, p. 327-330.
214. Mizuno, M., Kobayashi, K., Nakajima, H., Koya, M. et Inazu, T., *Synth. Comm.* **2002**, *32*(11), p. 1665-1670.
215. Yang, W.-B., Tsai, C.-H. et Lin, C.-H., *Tet. Lett.* **2000**, *41*, p. 2569-2572.
216. Hanessian, S. et Lavallée, P., *Can. J. Chem.* **1975**, *53*, p. 2975-2977.
217. Rehwinkel, H. et Steglich, W., *Synth.* **1982**, *10*, p. 826-827; Krasik, P., *Tet. Lett.* **1998**, *39*, p. 4223-4226.
218. Seebach, D., Hungerbühler, E., Naef, R., Schnurrenberger, P., Weidmann, B. et Züger, M., *Synth.* **1982**, *2*, p. 138-141.
219. Mignet, N., Chaix, C., Rayner, B. et Imbach, J.L., *Carbohydrate Res.* **1997**, *303*(1), p. 17-24.
220. Shekhani, M.S., Khan, K.M. et Mahmood, K., *Tet. Lett.* **1988**, *29*(47), p. 6161-6162.
221. Alpegiani, M., Perrone, E. et Franceschi, G., *Heterocycles* **1988**, *27*(1), p. 49-55.
222. Barrish, J.C., Lee, H.L., Mitt, T., Pizzolato, G., Baggiolini, E.G. et Uskokovic, M.R., *J. Org. Chem.* **1988**, *53*(18), p. 4282-4295.

223. Higashibayashi, S., Shinko, K., Ishizu, T., Hashimoto, K., Shirahama, H. et Nakata, M., *Synlett* **2000**, 9, p. 1306-1308.
224. Yajima, A. et Mori, K., *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, p. 4079-4091.
225. Shekhani, M.S., Khan, K.M., Mahmood, K., Shah, P.M. et Malik, S., *Tet. Lett.* **1990**, 31(12), p. 1669-1670.
226. Smith III, A.B. et Wan, Z., *J. Org. Chem.* **2000**, 65(12), p. 3738-3753.
227. Hatakeyama, S., Irie, H., Shintani, T., Noguchio, Y., Yamada, H. et Nishizawa, M., *Tet.* **1994**, 50(47), p. 13369-13376.
228. Prakash, C., Saleh, S. et Blair, I.A., *Tet. Lett.* **1989**, 30(1), p. 19-22.
229. Zhang, W. et Robins, M.J., *Tet. Lett.* **1992**, 33(9), p. 1177-1180.
230. Scheidt, K.A., Chen, H., Follows, B.C., Chemler, S.R., Coffey, D.S. et Roush, W.R., *J. Org. Chem.* **1998**, 63(19), p. 6436-6437.
231. Bartoli, G., Cupone, G., Dalpozzo, R., De Nino, A., Maiuolo, L., Procopio, A., Sambri, L. et Taragelli, A., *Tet. Lett.* **2002**, 43, p. 5945-5947.
232. Saari, W.S., Schwering, J.E., Lyle, P.A., Smith, S.J. et Engelhardt, E.L., *J. Med. Chem.* **1990**, 33(1), p. 97-101.
233. Sakaitani, M. et Ohfuné, Y., *J. Org. Chem.* **1990**, 55(3), p. 870-876.
234. Delle Monache, G., Misiti, D., Salvatore, P., Zappia, G. et Pierini, M., *Tet. Asymmetry* **2000**, 11, p. 2653-2659.
235. Cavelier, F. et Enjalbal, C., *Tet. Lett.* **1994**, 37(29), p. 5131-5134.
236. Boger, D.L., Patane, M.A. et Zhou, J., *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116(19), p. 8544-8556.
237. Yokokawa, F., Inaizumi, A. et Shioiri, T., *Tet. Lett.* **2001**, 42, p. 5903-5908.
238. Boger, D.L., McKie, J.A., Nishi, T. et Ogiku, T., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118(9), p. 2301-2302.
239. Churcher, I., Hallett, D. et Magnus, P., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120(14), p. 3518-3519.
240. Bose, D.S. et Lakshminarayana, V., *Tet. Lett.* **1998**, 39, p. 5631-5634.
241. Bose, D.S. et Lakshminarayana, V., *Synth.* **1999**, 1, p. 66-68.
242. Felix, A.M., Heimer, E.P., Lambros, T.J., Tzougraki, C. et Meienhofer, J., *J. Org. Chem.* **1978**, 43(21), p. 4194-4196; Johnstone, R.A.W. et Wilby, A.H., *Chem. Rev.* **1985**, 85(2), p. 129-170.
243. Wakselman, M., *Nouveau Journal de Chimie* **1983**, 7(7), p. 439-447; Greenwald, R.B., Pendri, A., Conover, C.D., Zhao, H., Choe, Y.H., Martinez, A., Shum, K. et Guan, S.Y., *J. Med. Chem.* **1999**, 42(18), p. 3657-3667.

244. Rodrigues, M.L., Carter, P., Wirth, C., Mullins, S., Lee, A. et Blackburn, B.K., *Chem. and Biol.* **1995**, *2*, p. 223-227.
245. Damen, E.W.P., Nevalainen, T.J., vandenBergh, T.J.M., deGroot, F.M.H. et Scheeren, H.W., *Bioorg. & Med. Chem.* **2002**, *10(1)*, p. 71-77.
246. Desbene, S., Van, H.D.T., Michel, S., Koch, M., Tillequin, F., Fournier, G., Farjaudon, N. et Monneret, C., *Anti Cancer Drug Design* **1998**, *13(8)*, p. 955-968.
247. Marder, R., Bricard, L., Dubois, J., Guénard, D. et Guéritte-Voegelein, F., *Tet. Lett.* **1996**, *37(11)*, p. 1777-1780; Uoto, K., Mitsui, I., Terasawa, H. et Soga, T., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1997**, *7(23)*, p. 2991-2996; Iimura, S., Uoto, K., Ohsuki, S., Chiba, J., Yoshino, T., Iwahana, M., Jimbo, T., Terasawa, H. et Soga, T., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, p. 407-410; Nikolakakis, A., Haidara, K., Sauriol, F., Mamer, O. et Zamir, L.O., *Bioorg. & Med. Chem.* **2003**, *11(7)*, p. 1551-1556.
248. Marder-Karsenti, R., Dubois, J., Bricard, L., Guénard, D. et Guéritte-Voegelein, F., *J. Org. Chem.* **1997**, *62(19)*, p. 6631-6637.
249. Didier, E., Fouque, E., Taillepiéd, I. et Commerçon, A., *Tet. Lett.* **1994**, *35(15)*, p. 2349-2352.
250. Didier, E., Fouque, E. et Commerçon, A., *Tet. Lett.* **1994**, *35(19)*, p. 3063-3064.
251. Holton, R.A., Zhang, Z., Clarke, P.A., Nadizadeh, H. et Procter, J.D., *Tet. Lett.* **1998**, *39*, p. 2883-2886.
252. Appendino, G., Belloro, E., Jakupovic, S., Danieli, B., Jakupovic, J. et Bombardelli, E., *Tet.* **1999**, *55*, p. 6567-6576.
253. Damen, E.W.P., Braamer, L. et Scheeren, H.W., *Tet. Lett.* **1998**, *39*, p. 6081-6082.
254. Adams, J.P., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2002**, *23*, p. 2586-2597.
255. Pirrung, M.C., Shuey, S.H., Lever, D.C. et Fallon, L., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1994**, *4(11)*, p. 1345-1346.
256. Hutchins, J.E.C. et Fife, T.H., *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95(7)*, p. 2282-2286.
257. Williams, A., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1972**, p. 808812; Hegarty, A.F., Frost, L.N. et Coy, J.H., *J. Org. Chem.* **1974**, *39(8)*, p. 1089-1093.
258. Blitzke, T., Baranovsky, A. et Schneider, B., *Helv Chim Acta* **2001**, *84(7)*, p. 1989-1995.
259. Takahashi, T., Tsukamoto, H. et Yamada, H., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, p. 113-116.
260. Lee, J.W., Lu, J.Y., Low, P.S. et Fuchs, P.L., *Bioorg. & Med. Chem.* **2002**, *10(7)*, p. 2397-2414.

-
261. Georg, G.I., Ali, S.M., Boge, T.C., Datta, A. et Falborg, L., *Tet. Lett.* **1994**, 35(48), p. 8931-8934.
262. Georg, G.I., Liu, Y., Boge, T.C. et Himes, R.H., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1997**, 7(14), p. 1829-1832.
263. Chen, S.H., Huang, S., Wei, J. et Farina, V., *Tet.* **1993**, 49(14), p. 2805-2828.
264. Schröder, E., Lehmann, M., Rufer, C. et Böttcher, I., *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.* **1982**, 17(2), p. 165-172.
265. Kessler, P., Chatrenet, B., Goeldner, M. et Hirth, C., *Synth.* **1990**, 11, p. 1065-1068.
266. Krishnamurthy, S., *Tet. Lett.* **1982**, 23(33), p. 3315-3318.
267. Ueda, Y., Mikkilineni, A.B., Knipe, J.O., Rose, W.C., Casazza, A.M. et Vyas, D.M., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **1993**, 3(8), p. 1761-1766; Damen, E.W.P., Wiegerinck, P.H.G., Braamer, L., Sperling, D., de Vos, D. et Scheeren, H.W., *Bioorg. & Med. Chem.* **2000**, 8, p. 427-432; Wittman, M.D., Kadow, J.F., Vyas, D.M., Lee, F.L., Rose, W.C., Long, B.H., Fairchild, C. et Johnston, K., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, p. 811-814.