

THÈSE

Présentée à l'Université Strasbourg I - Louis Pasteur
en vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ STRASBOURG I

Discipline : Sciences Pharmaceutiques

Spécialité : Pharmacochimie

par

Marc-Antoine MORIS

**SYNTHÈSE D'ANALOGUES DE PHOSPHATES D'INOSITOL
MIMES DE L'ADÉNOPHOSTINE**

Soutenue le 3 avril 2006 devant la commission d'examen :

Pr G. OURISSON

Rapporteur

Pr P. SINAÏ

Rapporteur

Dr Y. CHAPLEUR

Rapporteur

Dr G. SCHLEWER

Directeur de thèse

*A mes parents qui m'ont toujours soutenu
A ma famille
A mes amis*

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Pharmacochimie de la Communication Cellulaire de la Faculté de Pharmacie dirigé par le Professeur Marcel HIBERT. Je le prie d'accepter toute ma reconnaissance pour l'accueil cordial qu'il m'a réservé dans son laboratoire.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au Docteur Gilbert SCHLEWER, qui par ses nombreuses qualités, m'a formé à la recherche, encadré dans la bonne humeur et soutenu tout au long de ce travail. Je le remercie également pour son accueil très sympathique au sein de son équipe.

Le Professeur Guy OURISSON, le Professeur Pierre SINAY et le Docteur Yves CHAPLEUR me font l'honneur de siéger dans le jury qui examinera ce travail ; qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je tiens à remercier :

- la Ligue Contre le Cancer d'Alsace qui a soutenu, trois années durant, mon travail ainsi que l'équipe,
- le Professeur Gaétan GUILLEMETTE et son laboratoire de l'Université de Sherbrooke, au Québec, pour avoir effectué les tests pharmacologiques,
- le Docteur Martine SCHMITT pour ses conseils en synthèse organique,
- le Docteur Didier ROGNAN qui a réalisé les modélisations moléculaires,
- Cyril ANTHEAUME pour son aide précieuse en RMN,
- Pascale BUISINE pour ses services en spectrométrie de masse,
- les Docteurs Philippe KLOTZ et Fabrice GUILLIER pour, notamment, m'avoir formé à la technique de l'HPLC,
- Frédéric TUTIN pour avoir synthétisé, lors de son stage IUT, une quantité appréciable d'un intermédiaire de synthèse,
- Françoise HERTH et le Docteur Bruno DIDIER pour leur sympathique aide,
- les chirurgiens du CTO d'Illkirch-Graffenstaden pour leurs soins vitaux.

Je tiens à exprimer mon amitié à mes camarades Cyril ANTHEAUME, Pascal BENDERITTER, Paul KUAD, Georges MOARBESS, Alexandre MONGEOT et Victor N'GOKA. Je remercie également les autres membres du Laboratoire de Pharmacochimie de la Communication Cellulaire ainsi que de l'UMR 7514 pour leur sympathie.

SOMMAIRE

ABRÉVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES
LISTES DES FIGURES, SCHÉMAS ET TABLEAUX

13

17

INTRODUCTION

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS

<u>1. Communication cellulaire</u>	25
<u>1.1. Universalité dans le monde du vivant</u>	25
<u>1.2. Enjeux fonctionnels</u>	25
<u>1.3. Voies de cette communication inter- et intracellulaire</u>	25
<u>1.4. Seconds messagers</u>	26
<u>1.5. Récepteurs</u>	26
<u>2. Les inositols et leurs dérivés</u>	27
<u>2.1. Les inositols</u>	27
<u>2.1.1. Stéréomères</u>	27
<u>2.1.2. Le <i>myo</i>-inositol</u>	28
<u>2.1.2.1. Structure et nomenclature</u>	28
<u>2.1.2.2. Principales données</u>	29
<u>2.1.2.3. Origine et distribution cellulaire</u>	29
<u>2.1.2.3.1. Source alimentaire et recyclage</u>	29
<u>2.1.2.3.2. Biosynthèse <i>de novo</i> du <i>myo</i>-inositol et catabolisme</u>	29
<u>2.1.2.3.3. Localisation cellulaire, transport</u>	30
<u>2.1.2.4. Rôles physiologiques</u>	31
<u>2.2. Les phosphates de <i>myo</i>-inositol</u>	32
<u>2.2.1. L'Ins(1,4,5)P₃</u>	32
<u>2.2.1.1. Structure, nomenclature et découverte</u>	32
<u>2.2.1.2. Libération de l'Ins(1,4,5)P₃, enzymes impliquées et rôles physiologiques</u>	33
<u>2.2.1.2.1. Voie de libération de l'Ins(1,4,5)P₃</u>	33
<u>2.2.1.2.2. Les phospholipases</u>	34
<u>2.2.1.2.3. Rôles physiologiques de l'Ins(1,4,5)P₃</u>	35
<u>2.2.1.2.4. Métabolisme de l'Ins(1,4,5)P₃</u>	36
<u>2.2.1.2.5. Diacylglycérol et protéine kinase C</u>	37
<u>2.2.2. Relations structure/activité de l'Ins(1,4,5)P₃ pour son récepteur</u>	38
<u>2.2.2.1. Stéréosélectivité du récepteur</u>	38
<u>2.2.2.2. Modifications portant sur les positions 2, 3 et/ou 6</u>	38
<u>2.2.2.2.1. Modifications des positions 2 et/ou 3</u>	38
<u>2.2.2.2.2. Inversion de l'hydroxyle 2 et homologation de l'hydroxyle 3</u>	39

<u>2.2.2.2.3. Suppression de l'hydroxyle 3, deux configurations en C-4</u>	39
<u>2.2.2.2.4. Suppression des hydroxyles 2, 3 et 6</u>	40
<u>2.2.2.2.5. Modification de la position 6</u>	40
<u>2.2.2.3. Variations sur les groupements phosphates</u>	41
<u>2.2.2.3.1. Analogues déphosphorylés</u>	41
<u>2.2.2.3.2. Distribution des trois phosphates sur le cycle inositol</u>	41
<u>2.2.2.3.3. Ajout d'un ou de plusieurs phosphates et distribution diverse</u>	43
<u>2.2.2.3.4. Structure des phosphates modifiée : phosphates cycliques</u>	43
<u>2.2.2.3.5. Structure des phosphates modifiée : phosphonates, phosphorothioates</u>	44
<u>2.2.2.3.6. Structure modifiée des phosphates : phosphorofluoridates</u>	45
<u>2.2.2.3.7. Remplacement des phosphates</u>	45
<u>2.2.2.4. Dérivés dimériques et modifications du squelette carboné</u>	45
<u>2.2.2.5. Analogues appliqués à la fluorescence</u>	47
<u>2.2.2.6. Conclusions des RSA : pharmacophore</u>	48
<u>2.2.3. Les autres phosphates d'inositol naturels</u>	48
<u>2.2.3.1. Les InsP₁</u>	48
<u>2.2.3.2. Les InsP₂</u>	49
<u>2.2.3.3. Les InsP₄</u>	49
<u>2.2.3.4. Les InsP₅</u>	50
<u>2.2.3.5. L'InsP₆</u>	50
<u>2.2.3.6. Les InsP hyperphosphorylés</u>	51
<u>2.3. Phospholipides dérivés de l'inositol</u>	52
<u>2.3.1. Bref historique des phospholipides</u>	52
<u>2.3.2. Découverte et structure des phosphatidyl-<i>myo</i>-inositols</u>	52
<u>2.3.3. Distribution et métabolisme des phosphates de phosphatidyl-<i>myo</i>-inositol</u>	52
<u>2.3.4. Propriétés et rôles physiologiques</u>	53
<u>2.3.4.1. Voies de libération</u>	53
<u>2.3.4.2. Rôles physiologiques</u>	53
<u>2.4. Les glycolipides dérivés des phosphatidyl-<i>myo</i>-inositols</u>	54
<u>3. L'adénophostine</u>	56
<u>3.1. Découverte et structure</u>	56
<u>3.2. Caractéristiques pharmacologiques</u>	56
<u>3.3. Relations structure/activité de l'adénophostine pour l'InsP₃R</u>	57
<u>4. Les récepteurs de l'Ins(1,4,5)P₃</u>	60
<u>4.1. Découvertes, variété et distribution</u>	60
<u>4.2. Structures et fonctions</u>	61
<u>4.3. Antagonisation des récepteurs de l'Ins(1,4,5)P₃</u>	63

<u>4.4. Structure tridimensionnelle de l'InsP₃R</u>	66
<u>5. Le calcium</u>	67
<u>5.1. Localisation et voies de libération</u>	67
<u>5.2. Rôles physiologiques</u>	68
<u>5.3. Caractéristiques de ce signal</u>	69
<u>6. Thérapies proposées ou en cours d'exploration</u>	70
<u>6.1. Troubles nerveux et <i>myo</i>-inositol</u>	70
<u>6.1.1. IMPase, lithium et troubles psychiques</u>	70
<u>6.1.2. Neurodégénéresence</u>	71
<u>6.1.3. Autres études cliniques : indications, échecs et contre-indications</u>	71
<u>6.2. Thérapie anticancéreuse</u>	72
<u>6.3. Le diabète</u>	75
<u>6.4. Le syndrome oculocérébro-rénal de Lowe ou OCRL</u>	75
<u>6.5. Invasions bactériennes</u>	75
<u>6.6. Autres indications possibles (non exhaustif), perspectives</u>	75
<u>6.7. Exemples issus de la pharmacopée</u>	76
<u>CHAPITRE II : SYNTHÈSE</u>	
<u>1. Finalités de nos synthèses</u>	79
<u>1.1. Outils pharmacologiques et/ou thérapeutiques</u>	79
<u>1.2. Modélisations moléculaires</u>	80
<u>2. Considérations générales, bibliographie</u>	83
<u>2.1. Réactivité du <i>myo</i>-inositol et synthèse des phosphates d'inositol</u>	83
<u>2.1.1. Nomenclature employée (rappel)</u>	83
<u>2.1.2. Initiation de la synthèse des phosphates d'inositol</u>	83
<u>2.1.3. Réactivité comparée des sucres et du <i>myo</i>-inositol</u>	84
<u>2.1.4. Développements chimiques issus de la bibliographie récente</u>	85
<u>2.1.4.1. Applications pharmacochimiques, quelques exemples récents</u>	86
<u>2.1.4.2. Quelques applications dans le domaine de la physique</u>	88
<u>2.2. Chimie et pharmacochimie autour du phosphore</u>	88
<u>2.2.1. Méthodes et réactifs de phosphorylation</u>	88
<u>2.2.2. Considérations pharmacochimiques des composés phosphorylés <i>in vivo</i></u>	89
<u>2.3. Intérêts et méthodes de résolution des racémiques</u>	90

<u>2.3.1. Intérêts pharmacologiques de la résolution des racémiques</u>	90
<u>2.3.2. Méthodes de résolution des composés racémiques</u>	91
<u>3. Stratégie de synthèse : voie des acétals</u>	92
<u>3.1. Schéma général</u>	92
<u>3.2. Couplage sur la position 2 via une fonction carbonyle</u>	96
<u>3.2.1. Synthèse d'inososes</u>	96
<u>3.2.2. Réaction de Grignard</u>	97
<u>3.2.3. Réaction d'oléfination de Wittig</u>	98
<u>3.2.4. Conclusion sur le recours à la fonction carbonyle</u>	98
<u>3.3. Activation de l'alcool de la position 2</u>	98
<u>3.3.1. Désencombrement stérique par tosylation puis déhydroxylation en 3</u>	98
<u>3.3.2. Inversion de la configuration de l'alcool en position 2</u>	99
<u>3.3.3. Augmentation de la réactivité en 2 par contrainte conformationnelle</u>	99
<u>4. Deuxième voie employée : voie de l'orthoester</u>	100
<u>4.1. Schéma général de la synthèse du nouvel intermédiaire de couplage</u>	100
<u>4.2. Synthèse des espaceurs protégés</u>	101
<u>4.3. Couplage des espaceurs sur la position 2</u>	102
<u>4.4. Élaboration des analogues avec l'espaceur propylique</u>	103
<u>4.5. Les réactions de Mitsunobu et de déallylation</u>	105
<u>4.5.1. Mécanismes</u>	105
<u>4.5.2. Mises en pratique</u>	106
<u>4.6. Synthèse et purification des produits phosphorylés</u>	107
<u>4.7. Élaboration des analogues avec l'espaceur butylique</u>	108
<u>4.8. Réactions modèles sur un système simplifié</u>	110
<u>4.9. Synthèse sur les dérivés possédant d'autres espaceurs</u>	110
<u>5. Stratégie de synthèse : route des antagonistes</u>	111
<u>5.1. Discussion du choix de la structure</u>	111
<u>5.2. Méthodes de synthèse employées</u>	111
<u>6. Tentatives de résolution des composés racémiques</u>	113
<u>6.1. Stratégies et méthodes utilisables</u>	113
<u>6.2. Esters synthétisés</u>	114
<u>6.3. Essais réalisés</u>	114

CHAPITRE III : PARTIE PHARMACOLOGIQUE**116**

<u>1. Matériel et méthode</u>	116
<u>2. Propriétés pharmacologiques des analogues de l'Ins(1,4,5)P₃</u>	117
<u>2.1. Résultats</u>	117
<u>2.2. Discussion</u>	119

CONCLUSION**PARTIE EXPÉRIMENTALE**

<u>1. Généralités concernant les expériences réalisées</u>	123
<u>1.1. Indications générales</u>	123
<u>1.2. Purification des produits, matériel et méthode</u>	123
<u>1.3. Analyse des produits</u>	125
<u>2. Protocoles</u>	127
<u>2.1. Voie des acétals : à partir du (±)-2,3-O-cyclohexylidène-<i>myo</i>-inositol</u>	127
<u>2.1.1. Intermédiaires communs</u>	127
<u>2.1.2. Synthèse des 9-<i>N</i>-(ω'-halogéno-alkyl)-adénines</u>	129
<u>2.1.3. Tentatives de couplages et synthèse de nouveaux réactifs de couplage</u>	131
<u>2.1.3.1. Tentatives de couplage des espaceurs purinylés sur <i>OH</i>-2 de l'inositol 154</u>	131
<u>2.1.3.2. Transhalogénéation de la 9-<i>N</i>-(2'-chloro-éthyl)-adénine 155</u>	132
<u>2.1.3.3. Synthèse de deux espaceurs protégés</u>	132
<u>2.1.3.4. Essais de couplage réalisés avec d'autres halogénures (voir tableau 7)</u>	133
<u>2.1.4. Passage en série carbonylée</u>	135
<u>2.1.4.1. Synthèse des inososes</u>	135
<u>2.1.4.1.1. Oxydation de l'alcool en 2 du cycle inositol par la réaction de Swern</u>	135
<u>2.1.4.1.2. Oxydation de l'alcool en 2 du cycle inositol par le chlorochromate de pyridinium (PCC)</u>	135
<u>2.1.4.2. Réactions de Grignard (schémas 8 et 9)</u>	136
<u>2.1.4.3. Réaction d'oléfination de Wittig sur l'inosose 166</u>	136
<u>2.2. Nouvelle voie de synthèse : à partir du <i>myo</i>-inositol 1,3,5-<i>O</i>-orthoformate</u>	137
<u>2.2.1. Synthèse du nouvel intermédiaire de couplage 191</u>	137
<u>2.2.2. Synthèse de nouveaux espaceurs protégés</u>	140
<u>2.2.3. Couplage des espaceurs sur la position 2 du composé 191 (voir tableau 8)</u>	142
<u>2.2.4. Élaboration des analogues avec l'espaceur propylique</u>	146
<u>2.2.4.1. Intermédiaires aux séries 3,4- et 3,6-di-<i>O</i>-benzylées synthétisés en commun</u>	146

<u>2.2.4.2. Série 3,6-di-O-benzylée</u>	148
<u>2.2.4.3. Série 3,4-di-O-benzylée</u>	152
<u>2.2.5. Élaboration des analogues avec l'espaceur butylique</u>	156
<u>2.2.5.1. Intermédiaires aux séries 3,4- et 3,6-di-O-benzylées synthétisés en commun</u>	156
<u>2.2.5.2. Série 3,6-di-O-benzylée</u>	158
<u>2.2.5.3. Série 3,6-di-O-benzylée comprenant le tautomère N-7 de la purine</u>	162
<u>2.2.5.4. Série 3,4-di-O-benzylée</u>	163
<u>2.2.6. Dernières étapes testées sur système simplifié : purinyl-octyl-phosphate</u>	165
<u>2.2.7. Autres dérivés envisagés</u>	167
<u>2.2.7.1. Série avec l'espaceur pentylique</u>	167
<u>2.2.7.2. Séries 4,6-di-O-benzylées, <i>in fine</i> 1,4,6-tris(phosphates)</u>	168
<u>2.3. Élaboration des analogues benzhydrylés</u>	171
<u>2.3.1. Couplage de l'espaceur benzhydrylé 243</u>	171
<u>2.3.2. Synthèse du réactif de couplage pour les analogues benzhydrylés</u>	171
<u>2.3.3. Couplage de l'espaceur benzhydrylé 245</u>	172
<u>2.4. Tentatives de résolution des composés racémiques</u>	176
<u>2.4.1. Synthèse du chlorure de l'acide camphanique</u>	176
<u>2.4.2. Synthèse des esters d'inositols diversement substitués</u>	176
<u>2.4.3. Protocole type de résolution enzymatique des racémiques</u>	178
<u>2.4.3.1. Intermédiaire chiral formé <i>in situ</i></u>	178
<u>2.4.3.2. Intermédiaire chiral présynthétisé</u>	178
<u>3. Spectres RMN des composés 105 et 233</u>	179
<u>3.1. RMN-¹H {³¹P} du composé 105</u>	179
<u>3.2. RMN-³¹P {¹H} du composé 105</u>	180
<u>3.3. RMN-¹H {³¹P} du composé 233</u>	181
<u>3.4. RMN-³¹P {¹H} du composé 233</u>	182
<u>4. Index des réactifs employés</u>	183
<u>ANNEXES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	
<u>1. Statistiques bibliographiques</u>	187
<u>2. Références citées</u>	188

ABRÉVIATIONS, ACRONYMES ET SYMBOLES*Généralités*

anc.	anciennement	fig.	figure
calc.	calculé	j	jour
<i>cf</i>	<i>confer</i> (comparez, se reporter à)	litt.	littérature
env.	environ	n. d.	non défini
<i>et al.</i>	<i>et alli</i> (et d'autres)	obs.	observé
et coll.	et collaborateurs	p. e.	par exemple
		vs	<i>versus</i>

Termes issus du domaine biologique (dont biochimie et pharmacologie)

aa	acide aminé
ADN	acide désoxyribonucléique
AMPc	adénosine 3',5'-monophosphate cyclique
ATP	adénosine triphosphate
BHE	barrière hémato-encéphalique
CE ₅₀	concentration générant 50 % de l'effet maximum
CI ₅₀	concentration inhibant 50 % de l'activité
DAG	1,2-diacylglycérol
DL ₅₀	dose létale pour 50 % des individus
FAK	protéine kinase d'adhésion focale
GABA	acide γ -aminobutyrique
GlcN	glucosamine
GMPc	guanosine 3',5'-monophosphate cyclique
GPI	glycosylphosphatidyl- <i>myo</i> - inositol
IMPase	inositol monophosphatase
IMPK	inositol polyphosphate multikinase
Ins	inositol (par extension le <i>myo</i> -inositol)
InsP	phosphate et polyphosphate de <i>myo</i> -inositol
InsP ₃ R	récepteur de l'Ins(1,4,5)P ₃
InsP ₆	<i>myo</i> -inositol hexakis(phosphate) ou acide phytique
Ins(1,4,5)P ₃	D- <i>myo</i> -inositol 1,4,5-tris(phosphate)
Ins(n)P	D- <i>myo</i> -inositol n-phosphate (n = 1-6)
Ins(n,n')P ₂	D- <i>myo</i> -inositol n,n'-bis(phosphate) (n, n' = 1-6), de même pour les tris, tétrakis et pentakis(phosphates)
IUB	Union Internationale de Biochimie
Kd	constante de dissociation
Ki	constante d'inhibition
Man	mannose

MAP	protéine activée par mitogénèse
MIPP	multiple inositol polyphosphate phosphatase
NAD ⁺	nicotinamide-adénine-dinucléotide (cofacteur, réduit en NADH)
n _H	nombre de Hill
PH	homologue de la pleckstrine
PITP	protéine de transfert du phosphatidyl- <i>myo</i> -inositol
PI3K	phosphatidyl- <i>myo</i> -inositol 3-kinase
PKA, PKC et PKG	protéines kinases A, C et G
PLA, PLC et PLD	phospholipases A, C et D
PTEN	phosphatase homologue de la tensine supprimée du chromosome 10 (désigne le gène et la protéine)
PtdIns	phosphatidyl- <i>myo</i> -inositol
PtdIns(n)P	phosphatidyl- <i>myo</i> -inositol n-phosphate (n = 1-6)
PtdIns(n,n')P ₂	phosphatidyl- <i>myo</i> -inositol n,n'-bis(phosphate) (n, n' = 1-6)
PtdIns(3,4,5)P ₃	phosphatidyl- <i>myo</i> -inositol 3,4,5-tris(phosphate)
[PP] _n InsP ₄	pyrophosphate(s) de phosphates d'inositol (n = 1 ou 2)
RCPG	récepteur couplé à une protéine G
RE (L/G)	réticulum endoplasmique (lisse/granuleux)
RS	réticulum sarcoplasmique
RSA	relations structure/activité
RyR	récepteur de la ryanodine
SHIP1/2	homologue 1/2 de Src contenant l'inositol-5-phosphatase (désigne le gène et la protéine)
SNC	système nerveux central
t _{1/2}	demi-vie

Unités de mesures courantes

atm	atmosphère (760 Torr ou mm Hg à 0°C)
cpm	coups par minute (radioactivité mesurée par un compteur)
Da, kDa	Dalton, kilo Dalton
g•mol ⁻¹	gramme par mole
h	heure
MHz	méga Hertz
min	minute
mol, mmol, μmol	mole, millimole (10 ⁻³ mole), micromole (10 ⁻⁶ mole)
M, mM, μM, nM, pM	molaire (mole par litre), millimolaire, micromolaire, nanomolaire, picomolaire
pS	pico Siemens (conductance)
s	seconde

Termes issus des domaines chimique et physique

Ac	acétyle
AcOEt	acétate d'éthyle
Alk	alkyle
All	allyle
AllBr	bromure d'allyle
Bn	benzyle
BnBr	bromure de benzyle
Bu	butyle
Bz	benzoyle
cat.	catalytique
CCM	chromatographie sur couche mince
COSY	spectroscopie corrélée
Cr	crotyle
CrBr	bromure de crotyle
DABCO	1,4-diazabicyclo [2,2,2] octane
DCC	dicyclohexylcarbodiimide
DCM	dichlorométhane
DEAD	diéthylazodicarboxylate
DHP	3,4-dihydro-2-H-pyrane
DIA	diisopropylamine
DIAD	diisopropylazodicarboxylate
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
éq.	équivalent
Et	éthyle
EtOH	éthanol
H ₂ O [∞]	eau "milli-q"
HMPT	hexaméthylphosphorotriamide
HMBC	corrélations liaisons-multiples hétéronucléaires
HPLC	chromatographie liquide haute pression
HSQC	corrélations quantum-unique hétéronucléaires
IUPAC	Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée
IR	infrarouge
LTBH	triéthylborohydrure de lithium ("super hydrure")
<i>m</i> CPBA	acide <i>meta</i> -chloro-perbenzoïque
Me	méthyle
MeOH	méthanol
MM	masse molaire
MR	milieu réactionnel
NaBH ₄	borohydrure de sodium

P°	pression
P. A.	pour analyse
P _{atm}	pression atmosphérique
PCC	pyridinium chlorochromate
Pf	point de fusion
Ph	phényle
Pi	phosphore inorganique (phosphate en général)
Pr	propyle
pTSA	acide <i>para</i> -toluène sulfonique
ρ	rendement
R _f	front de rétention
RMN	résonance magnétique nucléaire
RX	rayons X
SM	spectrométrie de masse
"solvant" _a	"solvant" anhydre (ex. : DCMA)
SN	substitution nucléophile
T°	température
T. A.	température ambiante
TBAF	fluorure de tétrabutylammonium
TBAI	iodure de tétrabutylammonium
TBS	<i>tert</i> -butyldiméthylsilyle
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -butyle
<i>t</i> BuOK	<i>tert</i> -butanolate de potassium
TEA	triéthylamine
Téb	température d'ébullition
THF	tétrahydrofurane
THP	tétrahydropyrane
TMA	tamis moléculaire activé
Ts	tosyle
UV	ultraviolet

Les abréviations sont explicitées *in extenso* lors de leur première occurrence dans le texte. Celles utilisées une seule fois ne sont donc pas reprises ici. Les autres abréviations, spécifiques de la partie expérimentale, sont rappelées dans les généralités qui précèdent les protocoles.

LISTES DES FIGURES, SCHÉMAS ET TABLEAUX

Liste des figures

Figure 1 : le <i>myo</i>-inositol (1) (plan de symétrie passant par les carbones 2 et 5), conformation chaise du <i>myo</i>-inositol et la tortue d'Agranoff.	28
Figure 2 : le phosphatidyl-<i>myo</i>-inositol 4,5-bis(phosphate) (2) ou PtdIns(4,5)P₂.	28
Figure 3 : biosynthèse <i>de novo</i> du D-<i>myo</i>-inositol(3)P (selon Sherman et coll.).²²	30
Figure 4 : le D-<i>myo</i>-inositol 1,4,5-tris(phosphate) (3) et son antipode optique le D-<i>myo</i>-inositol 3,5,6-tris(phosphate).	32
Figure 5 : voie de libération de l'Ins(1,4,5)P₃ (3).	33
Figure 6 : spécificité du site de coupure des phospholipides par les phospholipases (J. H. Weil).¹⁴	34
Figure 7 : rôle cellulaire de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) et cycle de l'Ins.	35
Figure 8 : voies métaboliques <i>in vivo</i> de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) (de gauche à droite) chez les animaux, les levures et les végétaux (d'après S. B. Shears et coll.).⁴⁸	36
Figure 9 : le cycle de l'inositol chez <i>Dictyostelium discoideum</i> (d'après S. B. Shears et coll.).⁴⁹	36
Figure 10 : arbre phylogénétique de la PKC humaine (d'après Parker <i>et al.</i>).⁵⁰	37
Figure 11 : 13-<i>O</i>-acétate 12-<i>O</i>-tétradécanoylphorbol.	37
Figure 12 : modifications en C-2 et/ou C-3 de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) (seuls les changements de R sont cités).	38
Figure 13 : transposition du produit 18 en son équivalent 19 en série (1,4,5)P₃ (R suivi de sa position = phosphate) afin de faciliter les comparaisons des RSA.	39
Figure 14 : analogues 3-déoxy de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) dans les deux configurations absolues du C-4.	39
Figure 15 : Ins(1,4,5)P₃ (3) et son analogue 2,3,6 tri-déoxy (21).	40
Figure 16 : analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) modifiés sur la position 6.	40
Figure 17 : conformation globalement retrouvée pour les phosphates et OH-6 de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) et de l'Ins(1,4,6)P₃ (27).	41
Figure 18 : analogie de l'Ins(1,3,6)P₃ en série (1,4,5)P₃.	42
Figure 19 : dérivés tris(phosphates) de l'Ins.	42
Figure 20 : analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) comportant un ou deux phosphates supplémentaires.	43
Figure 21 : exemples de phosphates cycliques d'inositol.	44
Figure 22 : analogues thiophosphorylés et métaboliquement stables de l'Ins(1,4,5)P₃ (3).	44
Figure 23 : analogues tétrakis(phosphorothioates) (R¹ = Me, H) et tétrakis(phosphate).	44
Figure 24 : analogues phosphorofluoridatés de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) (Yoshimura <i>et al.</i>).⁸⁵	45
Figure 25 : analogues soufrés de l'Ins(1,4,5)P₃ (3).	45
Figure 26 : Ins(1,4,5)P₃ dimérique, n variable (d'après Riley <i>et al.</i>).⁸⁹	45

Figure 27 : analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) construits sur un cycle polyinsaturé.	46
Figure 28 : analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) dérivés du D-xylose et leur Cl₅₀ d'après Y. Chapleur et coll..⁹²	46
Figure 29 : contraction du cycle de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) en un cyclopentane (59).	46
Figure 30 : dérivés cyclopentaniques de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) synthétisés par Potter et coll..⁹³	47
Figure 31 : nouveaux analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ dérivant du cyclopentane (G. Schlewer et coll..⁹⁴	47
Figure 32 : exemples d'analogues de photoaffinité de l'Ins(1,4,5)P₃ (3).	47
Figure 33 : conclusions des RSA de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) pour l'InsP₃R.	48
Figure 34 : rôle des alcools de l'Ins(1)P dans le site actif de la monophosphatase proposé (Cole <i>et al.</i>)¹⁰³	49
Figure 35 : conversions de l'InsP₅ (68) à l'InsP₈ (InsP₆ (69), [PP]-InsP₄ (70), [PP]-InsP₅ ou "InsP₇" (71), [PPP]-InsP₄ ou [PP]₂-InsP₃ (72), [PP]₂-InsP₄ ou "InsP₈" (73) d'après S. B. Shears.¹¹⁵	51
Figure 36 : structure commune des ancrs-GPI (Xaa = aa C-terminal, R = acyl, alkyl).	54
Figure 37 : adénophostines A (74) et B (75).	56
Figure 38 : activités potentielles relatives à l'Ins(1,4,5)P₃ (3) de l'adénophostine A (74) et de ses analogues synthétisés (d'après V. Correa <i>et al.</i>)¹⁵²	58
Figure 39 : analogues bicycliques de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) inspirés de l'adénophostine (Potter et coll..¹⁵³	58
Figure 40 : dérivés de l'adénophostine modifiés sur la purine (Rosenberg <i>et al.</i>)¹⁵⁴	59
Figure 41 : analogues de l'adénophostine à partir du D-xylose (Y. Chapleur et coll..¹⁵⁵	59
Figure 42 : alignement des séquences des isoformes d'InsP₃R selon Bezprozvanny.¹⁵⁸	60
Figure 43 : structure primaire de l'InsP₃R1 du rat (d'après Bezprozvanny)¹⁵⁸	61
Figure 44 : spermidine (91), vérapamil (92), xestospongine C (93) et 2-aminoéthoxydiphényl borate (94) décrits comme antagonistes de l'InsP₃R.	64
Figure 45 : schématisations de la partie cytoplasmique de l'InsP₃R et dynamique.^{178, 179}	66
Figure 46 : interactions des résidus amino-acides du site de liaison de l'InsP₃R1 de souris avec l'Ins(1,4,5)P₃ (3) et six molécules d'eau (W1 à 6) et fermeture de la "pince" α-β (par Bosanac <i>et al.</i>)⁹⁵	67
Figure 47 : le mécanisme du signal calcique intracellulaire (d'après Berridge <i>et al.</i>)¹⁸³	68
Figure 48 : analogues éthers de 3-déoxy-3-substitué-D-<i>myo</i>-inositol imidazolyl et d'acylphosphates et d'acylcarbonate inhibiteurs de la voie PI3K et de croissance tumorale.	73
Figure 49 : inhibiteurs naturels ou synthétique* de PI3K.	74
Figure 50 : tripyrophosphate de <i>myo</i>-inositol (C. Nicolau et coll..²⁵⁰	76

Figure 51 : sous-structures amino-inositols des antibiotiques KA-3093 (96), méthoxyhygromycine (97), hygromycine A (98), minosaminomycine (99), et fortimycine (100).	76
Figure 52 : structures de l'Ins(1,4,5)P₃ (3), des adénophostines (structure générique 101) et de nos buts de synthèse (structures génériques 102 et 103).	79
Figure 53 : ajustement dans l'InsP₃R1 cristallisé A) structure cristallographique (cyan) superposée à la structure ajustée (blanc) de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) ; B) structure ajustée de l'adénophostine A (74).	80
Figure 54 : C) structure ajustée de l'analogue 104 (chaîne propylique) ; D) structure ajustée de l'analogue 105 (chaîne butylique) ; E) structure ajustée de l'analogue 106 (chaîne pentylique) ; F) structure ajustée du dérivé benzhydrylé 107 (chaîne propylique).	81
Figure 55 : exemples de matières premières utilisées pour la synthèse de phosphates de <i>myo</i>-inositol.	84
Figure 56 : handicaps de la chimie de l'inositol par rapport à la chimie des sucres.	84
Figure 57 : tris(spirotétrahydrofurane) 120 sous forme de dimère chélatant Li⁺ (L. Paquette <i>et al.</i>).²⁸⁰	86
Figure 58 : nouveaux dérivés bicycliques de l'Ins (Ramesh <i>et al.</i>).²⁸¹	86
Figure 59 : bis-homoinositol (par Balci et coll.).²⁸²	86
Figure 60 : représentation schématisée du <i>myo</i>-inositol et des inhibiteurs potentiels dans le site de liaison de l'IMPase.¹⁰²	87
Figure 61 : nouveaux amino et di-amino inositols (respectivement 125 et 126) (Watanabe <i>et al.</i>).²⁵²	87
Figure 62 : inhibiteurs (128-130) de glycosidases dérivés du (-)-<i>vibo</i>-quercitol 127 (Korenaga <i>et al.</i>).²⁸³	87
Figure 63 : nouveaux inhibiteurs de la 5-phosphatase de B. V. L. Potter et coll..⁸³	88
Figure 64 : polymère 133 d'inositol comme support de colonne chromatographique haute résolution.	88
Figure 65 : exemples de molécules ayant des propriétés énantio-spécifiques.	90
Figure 66 : agents utilisés pour la résolution optique dans les synthèses d'InsP.	91
Figure 67 : 9-<i>N</i>-vinyl-adénine 159 produit d'élimination formé à partir du réactif halogéné 155.	94
Figure 68 : dérivés inososes envisagés et/ou obtenus par synthèse.	97
Figure 69 : produits de couplage sur la position 2 du composé 191 obtenus.	102
Figure 70 : esters synthétisés permettant d'aboutir à une résolution optique d'inositols racémiques.	114
Figure 71 : courbes semi-logarithmiques, représentant la liaison spécifique à l'InsP₃R de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) à gauche et, à droite, celle du composé 105.	117
Figure 72 : à gauche, courbe de libération dose-dépendante du Ca²⁺ par le composé 105 obtenue par des mesures de fluorescence (exemple à droite).	117
Figure 73 : courbes semi-logarithmiques, représentant la liaison spécifique à l'InsP₃R de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) et celle du mélange 233.	118

Figure 74 : courbes de libération dose-dépendante du Ca²⁺ par l'Ins(1,4,5)P₃ (3) et le mélange 233.	118
Figure 75 : spectre RMN-¹H {³¹P} du composé 105.	179
Figure 76 : spectre RMN-³¹P {¹H} du composé 105.	180
Figure 77 : spectre RMN-¹H {³¹P} du composé 233.	181
Figure 78 : spectre RMN-³¹P {¹H} du composé 233.	182

Liste des schémas

Schéma 1 : phosphorylation <i>via</i> un intermédiaire phosphitylé.	89
Schéma 2 : A) formation du TBPP (136), B) son usage dans la phosphorylation.	89
Schéma 3 : synthèse de l'intermédiaire-clé de couplage 154 et tentatives de couplages des espaceurs purinylés 155 à 157.	92
Schéma 4 : synthèses possibles de mono-acétals de <i>myo</i>-inositol (Massy <i>et al.</i>).³⁰³	93
Schéma 5 : transhalogénéation du produit 155 en son dérivé iodé 160.	94
Schéma 6 : synthèse des espaceurs protégés par un tétrahydropyranyle (THP).	96
Schéma 7 : fonctionnalisations envisageables sur un inosose.	96
Schéma 8 : réactions de Grignard, réactions modèles réalisées.	97
Schéma 9 : essai de la réaction de Grignard sur l'inosose 168.	97
Schéma 10 : tentative de la réaction de Wittig sur l'inosose 166.	98
Schéma 11 : diminution de la gêne stérique en 2 par déhydroxylation en 3.	98
Schéma 12 : suggestion de désencombrement de la position 2.	99
Schéma 13 : réaction de réduction stéréosélective, produit 182 formé au détriment du composé 181.	99
Schéma 14 : mécanisme réactionnel de la formation de l'orthoformate d'inositol (183).	100
Schéma 15 : synthèse de l'intermédiaire-clé de couplage 191.	100
Schéma 16 : synthèses de nouveaux espaceurs protégés.	101
Schéma 17 : synthèse des dérivés tris(phosphates) 104 et 219.	103
Schéma 18 : mécanisme de la réaction de Mitsunobu.	105
Schéma 19 : isomérisation de l'allyle par un dérivé du rhodium (I) suivie de l'hydrolyse acide déprotégeant l'alcool (d'après Corey <i>et al.</i>).³⁴¹	105
Schéma 20 : synthèse des analogues avec l'espaceur butylique.	108
Schéma 21 : réactions modèles des dernières étapes de nos schémas de synthèse et essais d'amination sur un système simplifié.	110
Schéma 22 : synthèse des dérivés benzhydrylés.	112

Liste des tableaux

Tableau 1 : structures des différents stéréomères d'inositols.	27
Tableau 2 : résumé des principales données du <i>myo</i> -inositol.	29
Tableau 3 : classes ou sous-classes de récepteurs connues pour stimuler le métabolisme des phosphatidyl-inositols. ^{20, 36-38}	33
Tableau 4 : propriétés pharmacologiques de l'Ins(1,4,5)P ₃ (3), de l'adénophostine A (74) et une partie de ses analogues modifiés sur la purine, établies par Rosenberg <i>et al.</i> ¹⁵⁴	59
Tableau 5 : interactions des phosphates de l'Ins(1,4,5)P ₃ (3) avec les aa arginine (R), glycine (G), lysine (K), thréonine (T) et tyrosine (Y) des domaines α et β du site de liaison de l'InsP ₃ R1 (d'après Bosanac <i>et al.</i>). ⁹⁵	66
Tableau 6 : valeurs de l'ajustement et taux d'enfouissement de différents ligands dans le site actif de l'InsP ₃ R cristallisé.	81
Tableau 7 : essais de couplages sur des Ins diversement protégés et le BnOH, avec des dérivés purinylés (155 à 157 et 160) et d'autres halogénures (la plupart avec une chaîne éthyle ou propyle).	95
Tableau 8 : réactions de couplage tentées sur la position 2 de l'orthoester 191.	102
Tableau 9 : variation des conditions réactionnelles dans l'isomérisation du groupement allyle.	107
Tableau 10 : fréquences de résonance des noyaux observés pour les différents spectromètres RMN.	125

INTRODUCTION

Le D-*myo*-inositol 1,4,5-tris(phosphate) ou $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ a été caractérisé comme second messager cellulaire par Streb *et al.* en 1983. Les travaux de nombreuses équipes de par le monde ont permis d'explicitier ses relations structure/activité (RSA) dans les années 80-90. Les travaux relatifs à l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ ont produit de nombreux analogues dont l'activité est, au mieux, à peine supérieure à celle du composé parent. En 1993, Takahashi et coll. isolent les adénophostines A et B à partir d'un organisme unicellulaire. Ces composés ont montré des propriétés agonistes sur le récepteur de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ (InsP_3R) d'un niveau 10 à 100 fois supérieur au composé endogène. Là-encore les analogues de synthèse n'ont pas dépassé l'activité du composé d'origine biologique.

Mon projet, démarré lors de mon DEA, concerne les RSA autour de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$, afin de contribuer aux connaissances des interactions entre ce ligand et son récepteur.

Étayé par différentes approches de modélisation moléculaire, ce travail vise à retrouver les propriétés pharmacologiques de l'adénophostine, voire de les dépasser, par la synthèse de composés chimères à partir de la structure de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$. Cette voie, jusque-là inexplorée parmi les analogues connus de l'adénophostine et de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$, s'est traduite par des schémas de synthèse multi-étapes relativement ardu dans la pratique.

Les études de modélisations moléculaires, tout d'abord par l'analyse conformationnelle puis intégrant les données cristallographiques fines de l' InsP_3R parues en 2002 en cours de thèse, nous ont encouragés également dans notre projet. Ces nouvelles données structurales nous permirent de redéfinir à la fois les priorités et de nouveaux buts de synthèse.

L' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$, ainsi que ses récepteurs, peuvent être reliés à de nombreuses pathologies, notamment par le signal calcique induit par ce composé dans la cellule et ses implications ubiquitaires. Nous espérons, par la synergie des motifs cruciaux de l'adénophostine et de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$, pouvoir fournir de bons outils pharmacologiques. En outre, l'obtention de composés énantiomériquement purs permet dans un premier temps, d'affiner les mesures pharmacologiques et dans un deuxième temps, de préciser la nature des interactions structurales en jeu par un cliché aux rayons X (RX) du composé co-cristallisé avec l' InsP_3R . *In fine*, des composés très puissants, agonistes ou antagonistes, sélectifs et biodisponibles seraient très utiles pour la mise au point de nouveaux médicaments contre des pathologies aussi diverses que la maniaque-dépression, le diabète ou le cancer, en agissant soit sur l' InsP_3R , soit sur différentes enzymes impliquées dans le métabolisme de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ et de ses dérivés.

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS

1. Communication cellulaire

1.1. Universalité dans le monde du vivant

Du micro-organisme unicellulaire procaryote aux êtres multicellulaires les plus complexes, dans le règne végétal aussi bien que dans le règne animal, chaque espèce vivante perçoit des *stimuli* extracellulaires dont l'action doit être transmise jusqu'aux différents compartiments de leur(s) cellule(s). Qu'il s'agisse d'un facteur de stress (sécheresse, pression p. e.) ou trophique (lumière, nutriment p. e.), il est indispensable de relayer cette information de manière univoque et rapide. La communication établie entre les cellules, les organes, voire d'un micro-organisme à un autre, met en place des réactions en chaîne qui se produisent depuis des milliers, voire des millions d'années. L'essence même de la transduction du signal est le passage d'un *stimulus* de l'extracellulaire à l'intracellulaire et éventuellement jusqu'à l'intranucléaire, régulant ainsi le génome.ⁱ Cette myriade de cascades de réactions biochimiques, qui peuvent se dérouler dans pratiquement tous les compartiments cellulaires,ⁱⁱ est loin d'être totalement caractérisée.

1.2. Enjeux fonctionnels

De la croissance à la reproduction d'une espèce, de son adaptation au milieu environnant, de sa résistance à d'autres cellules (bactéries) ou virus, les enjeux liés à la communication cellulaire sont autant de critères vitaux qui impliquent des systèmes performants permettant à terme le maintien de la cellule et/ou de l'organisme dans un état physiologique convenable. Ces systèmes de transferts d'informations doivent pouvoir fonctionner en parallèle sans se parasiter, c'est-à-dire être autonomes et spécifiques de certains *stimuli* indépendants ou regroupés en familles, impliquant généralement des structures membranaires spécifiques.² A ce jour, de nombreuses machineries relativement complexes et distinctes ont été décrites pour une multitude d'organismes vivants, de même que certaines des pathologies liées à leur dérèglement.

1.3. Voies de cette communication inter- et intracellulaire

L'indispensable communication inter- et intracellulaire d'un organisme pluricellulaire a recours à différents types de mécanismes : ¹

- les cellules sécrètent des substances chimiques, telles que les hormones ou les neurotransmetteurs, qui vont agir sur elles-mêmes (voie autocrine), sur des cellules voisines (voies paracrine et juxtacrine) ou à distance en passant par le système circulatoire (voie endocrine),

- les cellules établissent des contacts directs entre elles, par l'intermédiaire de molécules liées à la membrane plasmique, cette voie intervient principalement au cours du développement de l'organisme et dans les réponses immunitaires,

- les cellules peuvent procéder à des échanges directs de petites molécules par l'intermédiaire des jonctions lacunaires.

Les molécules (ligands) employées par les cellules des animaux supérieurs comprennent des protéines ou des petits peptides, voire des acides aminés (aa), des nucléotides, des stéroïdes, des rétinoïdes, des dérivés d'acides gras et même des gaz dissous, tels que l'oxyde nitrique ou le monoxyde de carbone. Elles peuvent être sous forme libre et diffuser à travers la membrane plasmique ou sous forme ancrée et rester ainsi solidement fixées à la surface de la cellule afin d'interagir par contact direct avec les autres cellules.ⁱⁱⁱ

1.4. Seconds messagers

Les seconds messagers sont des molécules intracellulaires responsables de la médiation des signaux externes dans le milieu cellulaire.

L'origine de l'hypothèse qu'un composant de la membrane cellulaire puisse être impliqué dans la communication cellulaire serait due à Mabel et Lowell Hokin de l'Université de Montréal qui, en 1953, ont observé l'incorporation du phosphate radiomarqué au ³²P dans des phospholipides membranaires, après stimulation des récepteurs muscariniques de fragments pancréatiques de pigeon par l'acétylcholine.^{iv}

En 2005, on dénombre encore une petite quantité de seconds messagers, la plupart sous forme circulante, dont l'adénosine 3',5'-monophosphate cyclique (AMPc) qui fut le premier à être découvert par Earl W. Jr Sutherland et Theodore Rall en 1958 en observant les effets de l'adrénaline, le premier messenger étant l'hormone elle-même.^{v, vi} Ont été ensuite identifiés comme seconds messagers la guanosine 3',5'-monophosphate cyclique (GMPc), le 1,2-diacylglycérol (DAG) qui reste ancré dans la membrane, l'Ins(1,4,5)P₃ (détaillé dans la partie 2.2.1.) par Streb *et al.*^{vii} en 1983, faisant suite en particulier aux travaux de Robert H. Michell^{viii, ix} dans les années 70, ainsi que l'acide arachidonique et l'ion calcium (Ca²⁺, détaillé dans la partie 5.).³ D'autres dérivés de l'inositol suscitent un intérêt croissant pour leur rôle potentiel de second messenger (sujet abordé dans les parties 2.2.3. et 2.3.).

1.5. Récepteurs

Les récepteurs de la membrane plasmique, dits récepteurs de surface ou ceux des organites intracellulaires peuvent appartenir à l'une des trois catégories suivantes :²

- un récepteur formant un canal ionique transmembranaire, appelé récepteur-canal ou canal chimio-dépendant, comme le récepteur de la nicotine et de l'acétylcholine qui forme un canal sodique dont l'efflux dépolarise la membrane (potentiel d'action post-synaptique dans la conduction nerveuse),^x

- un récepteur couplé à une protéine G (activité guanylate cyclase p. e.) lié par des peptides hormonaux ou des neuropeptides,²

- un récepteur à activité enzymatique liant des hormones ou des cytokines (activités p. e. kinase et phosphatase, estimées respectivement à 2000 et 300 protéines théoriquement décodables du génome humain).^{xi}

2. Les inositols et leurs dérivés

2.1. Les inositols

2.1.1. Stéréomères

C'est en 1850 qu'un composé possédant la formule empirique d'un sucre (formule brute $C_6H_{12}O_6$), fut isolé d'un tissu musculaire par Scherer et appelé "inositol" (*inos* signifiant muscle en grec).^{xii} Il fut ensuite prédéfini comme étant l'un des neufs stéréomères possibles de cyclohexanehexol par Bouveault en 1894 (tableau 1).^{xiii} Par la suite, le suffixe -ol fut ajouté ainsi que le préfixe *meso*, qui devint plus tard le préfixe *myo* (signifiant aussi muscle, en latin) conduisant à l'appellation *myo*-inositol. Parmi les neuf stéréomères possibles (*scyllo*-, *myo*-, *neo*-, *epi*-, *cis*-, *muco*-, *allo*-, *D-chiro*- et *L-chiro*-inositol) (tableau 1), le *myo*-inositol est le plus abondant dans le monde du vivant. C'est aussi le plus abondant des pseudo-sucre (parmi les polyalcools cycliques ou cyclitols).^{xiv}

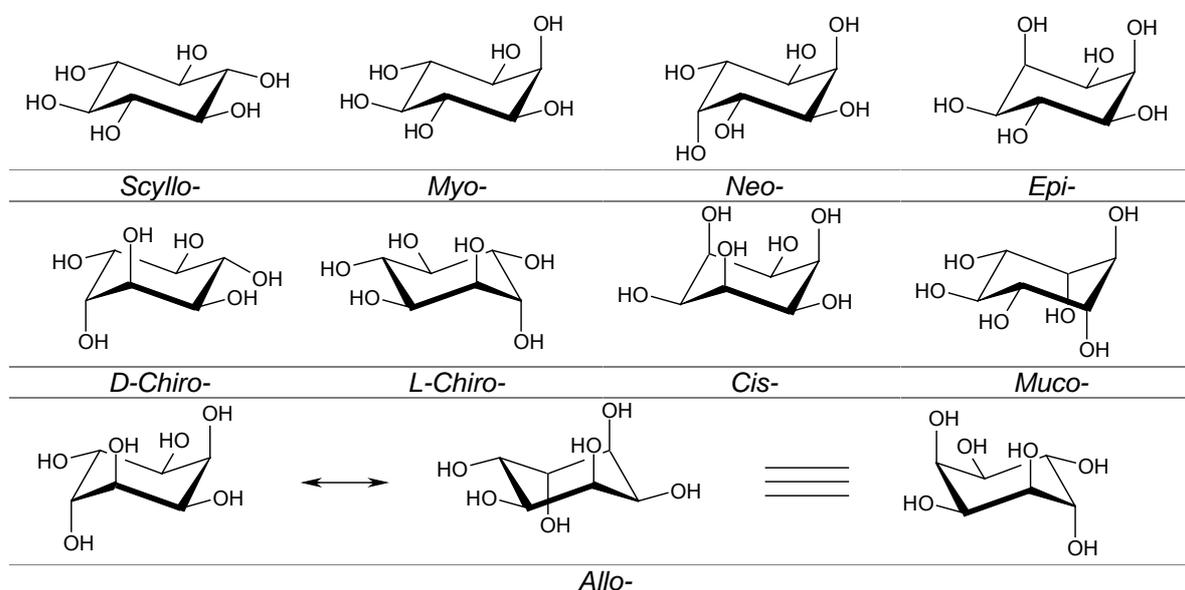


Tableau 1 : structures des différents stéréomères d'inositols.

La structure et la configuration du *myo*-inositol ont été déterminées par S. J. Angyal et C. Anderson en 1959.^{xv} Comme les isomères *cis*-, *epi*-, *muco*-, *neo*-, *scyllo*-, ainsi que le *myo*-inositol possèdent au moins un plan de symétrie, ces composés sont *meso* (optiquement inactifs). Le dérivé *allo*- est également *meso*, car possédant ses propres énantiomères, au sein de ses différentes conformations de type chaise. L'isomère *scyllo*- n'a pas d'hydroxyle axial, *myo*- en a un, *epi*- et *neo*- en ont deux et les isomères *allo*-, *cis*- et *muco*- en ont trois.

2.1.2. Le *myo*-inositol

2.1.2.1. Structure et nomenclature

Le *myo*-inositol (**1**) est un hexa-hydroxycyclohexane (ou cyclohexanehexol) qui, dans sa conformation thermodynamiquement la plus stable (chaise), possède cinq de ses hydroxyles en position équatoriale et le dernier en position axiale (fig. 1).

La position 2 du cycle est attribuée à l'hydroxyle axial, qui selon le modèle d'Agranoff, proposé en 1978 comme moyen mnémotechnique (reconnu par l'IUPAC, Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée) et représenté dans la figure 1, équivaut à la tête redressée d'une tortue.^{xvi} Les autres membres sont définis dans le plan moyen.

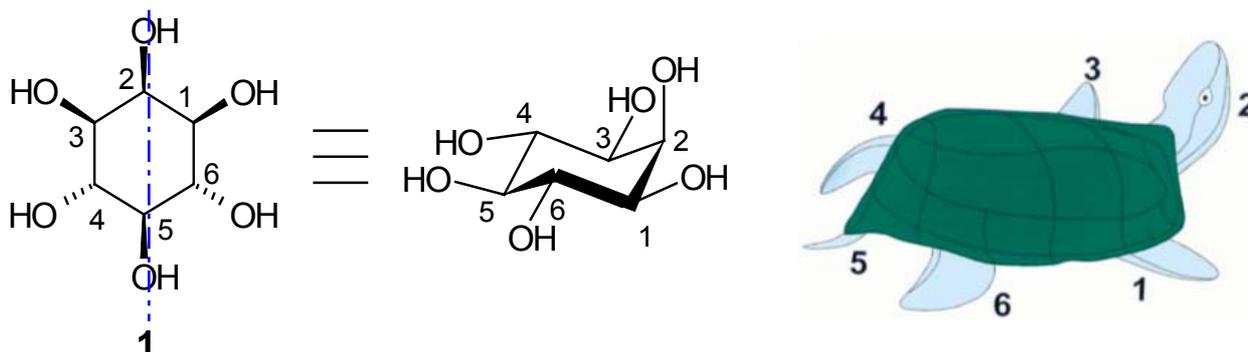


Figure 1 : le *myo*-inositol (**1**) (plan de symétrie passant par les carbones 2 et 5), conformation chaise du *myo*-inositol et la tortue d'Agranoff.

La position 1 correspond à celle du carbone portant le phosphate lié au 1,2-diacylglycérol (DAG) dans les phosphatidyl-inositols (PtdIns), dont un exemple est représenté dans la figure 2. On numérote les autres positions à partir de celle-ci en tournant dans le sens anti-horaire. Nous utiliserons cette convention de l'IUPAC dans ce document.

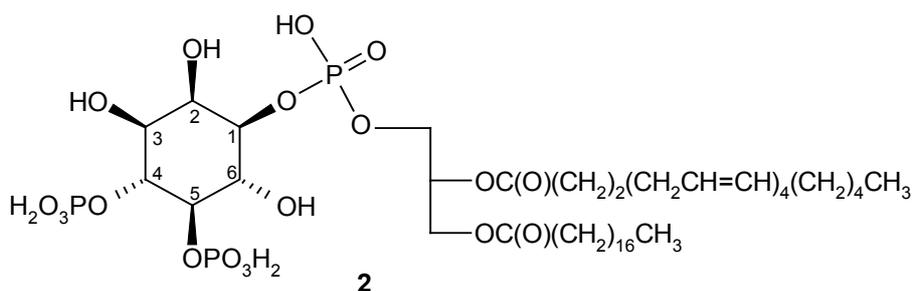


Figure 2 : le phosphatidyl-*myo*-inositol 4,5-bis(phosphate) (**2**) ou PtdIns(4,5)P₂.

Cette nomenclature des inositols et de leurs dérivés résulte de plusieurs conventions destinées à résoudre la relative confusion observable dans la littérature. Ces commissions de l'IUPAC s'étaient ainsi réunies plusieurs fois au cours des années 1980 afin de fixer des règles précises de nomenclature des inositols et des cyclitols en général. Elles ont également fait des recommandations pour la nomenclature des molécules du vivant contenant des atomes de phosphore (phospholipides, p. e.). Nous appliquerons également les points suivants : le symbole Ins a été donné à l'inositol et suggéré en tant que synonyme de *myo*-inositol avec la numérotation de la configuration 1-D par défaut.^{xvii}

2.1.2.2. Principales données

Aspect	Cristal blanc inodore
Densité	1,752 g•cm ⁻³
Formule brute	C ₆ H ₁₂ O ₆
Incompatibilité chimique	Avec les oxydants forts
Masse molaire	180,16 g•mol ⁻¹
Numéro CAS	87-89-8
Pf	224-225°C (voire 222-227°C)
Produits de décomposition	CO, CO ₂ , fumées toxiques et irritantes
Risques chimiques	R 22 à 25 : potentiellement irritant des voies respiratoires et digestives, des yeux et de la peau
Risques NFPA (de 0 à 3) ¹	0 pour l'inflammabilité et l'instabilité 1 pour la santé
Solubilité	Eau, DMSO, DMF à 100°C env.
Stabilité (à P° et T° normales)	Oui, pas de polymérisation rapportée
Toxicité intrapéritonéale (rat)	DL ₅₀ > 3 g / kg
Toxicité intraveineuse (rat)	DL ₅₀ > 750 mg / kg
Toxicité orale (souris)	DL ₅₀ = 10 g / kg

Tableau 2 : résumé des principales données du *myo*-inositol.^{xviii}

2.1.2.3. Origine et distribution cellulaire

2.1.2.3.1. Source alimentaire et recyclage

Chez l'homme, l'Ins provient en partie de son alimentation en végétaux (fruits et légumes). Le taux est estimé à 1 g par jour.^{xix} Il semble que toutes les cellules maintiennent un niveau substantiel d'Ins dans leur cytosol, généralement supérieur à celui du milieu extracellulaire.^{xx}

L'Ins intracellulaire peut être obtenu par action de l'inositol monophosphoestérase (monophosphatase, IMPase détaillée en 2.2.3.1.) sur l'Ins(1)P et l'Ins(3)P. Cette monophosphatase est également capable de déphosphoryler les Ins(4)P et Ins(6)P. *In vitro* elle est capable de déphosphoryler l'Ins(5)P.²⁰

2.1.2.3.2. Biosynthèse *de novo* du *myo*-inositol et catabolisme

La troisième source de *myo*-inositol dans la cellule est sa propre synthèse *de novo* dont l'étude mécanistique a suscité de nombreux travaux, notamment par spectrométrie de masse dans les années 1960.^{xxi} De nombreux auteurs en détaillent les étapes, analysent les intermédiaires formés et les enzymes en jeu, notamment W. R. Sherman et coll. en 1977.^{xxii}

¹ Risques mentionnés aux États-Unis d'Amérique par l'Agence Nationale de Protection du Feu (NFPA)

La réaction débute par l'oxydation du glucose(6)P avec le cofacteur NAD^+ (nicotinamide-adénine-dinucléotide) en D-xylohexos-5-ulose(6)P qui réagit par condensation aldolique interne^{xxiii, xxiv} (mécanisme de type Ferrier)^{xxv} menant au *myo*-inosose-2(1)P qui est réduit en D-*myo*-inositol(3)P par le NADH précédemment généré (fig. 3). Toujours d'après Sherman, l'InsP synthétase étudiée n'a pas pu être caractérisée comme une aldolase classique (type I ou II) même si le mécanisme de cyclisation reste baso-catalysé, d'autres critères n'étant pas satisfaits. La synthétase a pu être identifiée chez les procaryotes et les eucaryotes, elle a été clonée à partir de cyanobactéries, levures, champignons, algues, protozoaires et différentes espèces animales et végétales.^{xxvi} La deuxième étape est la déphosphorylation du composé précédent par une phosphatase Mg^{2+} -dépendante (l'IMPase qui intervient aussi dans le recyclage).

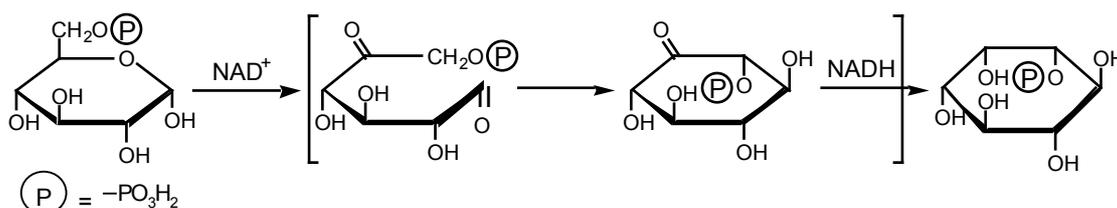


Figure 3 : biosynthèse *de novo* du D-*myo*-inositol(3)P (selon Sherman et coll.).²²

Cette biosynthèse a lieu dans le cerveau, le foie et les testicules. On estime à 4 g par jour la quantité d'Ins synthétisable par les reins, qui sont aussi les organes majeurs impliqués dans son catabolisme et son excrétion.¹⁹ Cette synthèse *de novo* est également soumise à un contrôle hormonal, ainsi qu'à un rétro-contrôle par l'Ins. En effet, l'Ins(3)P est soumis à l'action de l'Ins 3-phosphatase, qui libère l'Ins, ce dernier inhibant l'Ins(3)P synthétase lorsque sa concentration cellulaire atteint 400 μM .²⁰

Le contrôle génétique de cette biosynthèse est encore mal connu chez l'homme, au contraire de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.^{xxvii} La séquence nucléotidique du gène de l'Ins(3)P synthétase est hautement conservée de la levure aux humains. INO1, le gène codant pour cette enzyme, est le plus régulé parmi ceux impliqués dans la biosynthèse de phospholipides. Cette richesse de connaissances fait de cette levure un modèle de choix pour étudier le métabolisme de l'Ins.

L'Ins est catabolisé uniquement par une conversion, *via* une oxygénase spécifique, en acide D-glucuronique dans les reins, suivie d'une transformation en D-xylulose(5)P dans le foie, ce dernier composé entrant dans la voie métabolique des phosphates de pentose.¹⁹

2.1.2.3.3. Localisation cellulaire, transport

Chez l'homme les concentrations d'inositol les plus élevées sont présentes dans les cristallins, les reins, le système nerveux central (SNC) et les testicules. Ce taux est particulièrement élevé dans le cerveau : de 2 à 15 mM selon les régions, ce qui est jusqu'à 750 fois la concentration plasmatique et 125 fois celle du liquide céphalo-rachidien.¹⁹ L'Ins ne semble pas être compartimenté dans les neurones, mais réparti de manière homogène dans le cytosol.^{xxviii}

Quelques mécanismes de cotransport actif d'Ins Na^+ -dépendant²⁰ ont été décrits dans plusieurs types de cellules (neurones p. e.).²⁸ Un transporteur, très affiné pour l'Ins, sodium dépendant (SMIT) et saturable, a été identifié en 1992.¹⁹ Ce transport de très haute affinité est saturable. L'entrée dans la cellule d'une molécule d'Ins est réalisée en échange de deux ions Na^+ . Ce mécanisme est inhibé de manière compétitive par la phlorizine. Le gène codant pour ce transporteur est surexprimé dans le syndrome de Down. Plus récemment, un symport H^+ /Ins (HMIT) a été découvert presque exclusivement dans le SNC. Ces deux mécanismes sont pH-dépendants.¹⁹

Il apparaît également que, dans la plupart des cellules, l'Ins soit transporté *via* un mécanisme passif de très basse affinité, dont les caractéristiques précises ne sont pas totalement connues. Les transporteurs de basse affinité, p. e. dans le foie et les glandes parotides, ne sont pas saturés à des concentrations d'Ins très élevées (10 mM).²⁰

L'efflux d'Ins implique un canal chlorure non spécifique qui transporte également des triéthylamines et des amino-acides. Ce canal est régulé par l'ATP et différentes enzymes, dont plusieurs kinases.

L'altération du transport de l'Ins peut être produite lors d'une attaque cérébrale, aboutissant à un stockage de métabolites dans les cellules et à une dégradation de la barrière hémato-encéphalique (BHE).

2.1.2.4. Rôles physiologiques

Les cellules eucaryotes ne peuvent pas survivre sans Ins et meurent rapidement en cas de privation de ce métabolite.²⁷ Une des caractéristiques de l'Ins chez les eucaryotes serait d'être sensible à plusieurs complexes régulateurs d'activités physiologiques. Suite à plusieurs études concernant la levure, des mécanismes ont été mis en évidence dans le contrôle et le maintien du taux d'Ins. Ont été ainsi détectées des interactions avec les activités de sécrétion protéique et de réponse au glucose et aux protéines non maturées. La maturation protéique localisée dans le réticulum endoplasmique inclut leur repliement et leur glycosylation.²⁷

Le *myo*-inositol est impliqué de manière directe ou indirecte et non négligeable dans l'équilibre osmotique des cellules. Chez les plantes, le pinitol serait un osmolyte intracellulaire, voire un "osmoprotecteur".^{xxx} La première étape de sa biosynthèse résulte de la méthylation de l'Ins par une Ins O-méthyl transférase. De la même manière, l'isomérisation et la méthylation d'autres inositols (*scyllo*-, *chiro*-, *muco*- et *neo*-) conduisent aux séquoyitol, bornésitol, québrachitol, ononitol, (etc) également impliqués dans des réponses au stress, le stockage dans les graines et la production d'inositols glycosylés.^{xxx}

Pour diminuer son volume, la cellule, chez l'homme, peut soit baisser le taux de chlorure intracellulaire, ce qui arrive en plaçant le potentiel membranaire à une valeur négative, soit baisser le taux d'autres anions. Cette deuxième méthode est utilisée par les cellules ischémiques du cœur, et les cellules gliales, qui capturent ou relâchent des aa ou de l'Ins pour réguler l'osmolarité interne.^{xxx} En cas d'hypernatrémie, le cerveau accumule l'Ins dans ses cellules afin d'éviter des pertes d'eau.¹⁹

On ne connaît pas de récepteur propre à l'Ins, néanmoins le taux d'Ins libre va avoir une forte influence sur le taux des autres dérivés du cycle des PtdIns, voire d'autres types de composés. On considère ainsi que l'Ins joue également un rôle dans l'apport ionique (Na^+), dans la biogénèse et l'ancrage membranaire, dans des réactions biochimiques de méthylation, d'isomérisation, de conjugaison, dans la biosynthèse de dérivés galactosylés, des phosphates d'inositol (InsP) et des pyrophosphates de phosphates d'inositol ([PP]InsP).²⁶

2.2. Les phosphates de *myo*-inositol

Les composés comprenant un cycle inositol représentent sans doute l'une des plus grandes classes des composés du vivant par leur diversité, tant au niveau de leur degré de substitution (positions phosphorylées, couplages avec acides gras et glycérol, sucres) que par la richesse des voies enzymatiques qui les métabolisent. A ce jour on suppose encore l'existence de nombreux dérivés et de réactions biochimiques qui les mettent en relation. Les InsP les plus étudiés sont ceux impliqués dans la communication cellulaire. Mais de nombreuses formes pluriphosphorylées semblent coexister au cours du métabolisme, notamment pour la synthèse de l'InsP₆. L'Ins(1,4,5)P₃ à l'origine de ce travail, du fait de ses propriétés et des nombreuses études qui lui ont été consacrées, sera traité plus en détail dans la suite de ce chapitre.

2.2.1. L'Ins(1,4,5)P₃

2.2.1.1. Structure, nomenclature et découverte

La nomenclature de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) suit les mêmes règles que celles du *myo*-inositol évoquées précédemment (fig. 4). La tris(phosphorylation) en 1, 4 et 5 de l'Ins induisant la perte de son caractère *meso*, on doit considérer la molécule par convention (IUPAC) dans la série possédant l'activité biologique où les phosphates distribués en 1, 4 et 5 sont numérotés dans le sens anti-horaire. Ceci revient à considérer son énantiomère en tant que D-Ins(3,5,6)P₃ contrairement à la règle qui voudrait que les substituants portent le numéro le plus petit possible (fig. 4).

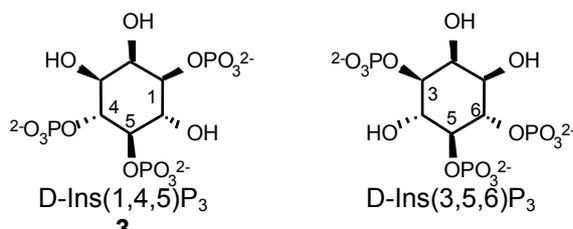


Figure 4 : le D-*myo*-inositol 1,4,5-tris(phosphate) (3**) et son antipode optique le D-*myo*-inositol 3,5,6-tris(phosphate).**

La découverte du D-Ins(1,4,5)P₃ (**3**), entre autres InsP, remonte à 1960, lorsque simultanément deux équipes identifient des "triphosphoinositides",^{xxxii, xxxiii} notamment celle de Clinton E. Ballou qui le caractérise peu après.^{xxxiv}

2.2.1.2. Libération de l'Ins(1,4,5)P₃, enzymes impliquées et rôles physiologiques

2.2.1.2.1. Voie de libération de l'Ins(1,4,5)P₃

L'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) est libéré (fig. 5) conjointement au diacylglycérol (DAG), par l'hydrolyse enzymatique du PtdIns(4,5)P₂ (**2**), situé sur le feuillet interne de la membrane plasmique, par la phospholipase C (PLC).^{7, 9, xxxv} Cette hydrolyse fait suite à l'occupation extracellulaire de sous-classes de récepteurs (tableau 3) couplés aux protéines G (RCPG) ou aux sérine/thréonine kinases (non représenté) ; le tout participe ainsi à la transduction du signal (travaux de R. H. Michell et S. Cockcroft à partir des années 1970).^{xxxvi, xxxvii, xxxviii} Chez les plantes ce cycle est moins bien connu et serait activé par la lumière.¹⁴

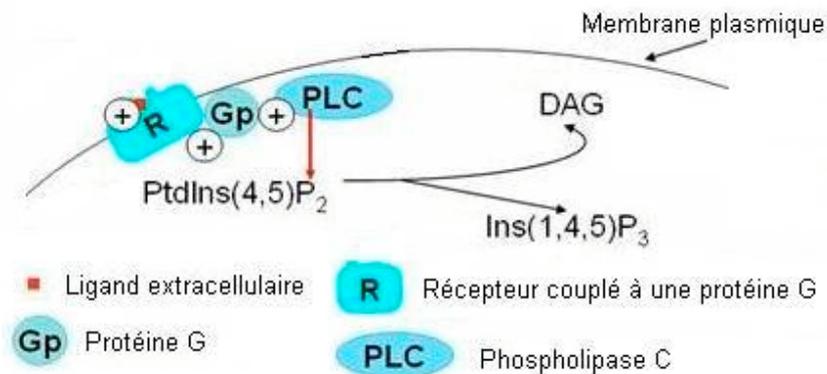


Figure 5 : voie de libération de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

Adrénergique (α_{1A} , α_{1B} et α_{1D})	Histaminergique (H ₁)
Angiotensine (AT ₁)	Leukotriènes (BLT et CysLT ₁)
Antigénique (cellules T)	Mélatonine (ML ₂)
Bombésine (BB ₁ et BB ₂)	Muscariniques (M ₁ , M ₃ et M ₅)
Bradykinine (B ₁ et B ₂)	Neurokinine
Céroléine	Neuropeptide Y
Cholécystokinine (CCK _A et CCK _B)	Neurotensine
Concanavaleine A	Ocytocine
Endothéline (ET _A et ET _B)	Phytohémagglutinine
f-Met-Leu-Phe	Prostaglandine (E ₂)
Facteur d'activation plaquettaire (PAF)	Prostanoïde (EP ₁ , EP ₃ , FP et TP)
Facteur de croissance des fibroblastes (FGF)	Purinergique (P _{2U} et P _{2Y})
Facteur de croissance des nerfs (NGF)	Sérotoninergique (5-HT _{1C} , 5-HT _{2A} , 5-HT _{2B} , 5-HT _{2C})
Facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF)	Substance P
GABA B présynaptique	Thrombine
Glutamate (mGlu ₁ et mGlu ₅)	Vasopressine (V _{1A} et V _{1B})

Tableau 3 : classes ou sous-classes de récepteurs connues pour stimuler le métabolisme des phosphatidyl-inositols.^{20, 36-38}

2.2.1.2.2. Les phospholipases

Les phospholipases A1 (PLA₁), A2 (PLA₂), C et D (PLD) hydrolysent les phospholipides en différents points spécifiques (fig. 6).¹⁴

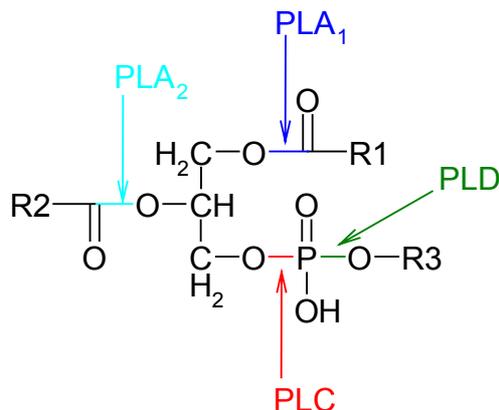


Figure 6 : spécificité du site de coupure des phospholipides par les phospholipases (J. H. Weil).¹⁴

Comme nous l'avons vu précédemment, les PLC, selon la nature des phospholipides, peuvent aboutir à la libération de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). On dénombre dix isoformes de PLC chez les mammifères, en excluant les formes alternatives d'épissage. Celles-ci peuvent être divisées en trois types, en fonction de leur séquence protéique : β (4 formes), γ (2 formes) et δ (4 formes). Le type δ est le plus petit (85 kDa), comparé aux autres formes qui peuvent atteindre près du double de masse (140 à 155 kDa). La forme archétypale serait la PLC δ que possèdent les levures primaires et les amibes, à défaut des autres isoformes. La région catalytique est conservée avec 40 à 60 % d'identité.^{xxxix}

Les PLC β et δ sont activées par des sous-unités α de protéines G et les PLC γ par des protéines kinases, elles-mêmes stimulées par les facteurs de croissance (EDGF, NGF, PAF dans le tableau **3**). Le PtdIns(3,4,5)P₃, l'acide arachidonique (produit par les PLA) et l'acide phosphatidique (produit par la PLD) sont également responsables de la stimulation de PLC γ .³⁹

Les PLC sont régulées en retour par les PKA et PKC qui atténuent leur activité ; le taux d'H₂O₂, dans la voie des facteurs de croissance, joue aussi un rôle inhibiteur. Les trois classes de PLC ont des spécificités de substrat particulières, peuvent former différents produits d'hydrolyse (possédant un phosphate cyclique ou non) et montrent une sensibilité et un besoin en cation divalent différent. Ainsi, les PLC δ représentent la classe la plus sensible au Ca²⁺.³⁹

2.2.1.2.3. Rôles physiologiques de l'Ins(1,4,5)P₃

L'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), dont le rôle de second messenger est bien établi depuis 1983,⁷ va se fixer sur ses récepteurs (partie 4.), situés sur la membrane du réticulum endoplasmique (RE), provoquant la libération du Ca²⁺ (concentration cytosolique passant de 0,1 à 1 μM)³ avec toutes les implications de cet ion (partie 5.). Il entre ensuite dans une cascade métabolique qui conduit à régénérer le PtdIns(4,5)P₂ (**2**) (fig. 7).

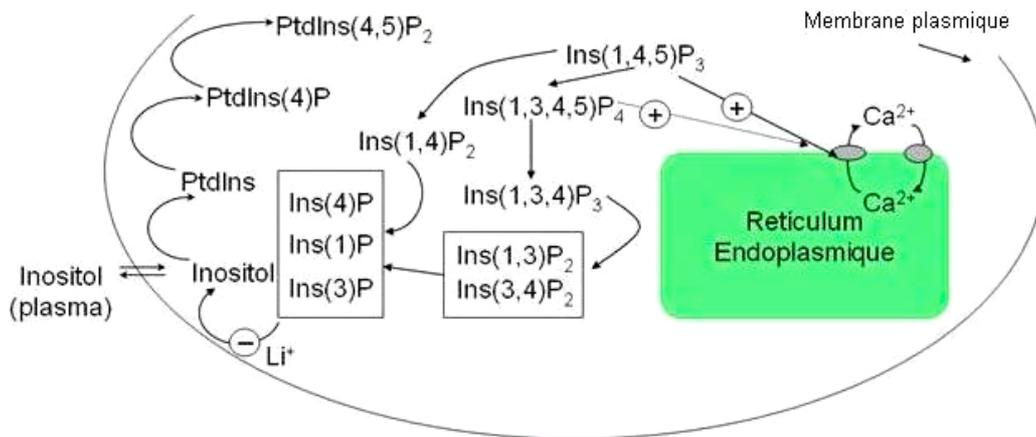


Figure 7 : rôle cellulaire de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et cycle de l'Ins.

Les PtdIns et InsP ont un cycle nucléaire, compartiment cellulaire dans lequel ils exercent aussi des rôles physiologiques importants, notamment *via* le DAG.^{xi} La plupart des enzymes du métabolisme des dérivés de l'inositol y sont retrouvées.^{xii} Ainsi, dans le contrôle nucléaire de l'expression génétique régulé par de nombreux facteurs, on peut attribuer un rôle non négligeable aux InsP qui médient notamment le signal induit par certains facteurs de croissance. La PLCβ₁ est l'isoforme la plus abondante dans le noyau et son taux peut être directement corrélé à celui du PtdIns(4,5)P₂ (**2**) hydrolysé.³⁹ L'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) a un rôle nucléaire dans l'activation du complexe du pore nucléaire.^{xiii}

En 2000, une expérience de mutation sur le gène ARGRIII (responsable de l'activité inositol polyphosphate multikinase (IMPK)) de *Saccharomyces cerevisiae* a été réalisée par l'équipe de Stephen B. Shears.^{xiii} Une perturbation de l'export nucléaire de l'ARNm, un ralentissement de la croissance cellulaire et une augmentation de la concentration en Ins(1,4,5)P₃ (**3**) d'un facteur 170 ont été observés. Le taux d'InsP₆ est diminué de 100 fois, indiquant un taux réduit de la phosphorylation de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). D'autres métabolites de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) ont vu leur taux modifié par une voie indépendante de celle de l'IMPK.

2.2.1.2.4. Métabolisme de l'Ins(1,4,5)P₃

De faible durée de vie cellulaire (quelques secondes),^{xliv, xlv} l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) est rapidement métabolisé par deux voies enzymatiques^{xlvi} qui se résument soit à une déphosphorylation, soit à une phosphorylation (fig. 7). L'Ins(1,4)P₂ est formé sous l'action de l'Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase (Mg²⁺-dépendante), dont il existe huit formes issues de gènes différents chez les mammifères et que l'on regroupe selon leur spécificité de substrat.^{xlvii} L'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) peut être également phosphorylé par l'Ins(1,4,5)P₃ 3-kinase. Il existe trois isoformes de cette enzyme (A, B, C) ; leur domaine catalytique C-terminal est hautement conservé, à l'inverse de la partie N-terminale.⁴⁴

Il existe également de nombreuses interconversions parmi les espèces pluriphosphorylées (parties 2.2.3.3. à 2.2.3.6.) que Stephen B. Shears a recensées en fonction de l'origine cellulaire (fig. 8).^{xlviii}

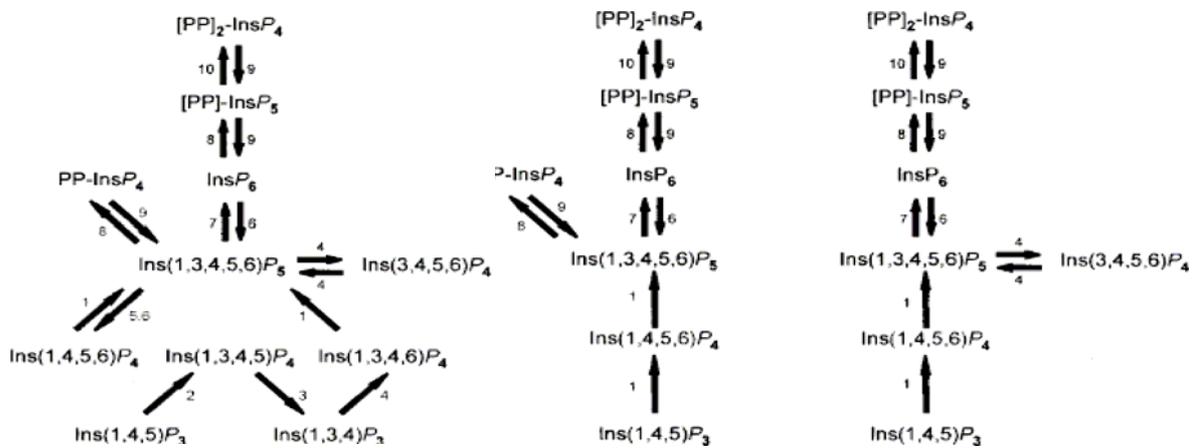


Figure 8 : voies métaboliques *in vivo* de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (de gauche à droite) chez les animaux, les levures et les végétaux (d'après S. B. Shears et coll.).⁴⁸

Christophe Erneux, Stephen B. Shears et coll. ont découvert en 1995 un mécanisme métabolique indépendant de la PLC sur une lignée cellulaire mutée (*plc⁻*) de *Dictyostelium discoideum*.^{xlix} Cette voie emprunte une cascade de déphosphorylations (fig. 9) allant de l'Ins(1,3,4,5,6)P₅ à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) *via* à la fois l'Ins(1,3,4,5)P₄ et l'Ins(1,4,5,6)P₄. Cette voie est dépendante du calcium et a recours à une seule enzyme, purifiée à partir du foie de rat, la "multiple inositol polyphosphate phosphatase" (MIPP).

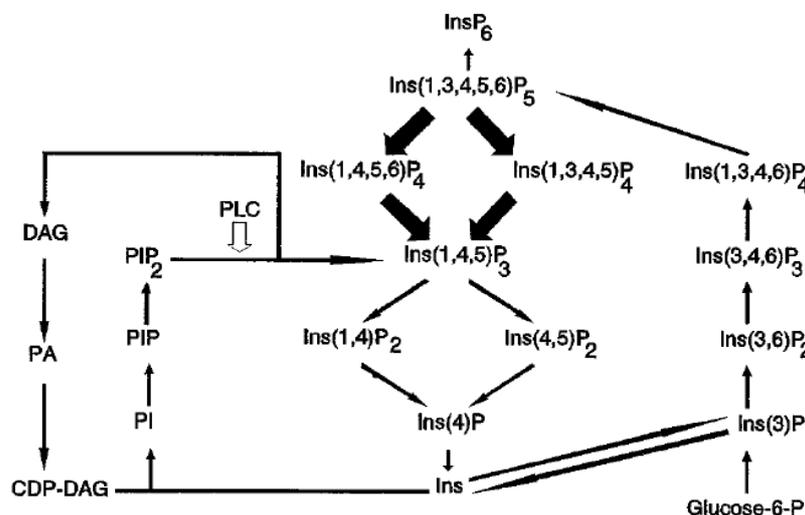


Figure 9 : le cycle de l'inositol chez *Dictyostelium discoideum* (d'après S. B. Shears et coll.).⁴⁹

2.2.1.2.5. Diacylglycérol et protéine kinase C

Le DAG qui est hydrophobe, reste ancré à la membrane et peut être métabolisé par deux voies différentes. Il peut être soumis à l'action d'une kinase (généralisant l'acide phosphatique, **PA**, fig. 9), puis combiné à la cytidine 5'-monophosphate (CMP). Ensuite, il sera couplé au *myo*-inositol pour former à nouveau le PtdIns et ainsi réintégrer le cycle des phospholipides membranaires. Le DAG peut être également soumis à l'action de la phospholipase A (PLA) pour donner l'acide arachidonique, impliqué dans la synthèse des prostaglandines et dans l'activation d'adénylates cyclases.¹⁴

Avant d'être métabolisé, le DAG, jouant son rôle de second messenger, peut activer la PKC dont il existe une dizaine d'isoformes chez l'homme.ⁱ Découverte par Yasutomi Nishizuka et coll. en 1977,ⁱⁱ on distingue actuellement trois types de PKC. Les cPKC ou PKC conventionnelles (PKC α , PKC β et PKC γ) sont sensibles au DAG et au Ca²⁺. Les formes dites nouvelles ou nPKC (PKC δ , PKC ϵ , PKC η et PKC θ) sont sensibles au DAG uniquement. La troisième forme est atypique, ce sont les aPKC dont on répertorie 3 isoformes (PKC ζ et PKC ι/λ), elles sont insensibles au DAG (fig. 10).

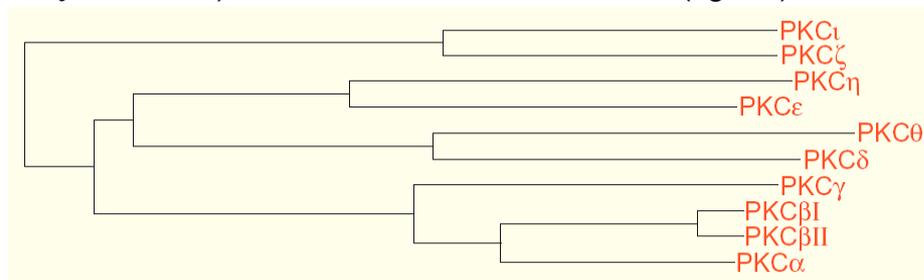


Figure 10 : arbre phylogénétique de la PKC humaine (d'après Parker *et al.*).⁵⁰

Les activités biologiques des PKC sont étroitement liées à leur localisation subcellulaire, celle-ci étant sous l'influence de la présence de DAG.ⁱⁱⁱ Cette famille d'enzymes, à activité kinase de sérine et de thréonine, transmet ainsi de nombreux signaux générés par les hormones et les neurotransmetteurs. Les PKC sont aussi régulées par le Ca²⁺ et par phosphorylation. Elles ont également pour substrat et cofacteur l'ATP et le Mg²⁺ respectivement. Elles jouent un rôle dans la désensibilisation des récepteurs, la modulation d'activités liées à la structuration des membranes, la régulation de la transcription, la médiation de réponses immunitaires, la régulation de la croissance cellulaire et dans les phénomènes d'apprentissage et de mémorisation.^{liii}

Les PKC sont stimulées *in vitro* dans des plaquettes humaines par les esters de phorbol (agents tumoro-inducteurs, fig. 11). Ce lien a été établi suite à une collaboration franco-japonaise en 1982 entre Monique Castagna et Yasutomi Nishizuka.^{liv}

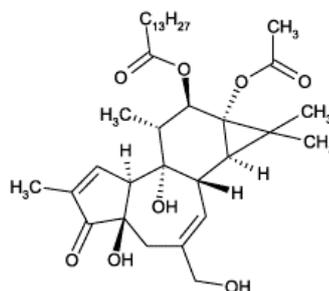


Figure 11 : 13-O-acétate 12-O-tétradécanoylphorbol.

2.2.2. Relations structure/activité de l'Ins(1,4,5)P₃ pour son récepteur

De nombreux analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) sont mentionnés dans la littérature scientifique. L'intérêt des études de RSA réside dans l'identification des requis structuraux liés aux propriétés pharmacologiques (affinité, activité, caractère agoniste ou antagoniste, etc). L'essentiel des modifications réalisées par rapport à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) depuis les années 1980 est repris dans ce chapitre et classé en groupes homogènes autant que possible. Sauf indication contraire, ce sont les affinités et/ou les activités des composés racémiques, testés sur l'InsP₃R (isoforme 1 la plus fréquente), que l'on donne en terme de rapport à l'affinité de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). Les valeurs expérimentales de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) ré-effectuées à l'occasion sont reprises. Les études de RSA liées aux enzymes (3-kinase, 5-phosphatase, etc) ne sont pas abordées. Certains de ces composés sont testés par plusieurs équipes et obtiennent parfois des résultats sensiblement différents. Ceux-ci peuvent être imputés à la méthode du test (origine de la cible pharmacologique en particulier) ou à la pureté des molécules.

2.2.2.1. Stéréosélectivité du récepteur

L'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) trouvé à l'état naturel, le D-*myo*-inositol 1,4,5-tris(phosphate) (**3**) (partie 2.2.1.1.), a une activité et une affinité trois ordres de grandeur au-dessus de son antipode optique, le D-Ins(3,5,6)P₃. Ainsi Polokoff *et al.* attribuent à cet énantiomère une activité 733 fois plus faible que l'énantiomère naturel.^{lv} Son affinité est 1800 fois plus faible, avec une Cl₅₀ de 100 µM vs 0,056 µM pour le D-Ins(1,4,5)P₃ (**3**).^{lvi}

2.2.2.2. Modifications portant sur les positions 2, 3 et/ou 6

2.2.2.2.1. Modifications des positions 2 et/ou 3

En 1993, Potter et coll.^{lvii} synthétisent la version *scyllo* de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), soit un composé ayant pour seule différence l'hydroxyle de la position 2 situé dans le plan équatorial du cycle (**4**, fig. **12**). Le produit obtient une Cl₅₀ 3,75 fois plus élevée que celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (0,15 vs 0,04 µM).

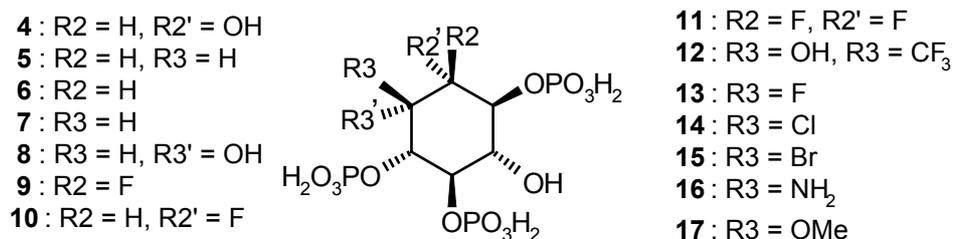


Figure 12 : modifications en C-2 et/ou C-3 de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (seuls les changements de R sont cités).

La délétion des deux hydroxyles 2 et 3 est relativement bien supportée puisque le composé **5** (fig. **12**) reste 6 fois moins affiné que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).^{lviii} Leur délétion en 2 ou en 3 n'entraîne donc qu'une légère baisse de puissance (**6** et **7**, fig. **12**).^{lix, lx}

L'inversion d'*OH-3* (**8**) sur le cycle ne perturbe pas non plus la potentialité de l'analogue.^{lxv}

L'introduction d'un ou deux atomes de fluor sur la position 2, composés **9** à **11**, donne des agonistes entiers presque aussi puissants que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), le meilleur étant le composé le plus mimétique, **9**, qui pourrait donc accepter une liaison hydrogène (du récepteur ou d'une molécule d'eau).^{lxii, lxiii} La série de composés **12** à **17** modifiés uniquement en position 3 est rapportée par Wilcox *et al.* en 1994.^{lxiv} Les molécules **12** et **13** sont les plus remarquables, avec une activité 2 et 3 fois moins puissante et une affinité 2 fois plus faible. Les composés **14** à **17** sont 5, 12, 31 et 45 fois moins affins.

2.2.2.2. Inversion de l'hydroxyle 2 et homologation de l'hydroxyle 3

En 1996, Potter *et coll.* publient la synthèse du dérivé *scyllo*, possédant un groupement hydroxyméthyle en position 6.^{lxv} Le (±)-6-déoxy-6-hydroxyméthyl-*scyllo*-inositol 1,2,4-tris(phosphate) (**18**, fig. **13**) est aussi puissant que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et un peu plus puissant que le (±)-*scyllo*-inositol 1,2,4-tris(phosphate) (**4**).

Comparées à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), les modifications du produit **18** équivalent à la position 2 inversée et à la position 3 homologuée en hydroxy-méthyle (**19**, fig. **13**). On note donc, suite également à la partie 2.2.2.2.1., que l'InsP₃R tient peu compte des positions 2 et 3.

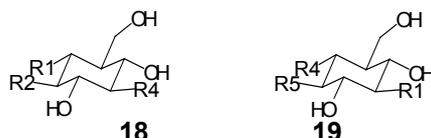


Figure 13 : transposition du produit **18** en son équivalent **19** en série (1,4,5)P₃ (R suivi de sa position = phosphate) afin de faciliter les comparaisons des RSA.

2.2.2.2.3. Suppression de l'hydroxyle 3, deux configurations en C-4

Deux analogues 3-déoxy de l'Ins(1,4,5)P₃ ont été synthétisés en 1996 par E. Poirot *et al.* dans chacune des configurations absolues en C-4 (fig. **14**, composés **20** et **7** respectivement en série *muco* et *myo*). Les tests pharmacologiques montrent que la série 3-déoxy reste reconnue par l'InsP₃R, mais également que la relation *trans* des phosphates 4 et 5 est indispensable. En effet, le composé *muco* **20** est 1000 fois moins puissant que le composé *myo* **7**, ce dernier étant 10 fois moins puissant que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).^{lxvi}

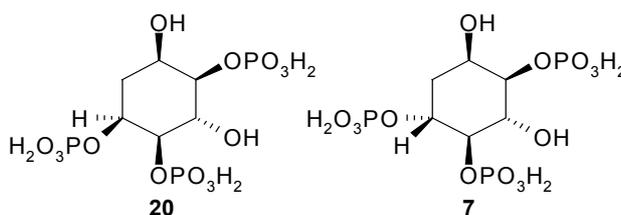


Figure 14 : analogues 3-déoxy de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) dans les deux configurations absolues du C-4.

2.2.2.2.4. Suppression des hydroxyles 2, 3 et 6

La suppression des hydroxyles non phosphorylés de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) conduit au cyclohexan-1,3,4-triol 1,3,4-tris(phosphate) **21** (fig. 15). Polokoff *et al.*, en 1988, déterminent que ce composé (**21**) est 130 fois moins actif que le composé naturel.⁵⁵

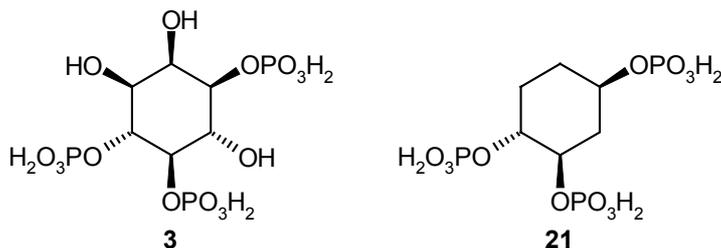


Figure 15 : Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et son analogue 2,3,6 tri-déoxy (**21**).

Si les modifications des positions 2 et 3 n'entraînent qu'une faible diminution de l'affinité et de l'activité de l'analogue par rapport à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), la position 6 apparaît donc comme prévalente pour maintenir l'activité et l'affinité du ligand.

2.2.2.2.5. Modification de la position 6

Stéphanie Ballereau a synthétisé, au laboratoire, plusieurs dérivés de l'Ins(1,4,5)P₃ modifiés sur la position 6 (**22** à **25**, fig. 16).^{lxvii} Le composé **22** dont l'hydroxyle est supprimé de cette position est 70 fois moins affiné, ce qui suggère que cet hydroxyle intervient dans une liaison hydrogène dans le site de liaison du récepteur. Son remplacement par un atome de fluor (**23**) conduit à un composé 140 fois moins affiné que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). Le fluor étant connu comme accepteur de liaison hydrogène, nous pouvons en conclure que la liaison hydrogène d'OH-6 est de type donneur. L'*epi*-Ins(1,4,5)P₃ **24**, où OH-6 est dans la configuration inverse de celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), est 200 fois moins affiné que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). Ceci démontre à la fois la nécessité de ce groupement et le maintien de sa configuration. Le remplacement d'OH-6 par une amine (**25**) induit une baisse d'affinité d'un facteur 350, ce qui fait de ce composé, le moins affiné de cette série.

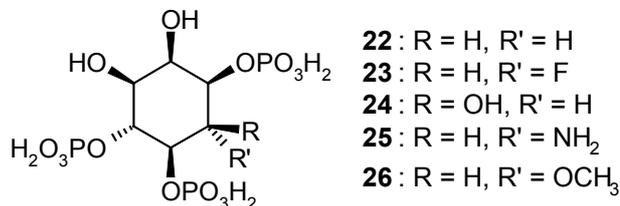


Figure 16 : analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) modifiés sur la position 6.

L'Ins(1,4,5)P₃ 6-méthoxylé **26** est 216 fois moins actif que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) situé à 0,3 μM, ce qui constitue une preuve supplémentaire de la nécessité de conserver l'hydroxyle en 6 afin qu'il puisse donner une liaison hydrogène.⁵⁵

2.2.2.3. Variations sur les groupements phosphates

2.2.2.3.1. Analogues déphosphorylés

Deux analogues bis(phosphate) ont été testés par Irvine *et al.* en 1984 :^{lxviii}

- l'Ins(1,4)P₂ reste inactif à 50 μM,
- l'Ins(4,5)P₂ a une CE₅₀ de 20 μM vs 0,3 μM pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (soit 67 fois moins actif).

L'affinité de l'Ins(4,5)P₂ est 296 et 962 fois plus faible respectivement pour les InsP₃R du foie et du cerveau.^{lxix}

L'Ins(2,4)P₂ est inactif.⁵⁸

2.2.2.3.2. Distribution des trois phosphates sur le cycle inositol

La diversité de la distribution de trois phosphates sur l'inositol parmi les analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) peut aboutir à considérer ces analogues tris(phosphates) comme l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) même, mais auquel on a inversé certaines positions (quand il n'y a que deux phosphates vicinaux). Ainsi, dans certains cas, les RSA pourraient être imputées indifféremment à la présence et à l'orientation sur le cycle d'un ou de plusieurs phosphate(s) ou hydroxyle(s) (fig. 17).

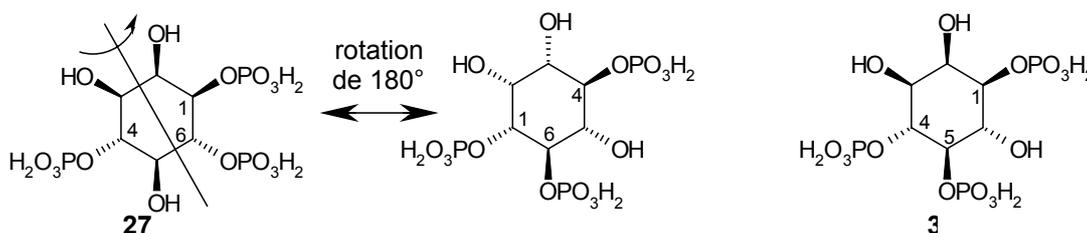


Figure 17 : conformation globalement retrouvée pour les phosphates et OH-6 de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et de l'Ins(1,4,6)P₃ (**27**).

Ainsi l'Ins(1,4,6)P₃ **27** (fig. 17), est un agoniste entier 16 fois moins affiné et 125 fois moins puissant, d'après Hirata *et al.*^{lxx} Le D-Ins(1,4,6)P₃, synthétisé par Potter et Mills en 1996, s'est montré comme un agoniste 2 à 3 fois moins puissant sur la libération du Ca²⁺ de plaquettes perméabilisées de lapin que le composé dédié et également 32 fois moins affiné sur les InsP₃R présents dans la cervelle de rat.^{lxxi} Son inverse optique, le D-Ins(3,4,6)P₃ **28** quant à lui, s'est révélé quasiment inactif sur l'une ou l'autre cible.

L'Ins(1,3,4)P₃ **29**, présent à l'état naturel dans la cellule, a été testé sur des cellules 3T3 par Robin F. Irvine *et al.* en 1986. Ce composé a obtenu une CE₅₀ de 9 μM, soit 30 fois moins puissant sur la libération du calcium que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (établi à 0,3 μM).^{lxxii} Il s'est révélé 400 fois moins puissant dans un test réalisé par Polokoff *et al.* en 1988.⁵⁵

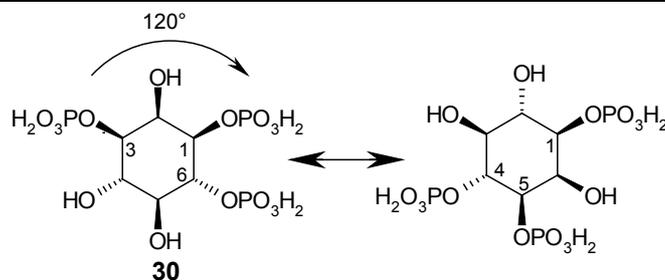


Figure 18 : analogie de l'Ins(1,3,6)P₃ en série (1,4,5)P₃.

L'Ins(1,3,6)P₃ **30** est 89 fois moins affin (CI₅₀ de 552 nM), il induit la libération du Ca²⁺, mais la CE₅₀ n'était pas mesurable pour raison pratique.⁷⁰ Par rotation de 120° dans le plan (fig. 18) on se retrouve avec l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) ayant ses hydroxyles 2 et 6 inversés. L'affinité est ainsi 24 fois plus faible que le composé **4** où seul OH-2 est inversé, redémontrant le rôle primordial de cet hydroxyle.

L'Ins(2,4,5)P₃ **31** (fig. 19), testé par Irvine *et al.* en 1984, obtient une CE₅₀ de 1,6 µM, soit un peu plus de 5 fois supérieure à celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).⁶⁸ Testé par Polokoff *et al.* en 1988, le composé est cette fois-ci 29 fois moins actif.⁵⁵ Willcocks *et al.* en 1989 retrouvent un résultat intermédiaire (CE₅₀ = 2,8 µM, 14 fois moins actif).^{lxviii} Nunn *et al.* déterminent l'affinité de l'Ins(2,4,5)P₃ qui est 15 et 8 fois plus faible respectivement pour les InsP₃R du foie et du cerveau.⁶⁹

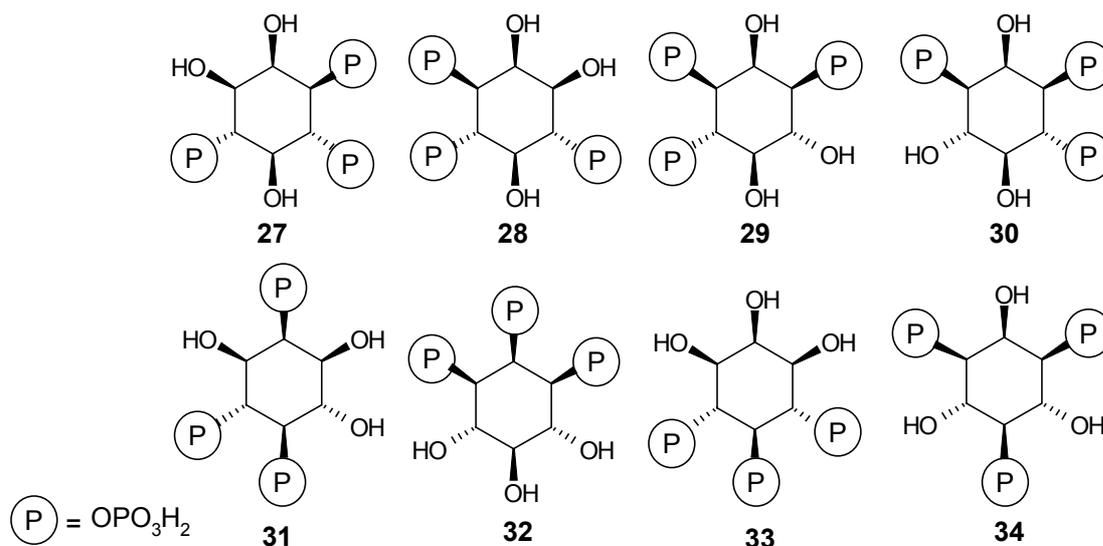


Figure 19 : dérivés tris(phosphates) de l'Ins.

Le composé *meso* Ins(1,2,3)P₃ **32** n'est pas actif sur l'InsP₃R (pas de liaison).^{lxix} Le composé *meso* Ins(4,5,6)P₃ **33**, produit au laboratoire par Laurent Schmitt, s'est montré env. 1000 fois moins affin que le composé naturel.^{lxxv} L'étude de Polokoff *et al.*, en 1988, place le *meso* Ins(1,3,5)P₃ **34** à un niveau 2100 fois inférieur à celui de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).⁵⁵

La présence et la conformation du motif (4,5)P₂ *trans*-équatorial apparaissent indispensables à maintenir, cette relation étant conservée sur l'Ins(1,4,6)P₃ **27** (fig. 17) encore très actif en série D (aini que l'Ins(4,5)P₂). Ce motif pourrait être perturbé par un voisinage encombré ou chargé, une coopération avec OH-6 devant être probablement conservée. Le troisième phosphate (en 1) peut être basculé en 2 sans perte importante d'activité. Il aurait un rôle amplificateur en 1, mais inopérant en 6.

2.2.2.3.3. Ajout d'un ou de plusieurs phosphates et distribution diverse

L'Ins(1,3,4,5)P₄ **35** (fig. 20) s'est révélé inactif (à 20 µM) sur l'InsP₃R en 1986.⁷³ Par contre Polokoff *et al.* établissent son activité à un niveau 216 fois plus faible que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**)⁵⁵ et Chaliss *et al.* trouvent une affinité de 21 µM (375 fois moins affin que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**)).⁵⁶ Cette dernière étude montre, pour les Ins(1,4,5,6)P₄ **36** et Ins(1,3,4,6)P₄ **37**, des affinités respectivement 625 et 61 fois plus faibles que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). L'Ins(1,2,4,5)P₄ **38** est 1,6 à 15 fois moins affin que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) selon les tests, son dérivé 3-fluoré **39** est équivalent.^{lxxvi, lxxvii} Le *scyllo*-Ins(1,2,4,5)P₄ **40** est également très actif.⁶² L'Ins(1,3,4,5,6)P₅ **41** déplace moins de 10 % de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) de son site de liaison à 10 µM. L'InsP₆ est 643 fois moins affin que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (Cl₅₀ = 0,13 µM).⁵⁶

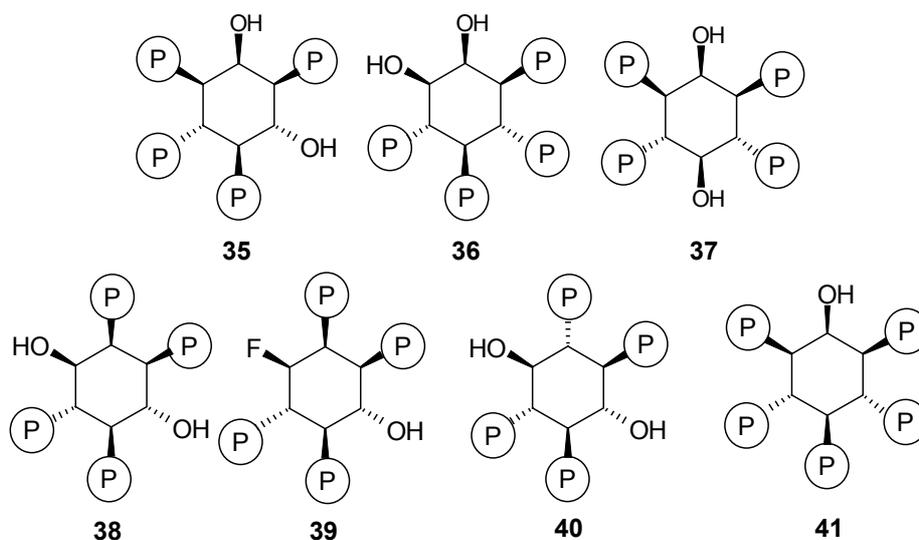


Figure 20 : analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) comportant un ou deux phosphates supplémentaires.

Il semblerait donc que l'ajout de phosphate(s) perturbe les interactions ligand-récepteur, par ajout de charge(s) négative(s) et/ou suppression de liaisons hydrogènes. Les perturbations induites par l'ajout d'un phosphate sont les plus fortes pour la position 6 et les plus faibles pour la position 2.

2.2.2.3.4. Structure des phosphates modifiée : phosphates cycliques

Il existe également à l'état naturel des InsP cycliques (phosphate cyclisé sur les positions 1 et 2) beaucoup moins affins et actifs (**42**, fig. 21). Cette forme n'aurait aucun rôle cellulaire, considérée comme un probable sous-produit accidentel, correspondant à 1 % du métabolisme des PtdIns membranaires.²⁰ Ce composé s'est révélé comme un agoniste entier en 1986⁷² et équipotent de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), mais, testé par Willcocks en 1989,⁷³ ce composé a cette fois-ci montré une CE₅₀ de 3,6 µM vs 0,2 µM pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (soit 18 fois moins puissant).

Le DL-6-désoxy-6-(hydroxyméthyl)-*scyllo*-inositol 1:7-cyclique 2,4-tris(phosphate) (**43**, fig. 21) est un agoniste entier de l'InsP₃R, 200 à 300 fois moins affin et 40 à 70 fois moins puissant que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).^{lxxviii}

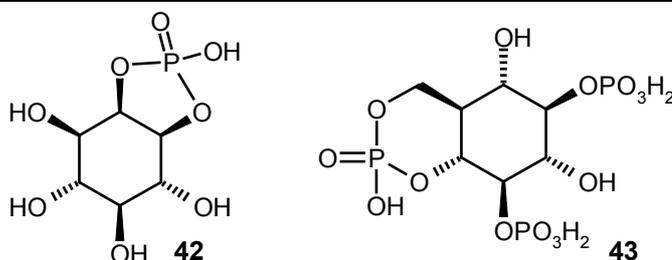


Figure 21 : exemples de phosphates cycliques d'inositol.

2.2.2.3.5. Structure des phosphates modifiée : phosphonates, phosphorothioates

Laurent Schmitt a produit au laboratoire l'analogue 1-méthylphosphonate de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). L'analogue est 300 fois moins affiné que le composé parent.⁷⁵ Le 1,4,5-tris(méthylphosphonate) de Willems *et al.* est aussi très peu actif.^{lxxxix}

Les analogues phosphorothioates (isostérie des atomes d'oxygène et de soufre) constituent des alternatives qui ont prouvé leur intérêt sur les phosphates de nucléotide. Le *myo*-inositol 1,4,5-tris(phosphorothioate) ou Ins(1,4,5)P₃[S]₃ est un agoniste entier trois fois moins puissant que le composé parent.^{lxxx} Il est 2,3 fois moins affiné que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).⁵⁶ Le *myo*-inositol 1,4-bis(phosphate) 5-phosphorothioate a une CE₅₀ de 0,8 μM, soit une activité 3 fois moins forte.^{lxxxii} Le *myo*-inositol 1,4,5-tris(phosphate) 3-phosphorothioate est 47 fois moins affiné.⁶⁴

Les composés **44** à **46** (fig. **22**), rendus non métabolisables en 3 par un atome de fluor à la place de l'hydroxyle, possèdent également un ou deux phosphorothioates. Ils sont respectivement 6, 2 et 8 fois moins affins et 36, 4 et 114 fois moins puissants que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). Il en résulte que le phosphorothioate en 5 est plus gênant qu'en 4.^{lxxxiii}

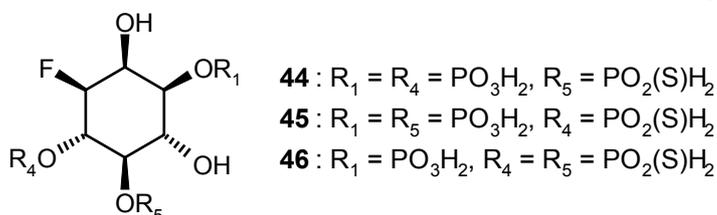


Figure 22 : analogues thiophosphorylés et métaboliquement stables de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

Les composés de B. V. L. Potter destinés à inhiber la 5-phosphatase, représentés sur la fig. **23**, possèdent quatre groupements phosphorothioates (composé **47**) ou phosphates (composé **48**) sur leurs positions 1, 3, 4 et 6 et sont également méthylés en 2 et en 5. Testés sur l'InsP₃R, ils se sont révélés très faibles agonistes, en mobilisant, à 30 mM, moins de 15 % du Ca²⁺ stocké dans des neuroblastomes humains SH-SY5Y électro-perméabilisés.^{lxxxiii}

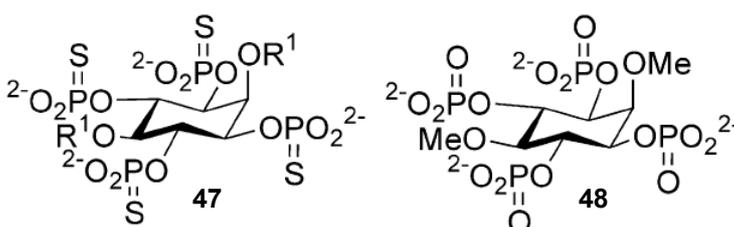


Figure 23 : analogues tétrakis(phosphorothioates) (R¹ = Me, H) et tétrakis(phosphate).

2.2.2.3.6. Structure modifiée des phosphates : phosphorofluoridates

Des tests pharmacologiques d'analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ comportant un phosphorofluoridate^{lxxxiv} (fig. 24) en 4 et/ou en 5 ont été publiés en 1999.^{lxxxv}

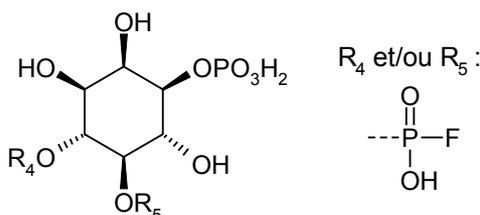


Figure 24 : analogues phosphorofluoridatés de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) (Yoshimura *et al.*).⁸⁵

À pH 8,3 la Cl₅₀ des composés 4-, 5- et 4,5-phosphorofluoridatés est de 120, 38 et 1050 nM, soit 34, 11 et 300 fois moins affins que l'Ins(1,4,5)P₃ (3) situé à 3,5 nM. Les perturbations ne se compensent pas et, contrairement aux phosphorothioates, c'est la position 4 qui tolère le moins cette modification.

2.2.2.3.7. Remplacement des phosphates

Les analogues où les phosphates ont été remplacés par des sulfates (49) ou des sulfonamides (50) ne sont pas actifs (fig. 25).^{lxxxvi, lxxxvii} Il en va de même pour l'analogue 2,3,6-tridésoxy 1,4,5-tris(méthylsulfonate) (51).^{lxxxviii}

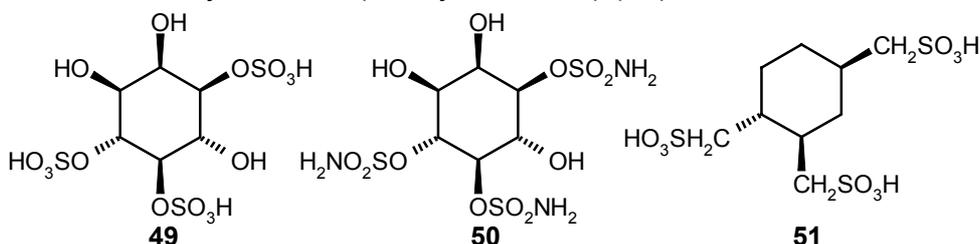


Figure 25 : analogues soufrés de l'Ins(1,4,5)P₃ (3).

2.2.2.4. Dérivés dimériques et modifications du squelette carboné

• En 2000, Andrew M. Riley *et al.* ont synthétisé six dérivés de l'Ins(1,4,5)P₃ dimériques, reliés par une chaîne polyéthylénique de différentes longueurs (n variable, fig. 26).^{lxxxix} L'analogue dimérique, élaboré à partir de la position 2 du cycle, avait pour objectif de relier plusieurs sites de liaison du récepteur-canal qui en contient 4 (partie 4.), voire plusieurs récepteurs selon la valeur de n.

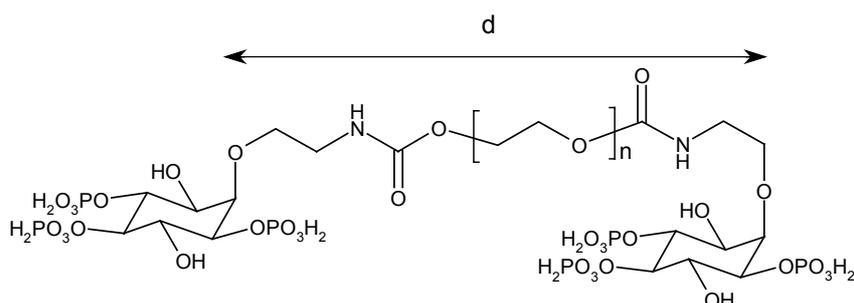


Figure 26 : Ins(1,4,5)P₃ dimérique, n variable (d'après Riley *et al.*).⁸⁹

Les résultats des tests pharmacologiques sont publiés en 2002.^{xc} Le composé disposant du bras le plus long ($n = 180$, $d = 8$ nm) est le plus affiné à 3,1 nM (contre 11,5 nM pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**)). Il est aussi 1,5 fois plus actif que le ligand naturel, dont la CE₅₀ a été déterminée à 141 nM. L'un des espaceurs les plus courts donne le produit le plus actif (de 3,8 fois, pour $n = 6$ et $d = 1,5$ nm). Cette dernière distance pourrait donc être celle qui sépare deux sites de liaison sur l'InsP₃R tétramérique. Le surcroît de potentialité pourrait être imputé à la loi d'action de masse.

- Des cycles polyinsaturés ont servi de squelettes à des analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (fig. **27**). Ainsi le benzène 1,2,4-tris(phosphate) **52** testé par Gaétan Guillemette et coll. en 1993 s'est révélé 10 000 fois moins affiné que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) avec une CI₅₀ de 34 μM. Le composé **53** est également très peu actif.^{xci} La structure rigide du noyau aromatique ne permet pas d'orienter convenablement les substituants dans le site de liaison.

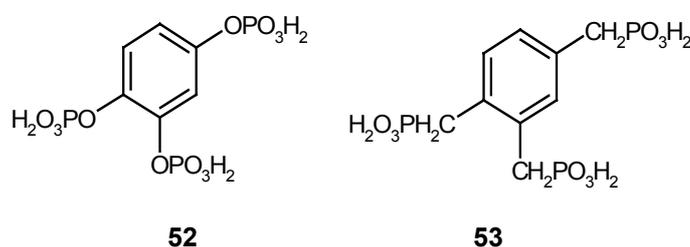


Figure 27 : analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) construits sur un cycle polyinsaturé.

- Les sucres ont été utilisés dans les analogues **54** à **58** de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) par Y. Chapleur et coll. en 1995 (fig. **28**), le sucre de référence étant le D-xylose.^{xcii} L'analogue **54** est instable, les composés **55** à **57** sont les meilleurs (10 fois moins puissants que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**)) et le meilleur pour le test de liaison est le produit **55** (CI₅₀ de la fig. **28**).

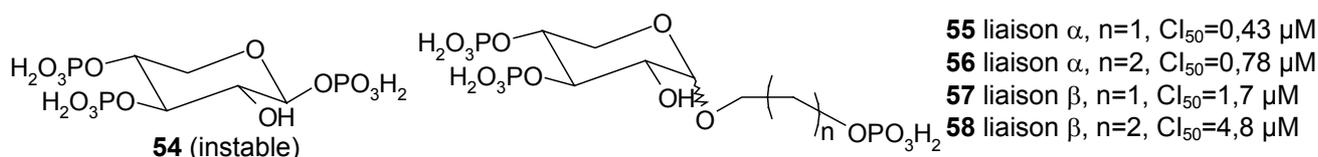


Figure 28 : analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) dérivés du D-xylose et leur CI₅₀ d'après Y. Chapleur et coll..⁹²

- Les positions 2 et 3 du cycle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) ne semblent pas importantes et certains auteurs ont imaginé de contracter la molécule, passant de molécules cyclohexaniques à leurs homologues cyclopentaniques, tout en respectant la stéréochimie relative des différentes positions du cycle (fig. **29**). Ainsi, en reprenant une disposition bis(phosphate) *trans* sur un cycle à 5 (**59**), nous obtenons peu ou prou le même motif que le 4,5-bis(phosphate) de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

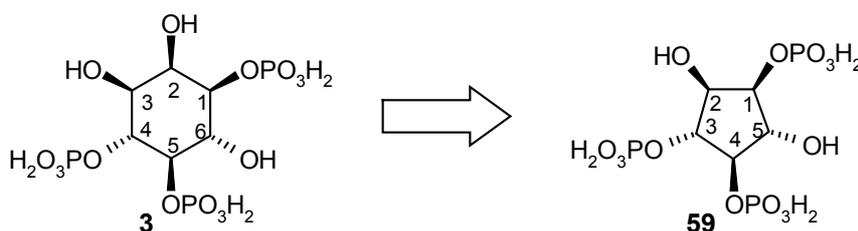


Figure 29 : contraction du cycle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) en un cyclopentane (**59**).

Plusieurs équipes ont publié la synthèse de dérivés cyclopentaniques de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et, parmi les composés **60** à **62** (fig. **30**), le composé **62** a la meilleure activité qui est encore env. 4 fois plus faible que celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).^{xciii}

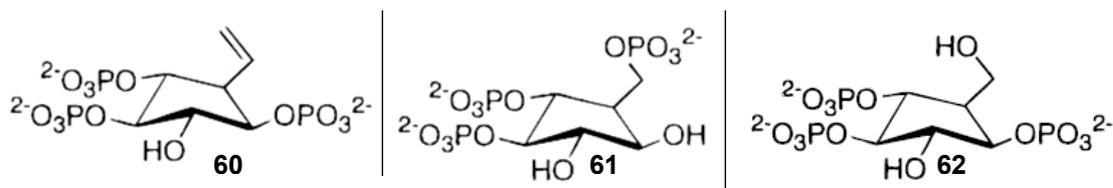


Figure 30 : dérivés cyclopentaniques de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) synthétisés par Potter et coll..⁹³

Au laboratoire, Gilbert Schlewer et coll. ont poursuivi la synthèse de ce type d'analogues en produisant la série des composés **63** à **65** (fig. **31**).^{xciv} Ces composés, testés par Gaétan Guillemette et coll., se sont révélés être de faibles ligands des récepteurs et n'ont pas permis de rétablir les phénomènes de coopérativité (partie 2.2.2.3.2.). Ces résultats s'expliquent depuis la publication récente des RX du domaine de liaison du récepteur (partie 4.).^{xcv} La contraction de cycle ne maintient que trop peu d'interactions avec les résidus du site de liaison et l'affinité en devient marginale.

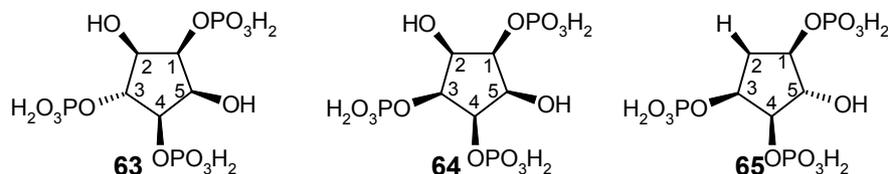


Figure 31 : nouveaux analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ dérivant du cyclopentane (G. Schlewer et coll.).⁹⁴

2.2.2.5. Analogues appliqués à la fluorescence

Plusieurs analogues ont été synthétisés en vue d'applications biophysiques : mise en évidence d'un site de liaison, mesure de libération spatio-temporelle, localisation cellulaire ou tissulaire. Généralement ces analogues sont constitués d'un substituant aromatique qui permet des mesures de fluorescence. L'introduction de groupements plus encombrants a été réalisée le plus souvent par estérification du phosphate en 1 et sans une importante perte d'activité ou d'affinité.⁵⁸ En fait, on considère que les ajouts de groupements hydrophobes sur le phosphate 1 augmentent l'affinité.^{xcvi} Toutefois, l'Ins(1,4,5)P₃ estérifié par un 3'-aminopropyl-4"-azidosalicylamide (**66**, fig. **32**) est huit fois moins affiné que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).^{xcvii} En 1993, Glenn D. Prestwich publie la synthèse de nouvelles sondes (racémiques) de photoaffinité comprenant la benzophénone (p. e. sonde **67**), celles-ci montrent une baisse significative d'affinité.^{xcviii}

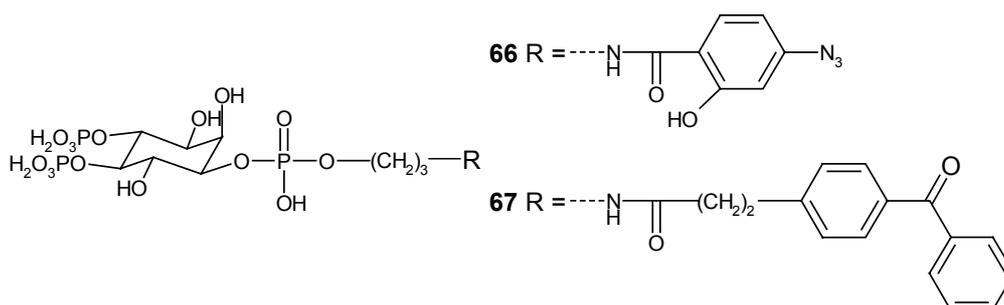


Figure 32 : exemples d'analogues de photoaffinité de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

2.2.2.6. Conclusions des RSA : pharmacophore

Les RSA de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) permettent d'en proposer un modèle de pharmacophore (fig. **33**) communément adopté.⁵⁸ Le motif 4,5-bis(phosphate) *trans*-équatorial semble essentiel au pharmacophore, le phosphate 1 renforce les propriétés pharmacologiques. L'hydroxyle 6, probablement engagé dans une liaison hydrogène de type donneur, est nécessaire pour maintenir une forte activité. Les analogues modifiés sur les positions 2 et 3 restent des agonistes entiers. Les positions 2 et 3 tolèrent en effet des substituants relativement encombrés. La zone qu'exploire le phosphate en 1 dans le site de liaison semblerait fournir un terrain pour de nouvelles interactions. On peut également imaginer retrouver de telles interactions *via* la position 2. Les analogues monomériques de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), synthétisés à ce jour, ne dépassent pas significativement ses potentialités.

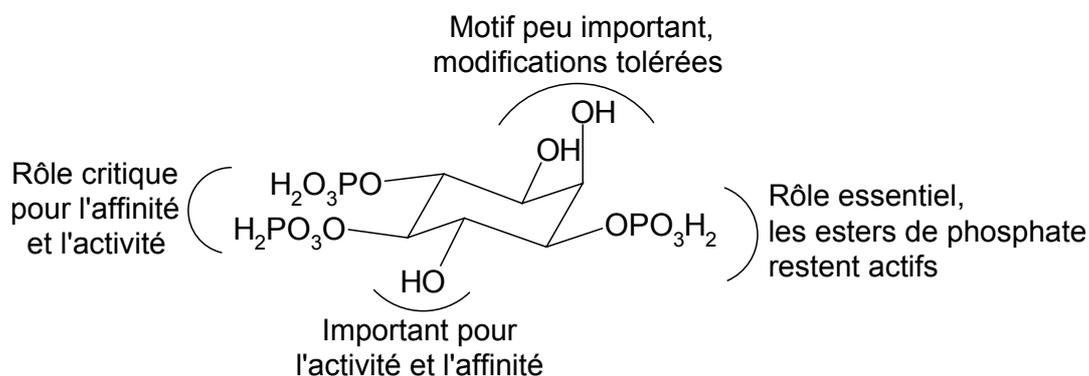


Figure 33 : conclusions des RSA de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) pour l'InsP₃R.

2.2.3. Les autres phosphates d'inositol naturels

2.2.3.1. Les InsP₁

Les InsP₁ sont des sujets de choix pour l'étude de l'IMPase, une des enzymes-clés du métabolisme des InsP.^{xcix} Les phosphatases Mg²⁺/Mn²⁺-dépendantes et sensibles au Li⁺ constituent une superfamille possédant un repliement et un site actif comparable, bien que possédant une faible identité de séquence. L'IMPase peut avoir plusieurs substrats. Elle catalyse en effet la déphosphorylation des Ins(1)P, Ins(3)P, Ins(4)P et Ins(6)P, ainsi que d'autres types de dérivés (p. e. le fructose-1,6-bis(phosphate) et l'adénosine 2'-monophosphate). Les données rassemblées à l'heure actuelle sur ces protéines montrent la nécessité de deux cations métalliques (l'un chélaté par l'Ins(1)P et l'autre impliqué dans l'activité catalytique) et que le Li⁺ exerce son pouvoir inhibiteur en bloquant les produits d'hydrolyse dans le site actif.^{c, ci} L'inhibition est effectuée de manière non compétitive au niveau du site actif sur l'enzyme liée à l'Ins(1)P. Le Li⁺ aurait une plus haute affinité pour le complexe enzyme-substrat que pour l'enzyme libre. L'Ins a un faible pouvoir inhibiteur sur l'IMPase (K_i = 400 mM), de plus on estime que la concentration de phosphore inorganique (Pi) dans le cerveau est de 3 mM et qu'ainsi, à chaque instant, plus de 90 % de l'enzyme doit être liée à du Pi *in vivo*.^{cii} Contrairement aux enzymes traditionnelles, le mécanisme de déphosphorylation qu'emprunte l'IMPase ne passe pas par un état intermédiaire enzyme-phosphate covalent.⁹⁹ L'IMPase se présente sous la forme d'un homodimère, dont chaque sous-unité a une masse moléculaire de 30 kDa. Chaque sous-unité possède une activité catalytique et comprend un site Mg²⁺ contenant

deux cations Mg^{2+} et cinq couches successives d'hélices α et de feuillets β . La structure de la monophosphatase de cerveau humain a été déterminée par cristallographie RX, avec une résolution de 2,1 Å. Le mécanisme d'hydrolyse de l'Ins(1)P nécessiterait deux cations Mg^{2+} .

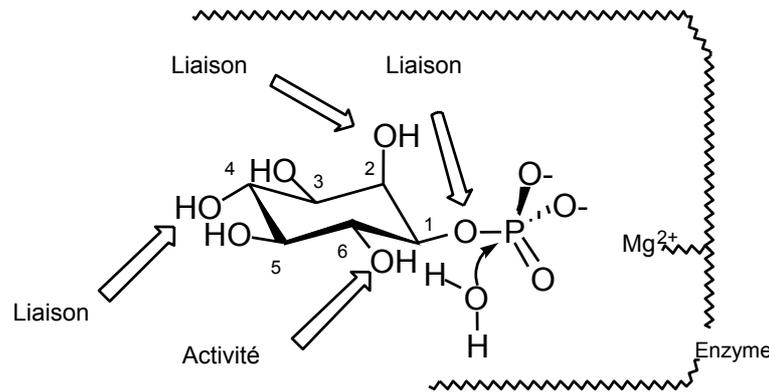


Figure 34 : rôle des alcools de l'Ins(1)P dans le site actif de la monophosphatase proposé (Cole *et al.*).¹⁰³

Un modèle du site catalytique proposé (fig. 34) y positionnerait les groupements ou atomes $OH-2$, $OH-4$ et $O-1$ de l'Ins(1)P (liaison à l'enzyme), tandis que le groupement $OH-6$ serait impliqué dans l'activité catalytique aux côtés d'un ion Mg^{2+} et d'une molécule d'eau.^{ciii}

Les études mécanistiques ont recours à des dérivés radiomarqués d'InsP₁ monophosphates (^{17/18}O) ou thiophosphates ainsi qu'à l'emploi d'eau H₂¹⁸O. De même, des méthodes de synthèses énantiosélectives efficaces sont développées : inositol monophosphate en série optiquement active résolue en 4 étapes.⁹⁹

Une structure RX de l'IMPase réalisée par Raj Gill *et al.* est parue en 2005.^{civ} Elle est résolue à 1,4 Å. Le site actif comprendrait trois Mg^{2+} , dont deux interagissent avec une molécule d'eau.

2.2.3.2. Les InsP₂

Il a été observé que l'Ins(1,4)P₂ agissait comme activateur de la DNA polymérase α et de la 6-phosphofructo-1-kinase. L'Ins(1,4)P₂ est métabolisé en Ins(4)P, lui-même converti en Ins, lequel rentrera à nouveau dans le cycle.²⁰ En dehors de la déphosphorylation de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), la production d'Ins(1,4)P₂ peut résulter de l'hydrolyse du PtdIns(4)P.^{cv} Il n'agit pas sur l'InsP₃R, mais inhibe la 5-phosphatase avec un K_i de 70 à 100 μ M. La PLC hydrolyse le PtdIns(3)P en Ins(1,3)P₂.

2.2.3.3. Les InsP₄

De nombreux InsP₄ existent à l'état naturel et auraient des rôles physiologiques particuliers, certains restant à éclaircir. À l'heure actuelle, le rôle de l'Ins(1,3,4,5)P₄ est encore ambigu et de nombreuses controverses existent à son sujet.^{cvi} Il pourrait avoir un rôle de second messager dans la régulation du Ca^{2+} intracellulaire. Ainsi, il interviendrait dans la libération de Ca^{2+} des stocks intracellulaires et/ou serait impliqué dans l'afflux de Ca^{2+} extracellulaire. Récemment, un nouveau site de liaison pour l'Ins(1,3,4,5)P₄ a été isolé à partir de plaquettes de porc, il pourrait s'agir d'un récepteur de l'Ins(1,3,4,5)P₄. L'Ins(1,3,4,5)P₄ se lie à une petite protéine, de la famille des protéines Ras, responsable de l'activation spécifique d'une GTPase capable de moduler la libération du Ca^{2+} .⁴⁵

L'Ins(1,3,4,5)P₄ est métabolisé par la même 5-phosphatase que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), pour donner l'Ins(1,3,4)P₃. Le métabolisme de l'Ins(1,3,4)P₃ dépend de la localisation tissulaire, il est converti en Ins(1,3)P₂ et/ou en Ins(3,4)P₂ puis respectivement en Ins(1)P

et Ins(3)P, lesquels sont déphosphorylés en *myo*-inositol par la monophosphatase.¹⁰⁶

L'Ins(3,4,5,6)P₄ semble être un inhibiteur important des canaux chlorures régulés par le Ca²⁺ dans les cellules épithéliales.¹⁰⁶

L'Ins(1,4,5,6)P₄ voit son taux notablement augmenter lors d'une infection cellulaire par *Salmonella dublin*, conduisant à l'inhibition de l'effet induit par les récepteurs de l'EGF qui activent la PI3K (phosphatidyl-*myo*-inositol 3-kinase, enzyme phosphorylant en 3 le reste Ins des PtdIns). Effectivement, le niveau élevé de cet InsP₄ empêche les interactions entre le PtdIns(3,4,5)P₃ et ses cibles.¹⁰⁶

2.2.3.4. Les InsP₅

Les InsP₅, par leur fort potentiel chélateur sont, avec l'InsP₆, les InsP les plus efficaces pour interférer avec l'absorption de minéraux nutritifs (Fe²⁺, Zn²⁺, Ca²⁺...) des animaux et des végétaux en formant des complexes insolubles.^{cvi} Ainsi en 1999, l'équipe de Sandberg a montré que l'addition de 2 équivalents (éq.) d'InsP₆ ou de 1 éq. InsP₅ réduit de 46 à 52 % la capture du fer dans les cellules Caco-2. La force de la liaison dépend du nombre de phosphates, mais aussi de leur orientation. Un autre facteur important étant le pH qui varie le long du tractus digestif.

L'Ins(1,3,4,5,6)P₅ a été découvert dans des érythrocytes aviaires, c'est l'isomère majeur d'InsP₅ chez les mammifères. Cet InsP₅ aurait la capacité de diminuer l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène.¹⁰⁶

2.2.3.5. L'InsP₆

Dix-sept ans après les premiers travaux d'isolement des substances contenues dans les graines de plantes réalisés par Hartig en 1855, Pfeffer en distingue trois composantes :^{cvi}

- des cristaux d'oxalate de calcium,
- une substance protéique,
- un composé non azoté, contenant du phosphore, du calcium et du magnésium.

Il nomme "globoïde" cette matière d'aspect sphérique, qui est commune à chaque espèce végétale analysée.

Il s'agit en fait de la découverte du premier InsP, en l'occurrence le *myo*-inositol hexakis(phosphate) (InsP₆) appelé également acide phytique. La totalité de l'InsP₆ contenu dans un végétal renferme autour de 85 % de tout le phosphore présent dans la plupart des végétaux.^{cix} Il existe sous la forme de sel complexe de Ca²⁺ et de Mg²⁺, la phytine, dans l'enveloppe des graines de céréales.¹⁴

En 1896, E. Schulze et E. Winterstein caractérisent l'acide phosphorique et l'inosine comme les produits d'hydrolyse de l'InsP₆.¹⁰⁹ Dès lors, de nombreuses équipes publient des résultats controversés quant à l'établissement de sa structure, sa conformation et sa resynthèse, multipliant également la variété des sels obtenus à partir de ce composé (baryum, cuivre,...). Les travaux réalisés notamment par S. Posternack (dès 1903) et R. J. Anderson (1912 en particulier) ont élucidé en partie ces questions.¹⁰⁹

Longtemps considéré uniquement comme une forme de "réservoir à phosphore", une pléthore de rôles physiologiques a été attribuée à ce composé : neurotransmission, activation de PKC, inhibition de phosphatases, activation de canaux calciques de type L, transport du fer, antioxydant cellulaire, réparation de l'ADN (acide désoxyribonucléique), régulateur d'export de mRNA...^{cx} Des apports alimentaires riches en InsP₆ sont reconnus

avoir des effets bénéfiques pour la santé (prévient la formation de calculs rénaux, agit comme agent antinéoplastique).^{cxii, cxiii} L'InsP₆ est l'InsP le plus abondant dans les cellules neurales et non neurales.¹⁹

2.2.3.6. Les InsP hyperphosphorylés

L'InsP₆ était considéré comme l'Ins le plus phosphorylé, jusqu'à la découverte de dérivés pyrophosphorylés, qui a ajouté un niveau de complexité dans les connaissances déjà bien établies concernant les InsP, leur métabolisme et leurs rôles. En 1992, l'équipe de Stephens isole à partir d'extraits aqueux de *Dictyostelium discoideum* deux diphosphates de phosphoinositols. Ils sont également hydrolysés en InsP₆ sous conditions acides douces.^{cxiv}

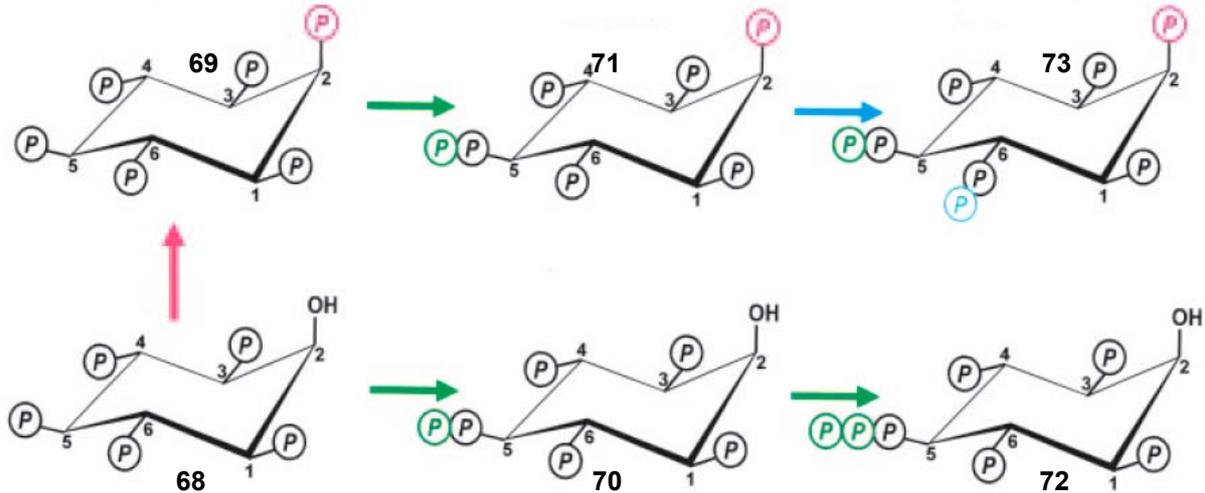


Figure 35 : conversions de l'InsP₅ (68) à l'InsP₈ (InsP₆ (69), [PP]-InsP₄ (70), [PP]-InsP₅ ou "InsP₇" (71), [PPP]-InsP₄ ou [PP]₂-InsP₃ (72), [PP]₂-InsP₄ ou "InsP₈" (73) d'après S. B. Shears.¹¹⁵

La synthèse des pyrophosphates d'inositol peut être imputée à trois classes d'enzymes,^{cxv} l'InsP₅ kinase (flèche mauve, fig. 35), l'InsP₆ kinase versatile (flèches vertes) et la [PP]-InsP₅ kinase (flèche bleue). Le produit résultant de la phosphorylation du [PP]-InsP₄ (70) par l'InsP₆ kinase reste incertain ([PP]₂-InsP₃ ou [PPP]-InsP₄ (72)).

Les polyphosphates de diphosphoinositol sont synthétisés de manière très active par des enzymes du SNC où ces composés seraient à même d'y jouer un rôle significatif.¹⁹ Des études suggèrent que les polyphosphates de diphosphoinositol sont impliqués dans la régulation de nombreux phénomènes biologiques comme l'apoptose, le trafic vésiculaire, la transcription, la réparation de l'ADN^{cxvi} ou encore la régulation de la longueur des télomères¹¹⁵ et qu'ils lient les mêmes protéines que l'InsP₆ parfois avec une affinité supérieure.¹⁰⁶ L'un d'eux, le bis(diphosphoinositol)tétrakis(phosphate) ([PP]₂-InsP₄ ou "InsP₈"), voit sa concentration fortement augmenter en cas d'événement hyperosmotique dans des cellules de mammifères. Toujours dans ce modèle, ce composé passe à un taux 3 à 4 fois supérieur lorsque la T° varie de 37 à 33°C ou de 37 à 42°C. Le phénomène est rapidement observé (< 5 min) et est réversible (t_{1/2} = 7 min) après retour des cellules à 37°C. Cette étude de S. B. Shears¹¹⁶ a également montré que chez *Saccharomyces cerevisiae*, le taux de [PP]₂-InsP₄ cellulaire ne varie pas significativement en cas de déséquilibre osmotique, de variation de T° ou de toxicité saline. Ces chocs osmotiques ou thermiques peuvent perturber la structure du cytosquelette, la structure chromatinienne, endommager l'ADN ou encore inhiber sa réparation.

2.3. Phospholipides dérivés de l'inositol

2.3.1. Bref historique des phospholipides

La présence de phosphore dans le cerveau est rapportée dès 1719 par J. T. Hensing,^{cxvii} professeur de médecine à l'Université de Giessen. Il a été mis en évidence par Nicolas Louis Vauquelin, en 1811, dans des lipides extraits du cerveau à l'aide d'éthanol (usage de l'alcool à cet effet, introduit par Antoine François comte de Fourcroy en 1783).^{cxviii}

En 1884, l'ouvrage de J. L. W. Thudichum portant sur la constitution chimique du cerveau est publié à Londres. Un peu plus tard, A. Baumann et M. H. Renall (Institut de Physiologie et de Chimie de Strasbourg) publient en 1913 leurs travaux concernant le Ptd-éthanolamine. A. C. Chibnall isole en 1927 l'acide phosphatidique, un constituant essentiel des phospholipides, à partir de feuilles de chou.^{cxix}

2.3.2. Découverte et structure des phosphatidyl-*myo*-inositols

Des lipides contenant de l'Ins, issus de *Tuberculosis bacilli*, ont été rapportés dès 1930 par R. J. Anderson.^{cxx} En 1938, Cason et Anderson montrent que des esters phosphoriques d'Ins font partie des phospholipides qui sont dégradés et synthétisés en permanence.^{cxxi}

La première séparation d'un PtdIns a été réalisée à partir du germe de blé en 1953 par M. Faure et coll.^{cxxii} Les autres principaux travaux d'isolement des années 40 et 50 seraient attribuables notamment à Jordi Folch^{cxxiii,cxxiv} et John N. Hawthorne.^{cxxv}

Le PtdIns libéré par action de la PLC, le PtdIns(4,5)P₂, fut caractérisé par Carmen Grado et Clinton E. Ballou en 1961,³³ vingt ans avant que Michell et coll. ne découvrent son implication dans la communication cellulaire.^{cxxvi}

La structure fut évoquée par nécessité (fig. 2) dans la partie 2.1.2.1. concernant la nomenclature de l'Ins, dont la numérotation des positions découle.

2.3.3. Distribution et métabolisme des phosphates de phosphatidyl-*myo*-inositol

Dans les cellules animales, les phosphatidyl-*myo*-inositols (ou phospho-inositides) représentent entre 5 et 7 % des phospholipides cellulaires.^{cxxvii} Les phospho-inositides comprennent les phosphates de PtdIns et le PtdIns. Le PtdIns est le plus abondant (environ 90 %) des phospho-inositides et est principalement localisé au niveau du RE, mais également dans la couche interne de la bicouche lipidique qui constitue la membrane cellulaire.⁵⁸

On recense parmi les phosphates de PtdIns sept espèces majeures : PtdIns(4)P, PtdIns(3)P, PtdIns(5)P, PtdIns(4,5)P₂, PtdIns(3,4)P₂, PtdIns(3,5)P₂ et un seul tris(phosphate), le PtdIns(3,4,5)P₃. Parmi elles, les PtdIns(4)P et PtdIns(4,5)P₂ (2) sont les plus fréquentes, bien qu'elles ne représentent que 0,5 % du contenu lipidique des membranes des cellules eucaryotes.^{cxxviii}

À l'origine de la synthèse des phospholipides membranaires, se trouve l'acide phosphatidique constitué d'un glycérol estérifié par deux acides gras (en C-1 et C-2) et phosphorylé sur l'alcool en C-3. L'acide phosphatidique réagit avec le cytidine triphosphate (CTP) pour donner le CDP-diacylglycérol (ainsi qu'une molécule de pyrophosphate). Le PtdIns est formé par la liaison de l'Ins au reste Ptd issu du CDP-

diacylglycérol (ce dernier intervenant également dans la synthèse des autres phospholipides non azotés : phosphatidyl-éthanolamine, -choline ou cardiolipide), liaison médiée par la PtdIns synthétase.¹⁴

Le PtdIns est tout d'abord phosphorylé par la PtdIns 4-kinase pour donner le PtdIns(4)P qui est converti en PtdIns(4,5)P₂ (**2**) par la PtdIns 5-kinase. Il existe également une PtdIns 3-kinase qui utilise ces trois PtdIns comme substrat pour donner respectivement, le PtdIns(3)P, le PtdIns(3,4)P₂ et le PtdIns(3,4,5)P₃. Les fonctions de ce PtdIns(3,4,5)P₃ ne sont pas bien définies, mais il jouerait un rôle dans la prolifération cellulaire et éventuellement dans les réponses au stress.

2.3.4. Propriétés et rôles physiologiques

2.3.4.1. Voies de libération

Soumises à un stress hyperosmotique, les levures *Saccharomyces cerevisiæ* et *Schizosaccharomyces pombe* synthétisent rapidement le PtdIns(3,5)P₂ par activation de la PtdIns(3)P-5-OH kinase.^{cxix} De plus, la protéine de transfert du PtdIns (PITP) chez les mammifères est nécessaire au bourgeonnement des vésicules impliquées dans le transit à l'intérieur de l'appareil de Golgi.²⁷

Cette famille de protéines a été notablement passée en revue par S. Cockcroft et coll. en 2001.^{cxix} Ces PITP permettent le transfert de PtdIns et de Ptdcholine (16 fois moins d'affinité pour ce dernier) entre différents compartiments membranaires. Elles sont impliquées dans la transduction du signal et un dysfonctionnement peut conduire à une neurodégénérescence. En outre elles facilitent la phosphorylation des PtdIns en les présentant aux kinases dédiées.¹²⁷ Ces protéines solubles sont retrouvées dans de nombreux organismes (les mammifères, le ver *Cænorhabditis elegans*, l'insecte *Drosophila melanogaster*, l'amibe *Dictyostelium discoideum*), mais seraient absentes des levures, des champignons et des plantes.

2.3.4.2. Rôles physiologiques

Comme tous les phospholipides, les PtdIns font partie (avec le cholestérol) des lipides qui constituent l'essentiel, en dehors des protéines, des structures membranaires biologiques. L'état des membranes (gel, liquide, ...) est fonction de la température, facteur qui va influencer la rigidification des restes acyles. La relative fluidité permet aux protéines membranaires de se réassembler, de changer de conformation ou de migrer d'un côté à l'autre de la membrane. La perméabilité de la couche lipidique va aussi dépendre du facteur température, ce rôle de barrière est également crucial pour le fonctionnement cellulaire.¹⁴

De nombreuses protéines comprennent de petits domaines homologues de la pleckstrine, appelés domaines PH, ayant la propriété de lier les PtdIns(4,5)P₂, PtdIns(3,4,5)P₃ et PtdIns(3,4)P₂ par des séquences dites consensus des PtdIns. Ces protéines peuvent être aussi bien associées à un récepteur comme appartenir au cytosquelette ou au noyau.^{cxix}

Les PtdIns(3)P, PtdIns(4)P et PtdIns(5)P sont des capteurs du trafic vésiculaire et de la sécrétion de protéines.¹²⁹

Le PtdIns(4,5)P₂ (**2**) est impliqué, voire indispensable, dans les phénomènes

d'exocytose, de trafic membranaire, de réarrangement du cytosquelette et régule l'activation de canaux ioniques (p. e. K^+ -ATP) et de la PLD.^{cxxxii}

Par ailleurs, il semblerait que le PtdIns(3,4,5)P₃ ait un rôle de second messenger en intervenant comme signal dans les modifications de structure du cytosquelette ou dans l'adhérence de cellules telles que les neutrophiles ou les plaquettes sanguines. Plus généralement, il serait impliqué dans la régulation du métabolisme, de la prolifération et de la survie cellulaire.^{129, 132}

2.4. Les glycolipides dérivés des phosphatidyl-*myo*-inositols

Entre 1976 et 1997, dates des deux dernières commissions de nomenclature de l'IUPAC-IUB concernant les glycolipides, plus de 300 structures ont été recensées.^{cxxxiii} Le terme glycosphosphatidyl inositol (GPI) est utilisé pour désigner les PtdIns dont l'Ins est attaché à un mono- ou à un polysaccharide par une liaison osidique. Ces molécules représentent un système d'ancrage protéique ubiquitaire chez les eucaryotes.

La synthèse du complexe se déroule au niveau du RE où le complexe est incorporé au site membranaire par transfert de glucosamine (GlcN) et de mannose (Man) sur le PtdIns.¹⁴ Les GPI liés covalamment à des polypeptides sont appelés "ancres-GPI", cette liaison se fait généralement du côté C-terminal du polypeptide par une liaison amide. Les GPI constituent effectivement des ancres pour les protéines membranaires, notamment chez les protozoaires.^{cxxxiv} Des phosphoglycanes ont été proposés comme seconds messagers de l'insuline.

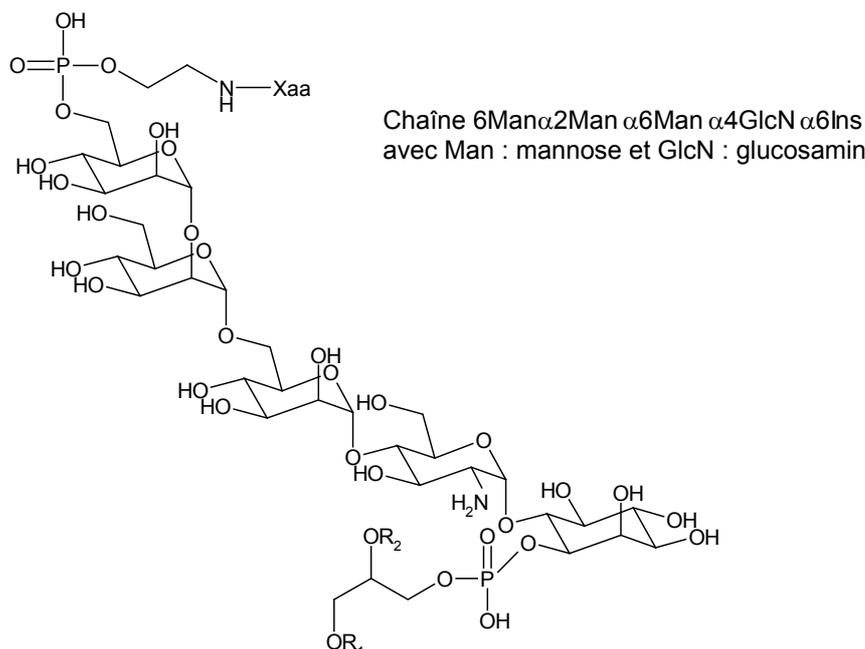


Figure 36 : structure commune des ancres-GPI (Xaa = aa C-terminal, R = acyl, alkyl).

Un GPI est constitué d'une structure glycanique (de type Man α 2Man α 6Man α 4GlcN α 6 sur la figure 36) liée à l'Ins du PtdIns. La GlcN non acétylée est caractéristique des GPI. Il existe de nombreuses variations concernant la nature du glycan et d'éventuelles autres substitutions de l'Ins.¹³³ En 1961 Edgar Lederer et Erna Vilkas de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles de Gif-sur-Yvette caractérisent un PtdIns-dimannoside obtenu à partir de *Mycobacterium tuberculosis*.^{cxxxv} Cette étude donnera lieu à une collaboration^{cxxxvi} avec Clinton E. Ballou venu à Gif-sur-Yvette en 1961 pour une année sabbatique.^{cxxxvii} Il existe un fort attrait pour les GPI dans la mesure

où ils pourraient fournir de bons candidats pour des vaccins, notamment contre la malaria.^{cxxxviii}

3. L'adénophostine

3.1. Découverte et structure

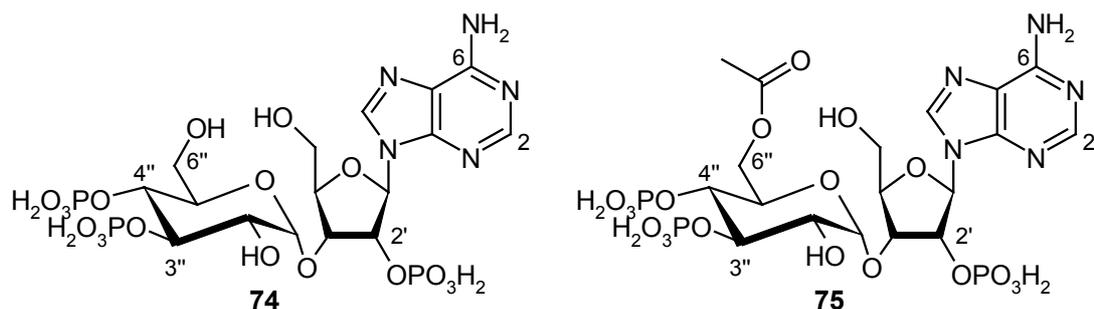


Figure 37 : adénophostines A (74) et B (75).

Les adénophostines A et B (**74** et **75**, fig. 37) ont été isolées en 1993 par l'équipe de M. Takahashi, à partir d'un bouillon de culture de souches fongiques de *Penicillium brevicompactum* (SANK 11991 et SANK 12177).^{cxxxix} La structure nucléodiholosidique 3'-O-(α -D-glucosyl)adénosine comprend ainsi un glucose(3'',4'')P₂ (acétylé en 6'' pour l'adénophostine B, **75**) et le reste adénosine possède un phosphate en 2' du ribose.

3.2. Caractéristiques pharmacologiques

L'adénophostine (A et B sont équivalentes après tests pharmacologiques) a la propriété de se lier, selon les tests, avec dix, voire cent fois plus d'affinité que le ligand naturel sur les trois sous-types d'InsP₃R ($K_i = 0,18$ vs 15 nM sur l'InsP₃R1).^{cxli, cxlii} Elle induit une libération significative de calcium à une concentration de 1 nM.¹⁴¹ Elle possède en outre une activité supérieure sur la libération du calcium du réticulum endoplasmique ($CE_{50} = 14,7$ nM vs 145 nM pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**)).¹⁴¹ L'adénophostine, plus affine et active, bénéficie également d'une activité prolongée liée à sa résistance aux enzymes qui phosphorylent et déphosphorylent l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).¹⁴¹

La CI_{50} de 19 nM est quatre fois plus faible que celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (à 76 nM) sur l'InsP₃R1. La coopérativité nécessaire à la libération de Ca²⁺ est également supérieure ("nombre de Hill" $n_H = 3,9$ vs 1,8).¹⁴⁰

En 1997, il a été montré un deuxième mécanisme d'interaction de cette molécule, vraisemblablement indépendant des stocks calciques internes des œufs de Xénope.^{cxlii}

En 1999, l'adénophostine A (**74**) a été testée également sur des œufs de Xénope dans le rééquilibrage des stocks calciques.^{cxliii} Le calcium extra-cellulaire rentre dans la cellule par un mécanisme dépendant du calcium intracellulaire et des courants Cl⁻. Les canaux empruntés (store operated channel, SOC) seraient stimulés par un ou plusieurs mécanismes impliquant un contact chimique par une molécule putative "CIF" (calcium influx factor) et/ou physique avec la membrane plasmique dans lequel l'InsP₃R, du moins le RE, pourrait intervenir. La nature et la régulation de ce canal sont encore mal connues.^{cxliv, cxlv} L'influx de calcium mesuré a été sept fois plus faible pour l'adénophostine A (**74**) que celui induit par la déplétion consécutive à l'ajout d'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

En 2000, une expérience de liaison compétitive entre l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), l'adénophostine A (**74**) et le ShPIP (un analogue hydrosoluble du PtdIns(4,5)P₂ (**2**) où les acides gras sont des chaînes octanoïles) a été réalisée sur la région *N*-terminale de l'InsP₃R. Elle a montré, outre la même région du domaine de liaison pour ces trois composés, que l'adénophostine A (**74**) ne déplaçait pas mieux ce facteur que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).^{cxlvi}

À des concentrations extrêmement faibles (10 pM), l'adénophostine A (**74**) induit une bouffée de calcium très localisée sur des œufs de Xénope.^{cxlvii}

3.3. Relations structure/activité de l'adénophostine pour l'InsP₃R

- Plusieurs synthèses totales de l'adénophostine A (**74**) sont parues entre 1995 et 2000. La première, par Hotoda et coll.,^{cxlviii} avait recours à huit étapes avec un rendement global de 22 %. Suivirent deux papiers de l'équipe formée par Nicole C. R. van Straten, Gijbert A. van der Marel et Jacques H. van Boom en 1996^{cxlix} et en 1997.^{cl} Potter et coll. rapportent également une synthèse totale de l'adénophostine A (**74**) en 2000.^{cli}

- De nombreux analogues de l'adénophostine A (**74**) ont déjà été synthétisés depuis une douzaine d'années, certains sont passés en revue par V. Correa *et al.* en 2001.^{clii} Les composés les plus significatifs sont représentés dans la figure **38**, ainsi que leur activité (vs Ins(1,4,5)P₃ (**3**)). Ils comprennent, pour la plupart, le squelette diholosidique d'origine ou légèrement modifié.

Par comparaison de la CE₅₀ de l'adénophostine A (**74**) et de ses dérivés synthétiques **76** à **84** (fig. **38**), qui évoquent un "effeuillage" progressif de l'adénophostine, vs l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), on s'aperçoit que ces analogues perdent rapidement de leur activité au fur et à mesure que l'adénine est modifiée. De même que l'absence d'un noyau hétéroaromatique entraîne une activité inférieure à celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

Déjà bien renseignées, les études de RSA de l'adénophostine nous amènent à conclure sur ses requis structuraux. Ainsi nous remarquons principalement la nécessité de l'adénine (molécule **81**, fig. **38** : CE₅₀ = 491 nM vs 14,7 nM pour l'adénophostine A (**74**) et 145 nM pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**)) ou du moins la présence d'un noyau hétéroaromatique.

En l'absence du cycle hétéroaromatique, c'est-à-dire en ne gardant que la structure qui mime au mieux l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), le diholoside se retrouve à un niveau d'affinité déjà inférieur à celui de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). La simplification du ribose en une chaîne éthylphosphate, molécule **82**, induit une activité largement inférieure à celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

La triade de phosphates reste également pour l'adénophostine un motif indispensable. Il n'y a effectivement pas d'activité à 10 μM pour le dérivé de **80** déphosphorylé sur le ribose. L'orientation du 2'-phosphate sur le ribose doit également être conservée par comparaison des CE₅₀ entre les produits **83** et **84**, ce qui implique de conserver la liaison α-interglycosidique. Il apparaît également que les groupements hydroxyméthyles sur les sucres de l'adénophostine des composés **80** vs **81** p. e., ainsi que l'hydroxyle 2" du pyranose (contrairement à l'hydroxyle 6 de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) qui lui est équivalent) ne sont pas essentiels.¹⁵²

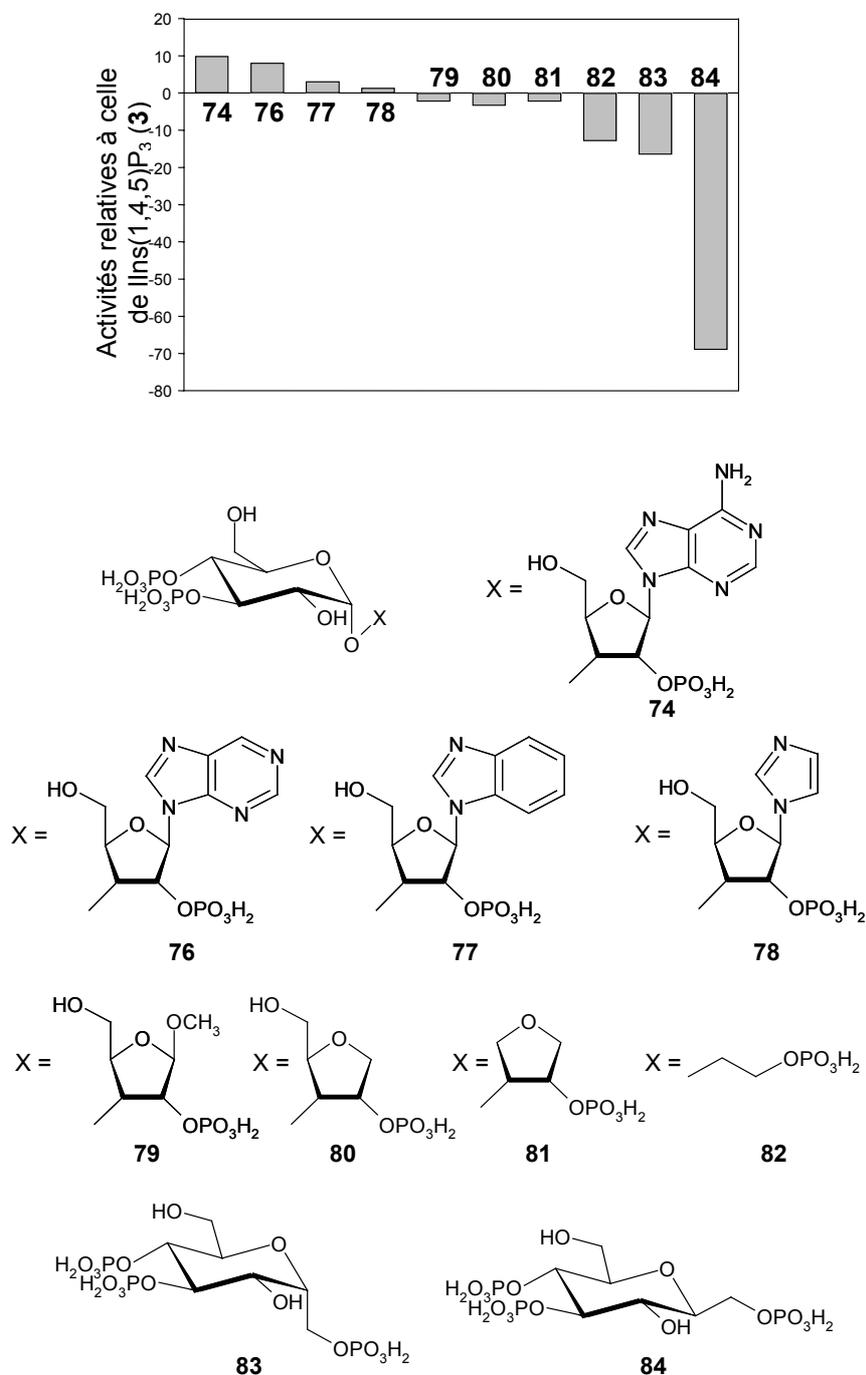


Figure 38 : activités potentielles relatives à l'Ins(1,4,5)P₃ (3) de l'adénophostine A (74) et de ses analogues synthétisés (d'après V. Correa *et al.*).¹⁵²

• En 2001, l'équipe de B. V. L. Potter rapporte la synthèse de deux analogues de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) inspirés de l'adénophostine, mais dépourvus de purine et constitués d'un inositol bicyclique (85 et 86, fig. 39), afin de placer le phosphate 1 de manière distale.^{cliii} Ils sont respectivement 14 et 21 fois moins affins que l'Ins(1,4,5)P₃ (3).

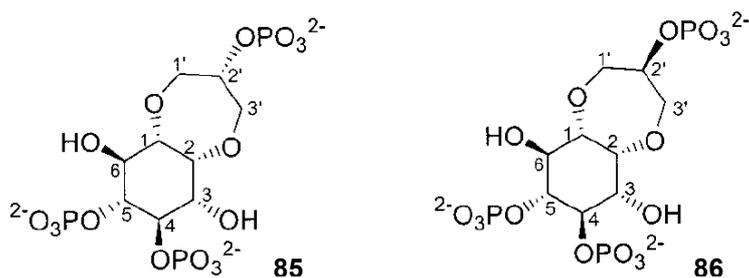


Figure 39 : analogues bicycliques de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) inspirés de l'adénophostine (Potter et coll.).¹⁵³

• D'autres dérivés de l'adénophostine, modifiés sur la purine, sont publiés par Rosenberg *et al.* en 2003 (fig. 40, structure générique 87 et composé 88).^{cliv} Les modifications de l'amine en 6 (remplacement ou alkylation) engendrent une baisse minime à faible de l'activité du composé, peu ou prou en fonction de la taille du substituant introduit, puisque le groupement cyclopentyle en 6 est bien toléré (tableau 4). Il semble nécessaire de garder une liaison H donneuse en 6. Un substituant encombrant semble générer un effet prolongé, puisque le pourcentage de l'effet maximal est dépassé. La substitution en 2 de la purine induit la plus forte baisse d'activité et de coopérativité.

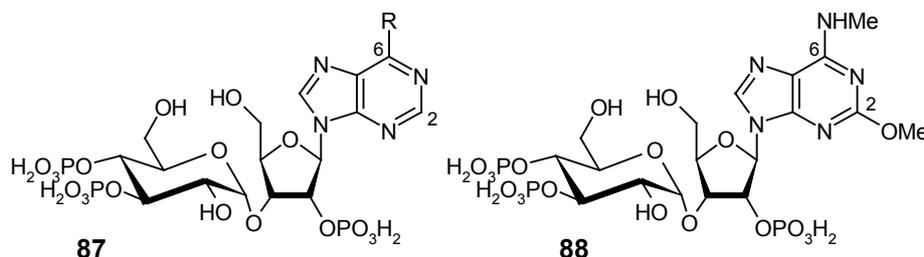


Figure 40 : dérivés de l'adénophostine modifiés sur la purine (Rosenberg *et al.*).¹⁵⁴

Composé	CE ₅₀ (nM)	nombre de Hill
3 Ins(1,4,5)P ₃	185	2
74 Adénophostine A (R= NH ₂)	14	2
87, R = OMe	19	4
87, R = NHcyclopentyl	13	2
87, R = NHMe	13	2
87, R = NMe ₂	19	2
87, R = NHcyclohexyl	25	2
87, R = NH(3-noradamantyl)	34	2
88	82	9

Tableau 4 : propriétés pharmacologiques de l'Ins(1,4,5)P₃ (3), de l'adénophostine A (74) et une partie de ses analogues modifiés sur la purine, établies par Rosenberg *et al.*.¹⁵⁴

• En 2002, une synthèse d'analogues de l'adénophostine A (74) à partir du D-xylose est parue (Y. Chapleur et coll.).^{cliv} Les composés 89 (Cl₅₀ de 66 nM, CE₅₀ de 465 nM) et 90 (Cl₅₀ de 3 μM, pas d'activité à 10⁻⁴ M) statuent également sur le rôle important de l'orientation du phosphate en 2' de l'adénophostine (fig. 41). La même équipe avait synthétisé en 1995 les dérivés 54 (décrit instable) et 55 ce dernier obtenant une Cl₅₀ de 430 nM et une activité env. 10 fois moins forte que l'Ins(1,4,5)P₃ (3) dans le test de libération du Ca²⁺ (valeur non communiquée).⁹² À titre de comparaison l'Ins(1,4,5)P₃ (3) obtient une Cl₅₀ de 18 nM et une CE₅₀ de 89 μM.¹⁵⁵ La perte de la base purique entre les composés 89 et 55 se traduit là aussi nettement par une baisse des potentialités.

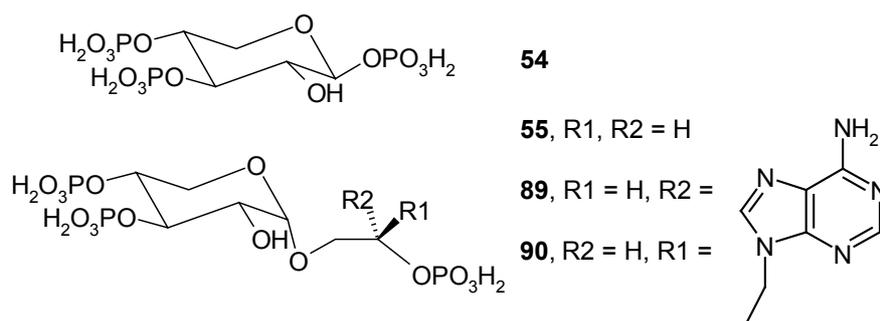


Figure 41 : analogues de l'adénophostine à partir du D-xylose (Y. Chapleur et coll.).¹⁵⁵

4. Les récepteurs de l'Ins(1,4,5)P₃

4.1. Découvertes, variété et distribution

À l'origine, l'InsP₃R a été identifié comme un monomère polypeptidique de 2749 aa, soit 313 kDa, obtenu à partir de cerveau de rat.^{clvi} Il fut caractérisé par ses propriétés immunologiques comme étant identique à la protéine P400 des cellules de Purkinje, encore synonyme de Purkinje Cell Protein 1, devenue l'Inositol 1,4,5-Trisphosphate-Binding Protein P400.^{clvii} Plusieurs clonages d'ADN complémentaires de souris, de rat, de drosophile, de l'homme (etc) ont permis d'en déterminer leurs structures (primaire, secondaire, etc) et fonctions. Trois isoformes, codées par trois gènes différents, de ce récepteur ont été ainsi découvertes chez les mammifères : InsP₃R1, InsP₃R2 et InsP₃R3. La figure 42 représente la conservation de la séquence protéique, parmi les différentes isoformes d'InsP₃R, en codant le pourcentage d'identité à l'isoforme 1 par une couleur. Les éléments fonctionnels seront détaillés dans le point suivant.

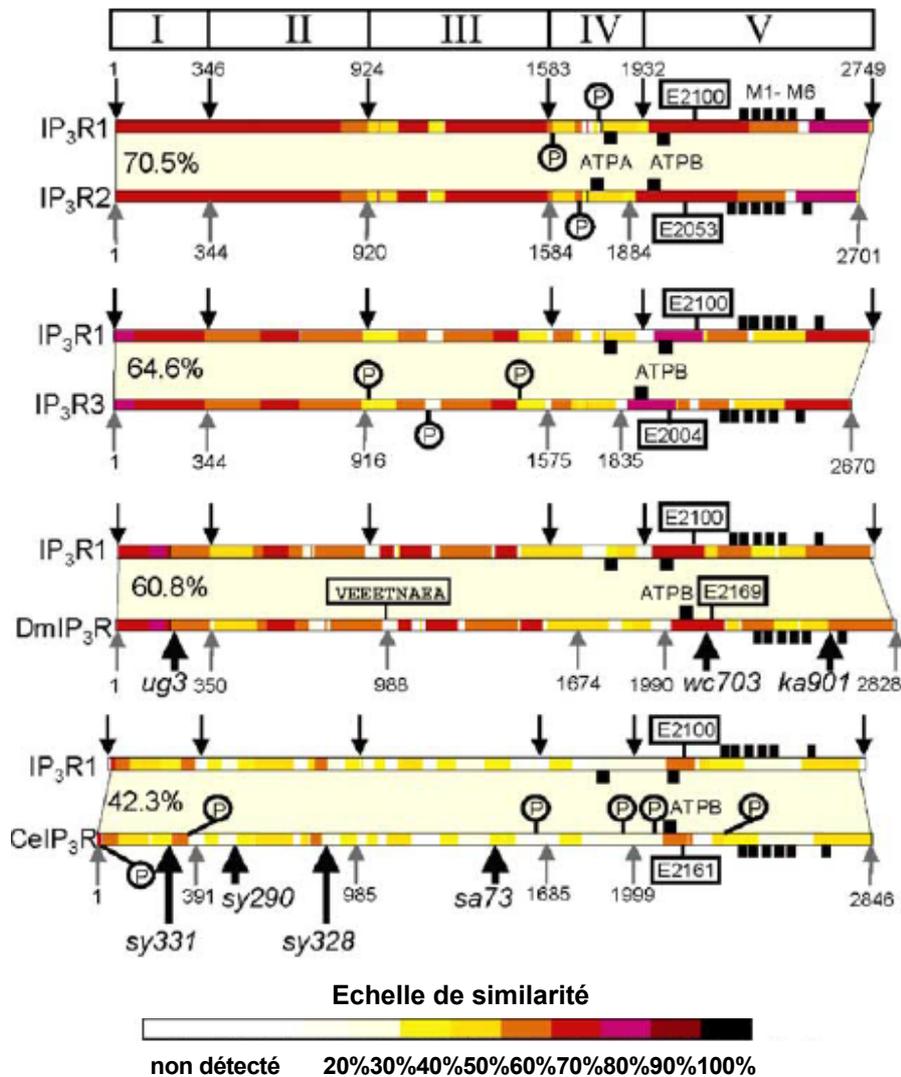


Figure 42 : alignement des séquences des isoformes d'InsP₃R selon Bezprozvanny.¹⁵⁸

Un seul type d'InsP₃R est exprimé chez *Drosophila melanogaster* (DmInsP₃R) et *Cænorhabditis elegans* (CeInsP₃R).^{clviii} Chez les mammifères, les trois isoformes peuvent coexister au sein d'une cellule, mais en général une isoforme est majoritairement exprimée en fonction du type cellulaire. L'InsP₃R1 est l'isoforme la plus abondante et

hautement exprimée dans le cerveau, principalement sous la forme homotétramérique et dans les cellules de Purkinje du cervelet.⁵⁸ C'est l'isoforme la plus affine pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) avec un Kd de 1 nM.^{clix}

L'InsP₃R2 du rat comprend 2701 aa et montre 70,5 % d'identité avec l'InsP₃R1. Il est également abondant dans le SNC, dans le cervelet en particulier et est notamment présent dans les poumons, le foie, le placenta et les thymocytes.^{58, 158, 159} Il est un peu moins affin que l'InsP₃R1, avec un Kd pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) de 2 nM.¹⁵⁹

L'InsP₃R3 contient 2670 aa chez le rat et possède 64,6 % d'identité avec l'InsP₃R1. Ce type est spécifique des îlots pancréatiques, des reins et du tractus gastro-intestinal. On le retrouve aussi dans le cerveau.^{58, 158, clx} Il est le moins affin des trois (résultat retrouvé dans de nombreuses études), avec un Kd pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) de 40 nM.¹⁵⁹

4.2. Structures et fonctions

On sait depuis une douzaine d'années que l'InsP₃R1 forme un canal calcique hétéro- ou homotétramérique.^{clxi} Chaque sous-unité protéique de 2749 aa (chez le rat) est capable de lier une molécule d'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) sur la zone N-terminale, le domaine C-terminal formant le canal. La zone médiane constituant un domaine destiné au couplage des modulateurs. Aujourd'hui, nous disposons de plus de précisions sur les propriétés fonctionnelles de l'InsP₃R1, notamment ses interactions avec de nombreuses protéines. Ces dernières connaissances fonctionnelles et structurales de cette séquence peptidique ont abouti à un schéma relativement complexe (fig. 43) réalisé par Ilya Bezprozvanny en 2005.¹⁵⁸

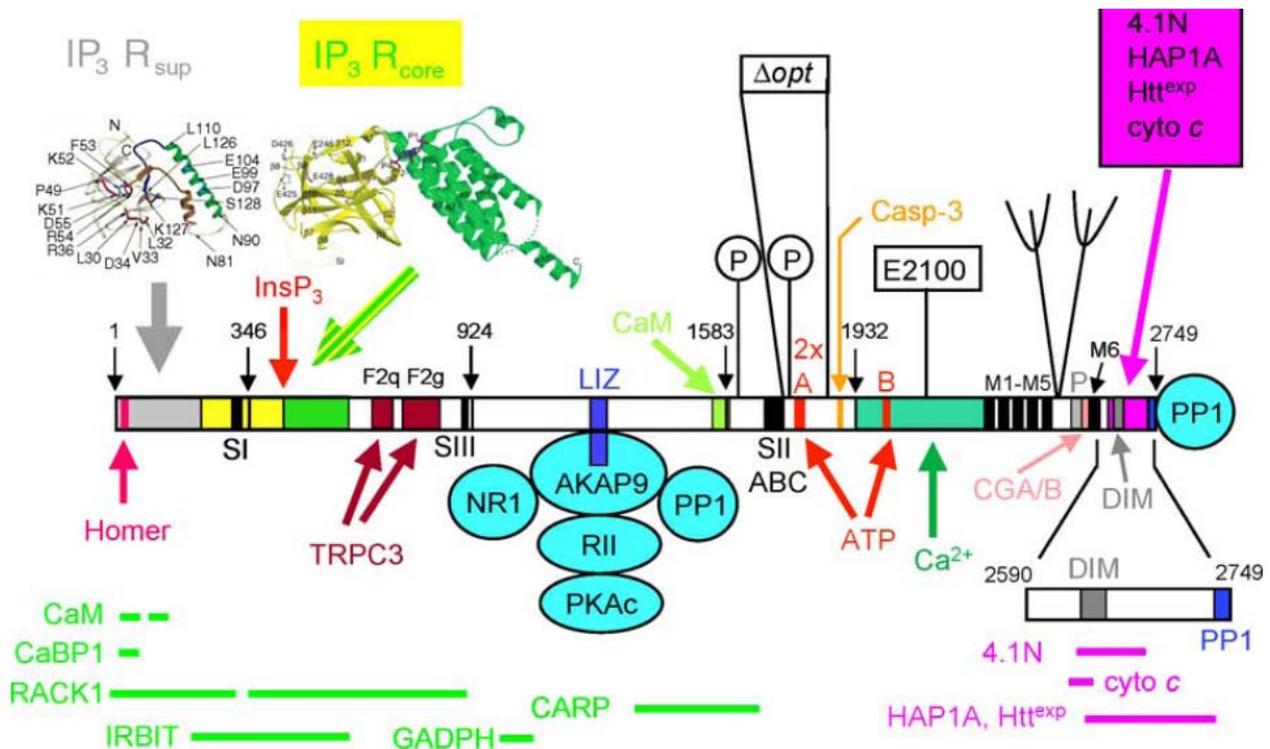


Figure 43 : structure primaire de l'InsP₃R1 du rat (d'après Bezprozvanny).¹⁵⁸

L'InsP₃R1 forme un canal de haute conductance (70 pS)^{clxii} modérément sélectif des cations divalents. Il est régulé par le Ca²⁺ cytosolique aux concentrations physiologiques et peut être potentialisé allostériquement par l'ATP (mM).^{clxiii} Sa phosphorylation par la protéine kinase A (PKA) augmente la sensibilité de l'InsP₃R1 à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) *in vitro*.¹⁵⁸

Les données essentielles que mentionne la figure **43** sont :

- les cinq domaines résultant d'une protéolyse limitée par la trypsine (sites de clivage : aa 346, 924, 1583 et 1932, flèches noires), domaine I (aa 1-345) comprenant un motif suppresseur (InsP₃R_{sup}, aa 1-223). Le domaine I et le domaine II (aa 346-923) contiennent le motif de liaison à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (InsP₃R_{core}, aa 224-604),
- les structures tertiaires des domaines InsP₃R_{sup} et InsP₃R_{core}. L'InsP₃R_{core} est divisé en deux repliements codés par une couleur : "β-trefoil" en jaune et "armadillo repeat" en vert (voir également le point 4.4.),
- les sites alternatifs d'épissage SI, SII et SIII (aa : 318-332 ; 917-918 ; 1692-1731),
- le motif de liaison Ca²⁺-calmoduline (aa 1565-1586),
- les sites de phosphorylation (P) par les enzymes PKA/PKG (aa 1589 et 1755),
- les sites de liaison de l'ATP (ATPA, aa 1773-1780 ; ATPB, aa 2016-2021), aboutissant à une potentialisation allostérique à partir du mM,
- le site de clivage par la caspase-3 (aa 1888-1891), accélérant la mort cellulaire par apoptose en libérant du Ca²⁺ dans la cellule de manière indépendante de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**),
- la région sensible au Ca²⁺ (aa 1933-2275), dont le résidu E2100 est essentiel pour la régulation de l'InsP₃R1 par le Ca²⁺,
- les six domaines transmembranaires (aa 2276-2589) M1 à M6,
- les sites de N-glycosylation (N2475 et N2503),
- la zone de formation du pore (aa 2541-2552),
- les sites d'association avec les chromogranines A et B (CGA et CGB) (aa 2550-2569),
- les régions impliquées dans les associations avec d'autres partenaires de l'InsP₃R1 : CaM (aa 49-81 et 106-128), CaBP1 (aa 49-81), RACK1 (aa 1-346 et 346-923), IRBIT (Ins(1,4,5)P₃ Binding Protein)^{clxiv} découverte en 2003 (aa 224-604), GAPDH (aa 981-1000) et CARP (aa 1387-1647), les sites de liaison des protéines 4.1N (aa 2627-2676), cytochrome C (aa 2621-2636), HAP1A et Htt^{exp} (aa 2627-2736), PP1 (aa 2731-2749).

L'assemblage des sous-unités est un processus co-translationnel initié par les domaines transmembranaires M1 à M4. Les domaines M5 et M6 permettent la finalisation de l'oligomérisation en un canal fonctionnel. Ces interactions stabilisent la phase ultime en conjonction des effets additifs des domaines C-terminaux. Cet assemblage passerait par un intermédiaire dimérique (domaine de dimérisation, fig. **43**, aa 2629-2654).^{clxv, clxvi}

Les formes 2 (conductance de 70 pS également) et 3 (88 pS) de l'InsP₃R sont moins renseignées.¹⁶² Comme l'illustre la figure **42**, certains motifs fonctionnels et sites de liaison ont été conservés ou du moins, font partie des séquences les mieux conservées. Parmi ces motifs, nous pouvons citer les zones putatives d'interaction avec le Ca²⁺ et les sites de trypsinolyse (flèches grises).¹⁵⁸

De part cette hétérogénéité, il n'est pas aisé d'étudier un à un chaque type de récepteur et les résultats observés dépendent souvent de la méthode utilisée. Ainsi, l'InsP₃R1 reste le mieux caractérisé, sans doute du fait du grand nombre de types de cellules (notamment cérébrales) dans lesquelles ce dernier s'exprime avec d'assez fortes concentrations et de façon relativement homogène dans les tétramères.

Quoi qu'il en soit, les analyses fonctionnelles ont démontré que chacun des trois types de récepteurs peut se résumer à trois domaines distincts : ¹⁵⁸

- une partie cytoplasmique N-terminale contenant le site de liaison à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (InsP₃R_{core}), qui exprimée seule a une haute affinité pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (Kd = 2,3 nM) et co-exprimée avec InsP₃R_{supp} revient au niveau physiologique (Kd = 45 nM),

- un grand domaine extracellulaire de régulation et de couplage, contenant des sites de liaison des modulateurs (Ca²⁺ et ATP) et des sites de phosphorylation par des protéines kinases,

- le canal formé par la région transmembranaire, suivi d'un court segment C-terminal cytoplasmique.

Il existe une homologie partielle de ce récepteur avec celui de la ryanodine (RyR) du réticulum sarcoplasmique (RS) des muscles squelettiques et cardiaques. Tous les deux sont des tétramères et relarguent le Ca²⁺ des stocks intracellulaires. Ils ont en commun une grande région N-terminale cytosolique, des domaines transmembranaires nombreux, ainsi qu'une petite région cytosolique C-terminale. Par contre, les canaux calciques de la membrane plasmique n'ont pas d'homologie de séquence avec l'InsP₃R. L'InsP₃R a été aussi retrouvé sur le RS. Les RyR et InsP₃R sembleraient être présents sur les membranes plasmiques et nucléaires. ^{clxvii}

Il a été établi que la probabilité maximum d'ouverture de l'InsP₃R a lieu pour une concentration de Ca²⁺ comprise entre 300 et 500 nM. En accord avec les hypothèses du modèle, après liaison de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) à la fois sur les sites de faible et de moyenne affinité, le canal calcique reste ouvert, même après liaison du Ca²⁺ sur le site inhibiteur. ^{clxviii}

La fonction du récepteur peut être corrélée à une réponse globale par sa relation spatiale, sa concentration et sa distribution lors du développement embryonnaire. C'est notamment l'hypothèse qui a été faite en 2002 par Diaz et coll., ^{clxix} concernant l'embryon de *Xenopus laevis*. Le FGF y induit un signal calcique *via* l'InsP₃R, ce dernier étant réparti selon un gradient. La voie des kinases MAP, également activée, induit la transcription du gène *Xbra* qui provoque la différenciation cellulaire mésodermique dans une zone marginale de l'embryon.

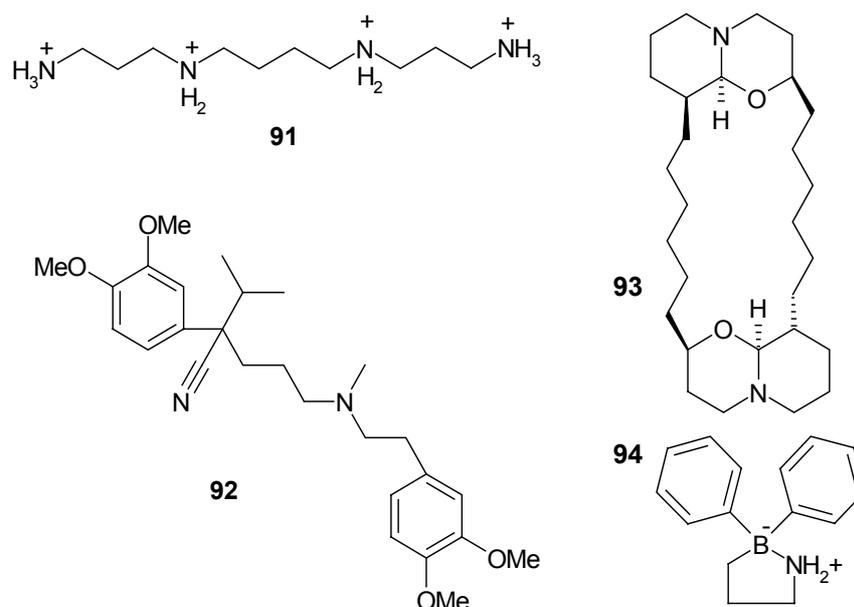
4.3. Antagonisation des récepteurs de l'Ins(1,4,5)P₃

En 1995, des dizaines de composés interagissant avec l'InsP₃R sont déjà connus. ^{clxx} Parmi eux, le décavanadate (Cl₅₀ de 3 à 5 µM), le sulfate de chondroïtine (> 100 µg/mL), l'Ins(1,4,5,6)P₄ (8,5 µM), l'Ins(1,3,4,5,6)P₅ (1,6 µM), l'InsP₆ (36-60 µM), le

benzène(1,2,4)P₃ (34 μM), sont des antagonistes compétitifs. L'héparine, un glycosylaminoglycane, est identifié comme un antagoniste compétitif de l'InsP₃R en 1987, avec un K_i approché de 0,25 à 0,50 μM.^{clxxi} Le calcium, en tant qu'agent régulateur de l'activité de ce récepteur, a une Cl₅₀ de 300 nM.¹⁷¹ En 1988, le K_i de l'héparine calculé est à 2,7 nM.^{clxxii}

Parmi les antagonistes non compétitifs se trouvent des hétérocycles azotés (la caféine (K_i de 20 mM env.), la quinine (100 μM)), des amines et polyamines (la 4-aminopyridine (12 mM), le tétrapentyl ammonium (12,5 μM), la spermine (1,0 mM), la spermidine **91** (fig. **44**, 1,9 mM), la putrescine (7,0 mM)) et des médicaments (la néomycine (400 μM), le vérapamil **92** (fig. **44**, 100 μM), la nifédipine (> 50 μM)).

En 1997, deux nouveaux outils pharmacologiques membrane-perméants sont apparus. Le premier, la xestospongine C **93** (fig. **44**), un macrocyle isolé de l'éponge australienne *Xestospongia species*, s'est montré comme un antagoniste non sélectif de l'InsP₃R, possédant une Cl₅₀ de 358 nM.^{clxxiii} Il n'agirait pas directement sur la libération de Ca²⁺ induite par l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et aurait plusieurs inconvénients : lent à réagir, résultats non reproductibles, produit cher.^{clxxiv} Le deuxième composé, le 2-aminoéthoxydiphényl borate **94**, a une Cl₅₀ de 42 μM vs Ins(1,4,5)P₃ (**3**) présent à 100 nM dans le milieu (fig. **44**).^{clxxv} De délai d'action rapide et de bonne perméabilité



membranaire, ce composé a néanmoins l'inconvénient de manquer de spécificité.¹⁷⁴

Figure 44 : spermidine (91), vérapamil (92), xestospongine C (93) et 2-aminoéthoxydiphényl borate (94) décrits comme antagonistes de l'InsP₃R.

L'antagonisation de l'InsP₃R suscite – ou a suscité – beaucoup de controverses. Des composés, mentionnés à l'origine comme antagonistes, n'agissent pas tous directement sur l'InsP₃R et sur la libération de calcium induite par l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), ce sont en fait des antagonistes fonctionnels. En effet, certains de ces composés bloquent l'influx de calcium intracellulaire *via* les canaux calciques dépendants du stock calcique, comme la xestospongine.¹⁷⁴ D'autre part, les résultats dépendent de la méthode ou du type cellulaire employé et les mécanismes d'action ne sont pas tous définis, notamment

la véritable cible. La plupart des composés manquent de spécificité et sont très peu biodisponibles.^{170, 174}

4.4. Structure tridimensionnelle de l'InsP₃R

La première structure tridimensionnelle de l'InsP₃R1 (cervelle de souris) est obtenue en 2002 par cryoélectro-microscopie avec une résolution de 2,4 nm (Jiang *et al.*).^{clxxvi} Le récepteur-canal, à l'état fermé, est décrit comme une haltère déformée d'une hauteur de 17 nm. Peu après, da Fonseca *et al.* présentent une structure (résolue à 3 nm) obtenue par marquage négatif, qu'ils comparent à une fleur comprise dans un cube de 18 nm d'arête.^{clxxvii} Les quatre "pétales" constituent 45 % du volume et le canal 35 %. En 2003, Serysheva *et al.* publient une structure résolue à 3 nm, obtenue par cryoélectro-microscopie à partir de microsomes de cervelle de bœuf.^{clxxviii} Les auteurs présentent la partie cytoplasmique comme une hélice à vent (fig. 45) de 25 nm de diamètre. La partie transmembranaire a pour dimensions 5 × 7,5 × 12 nm. Ces études retrouvent la structure tétramérique dans une symétrie de type C4. Les deux états conformationnels et la dynamique (fig. 45) ont été proposés en 2002 par Hamada *et al.*.^{clxxix}

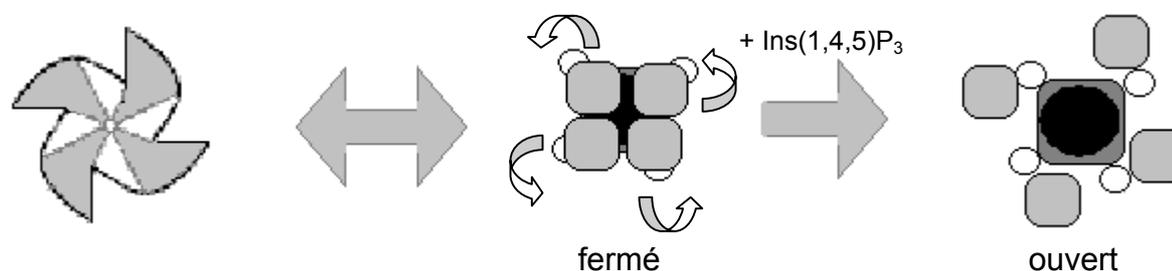


Figure 45 : schématisations de la partie cytoplasmique de l'InsP₃R et dynamique.^{178, 179}

La première structure cristallographique haute résolution du site de liaison de l'InsP₃R1 est publiée par Bosanac *et al.* dans la revue *Nature* en 2002.⁹⁵ Le cliché RX, à 2,2 Å de résolution, a été réalisé sur une construction ne codant que pour les aa 224 à 604 de l'InsP₃R1 de souris, site de liaison de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). L'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) est co-cristallisé dans son récepteur (Kd = 0,09 nM). Les auteurs attribuent à ce domaine de liaison asymétrique l'allure d'un boomerang, constitué d'un repliement β N-terminal (aa 224-436) et d'un domaine hélical α C-terminal (aa 437-604). Le domaine β forme un tonneau globulaire de dimensions 35 × 40 × 30 Å. Les huit hélices du domaine α forment un fagot de dimensions 34 × 26 × 30 Å. Les interactions des phosphates du ligand avec les aa du récepteur, mises en évidence par le cliché RX, sont rassemblées dans le tableau 5. Ces deux domaines α et β forment une charnière que la liaison de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) va plier, induisant l'ouverture du canal (fig. 46). Six molécules d'eau, en plus des neuf résidus basiques, sont impliquées dans ces interactions.

Phosphate	Domaine α	Domaine β
1	R568, K569	-
4	K569	R265, T266, T267, G268, R269
5	R504, K508, R511, Y567	R265, R269

Tableau 5 : interactions des phosphates de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) avec les aa arginine (R), glycine (G), lysine (K), thréonine (T) et tyrosine (Y) des domaines α et β du site de liaison de l'InsP₃R1 (d'après Bosanac *et al.*).⁹⁵

excitables (neurones, myocytes). Cette diversité de formes de stockage, souvent liée à un type cellulaire propre, nécessite un système de signal calcique aux paramètres spécifiques de leur physiologie. Le Ca^{2+} n'est donc pas uniquement libéré sous l'influence de l'Ins(1,4,5) P_3 (3), mais par de nombreux composés, dont le Ca^{2+} .⁴⁵ Les échanges de calcium ont suscité la conception de modèles théoriques, évoluant depuis les années 1970, grâce au développement des connaissances structurales.¹⁶⁸

5.2. Rôles physiologiques

Comme l'ont souligné bon nombre de publications, l'ion calcium joue un rôle prédominant dans de nombreuses activités biologiques (fig. 47).^{45, clxxxiii, clxxxiv}

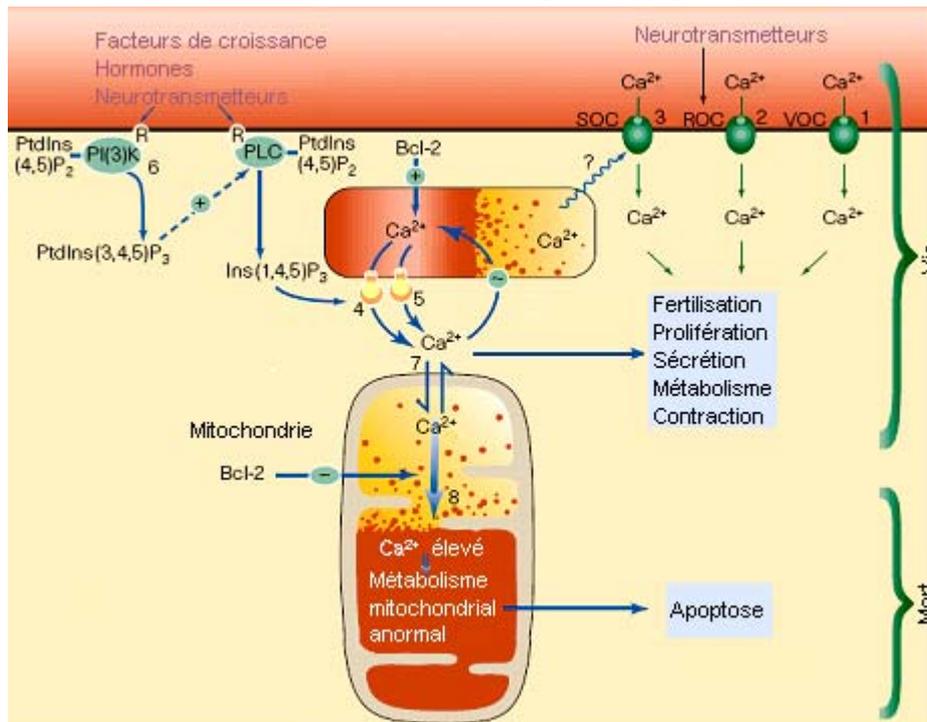


Figure 47 : le mécanisme du signal calcique intracellulaire (d'après Berridge *et al.*).¹⁸³

Le Ca^{2+} peut entrer dans la cellule par trois types de canaux (fig. 47) : les canaux voltage-dépendants (VOC) qui sont sur les neurones ou sur les cellules musculaires (en 1, fig. 47), les récepteurs-canaux (ROC) activés par des neurotransmetteurs (2) et enfin les canaux sensibles (SOC) à une déplétion (3). Le Ca^{2+} est relargué du RE suite à l'activation des InsP_3R (4). La plupart du Ca^{2+} ainsi libéré est rapidement absorbé dans les mitochondries puis retourne dans le RE (5). Toutefois, si le Ca^{2+} des mitochondries atteint une concentration trop importante (6), le métabolisme mitochondrial devient anormal (7), activant ainsi le programme de mort cellulaire.

On distingue les événements cellulaires induits par le calcium selon qu'il procède de manière locale ou globale. Ainsi les événements élémentaires induits par cet ion comprennent la migration du cône de croissance cellulaire, l'excitabilité membranaire, le métabolisme mitochondrial, la sécrétion vésiculaire, la relaxation du muscle lisse, la mitose et la plasticité synaptique.¹⁸³ Quant aux événements globaux opérés par des "vagues calciques", ceux-ci peuvent être subdivisés en fonction de leur localisation :

- intracellulaire : fertilisation, contraction des muscles lisses, squelettiques et cardiaques, métabolisme hépatique, transcription génétique, prolifération cellulaire ; de

plus, ce dernier interviendrait également dans les phénomènes de différenciation cellulaire,^{183-clxxxv}

- intercellulaire : cicatrisation, battements ciliaires, fonctionnements des cellules gliales, sécrétion biliaire, sécrétion d'insuline, synthèse de monoxyde d'azote dans l'endothélium (induite par muscle lisse). Il agit également à l'extérieur de la cellule dans le cas de la fertilisation.¹⁸³

Cette extraordinaire diversité de mécanismes est liée à la nature du signal calcique qui peut subir des modulations spatio-temporelles et d'intensité. La relation temporelle du Ca^{2+} impliqué dans la naissance et la mort de la cellule apparaît comme paradoxale. En effet, bien qu'un taux élevé de Ca^{2+} soit indispensable à de nombreux processus vitaux, cette concentration est létale à plus long terme. Dans les cellules cancéreuses, la protéine mutée Bcl-2 modifie les propriétés du réticulum endoplasmique et des mitochondries pour rétablir des concentrations correctes en calcium qui vont alors éviter la mort de la cellule cancéreuse par apoptose.

5.3. Caractéristiques de ce signal

Un signal calcique élémentaire peut aboutir, par une longue propagation intracellulaire comme intercellulaire, à une réponse physiologique globale cellulaire ou tissulaire. Grâce aux progrès réalisés dans les techniques d'imagerie, nous pouvons à présent comprendre la manière dont le signal calcique est généré. Quand un canal calcique s'ouvre, un panache de calcium très concentré se crée autour de son embouchure. Un tel signal, très localisé, est l'unité de base indivisible du signal calcique dont les caractéristiques dépendent fortement de la nature et de la localisation du canal. Ce signal élémentaire va remplir une fonction première en activant un processus cellulaire à proximité immédiate. L'information peut également être codée par l'intermédiaire de l'amplitude du signal. En fait il s'agit d'une propagation de la libération de Ca^{2+} , plutôt que sa diffusion elle-même. Cette activation des canaux est caractérisée par un point d'origine et c'est l'Ins(1,4,5) P_3 (**3**) qui amorce ce mouvement.^{45, 183-185}

Le signal calcique dans le noyau est moins bien connu dans son origine, son aspect spatial et temporel. Des études montrent qu'il est induit par un signal calcique d'origine cytoplasmique. Ses caractéristiques varient en fonction du type cellulaire.^{clxxxvi}

Les cellules ont recours à des signaux peu intenses et souvent brefs. On parle d'oscillations calciques quand les cellules emploient des signaux calciques assez brefs et répétitifs. Le signal élémentaire, aussi bien que global, peut donc osciller mais pendant différentes périodes, variant d'un dixième de seconde à une vingtaine d'heures, respectivement dans le cas d'un signal élémentaire dans le muscle lisse et dans le cas d'un signal global chargé de contrôler la division cellulaire. Ainsi, en utilisant la modulation de fréquence, les cellules peuvent générer une gamme d'une variété infinie de réponses physiologiques.^{45, 183-185}

Les neurones combinent des signaux calciques élémentaires et globaux pour la réception et la transmission du signal neuronal, mais également dans les processus d'apprentissage et de mémorisation à court terme. La mémoire de long terme pourrait passer par l'activation de gènes, le calcium recrutant d'autres composés dans le noyau.¹⁸³

6. Thérapies proposées ou en cours d'exploration

Les mécanismes de régulation de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et de ses dérivés naturels ne sont pas encore connus de manière exhaustive. Cependant des éclaircissements et des faits sûrs allongent d'année en année la liste des phénomènes auxquels ils participent. Les méthodes d'investigations de ces composés naturels au sein du matériel vivant sont de plus en plus efficaces. La dérégulation des récepteurs couplés à cette voie, des enzymes impliquées comme du signal calcique engendré, offre autant de voies d'exploration pour les traitements thérapeutiques. L'origine de l'effet thérapeutique reste parfois délicat à identifier, certaines molécules (ligands naturels ou médicaments) ayant plusieurs cibles, elles-mêmes jouant plusieurs rôles physiologiques.

6.1. Troubles nerveux et *myo*-inositol

6.1.1. IMPase, lithium et troubles psychiques

Les maladies bipolaires sont des troubles de l'esprit qui affecteraient 3 à 5 % de la population sans distinction d'âge, de sexe ou d'ethnie et sa physiopathologie est encore mal comprise.^{clxxxvii} Les effets calmants des sels de lithium sont connus depuis 1949.^{clxxxviii} Des troubles affectifs bipolaires (manico-dépansions) sont ainsi traités depuis cette époque par l'ion Li⁺.^{clxxxix} L'inconvénient majeur réside dans sa toxicité à 1,5-2 mM dans le plasma (fatigue, nausée, tonus musculaire accru, épilepsie, ataxie, confusion, trouble de la vision, etc) et sa morbidité à 3 mM (par infarctus ou pneumonie). Le lithium a une demi-vie de 16 h dans le plasma.^{cxc}

Il aurait en outre un effet goitrogène rapporté dès 1968 par l'étude de M. Schou où 12 parmi 330 personnes sont signalés.^{cxc} L'étude de l'influence du Li⁺ sur le métabolisme de l'iode a donc été entreprise à partir de 1970 chez le rat.^{cxcii} La clairance supérieure de l'iode a été ainsi démontrée. En plus de l'hypothyroïdie, le lithium induit une prise de poids et de la polyurémie.^{cxciii}

On sait depuis 1971 que le taux d'Ins présent dans le cerveau de rat diminue suite à un traitement par Li⁺.^{cxciv} Ce cation inhiberait plusieurs phosphatases ; parmi elles, l'inositol polyphosphatase ainsi que l'IMPase qui est inhibée de manière non compétitive (K_i de 0,8 mM).^{cxcv} L'effet thérapeutique résiderait dans la déplétion du taux d'inositol dans certaines régions du cerveau.^{cxcvi} Celle-ci a pu être démontrée par de nombreuses études utilisant la résonance magnétique nucléaire (RMN).^{cxcvii} Douze patients souffrant de manico-dépansions ont ainsi montré une baisse de 30 % de l'Ins dans le lobe frontal droit après traitement chronique au lithium de 5 à 7 j comme après 28 j, période pendant laquelle la sévérité de leur dépression a significativement diminué.^{cxcviii} L'effet thérapeutique peut également résulter d'un rééquilibrage par un composé neurochimique dont l'effet régulerait la pression osmotique. Néanmoins certains patients demeurent résistants à ce traitement dont les mécanismes génétiques et biochimiques sont à éclaircir. À long terme, cet ion module la voie sérotoninergique (sécrétion de la sérotonine, expression du récepteur) et pourrait être neuroprotecteur.¹⁸⁷

Le métabolisme de l'Ins chez les patients atteints de troubles bipolaires est perturbé. Même si une déplétion en Ins est induite par le lithium, comme par le valproate, l'hypothèse de l'origine de l'effet thérapeutique est encore sujette à de nombreuses controverses.^{ccix} Plusieurs études ont néanmoins démontré que le taux d'Ins dans le cerveau était plus faible parmi cette population, notamment dans la région temporale. Ainsi, une étude comparant onze individus souffrant de troubles légers à sévères (non traités) à un groupe témoin de onze personnes, a montré une diminution de 29 % du taux d'Ins dans cette région du cerveau.^{cc} Il a été signalé, dans une autre étude, que le taux d'Ins était revenu à la normale lorsque les effets thérapeutiques avaient été observés²⁷ ; de même, qu'il existe d'autres interactions avec le lithium, indépendantes de l'Ins comme la régulation de facteurs de transcription, la modulation de neurotransmetteurs ou la régulation de la plasticité neurale. Afin d'explicitier cette relation incertaine, les chercheurs considèrent la levure *Saccharomyces cerevisiæ* (partie 2.1.2.3.2.) comme un modèle de choix pour identifier les cibles atteintes par les médicaments anti-bipolaires.²⁷

Plus récemment, il a été observé que les stabilisateurs d'humeur (lithium, valproate et carbamazépine) inhibent la déformation des cônes de croissance des neurones sensoriels, effet que l'Ins inverse. La cible du valproate serait l'Ins(3)P synthétase.^{cci} L'Ins(3)P synthétase représente à l'heure actuelle un nouvel objectif pour la synthèse de nouveaux inhibiteurs.^{201, ccii}

6.1.2. Neurodégénérescence

Le taux des phosphoinositides est modifié dans les cerveaux de personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer^{cciii} tandis que l'Ins et des stéréomères d'Ins stabilisent les plaques amyloïdes, en bloquent la progression et diminuent la toxicité.^{cciv} Des modèles animaux reproduisent les troubles cognitifs et la dégénérescence sur le profil lipidique myélinique, notamment après intoxication aux sels d'aluminium. Il a été démontré une baisse de l'ordre de 75 % sur le taux de PtdIns membranaire dans le cerveau du rat, soit un des taux les plus élevés constaté sur une classe de phospholipides (60 % en moyenne) suite à un traitement de 90 à 100 j (sur la base de 10 mg d'AlCl₃ pour un rat de 100 g).^{ccv}

La surexpression de la glycogène synthétase kinase-3 (GSK3) est liée à la progression de la maladie d'Alzheimer et à une sensibilité accrue aux stimuli apoptotiques.^{196, ccvi} Elle est impliquée dans la régulation de facteurs de transcription nucléaire, le contrôle de la dynamique et de la polarité des microtubules. C'est aussi une enzyme-cible du lithium, son inhibition affecte la réponse cellulaire à l'insuline et à la protéine Wnt (protéine de liaison aux microtubules).²⁰⁶

6.1.3. Autres études cliniques : indications, échecs et contre-indications

Une stratégie basée sur l'emploi de l'Ins *per os* a montré un intérêt thérapeutique en application clinique vs placebo dans le traitement de nombreux troubles nerveux :
- maniaco-dépression (28 patients, 12 g/j d'Ins, 4 semaines),^{198, ccvii}

- troubles phobiques et obsessionnels compulsifs (21 patients, 12 g/j d'Ins, 4 semaines),^{ccviii} et comparé à un médicament (20 patients, 12 g/j d'Ins, 1 mois puis 150 mg/j de fluvoxamine, 1 mois),^{ccix}
- maladies neuro-dégénératives (Alzheimer, Huntington), 12 femmes (âge moyen de 82 ans), 6 g/j d'Ins)^{ccx}
- dérégulation de la prise alimentaire,
- douleur (analgésie), troubles de la respiration douloureuse du nouveau-né,^{ccxi}
- dans la diminution des effets secondaires du lithium, notamment contre le psoriasis que le carbonate de lithium induit ou renforce.^{198, ccxii}

Les mêmes réponses au traitement sont observées chez le rat rendu dépressif ou anxieux et sans affecter les niveaux des monoamines.^{ccxiii, ccxiv} À l'inverse, des études cliniques ont réfuté l'intérêt thérapeutique de l'Ins *per os* pour les pathologies suivantes :

- les troubles post-traumatiques étudiés par Levine *et al.* en 1996 (12 sujets recevant 12 g/j d'Ins pendant 4 semaines).^{ccxv}
- l'autisme (9 enfants recevant quotidiennement 200 mg d'Ins par kg de masse corporelle)^{ccxvi} et de la schizophrénie^{ccxvii} par Levine *et al.* en 1997.

Même si la plupart des études cliniques ont été réalisées sur un faible nombre d'individus, des effets secondaires non négligeables ont été signalés qui contre-indiquent l'emploi de l'inositol chez les femmes enceintes. Son usage est également déconseillé dans le traitement du trouble de la concentration dans la prime enfance et de la schizophrénie, le rapport bénéfices/risques étant insuffisant.^{207, 217}

6.2. Thérapie anticancéreuse

Il se développe une recherche intense autour des kinases impliquées dans la prolifération cellulaire et le cancer, notamment dans la voie Akt/PI3K, Akt étant une Ser-Thr kinase, la PKB. En outre les InsP peuvent être impliqués dans la transduction du signal induit par des facteurs de croissance et des oncogènes.^{41, ccxviii,}

^{ccxix, ccxx, ccxxi, ccxxii} Une altération du signal calcique peut engendrer des perturbations dans la croissance cellulaire et est observée dans certains cancers. Réciproquement, la prolifération cellulaire peut être réduite en interférant sur ce signal et par son action. Les protéines Akt et PI3K sont au centre de nombreuses cascades signalétiques, impliquées non seulement dans la survie cellulaire mais aussi dans la régulation du glucose (partie 6.3.), la mobilité et la reproduction cellulaire.^{ccxxiii, ccxxiv}

La protéine Akt se lie aux PtdIns, phosphorylés par la PI3K, *via* son domaine PH. Elle est activée suite à sa phosphorylation par des kinases PI3K-dépendantes (PDK1 et PDK2). Le facteur PTEN (phosphatase homologue de la tensine supprimée du chromosome 10, connue également sous le nom de MMAC1 et TEP-1),^{ccxxv} dit tumoro-suppresseur, est une lipide-phosphatase qui contrebalance l'activité kinase de la PI3K par son activité PtdIns(3,4,5)P₃ 3-phosphatase. En l'absence de ce facteur ou en faible quantité, la voie PI3K/Akt devient donc plus élevée.^{ccxxvi} PTEN déphosphoryle également la protéine FAK (protéine kinase d'adhésion focale) et inhibe des PLC.²²⁵

Des mutations affectant ces composés sont donc potentiellement oncogènes. Les protéines Akt et PI3K ont été observées comme pouvant fonctionner en tant qu'oncoprotéines rétrovirales, induisant une transformation oncogénique rapide *in vivo* et *in vitro*. L'amplification ou la surexpression d'Akt a été détectée dans différents cancers (ovaire, sein, thyroïde). Une mutation d'une sous-unité régulatrice de la PI3K a été découverte dans des tumeurs (ovaire et colon). Des mutations dans les composants de la voie PI3K sont également connues, p. e. le gène PTEN est fréquemment muté dans différents types de tumeurs (prostate, glioblastome). PTEN est aussi la seule enzyme cytosolique connue pour métaboliser l'Ins(1,3,4,5,6)P₅.^{ccxxvii} Elle est impliquée dans la maladie de Cowden par son activité 3-phosphatase sur le PtdIns(3,4)P₂ et le PtdIns(3,4,5)P₃.^{ccxxviii} Le gène humain PIK3CA (qui code pour une sous-unité catalytique de la classe IA des PI3K) est amplifié et surexprimé dans certains cas de cancers (ovaire). Plus récemment ce gène a été retrouvé muté dans de nombreuses tumeurs, on suppose un rôle oncogénique pour cette PI3K mutée.^{ccxxix} Dans les années 1990, les analogues de phospholipides, comme les dérivés 1-O (ou S)-alkyle de la 2-lysophosphatidylcholine, représentaient déjà une nouvelle classe d'agent antitumoraux. Plus tard, l'élément structural essentiel est identifié comme l'alkylphosphocholine, le reste glycérol n'apparaissant pas comme indispensable.^{ccxxx, ccxxxi}

L'équipe du Pr Kozikowski, travaillant à l'interface de la chimie de l'inositol et de ses applications anti-cancéreuses, produit depuis de nombreuses années de nouveaux dérivés d'inositol et de PtdIns destinés à inhiber certaines enzymes.^{ccxxxii, ccxxxiii} Ainsi en 2001 des analogues de PtdIns modifiés sur le C-3 de l'inositol ont montré des propriétés inhibitrices (CI₅₀ de l'ordre de 2 µM) sur la croissance de lignées cancéreuses NIH3T3, HT-29 et MCF-7, ainsi que sur les enzymes Akt et PI3K (CI₅₀ de 1,5 et 8 µM). Les analogues les plus actifs sont représentés dans la figure 48.

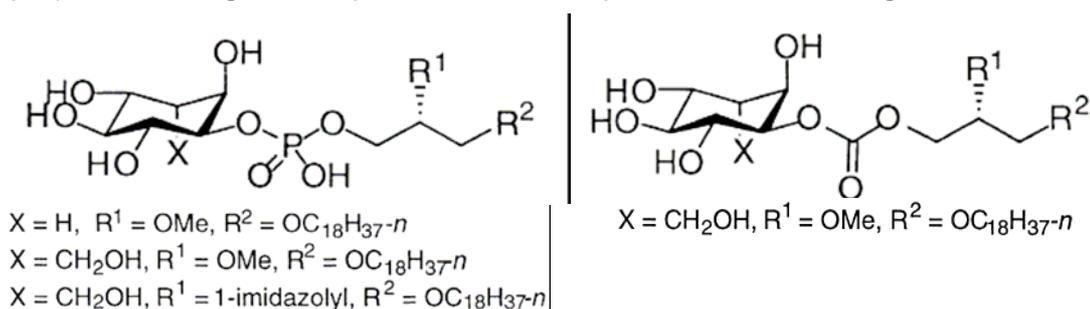


Figure 48 : analogues éthers de 3-déoxy-3-substitué-D-myoinositol imidazolyl et d'acylphosphates et d'acylcarbonate inhibiteurs de la voie PI3K et de croissance tumorale.

Un inhibiteur de cette kinase mutée, n'interférant pas avec la protéine native, serait un médicament anticancer particulièrement intéressant. De récentes études cliniques montrent que de tels inhibiteurs sont thérapeutiquement envisageables et souhaitables :

- avec un des dérivés du 3'-déoxy-phosphatidyl-myoinositol vu précédemment (Université de Bologne),^{ccxxxiv}
- Gleevec (Imatinib) dirigé contre l'oncoprotéine Bcr-Abl et Iressa (Gefitinib) contre des mutants de l'EGFR.²²⁹

En 2004 une publication a démontré un rôle similaire pour l'Ins(1,3,4,5,6)P₅ en inhibant la phosphorylation de la sérine 473 d'Akt. Au contraire, ni l'Ins(3,4,5,6)P₄, ni l'Ins(1,4,5,6)P₄ ou l'InsP₆ n'ont montré d'effet significatif.^{ccxxxv}

Cet InsP₅ a inhibé à 50 mM 43 % de l'activité kinase d'Akt dans des cellules SCLC-H69, alors que l'inhibition mesurée pour Ins(1,4,5,6)P₄ à la même concentration était de 26 %. L'Ins(1,3,4,5,6)P₅ est un compétiteur spécifique du PtdIns(3,4,5)P₃ et est plus actif que les autres InsP. L'Ins(1,3,4,5,6)P₅ induit l'apoptose de la même façon que le *cis*-platine et LY294002.^{ccxxxvi} Cette équipe a également montré qu'après administration extracellulaire d'Ins(1,3,4,5)P₄, ce composé pouvait pénétrer dans les cellules SCLC-H69. L'hypothèse a donc été faite que certains types cellulaires étaient perméables aux InsP, impliquant également une spécificité dans les mécanismes d'action de ces molécules.

En fait, des inhibiteurs de PI3K sont connus depuis plus de dix ans et ont été caractérisés comme potentialisateurs de médicaments anti-cancers classiques dans l'induction de l'apoptose (fig. 49).^{224, ccxxxvii}

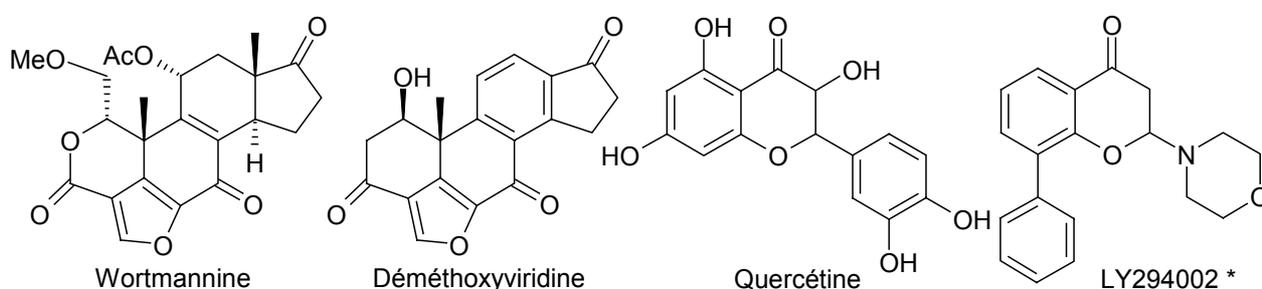


Figure 49 : inhibiteurs naturels ou synthétique* de PI3K.

Il existe nombre d'autres indices laissant entrevoir un traitement possible du cancer par des interactions sur la voie des PtdIns. Récemment, l'activité antitumorale *in vitro* et *in vivo* par inhibition de PI3K, a été prouvée pour la wortmannine et l'InsP₆. Malheureusement ces composés sont peu sélectifs et compatibles avec le passage transmembranaire. Malgré le grand nombre d'études indiquant l'activité antitumorale de l'InsP₆, aucune preuve flagrante n'a mis en évidence que ce composé traversait la membrane plasmique. La wortmannine possède une toxicité d'ordre général et l'InsP₆ est utilisé à forte concentration (1 à 5 mM).

Ces molécules, ainsi que la variété de ces enzymes, ouvrent la voie vers le développement d'inhibiteurs sélectifs d'isoformes de protéines kinases dans le traitement du cancer et limiteraient aussi les effets secondaires liés à la toxicité des molécules classiquement utilisées. Par ailleurs, des études *in vitro* ou chez le rat, ont montré l'intérêt d'une supplémentation en Ins pour lutter contre l'effet tumoral induit expérimentalement.^{ccxxxviii, ccxxxix, ccxl}

Il a été démontré, en 2005, que le taux d'expression de l'InsP₃R1 est remarquablement diminué dans des cellules cancéreuses de la vessie après acquisition de la résistance au *cis*-platine.^{ccxli}

6.3. Le diabète

Le diabète est provoqué par un dysfonctionnement du stockage du glucose sous la forme de glycogène qu'induit normalement l'insuline. Le glucose provoque la sécrétion d'insuline par les cellules pancréatiques β *via* l'entrée de Ca^{2+} extracellulaire à l'intérieur de la cellule. Il a été montré que l'Ins(1,4,5) P_3 (**3**) et le calcium issu des stocks intracellulaires augmentaient la concentration plasmatique en insuline.^{ccxlii, ccxlili} Le facteur PTEN régule la sensibilité des muscles squelettiques et des tissus adipeux à l'insuline en agissant vraisemblablement sur la voie Akt/PI3K.^{ccxliv}

Néanmoins le locus sur le chromosome 10 mis en cause dans certains diabètes de type II ne semble pas correspondre à celui de PTEN. Par contre le gène codant pour SHIP2 (protéine homologue 2 de Src), une PtdIns(3,4,5) P_3 5-phosphatase, est impliqué dans le diabète de type II.²²⁸ SHIP2 surexprimé induit une désensibilisation à l'insuline.

6.4. Le syndrome oculocérébro-rénal de Lowe ou OCRL

L'OCRL est une maladie liée au chromosome X suite à une mutation du gène OCRL1 qui code pour une PtdIns(4,5) P_2 5-phosphatase localisée dans le réseau *trans*-Golgi.²²⁸ La phosphatase défectueuse affecte le développement du cerveau (retard mental), les cellules épithéliales du cristallin (cataracte bilatérale) et du rein (syndrome de Fanconi).²²⁸ Le phénotype est asymptomatique chez la souris et le produit du gène muté possède 71 % de similarité avec la 5-phosphatase de groupe II.^{228, ccxlv}

6.5. Invasions bactériennes

L'entrée de *Listeria* est un procédé actif nécessitant la phosphorylation de tyrosine et la réorganisation du cytosquelette d'actine de la cellule hôte. Dans certains cas, cette invasion passe par l'activation chez l'hôte de la PI3K de type IA induisant la production de PtdIns(3,4,5) P_3 et de PtdIns(3,4) P_2 . Cette entrée a été bloquée expérimentalement par mutation génétique de la PI3K et par des inhibiteurs de la PI3K.²²⁸

6.6. Autres indications possibles (non exhaustif), perspectives

Plusieurs auteurs mentionnent de nombreux autres terrains thérapeutiques possibles, tant le nombre de processus impliquant la voie des PtdIns (ses métabolites, ses enzymes et le signal calcique qu'elle induit) est élevé. Des gènes codant pour une PtdIns phosphatase sont impliqués dans la myopathie tubulaire liée au chromosome X (le gène MTM1 de la myotubularine exprimant une 3-phosphatase du PtdIns(3)P)²²⁸ et potentiellement dans la maladie de Paget *via* SHIP1 (activité PtdIns 5-phosphatase sur le PtdIns(3,4,5) P_3).²²⁸ Les phénomènes dans lesquels le calcium intervient peuvent également fournir des domaines d'applications thérapeutiques : sécrétion biliaire,^{ccxlv} fertilité, hypertension, artérosclérose (la PLC δ 1 hyperactive induit une accumulation d'Ins(1,4,5) P_3 (**3**)).^{ccxlvii} En 2004, une publication de la revue *Nature* a mentionné pour la

première fois l'implication des enzymes Akt et GSK3 dans les troubles schizophréniques.^{ccxlviii} En 2005, un intérêt dans la prévention de l'infarctus a été montré pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) chez le lapin.^{ccxlix}

Jean-Marie Lehn et Claude Nicolau travaillent actuellement sur de nouveaux effecteurs allostériques de l'hémoglobine.^{cccl} Ces composés sont des sels de tripyrophosphate de *myo*-inositol (**95**, fig. **50**), un dérivé très proche de l'acide phytique, possédant la propriété d'abaisser l'affinité de l'oxygène pour l'hémoglobine. Les produits synthétisés sont capables de passer la membrane plasmique érythrocytaire. Les meilleurs résultats sont obtenus avec des amines tertiaires en tant que contre-ions.

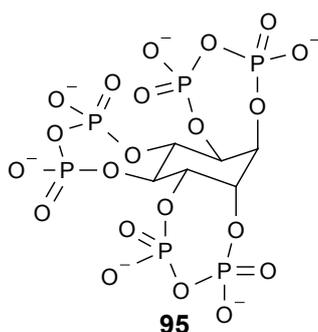


Figure 50 : tripyrophosphate de *myo*-inositol (C. Nicolau et coll.).²⁵⁰

6.7. Exemples issus de la pharmacopée

Le *myo*-inositol fait partie du complexe vitaminique B, de fonction lipotropique, introduit sur le marché des médicaments sous cette forme, mais également sous la forme "hexaphosphate" (sels mixte de calcium et de magnésium, la phytine, supplément minéral), "hexanitrate" (anti-angoreux), "hexanicotinate" (la niacine, vasodilatateur).^{cccli}

Dans la pharmacopée, on retrouve les inositols aminés (fig. **51**) comme sous-structure des antibiotiques KA-3093 (**96**), méthoxyhygromycine (**97**), hygromycine A (**98**), minosaminomycine (**99**) et fortimycine (**100**).^{ccclii}

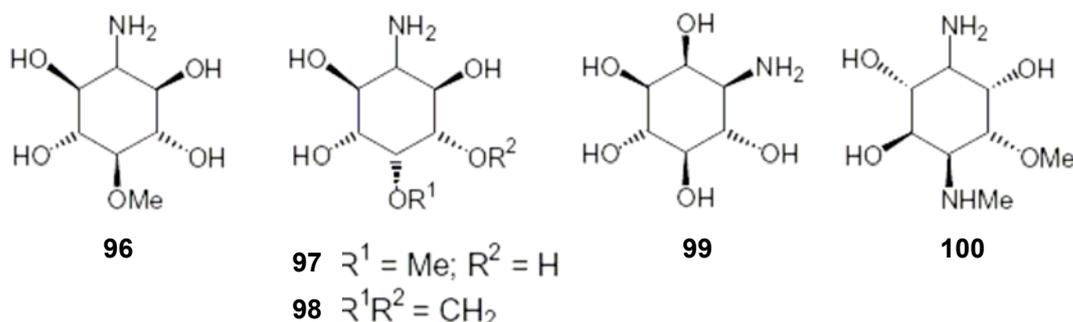


Figure 51 : sous-structures amino-inoitols des antibiotiques KA-3093 (**96**), méthoxyhygromycine (**97**), hygromycine A (**98**), minosaminomycine (**99**), et fortimycine (**100**).

Dans les années 1990, l'Ins(1,2,6)P₃, dont la licence était exploitée par Perstop Pharma, a été développé jusqu'au stade clinique sous le nom d' α -trinositol, pour ses propriétés antalgiques et anti-inflammatoires.^{cccliii} Ses RSA ont été étudiées au laboratoire par Stéphanie Ballereau.⁷⁴

CHAPITRE II : SYNTHÈSE

1. Finalités de nos synthèses

1.1. Outils pharmacologiques et/ou thérapeutiques

La découverte des adénophostines (A et B étant équipotentes, on considère la structure générique **101**, fig. **52**) redonne un coup de fouet à la chimie de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). Toutefois, la quasi-totalité des analogues envisagés jusque-là adoptait un squelette mono- ou diholosidique et n'a pas dépassé les capacités de l'adénophostine. De nombreux composés servent, ou ont déjà servi, d'outils pharmacologiques dans cette voie signalétique (adénophostine A (**74**), xestospongine C (**93**), nombreux dérivés de l'inositol, dont certains appliqués à la fluorescence...), chacun ayant ses avantages, inconvénients, propriétés d'absorption et de métabolisation.

Nous inspirant de l'adénophostine pour ses propriétés pharmacologiques jusque-là jamais atteintes, nous espérons pouvoir fournir de bons outils pharmacologiques sur la base de la structure de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). Effectivement, les potentialités d'analogues devenus plus puissants, éventuellement rendus non catabolisables par les enzymes qui reconnaissent l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), feraient de ces composés des outils pharmacologiques intéressants. En premier lieu, ils permettraient de renforcer les connaissances liées au cycle cellulaire de l'inositol et à la cascade signalétique des InsP. En second lieu, de tels outils pourraient être évalués *in vitro* sur des modèles reproduisant un dysfonctionnement dans la régulation de la voie des InsP.

In fine, des composés puissants, agonistes ou antagonistes, sélectifs et biodisponibles seraient très utiles pour la mise au point de nouveaux traitements possibles de certaines maladies. Ils pourraient contrebalancer de manière originale un trouble lié à la présence ou à un manque de ce messager (chapitre I, 6.), en agissant soit sur l'InsP₃R, soit sur différentes enzymes impliquées dans le métabolisme de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et de ses dérivés. Ces structures, objectifs de nos synthèses, sont représentées sur la fig. **52** : structures générales **102** possédant une purine et **103** possédant un groupement benzhydryle, dont le choix sera explicité dans la partie 4. suivante. Ces structures découlent des données de RSA et d'études de modélisations moléculaires détaillées dans la partie 1.2. suivante.

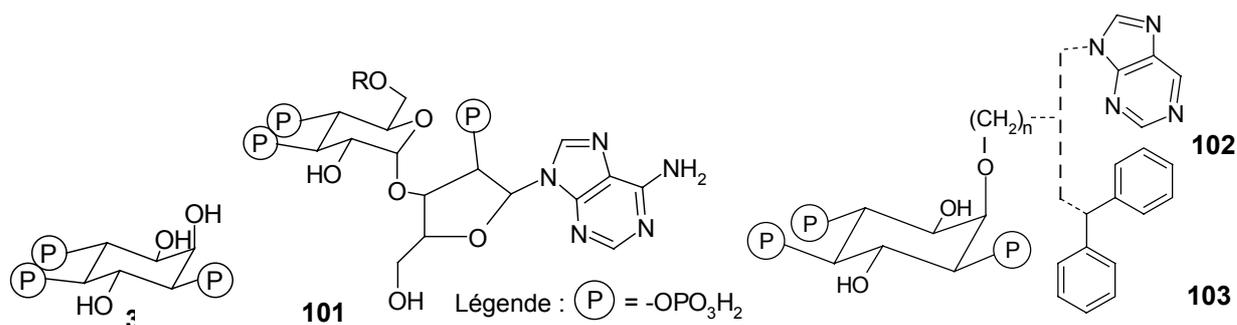


Figure 52 : structures de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), des adénophostines (structure générique **101**) et de nos buts de synthèse (structures générales **102** et **103**).

1.2. Modélisations moléculaires

Les RSA de l'adénophostine et de ses analogues, ainsi que la modélisation moléculaire simple (par modèles inox de Dreiding), suggèrent que la structure α -glycopyranose de l'adénophostine constituerait un bioisostère du motif *myo*-inositol de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**). Les trois groupements phosphates de l'adénophostine seraient également superposables à ceux de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) dans sa conformation active.¹⁵² Ces connaissances, étayées par les études de RSA de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), donnent à penser que le surcroît d'affinité et d'activité de l'adénophostine serait dû essentiellement à la présence de l'adénine. En effet, l'adénophostine dépourvue de l'adénine, se retrouve à un niveau inférieur à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), alors même qu'elle en est mimétiquement la plus proche. En conséquence, en fixant à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) une purine de manière plus ou moins distale et sur une position tolérant la modification, nous pourrions attendre des potentialités théoriquement supérieures à celles de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), voire des adénophostines (**110**). Le modèle de Dreiding a orienté notre choix vers une chaîne à quatre maillons méthylènes, fixée sur la position 2, qui nous a paru la plus judicieuse. Les modélisations moléculaires suivantes, affinées *in silico* par le Dr Didier Rognan, ont montré que, par minimisation des énergies et recouvrement spatial des groupements phosphates et de la purine, la longueur de la chaîne optimale pourrait être obtenue avec trois maillons méthylènes.

Suite à la parution en 2002 de la structure RX du site de liaison de l'InsP₃R1,⁹⁵ d'autres modélisations moléculaires *in silico*, réalisées par le Dr Didier Rognan, nous ont également encouragés dans cette synthèse de nouveaux types de dérivés de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) mimétiques de l'adénophostine. Ces données obtenues *in silico* (résumées dans le tableau **6**) pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (**A**, fig. **53**), l'adénophostine A (**74**) (**B**, fig. **53**) et nos buts de synthèse (structure **102** avec n = 3, 4 et 5 ; structure **103** avec n = 3, respectivement **C**, **D**, **E**, et **F** fig. **54**) résultent de la simulation de leur ajustement dans l'InsP₃R1, considéré immobile,⁹⁵ de leur conformation 3-D obtenue au moyen du logiciel Corina^{ccliv} à partir de leurs structures 2-D dessinées avec ISIS/Draw.^{ccliv} La surface du récepteur, sur laquelle sont indiqués les résidus délimitant le site de liaison de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), a été obtenue au moyen du logiciel Molcad^{cclvi} et colorée selon le potentiel électro-statique (potentiel élevé de couleur rouge).

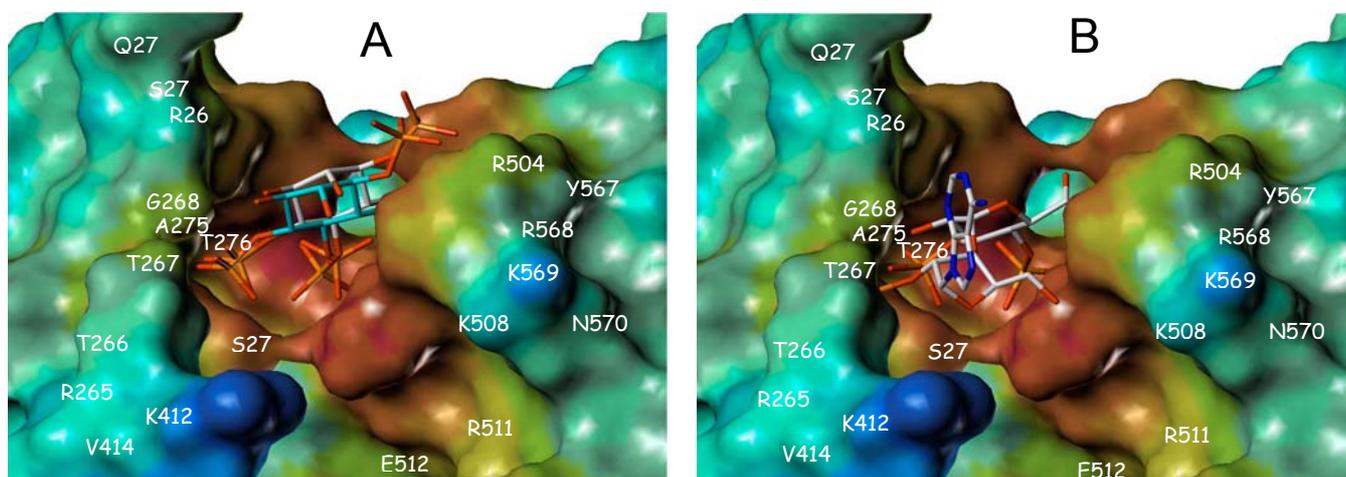


Figure 53 : ajustement dans l'InsP₃R1 cristallisé A) structure cristallographique (cyan) superposée à la structure ajustée (blanc) de l'Ins(1,4,5)P₃ (3**) ; B) structure ajustée de l'adénophostine A (**74**).**

Les résultats de la modélisation moléculaire (taux d'ajustement et d'enfouissement) sont rapportés dans le tableau 6. Ces valeurs d'ajustement (en kJ/mol), obtenues par le logiciel Gold,^{cclvii} sont très encourageantes pour nos analogues de structure générique **102** avec $n = 3$ (composé **104**), $n = 4$ (composé **105**), $n = 5$ (composé **106**), puisqu'elles dépassent celles de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et de l'adénophostine A (**74**). Nous pouvons remarquer que les valeurs d'ajustement et d'enfouissement de l'adénophostine A (**74**) sont meilleures que celles de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), ce qui irait dans le sens de ses propriétés pharmacologiques supérieures. Parmi nos objectifs de synthèse, les analogues ainsi modélisés **104** ($n = 3$) et **105** ($n = 4$) obtiennent les meilleures valeurs.

Ligand	Ajustement (kJ/mol)	Enfouissement (%)
Ins(1,4,5)P ₃ 3	92,23	56
Adénophostine A 74	97,16	58
Analogue 104 ($n = 3$)	103,65	53
Analogue 105 ($n = 4$)	103,20	50
Analogue 106 ($n = 5$)	99,61	40
Dérivé benzhydrylé 107 ($n = 3$)	92,27	34

Tableau 6 : valeurs de l'ajustement et taux d'enfouissement de différents ligands dans le site actif de l'InsP₃R cristallisé.

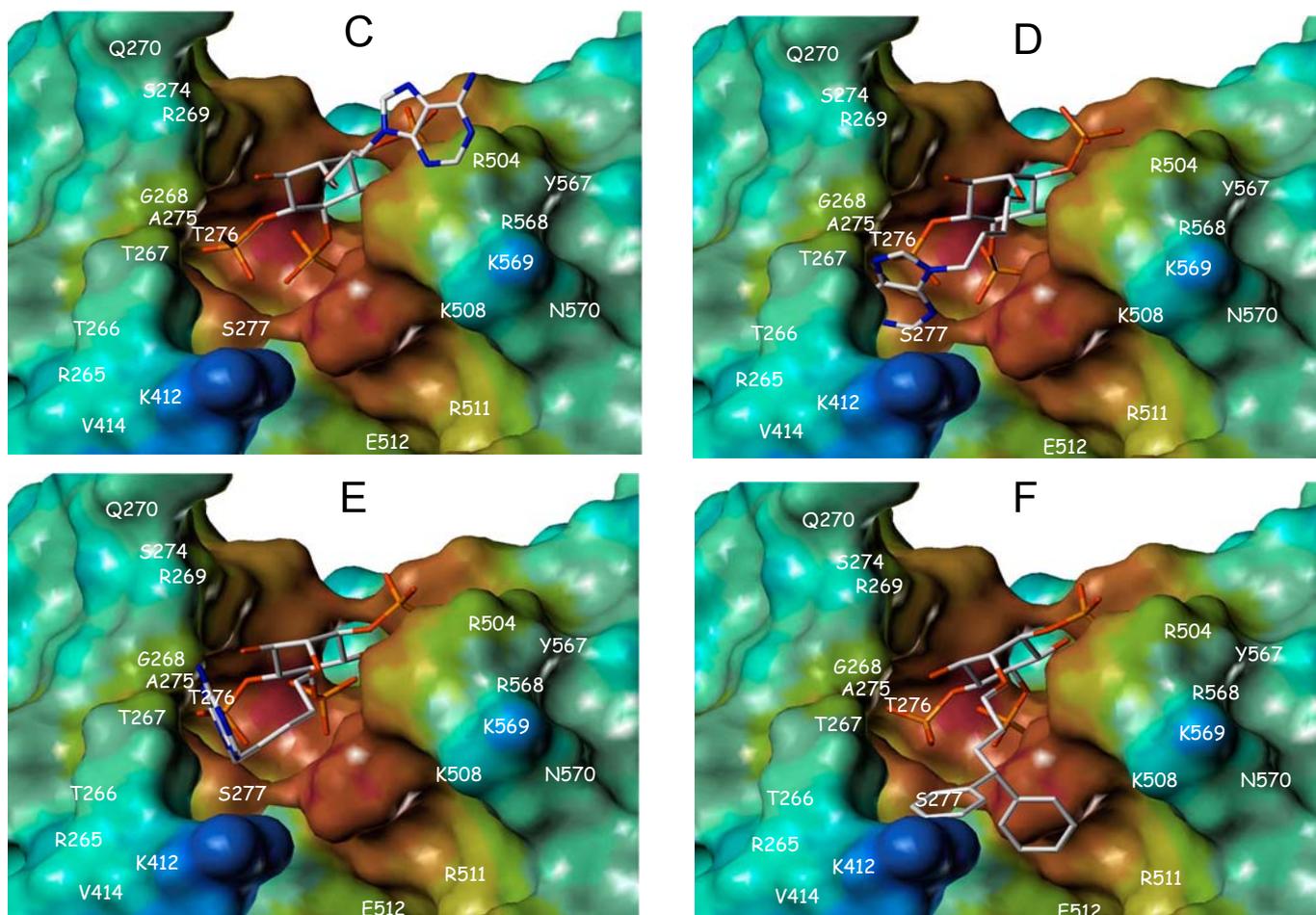


Figure 54 : C) structure ajustée de l'analogue **104** (chaîne propylique) ; D) structure ajustée de l'analogue **105** (chaîne butylique) ; E) structure ajustée de l'analogue **106** (chaîne pentylique) ; F) structure ajustée du dérivé benzhydrylé **107** (chaîne propylique).

La fig. **53** montre, en **A**, un positionnement analogue pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) ajusté (cyan) par rapport à l'Ins(1,4,5)P₃ co-cristallisé (blanc).⁹⁵ En **B** (fig. **53**), il apparaît un positionnement globalement similaire de l'adénophostine A (**74**), celle-ci étant plus volumineuse que l'Ins(1,4,5)P₃. Dans cette modélisation, seul le phosphate en 1, dont on a vu la tolérance dans les RSA de l'Ins(1,4,5)P₃ (chapitre I, 2.2.2.), de la structure de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), co-cristallisé dans l'InsP₃R1 fixe, n'est superposable à aucun des phosphates de la structure ajustée de l'adénophostine A (**74**). Les cycles et autres phosphates des composés **3** cristallisé et **74** modélisé sont ainsi retrouvés quasiment dans les mêmes régions du site de liaison. Ce ligand **74** n'ayant pas encore été co-cristallisé dans l'InsP₃R1, il nous manque un cliché de référence pour conclure de manière plus sûre quant au positionnement effectif de l'adénophostine A (**74**). Il serait également intéressant de comparer les données *in vivo/in silico* de l'adénophostine A (**74**), ayant observé une certaine réciprocité *in vivo/in silico* en **A** de la fig. **53** pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

Par cette modélisation, nos molécules finales **104** à **106**, possédant respectivement un espaceur propylique, butylique et pentylique, ont des conformations stables globalement superposables, d'après leurs représentations respectives en **C**, **D** et **E** sur la fig. **54**, c'est-à-dire que la plupart des motifs (chaîne latérale exceptée) de leur structure sont retrouvés dans les mêmes régions du site de liaison par ces modélisations. Ainsi la chaîne propylique du composé **104** semble trop courte pour rejoindre la zone occupée par la purine de l'adénophostine A (**74**) en **B** de la fig. **53**. Par contre, la purine apparaît dans la même zone que l'adénophostine A pour nos buts de synthèse possédant une chaîne plus longue d'un (**105**) ou de deux maillons méthylènes (**106**), ce qui ne peut qu'être encourageant. Malgré leur pose différente ainsi modélisée, les analogues **104** et **105**, obtenant les meilleures valeurs d'enfouissement et d'ajustement (tableau **6**), pourraient faire des interactions toutes aussi stabilisatrices, sans pour autant occuper les mêmes régions dans le site de liaison.

Le reste benzhydryle de la molécule **107**, quant à lui, semble explorer une nouvelle zone dans le site de liaison (**F**, fig. **54**) en restant le moins enfoui de nos buts de synthèse (tableau **6**). Ceci nous permet d'envisager, pour ce dérivé benzhydrylé **107**, d'autres interactions avec l'InsP₃R afin d'obtenir l'antagoniste souhaité (structure générale **103**, avec $n = 3$), en espérant maintenir une affinité comparable à l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), si la corrélation entre taux d'ajustement et affinité pouvait être retrouvée.

L'ensemble de ces indices obtenus *in silico* reste bien évidemment à valider expérimentalement.

2. Considérations générales, bibliographie

2.1. Réactivité du *myo*-inositol et synthèse des phosphates d'inositol

2.1.1. Nomenclature employée (rappel)

La nomenclature officielle, recommandée par l'IUPAC et l'IUB, a été traitée au cours du premier chapitre et nous avons mentionné les conventions que nous avons conservées. Toutefois, nous avons choisi d'employer une nomenclature plus pratique que conforme aux normes IUPAC. Ainsi, par souci de clarté, nous avons gardé une numérotation figée fondée sur l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), afin de garder une suite homogène au cours d'un schéma de synthèse. L'application systématique des recommandations de l'IUPAC impliquerait que, d'une étape à l'autre, principalement suite aux protections et déprotections des hydroxyles, l'ordre de priorité des substituants présents imposerait de fréquents changements de la numérotation.

2.1.2. Initiation de la synthèse des phosphates d'inositol

Une kyrielle de précurseurs (fig. **55**) a été employée afin d'aboutir à des *myo*-inositols diversement fonctionnalisés :

- composés insaturés, cycliques ou linéaires (chiraux ou non) :
 - benzène et ses dérivés pour lesquels ont été réalisées notamment des réactions d'oxydation microbienne,^{cclviii, cclix, cclx}
 - espèces 1,7-diéniques (p. e. le 2,3-O-isopropylidène-D-tartrate **108**, formé à partir du composé **109**)^{cclxi} engagées dans des réactions de cyclisation par métathèse,^{cclxii}
- matière première chirale :
 - sucres, cyclisés ou linéaires (p. e. D-glucurono-3,6-lactone **110**,^{cclxiii} β-D-glucose **111**,^{cclxiv} β-D-xylose **112**,⁹² D-mannitol **113**^{cclxv}),
 - autres polyols naturels, méthylés ou non (p. e. galactinol **114**,^{cclxvi} bornésitol **115**,^{cclxvii} québrachitol **116**,⁶⁰ pinitol **117**^{cclxviii}),
 - (-)-acide quinique **118**,^{cclxix}
 - stéréomères du *myo*-inositol (p. e. le 1D-3-O-méthyl-*chiro*-inositol **119**).²⁶⁸

Le *myo*-inositol, dans une optique purement pharmacochimique, reste le précurseur privilégié. D'un coût modeste, de stéréochimie définie et de réactivité bien renseignée, il demeure le plus commode à utiliser.

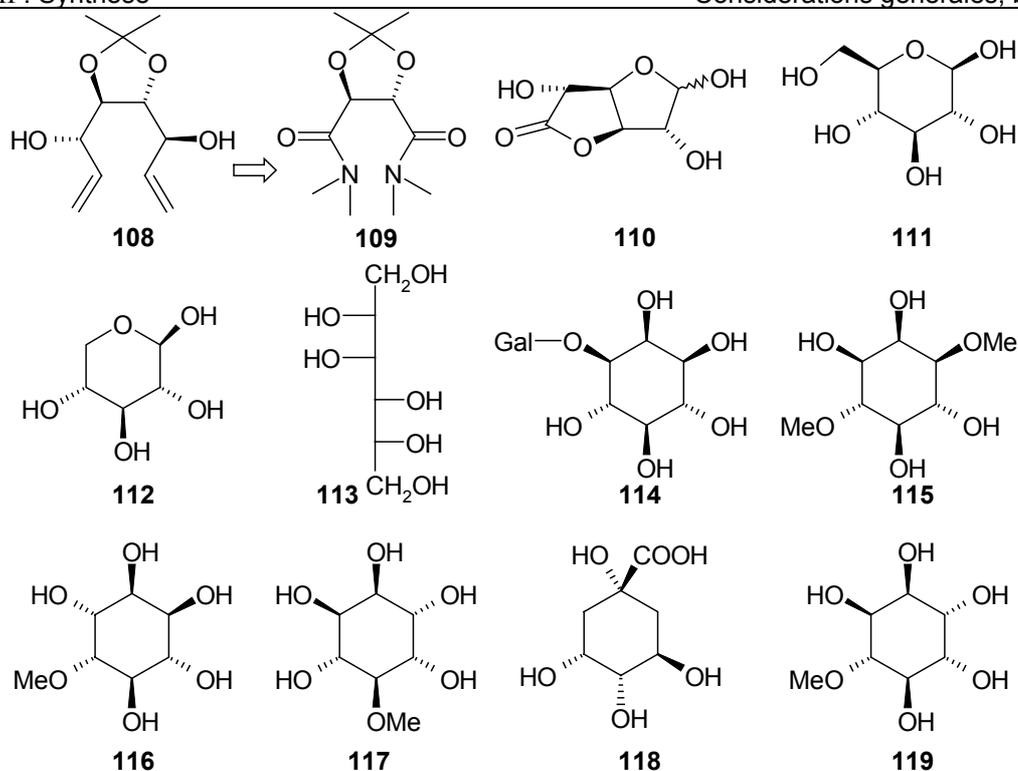


Figure 55 : exemples de matières premières utilisées pour la synthèse de phosphates de *myo*-inositol.

2.1.3. Réactivité comparée des sucres et du *myo*-inositol

Le *myo*-inositol, polyol cyclique ou cyclitol, pseudo-sucre en $C_6H_{12}O_6$ car ne possédant pas de cycle semi-acétalique, n'offre qu'une relative souplesse dans la conception de dérivés, contrairement aux sucres vrais. Les alcools secondaires du *myo*-inositol réagissent plus ou moins sélectivement, en fonction de leur orientation et de l'encombrement relatif apporté par des substituants au cours d'un schéma réactionnel. En élaborant un schéma de synthèse à partir du *myo*-inositol, nous sommes tributaires de l'hydroxyle 2 axial, qui seul permet d'induire de la régiosélectivité. Par contre, un vrai sucre peut être discrémenté par la nature primaire ou secondaire de ses alcools, là où l'Ins ne présente que des alcools secondaires. La position héli-acétalique offre également des possibilités réactionnelles qu'il est impossible de mettre en pratique sur l'Ins (fig. 56).

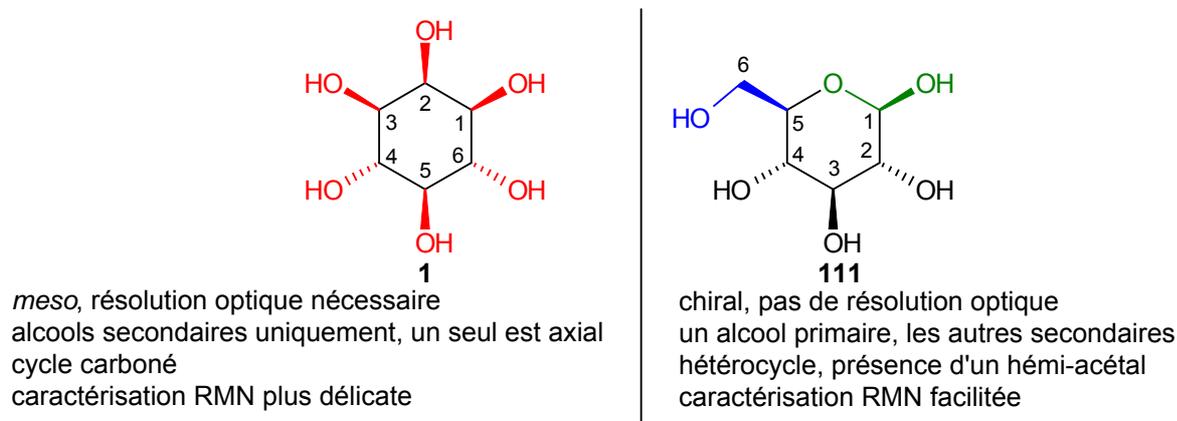


Figure 56 : handicaps de la chimie de l'inositol par rapport à la chimie des sucres.

Le *myo*-inositol est un composé *meso*, mais sa fonctionnalisation sur des positions non symétriques aboutit généralement à un racémique, qu'il convient de résoudre afin d'augmenter la potentialité d'outil pharmacologique de ses dérivés (partie 2.3.). Les sucres, ainsi que de nombreux dérivés déjà fonctionnalisés et/ou protégés, sont

disponibles commercialement et en séries optiquement pures, ce qui permet un gain de temps notable. Toutefois, un vrai sucre est relativement plus fragile qu'un inositol, dans la mesure où l'acétal est une fonction hydrolysable qui peut conduire à des réarrangements, comme à des réactions d'éliminations indésirables.

Analytiquement, le cétal et l'hydroxyméthyle (en 4 d'un furanose ou en 5 d'un pyranose, **111** fig. **56**) permettent de faciliter la caractérisation des composés par RMN (^{13}C , COSY), par rapport au cycle de l'Ins où les -C(H)- s'enchaînent dans un sens ou dans l'autre.

C'est par un jeu de protections, de déprotections et de fonctionnalisations sélectives, que s'élabore l'essentiel d'un schéma de synthèse de dérivés du *myo*-inositol.

De nombreuses publications, dont quelques revues, s'intéressent au développement et à l'application des groupements protecteurs du *myo*-inositol, à leur sélectivité au niveau de leur mise en place, comme au niveau de leur retrait.^{cclxx, cclxxi, cclxxii,}

^{cclxxiii} Les méthodes les plus intéressantes permettent d'introduire des groupements protecteurs de manière alternée sur le cycle ou au contraire sur des alcools vicinaux (acétals et catalyse à l'étain notamment).^{cclxxiv, cclxxv, cclxxvi}

La synthèse peut se poursuivre par l'emploi de réactifs fonctionnalisants ou d'autres groupes protecteurs des alcools (éthers d'allyle et homologues supérieurs, de dérivés benzylés, silylés ; esters acétiques, benzoïques, pyruviques...)^{276, cclxxvii, cclxxviii} Une fois le cycle convenablement protégé et/ou fonctionnalisé sur les positions désirées, il reste encore à phosphoryler les positions laissées libres (partie 2.2.).

Par ailleurs, pour éviter une éventuelle migration des groupements phosphates sur les hydroxyles voisins, il est préférable, lorsque cela est possible, de déprotéger toutes les positions en même temps, à la dernière étape de la séquence réactionnelle et stabiliser les phosphates sous formes de sels. La méthode de prédilection est l'hydrogénolyse, généralement catalysée par du palladium. Lorsque l'hydrogénolyse catalytique n'est pas possible, on peut utiliser p.e. une déprotection au sodium/ammoniac liquide ou au cyclohexène. La purification finale de la molécule est délicate, elle n'a pu se faire que par chromatographie échangeuse d'ions et par précipitation d'un sel de phosphate.

La première synthèse de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) a été réalisée en neuf étapes par Ozaki *et al.* en 1986.^{cclxxix} Elle avait recours à des protections sélectives initiées par des acétals cyclohexyliques (partie 3.1) et à une résolution optique à l'aide d'un dérivé du menthol (partie 2.3.).

2.1.4. Développements chimiques issus de la bibliographie récente

La chimie de l'inositol est en perpétuelle évolution et semble gagner en intensité au fil des ans. La bibliographie s'enrichit chaque année de nouvelles structures, méthodes et applications en rapport avec les sucres et pseudo-sucres. Nous ne citerons que quelques exemples, parmi les plus récents parus dans la littérature scientifique, afin d'illustrer la palette de cette chimie des inositols et de ses analogues. Nous verrons que son champ d'applications ne se limite pas à l'InsP₃R, pour lequel ont été traitées les RSA dans le chapitre I (partie 2.2.2.).

2.1.4.1. Applications pharmacochimiques, quelques exemples récents

• L'équipe de Léo Paquette a, entre autres, travaillé ces dernières années sur des dérivés de l'inositol, dont les alcools sont substitués par des hétérocycles oxygénés, obtenus notamment par réaction de Grignard. L'exemple **120** (fig. **57**) a permis d'étudier les propriétés complexantes du Li^+ . La liaison de Na^+ est moins efficace.^{cclxxx}

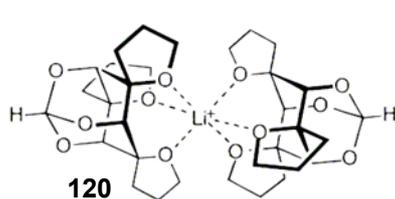


Figure 57 : tris(spirotétrahydrofurane) **120** sous forme de dimère chélatant Li^+ (L. Paquette *et al.*).²⁸⁰

• En 2003, Ramesh et coll. synthétisent les inosito-inositols **121** et **122** (fig. **58**), soient des Ins bicycliques (Ins de conformation bloquée, dits "annulaires"). Ce sont des variants hybrides de monocyclitols d'importance biologique, capables de montrer des propriétés biologiques inhabituelles et des propriétés de complexation de métaux.^{cclxxxix}

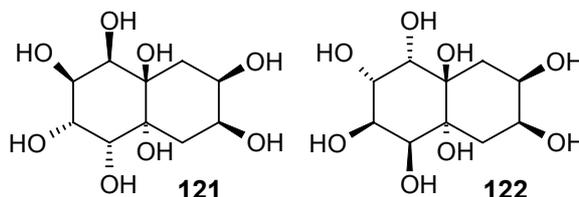


Figure 58 : nouveaux dérivés bicycliques de l'Ins (Ramesh *et al.*).²⁸¹

• En 2003, Balci et coll. rapportent la synthèse stéréospécifique d'un nouvel analogue de l'Ins (**123**, fig. **59**) constitué d'un squelette original, puisqu'il s'agit d'une nouvelle structure bicyclique obtenue à partir de cyclooctatétrène. Les six hydroxyles se retrouvent redéployés dans l'espace de manière inédite.^{cclxxxii}

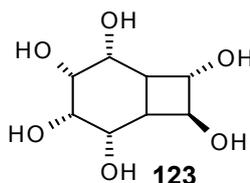


Figure 59 : bis-homoinositol (par Balci et coll.).²⁸²

• De nouveaux composés ouvrant la voie vers de potentiels inhibiteurs de l'IMPase ont été publiés en 2003 par Rudolf K. Allemann et coll. (**124**, fig. **60**).¹⁰² Ils auraient l'avantage d'être beaucoup plus biodisponibles que les précédentes molécules produites destinées à cette application, qui possédaient, pour la plupart, un phosphate chargé empêchant vraisemblablement le passage de la BHE.

De structure générale **124** (**B**, fig. **60**), putativement dans le site actif de l'IMPase (vs Ins **1**, en **A**, fig. **60**), ces analogues de l'Ins exploiteraient une poche hydrophobe présente dans le site actif. Les dérivés de type **124** synthétisés par cette équipe, ayant montré les meilleurs K_i (500 nM), avaient la position 6 substituée par une chaîne amino-alkyle de 4 et 6 carbones.

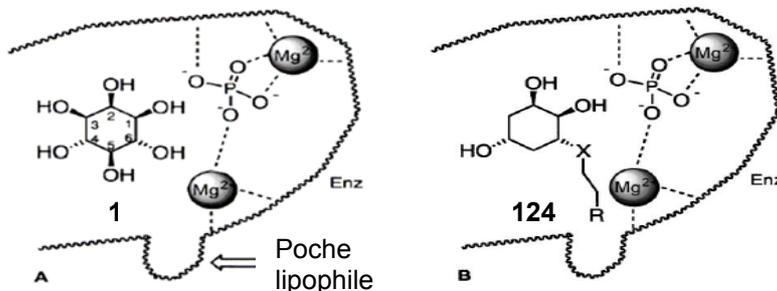


Figure 60 : représentation schématisée du *myo*-inositol et des inhibiteurs potentiels dans le site de liaison de l'IMPase.¹⁰²

• De nouveaux amino- et azido-cyclitol ont été produits par l'équipe de Watanabe en 2004.²⁵² Les dérivés **125** et **126** (fig. 61) obtenus à partir du *myo*-inositol sont de configuration *chiro* et *allo*. L'auteur souligne l'intérêt de tels composés pour leurs propriétés potentiellement anticancéreuse, antibiotique et inhibitrice de glycosidases. Il souligne aussi que les RSA réalisées sur ces antibiotiques démontrent clairement la nécessité de ces squelettes et le rôle de leur conformation.

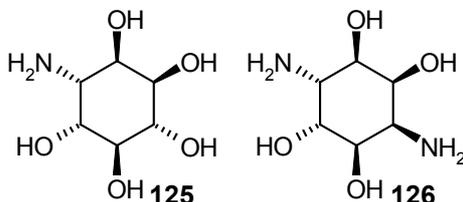


Figure 61 : nouveaux amino et di-amino inositols (respectivement **125** et **126**) (Watanabe *et al.*).²⁵²

• À partir du (-)-*vibo*-quercitol (**127**, fig. 62), dérivé naturel de l'Ins, l'équipe du Dr Korenaga a produit en 2005 une série d'inhibiteurs de glycosidases.^{cclxxxiii} Les dérivés 1-méthoxylé **128** et 5-déoxy-5-méthylé **129** sont actifs sur l' α -fucosidase de rein bovin, avec une CI_{50} de $2,3 \cdot 10^{-5}$ M et de $9,3 \cdot 10^{-6}$ M respectivement. Ils dérivent du 5-amino-1,2,3,4-cyclohexanetetraol **130** qui a une CI_{50} de $4,9 \cdot 10^{-4}$ M sur l' α -galactosidase du café vert. Ces trois composés sont sélectifs d'une seule de ces deux enzymes.

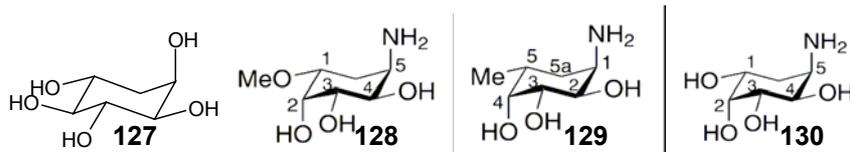


Figure 62 : inhibiteurs (**128-130**) de glycosidases dérivés du (-)-*vibo*-quercitol **127** (Korenaga *et al.*).²⁸³

• Un travail de B. V. L. Potter publié en 2003 consistait à inhiber la 5-phosphatase sur la base de nouveaux dérivés de l'Ins(1,3,4,5)P₄ (fig. 63).⁸³ Il s'agit de deux tétrakis(phosphorothioates) avec les hydroxyles 2 et 5 libres (**131**) ou méthylés (**132**) et d'un tétrakis(phosphate) (**48**) avec les hydroxyles 2 et 5 méthylés. L'évaluation biologique a été entreprise sur la 5-phosphatase (fantômes d'érythrocytes humains) et sur l'Ins(1,4,5)P₃-3-kinase (de cerveau de rat). Seul le composé **131** inhibe significativement l'Ins(1,4,5)P₃-3-kinase.

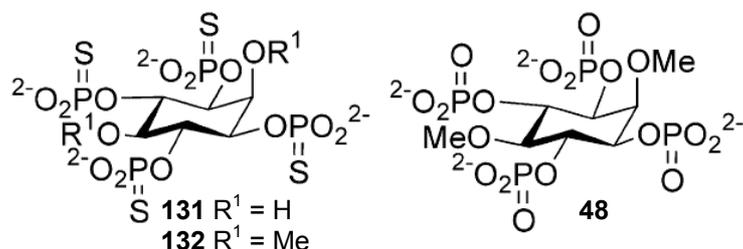


Figure 63 : nouveaux inhibiteurs de la 5-phosphatase de B. V. L. Potter et coll..⁸³

2.1.4.2. Quelques applications dans le domaine de la physique

• En dehors des applications biophysiques (sondes), les dérivés des inositols sont aussi étudiés en vue d'applications dans le domaine des cristaux liquides.^{cclxxxiv, cclxxxv}

• Certains polymères d'inositol (**133**, fig. **64**) se révéleraient également comme de nouveaux supports de colonne HPLC.^{cclxxxvi}

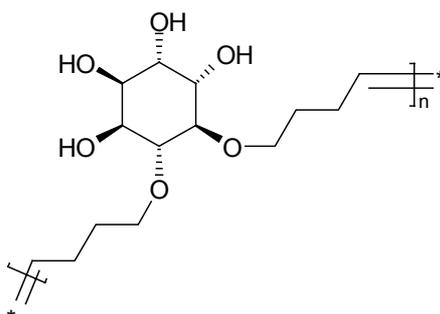


Figure 64 : polymère **133** d'inositol comme support de colonne chromatographique haute résolution.

2.2. Chimie et pharmacochimie autour du phosphore

2.2.1. Méthodes et réactifs de phosphorylation

Deux classes de réactifs sont employées pour la phosphorylation des hydroxyles de l'Ins :⁵⁸

- comprenant des phosphores trivalents, P^{III} ; ces réactifs de phosphitylation forment des phosphites qui doivent être oxydés pour donner le groupement phosphate,
- comprenant des phosphores pentavalents, P^V ; ces réactifs de phosphorylation, où les phosphates sont activés, aboutissent directement à des phosphates protégés.

Le dérivé en P^{III} peut être p. e. une *N,N*-dialkylaminophosphine (**134**) ou une dialkoxyhalogénophosphine (**135**) également appelée dialkylphosphoramidite.^{58,}

^{cclxxxvii} Ces réactifs requièrent une activation catalysée par le 1*H*-tétrazole. Cette approche a généralement une bonne réactivité mentionnée dans la littérature, mais nécessite une mise en place relativement coûteuse en matériel et en temps, puisque la synthèse du dérivé **134** requiert deux étapes. La *N,N*-dialkylamino-dihalogénophosphine est formée par réaction de PCl_3 sur une dialkylamine, puis purifiée par distillation à pression réduite au four à boules (**A**, schéma **1**), suivie de la formation de la phosphine **134** (**B**, schéma **1**).^{cclxxxviii} La première méthode (**C**, schéma **1**) consiste à coupler ce dérivé en P^{III} et à l'oxyder en P^V p. e. avec de l'acide *meta*-chloro-perbenzoïque (*m*CPBA).

problème de liposolubilité. Elles ont recours essentiellement à l'estérification des phosphates,^{ccxcxi, ccxcii} à l'encapsulation des composés dans des liposomes^{ccxciii} et plus récemment aux paires d'ions.²⁵⁰

2.3. Intérêts et méthodes de résolution des racémiques

2.3.1. Intérêts pharmacologiques de la résolution des racémiques

En 2002, 56 % des molécules pharmaceutiques étaient chirales, parmi elles 88 % étaient utilisées en racémique.²⁹⁴ Des molécules, comme le bronchodilatateur (R)-albutérol (**137**, fig. **65**), se sont révélées agoniste pour l'un et antagoniste pour l'autre énantiomère.^{ccxciv} Deux énantiomères peuvent avoir des cibles et actions distinctes, ainsi le (R)-thalidomide (**138**, sédatif), malheureusement utilisé dans les années 1960 avec son inverse optique mutagénique.²⁹⁴ Cette discrimination par des récepteurs se produit également dans le cas de certaines molécules chirales odorantes, qui sont reconnues de manière étonnamment différente par nos récepteurs olfactifs, comme les carvones (odeur de menthe verte de la (4R)-(-)-carvone **139** et odeur de cumin de la (4S)-(+)-carvone).²⁹⁴

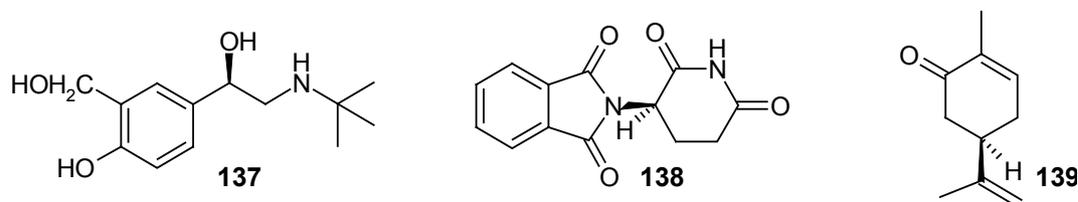


Figure 65 : exemples de molécules ayant des propriétés énanti-spécifiques.

Pharmacologiquement, le test des dérivés de l'Ins(3,5,6)P₃ qui, rappelons-le, sont les énantiomères de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), a généralement révélé la relative inactivité de tels composés (1000 fois moins puissants et affins que les dérivés de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**)). On pourra considérer qu'un composé racémique, dans ces séries, aura donc une activité et une CE₅₀ réduite de moitié par rapport aux dérivés en série Ins(1,4,5)P₃ optiquement pur. Évidemment, les analyses pharmacologiques d'un composé énantiomériquement pur, sont sûres et non approximées. Dans la pratique, on teste préalablement les propriétés pharmacologiques du produit racémique. Celui-ci n'est résolu seulement qu'en cas de résultats intéressants.

Par ailleurs, l'obtention d'une structure RX, par co-cristallisation d'un ligand dans son récepteur, doit nécessairement passer par la résolution du composé racémique. Dans cette optique, un des enjeux, apparu fin 2003 dans mon projet, consistait à fournir l'une de mes molécules sous cette forme au Pr Mitsu Ikura.

2.3.2. Méthodes de résolution des composés racémiques

La résolution de produits racémiques se réalise par l'emploi d'un acide chiral (acide camphanique ou l'un de ses dérivés optiquement actifs p. e.) qui estérifie généralement un alcool du composé racémique.

Les deux diastéréomères peuvent être éventuellement séparables sur colonne ou par recristallisation mais aussi discriminés par des enzymes (estérases) ou des catalyseurs chimiques.^{CCXCV} L'ester est soit formé par une étape préalable, soit de manière transitoire et *in situ*, avant d'être hydrolysé sélectivement par l'enzyme. De nombreuses données existent dans la littérature concernant les inositols, depuis la première méthode qui avait recours à des orthoesters du D-mannose **140**, développée par A. E. Stepanov et V. I. Shvets en 1979.^{CCXCVI} D'autres méthodes ont été développées, comme celles employant les acétals et les esters du camphre respectivement formés avec ses dérivés **141** et **142**,^{CCXCVII} l'acide (S)-(+)-O-acétylmandélique **143**, des dérivés **144** et **145** du menthol ou encore du (R)-(+)-1-phényléthylisocyanate **146** (fig. 66).⁵⁸ En dehors de l'usage d'une matière première chirale, vue précédemment (partie 2.1.2.), une dernière méthode consiste à utiliser un réactif de phosphorylation chiral, comme le (2R,4S,5R)-2-chloro-3,4-diméthyl-5-phényl-1,3,2-oxazaphospholidin-2-one **147**.⁹⁹

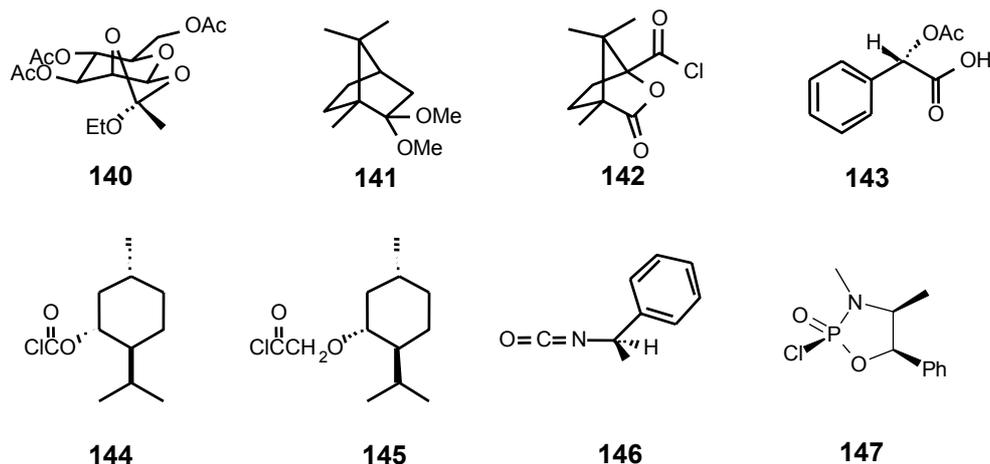


Figure 66 : agents utilisés pour la résolution optique dans les synthèses d'InsP.

3. Stratégie de synthèse : voie des acétals

La synthèse des produits fait appel à des séquences de protection et de déprotection sélectives et à des réactions de fonctionnalisation du *myo*-inositol, que nous utilisons comme produit de départ. Par homogénéité et souci de clarté, on numérote les positions selon la structure finale phosphorylée en 1, 4 et 5 de l'inositol. La position 2 étant la position la moins réactive du cycle inositol, car seule orientée en axial du cycle, il a été nécessaire de recourir à de nombreux ajustements.

3.1. Schéma général

Nous avons choisi d'employer une série d'étapes de protections bien décrites, à partir de l'inositol **1** protégé par un acétal (acétal d'isopropylidène **148** ou de cyclohexylidène **149**) nous permettant d'aboutir à des dérivés de l'inositol phosphorylés en 1, 4 et 5 (schéma 3).^{67, 75, ccxcviii, ccxcix, ccc, cccii, cccii} Les intermédiaires de synthèse **149** à **157** sont connus, mais non commerciaux et nécessaires en grande quantité. Ils ont constitué l'essentiel des synthèses et des resynthèses durant ma première année de mon travail au laboratoire, ce qui m'a permis de me familiariser avec ce type de chimie et de confronter mes résultats à ceux de la littérature.

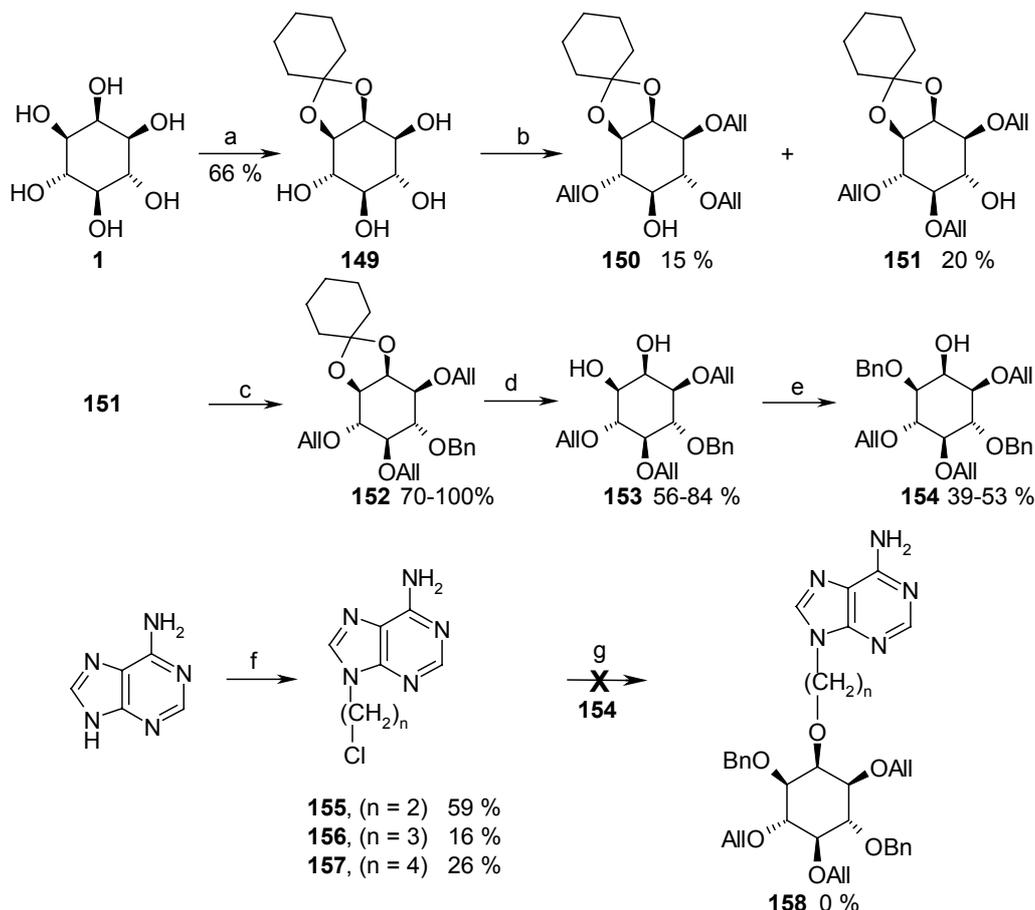


Schéma 3 : synthèse de l'intermédiaire-clé de couplage **154** et tentatives de couplages des espaceurs purinylés **155** à **157**.

All = allyle, $-CH_2-CH=CH_2$; Bn = benzyle, $-CH_2-C_6H_5$; a) i. DMF-toluène 5/1, cyclohexanone, *p*TSA, reflux, 12 h, Dean-Stark ; ii. EtOH, *p*TSA ; b) i. CH₃CN, Bu₂SnO, Bu₄NBr, TMA 3 Å, Soxhlet, reflux, 2 h ; ii. AllBr, reflux, 36 h ; c) i. argon, DMFa, NaH, 0°C, 30 min ; ii. BnBr, catalyseurs, T. A., 24 h ; d) THF-EtOH 9/1, TFA-H₂O 1/5 ; reflux, 2 h ; e) i. CH₃CN, Bu₂SnO, Bu₄NBr, TMA 3 Å, Soxhlet, reflux, 2 h ; ii. BnBr, reflux, 36 h ; f) i. argon, DMFa, NaH, 0°C, 30 min ; ii. (α -Br, ω -Cl)alkyle (alkyle = éthyle, propyle ou butyle), 0°C à T. A., 24 h ; g) i. argon, DMFa, dérivé **154**, NaH (faible à fort excès), 0°C, 30 min ; ii. dérivé **155**, **156** ou **157**, catalyseurs, T. A., 24 h (ou reflux 1,5 h, 36 h, 72 h ou 144 h).

Cette séquence d'étapes a pour point de départ l'Ins sur lequel on forme sélectivement sur ses positions 2 et 3 un acétal à jonction *cis* (schéma 4). Les possibilités qu'offrent les acétals sont avantageuses et essentielles dans ce type de synthèse. Ils sont formés par catalyse acide, qui facilite des attaques nucléophiles des hydroxyles de l'inositol **1** sur des centres électropositifs présents p. e. sur le 2,2-diméthoxypropane ou la cyclohexanone (schéma 4).³⁰⁰ Ces réactifs permettent de faire réagir deux ou quatre alcools vicinaux de l'Ins, formant ainsi un à deux acétals. Les di-cétals ont également des intérêts synthétiques pour la synthèse d'analogues de phosphates d'inositol. Par ailleurs, les acétals à jonction *trans*, plus fragiles, peuvent être clivés sélectivement *in situ* afin de ne conserver que les composés comportant l'acétal à jonction *cis*, thermodynamiquement plus stable que les acétals à jonction *trans* (mono-acétals **148** et **149**). Cette technique de rééquilibration, développée par Massy *et al.* en 1990, aboutit, par hydrolyse acide en milieu alcoolique, à un précipité du produit attendu **149** (ρ litt. = 93 %).^{ccciii} Cette première protection est ainsi effectuée sur une importante quantité d'Ins (20 à 47 g). Nous avons également utilisé l'acétal d'isopropylidène **148**, obtenu à partir du 2,2-diméthoxypropane.^{ccciv} La réaction est réalisée dans un mélange 5/1 de diméthylformamide (DMF) et de toluène à reflux. L'équilibre de la réaction est déplacé favorablement par distillation azéotropique de l'eau en continu au moyen d'un Dean-Stark.

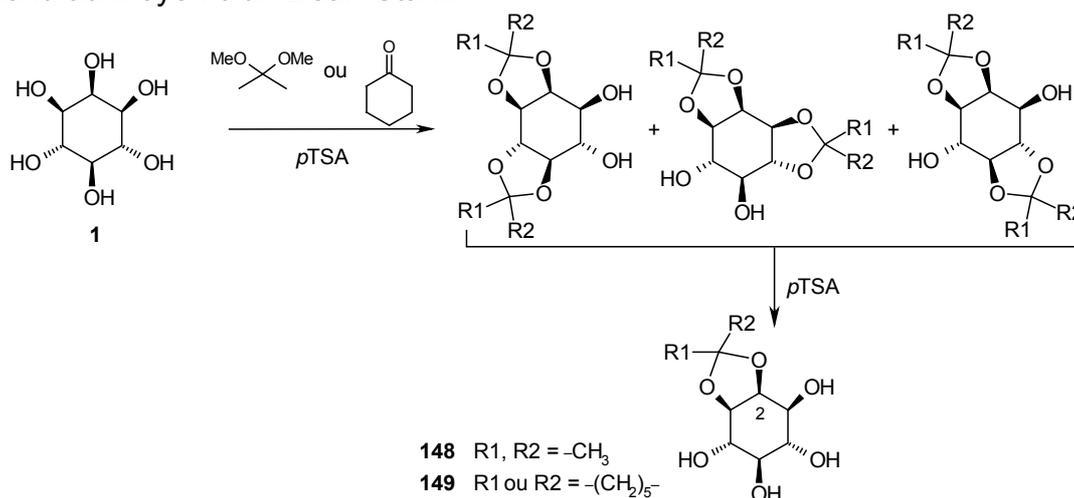


Schéma 4 : synthèses possibles de mono-acétals de *myo*-inositol (Massy *et al.*).³⁰³

L'utilisation de l'oxyde de dibutylétain (Bu₂SnO) sur le mono-acétal racémique **149**, permet, selon la méthode mise au point par Gigg et coll., d'introduire une triple protection (schéma 3).^{276, 299} La réaction aboutit à deux composés dont le seul alcool libre est situé soit en 5 (tri-allyle **150**), soit en 6 (tri-allyle **151**), obtenus respectivement avec un rendement de première purification de 15 % et de 20 %. Au laboratoire Stéphanie Ballereau a obtenu ces deux produits avec un rendement de 32 et 40 % respectivement.⁶⁷ L'alcool **151** est alors benzylé en employant une base à 0°C (hydrure de sodium, NaH, 2 à 2,5 éq.) et du bromure de benzyle (BnBr, 2 à 2,5 éq.) à température ambiante (T. A.) pour fournir le dérivé totalement protégé **152**. Le solvant couramment employé est le DMF anhydre (DMFa). Afin d'obtenir de meilleurs rendements, la réaction est catalysée par de l'iode (I₂) ou de l'iodure de sodium (NaI) et est prolongée de 12 à 24 h (passage de 70-80 % à un rendement quantitatif). En vue d'optimiser la réaction, on utilise également un cryptant du sodium (éther-couronne [15-5]) et un co-solvant en quantité minimale : l'hexaméthylphosphorotriamide (HMPT). Cette réaction, effectuée dans du tétrahydrofurane anhydre (THFa), obtient un rendement plus faible (56 %). L'acétal

du composé **152** est ensuite hydrolysé par une solution aqueuse d'acide trifluoroacétique (TFA) pour donner le diol **153**. Ce diol **153** est alkylé sélectivement sur l'hydroxyle équatorial 1 en utilisant du Bu_2SnO et du BnBr . Nous obtenons ainsi l'intermédiaire-clé de couplage **154** nous permettant l'introduction de différentes chaînes ω -purinylées. Le rendement global pour la séquence d'étapes à partir du composé **1** est de 4,4 %.

Dans ce schéma de synthèse, nous avons eu recours à des *N*-9-(ω -halogéno)alkyl-adénines **155** à **157**. Ces réactifs adéninylés sont préparés par substitution nucléophile (SN) de l'azote 9 de l'adénine (amidure formé par NaH) sur des chaînes grasses (α -bromo, ω -chloro)-dihalogénées comportant 2, 3 et 4 chaînons méthylènes (schéma 3).^{cccvi} La régiosélectivité *N*-9 vs *N*-7 de la purine et de ses dérivés vis-à-vis de l'alkylation par SN en milieu basique a déjà été exploitée au laboratoire.^{cccvi} Elle peut être contrôlée en fonction du solvant employé et de la température à laquelle la réaction est conduite. C'est majoritairement en *N*-9 qu'a lieu cette substitution à T. A. en milieu basique. Cette régiosélectivité est la plus forte avec le DMF. Les produits substitués en *N*-7 sont plus polaires que ceux substitués en *N*-9. Par RMN- ^1H , *H*-2 et *H*-8 de la purine et le CH_2 en α de l'azote couplé à la chaîne sont les plus déblindés pour la purine substituée en *N*-7.³⁰⁶ Les dérivés de purine alkylés en *N*-7 qui en résultent n'ont été observés que dans certains cas et dans des quantités très faibles (résultats corroborés par les simulations des spectres RMN- ^{13}C). Le produit de couplage **158** fonctionnalisé sur la position 2 par un résidu adéninylé **155** à **157** n'a pas été obtenu (schéma 3). Le suivi sur plaque de CCM n'indique pas d'évolution, hormis la formation du produit d'élimination sur le réactif halogéné **155** (obtention du produit 9-*N*-vinyl-adénine **159**, fig. 67). La réaction n'évolue pas avec les dérivés adéninylés **156** et **157**. L'alcool **154** engagé (0,1 à 0,6 g) est retrouvé à plus de 90 % après traitement du MR (extraction et chromatographie sur colonne). Les catalyseurs mentionnés précédemment pour la benzylation sont également utilisés (NaI , I_2 , [15-5], HMPT) ainsi que la 4-diméthylaminopyridine (DMAP). Les conditions de température, stœchiométrie, durée de réaction sont modifiées sans plus de succès. Des inositol-diols (1,4,5,6-tétra-*O*-alkyl-*myo*-inositol, type **153**) ont été également testés, aucun des alcools libres n'a été couplé par les dérivés de l'adénine (tableau 7).

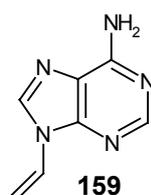


Figure 67 : 9-*N*-vinyl-adénine **159** produit d'élimination formé à partir du réactif halogéné **155**.

Afin d'augmenter la réactivité du dérivé de l'adénine **155** (500 mg), le chlore a été substitué par un atome d'iode *via* solvolysse (schéma 5, 17 % de rendement en produit iodé **160** isolé à la première purification, probablement encore autant en mélange avec le réactif **155**).^{cccvii} Cette 9-*N*-(2'-iodo)éthyl-adénine **160** n'a pas eu plus de succès dans la substitution et s'est également retrouvée dégradée en 9-*N*-vinyl-adénine **159**.

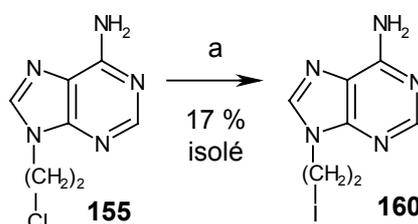


Schéma 5 : transhalogénération du produit **155** en son dérivé iodé **160**.

a) i. EtOH , 50°C , 15 min ; ii. 2,2 éq. NaI , reflux, 2 h ; iii. reprise acétone , reflux, 72 h.

Dans une première période de ce travail, la principale difficulté fut donc de réussir le couplage, sur la position 2 de l'inositol **154**, d'une chaîne alkyle terminée par une base purique. Le couplage direct classique a été également modélisé avec d'autres halogénures (colonne 1, tableau 7) et d'autres dérivés hydroxylés : alcool benzylique (BnOH, colonne 2) et divers inositols penta-O-alkylés (alcool 2 libre, colonne 3) et tétra-O-alkylés (alcools 2 et 3 libres, colonne 4). Les groupements alkyles, présents sur les inositols des colonnes 3 et 4, sont des groupements allyles et/ou benzyles et/ou crotyles. Les quantités de dérivés hydroxylés engagées vont de 50 mg à plusieurs centaines de mg. Dans le cas de l'Ins tétra-O-alkylé (colonne 4), seule la position 3 s'est retrouvée alkylée, même en présence d'un large excès de réactif halogéné.

La réaction est généralement réalisée dans du DMFa avec 1,3 éq. de NaH, que l'on laisse agir à 0°C pendant 15 à 30 min pour préformer l'alcoolate, avant l'ajout de l'halogénure (1,3 éq. à un large excès). Des variantes concernant cette préformation ont été essayées sans plus de succès. Le NaH a été ainsi ajouté à T. A., éventuellement suivi d'un chauffage de 30 à 80°C pendant 5 min à 1 h. De nouveaux ajouts de base et d'halogénure ont été également réalisés, sans conséquence sur l'évolution de la réaction, suivie sur CCM. Ni des temps de réaction plus ou moins longs, ni des conditions thermiques plus ou moins fortes n'ont montré d'amélioration sur l'obtention du couplage entre les dérivés de l'Ins et les dérivés contenant la base purique (**155** à **157** et **160**). Le passage à des conditions plus drastiques, des bases plus fortes (BuLi) ou des réactifs en excès n'a pas amélioré les résultats et certains n'ont pas pu être reproduits. L'usage du HMPT distillé, en tant que solvant ou en quantité catalytique, comme l'utilisation du cryptant [15-5], de DMAP, de NaI, de I₂ ou d'autres solvants (distillés), se sont révélés inefficaces.

Halogénures	% de produit couplé isolé (<i>nombre d'essais</i>)		
	sur BnOH	sur 1,3,4,5,6-penta-O-alkyl- <i>myo</i> -inositol	sur 1,4,5,6-tétra-O-alkyl- <i>myo</i> -inositol
155	0 (1)	0 (8)	
160		0 (1)	
156			0 (1)
157		0 (1)	0 (2)
<i>p</i> MBCl		35 (1) produit 163	
Cl-(CH ₂) ₂ -Br	0 (2)	0 (5) et 19 (1) produit 164	13 et 24 (2)
Cl-(CH ₂) ₃ -Br	1 (1)		
Ph-(CH ₂) ₂ -Br		0 (1)	
Br-(CH ₂) ₂ -OTHP, 161		36 (1) produit 165	86 (1) et 0 (2)
Cl-(CH ₂) ₃ -OTHP, 162		0 (4)	1 (1) et 0 (2)

Tableau 7 : essais de couplages sur des Ins diversement protégés et le BnOH, avec des dérivés purinylés (**155** à **157** et **160**) et d'autres halogénures (la plupart avec une chaîne éthyle ou propyle).

Un essai de couplage décrit, employant un agent alkylant activé, le chlorure de *para*-méthoxybenzyle (*p*MeOBnCl), a fourni 35 % du produit alkylé attendu.³⁰¹

Les chaînes α,ω -dihalogénées ont montré une faible réactivité, même sur la position 1 de l'Ins. Le BnOH a pu être couplé à raison de 1 % par une telle chaîne. Un 1,3,4,5,6-penta-O-alkyl-*myo*-inositol aurait été couplé à 19 %, ce dernier résultat n'a pas pu être reproduit et le produit s'est révélé être contaminé après analyses.

Deux espaceurs α -halogénés et ω -hydroxylés ont été protégés par un groupement tétrahydropyranyle, formant les chaînes de type X-(CH₂)_n-OTHP **161** et **162** (schéma 6).^{cccviii, cccix} Ils réagissent modérément en 2 de l'inositol, la chaîne chlorée ne semble pas assez réactive.

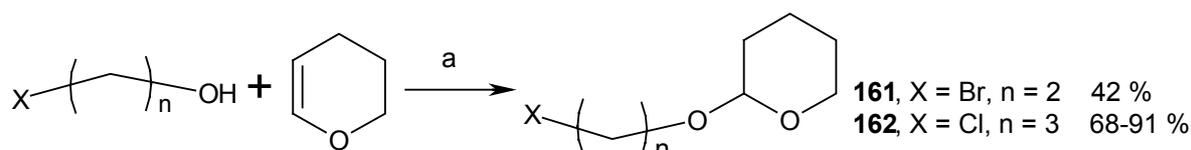


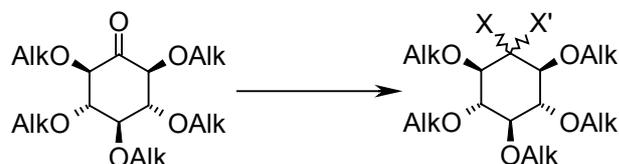
Schéma 6 : synthèse des espaceurs protégés par un tétrahydropyranyle (THP).

a) argon, DCMa, *p*TSA cat., T. A., 48 h.

Les agents alkylants activés (par un méthoxy ou un brome) sont modérément couplés. Les agents alkylants activés uniquement par un chlore ne semblent pas réagir. Les efforts d'amélioration des conditions réactionnelles (catalyse, effet thermique, etc) n'ont pas porté leurs fruits. Dans de rares cas la position 2 de l'inositol a pu être substituée, ceci avec un faible rendement, notamment pour les réactifs d'intérêt de type espaceur propylique. De plus, certains des résultats de couplage encourageants n'ont pas pu être reproduits. On notera que certains halogénures n'ont donné aucun produit de couplage, même sur la position 3 de l'Ins. Nous espérons de meilleurs résultats avec l'alcool benzylique, principalement du fait de la position dégagée de son hydroxyle, contrairement au 1,3,4,5,6-penta-*O*-alkyl-*myo*-inositol dont l'hydroxyle libre est beaucoup plus encombré. On relèvera que, dans la littérature, la plupart des liaisons formées sur l'hydroxyle 2 de l'Ins sont des esters. Quelques liaisons éthers sont formées, avec un bromure d'octyle p. e..²⁸⁴ Elles sont formées en général à partir d'alkyles ou d'aryles très activés. Ces conclusions nous ont amenés à envisager d'autres méthodes.

3.2. Couplage sur la position 2 *via* une fonction carbonyle

Suite aux premiers échecs de couplage sur la position 2, d'autres méthodes, notamment *via* la fonction carbonyle (schéma 7), ont été envisagées en fonction des données de la littérature et de l'applicabilité de ces méthodes sur notre molécule.^{cccX}



X ou X' = OH ou agent de couplage (= espaceur ou son précurseur) ou agent de couplage seul

Schéma 7 : fonctionnalisations envisageables sur un inosose.

3.2.1. Synthèse d'inososes

Les inososes **166** et **167** (fig. 68) n'ont pas pu être obtenus par oxydation de l'alcool, en 2 de l'inositol correspondant, par la méthode de Swern, qui utilise le chlorure d'oxalyle ((COCl)₂) et le diméthylsulfoxyde (DMSO).^{cccxi, cccxii, cccxiii} L'inosose **166** est obtenu par oxydation de l'alcool, en 2 de l'inositol correspondant ($\rho = 32\%$), par la méthode utilisant le chlorochromate de pyridinium (PCC), décrite par E. J. Corey et J. W. Suggs en 1975.^{cccxiv} Les inososes **167** et **168** ont été synthétisés au laboratoire en 1991 par le Dr Nathalie Schnetz-Boutaud.³⁰¹

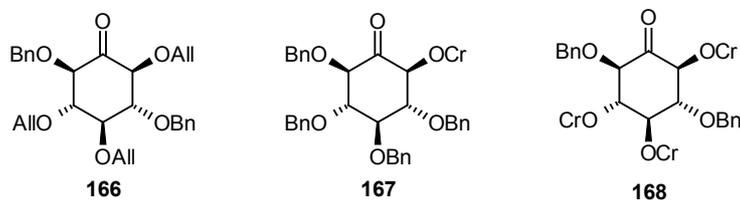


Figure 68 : dérivés inososes envisagés et/ou obtenus par synthèse.

3.2.2. Réaction de Grignard

La réaction de Grignard emploie des organo-magnésiens.^{cccxv} Les réactions modèles (schéma 8, méthode reprise de Paquette *et al.*)^{cccxvi} ont été réalisées principalement sur la cyclohexanone (produits **169** à **172**). Un essai (infructueux) a été tenté sur la benzophénone (produit **173** non détecté). L'utilisation d'un organomagnésien ω-alcoolate (Cl(CH₂)₃OMgI) nous permettrait d'aboutir à une sorte d'homologation de l'alcool (p. e. avec les produits **170** et **173**) puisque l'on régénère celui présent sur le bis(magnésien) ClMg(CH₂)₃OMgI au bout de la chaîne désirée (Cahiez *et al.*)^{cccxvii} Malgré le respect des conditions anhydres, le meilleur rendement en produit isolé **171**, seul significatif pour ces réactions modèles, n'a jamais dépassé 25 %.

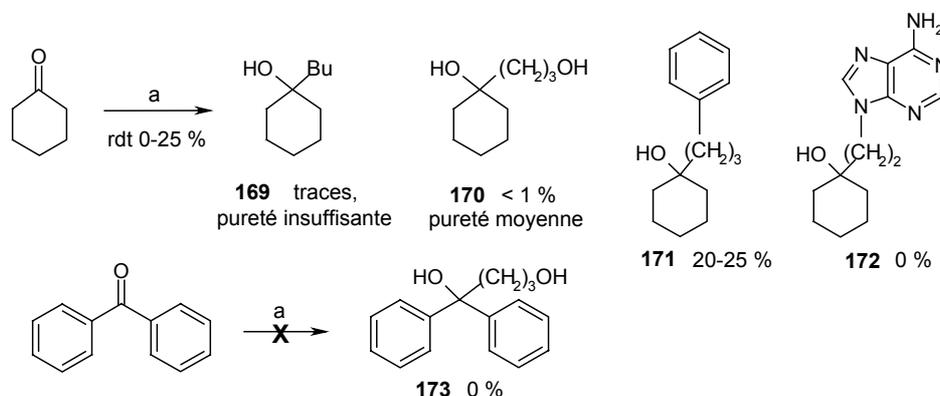
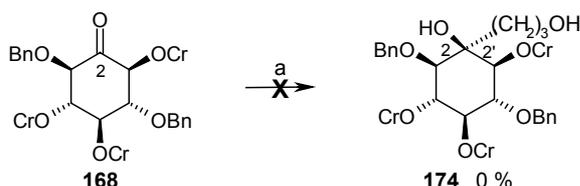


Schéma 8 : réactions de Grignard, réactions modèles réalisées.

Bu : butyle, -(CH₂)₃-CH₃ ; a) argon, THFa, 1 éq. RX, Mg (4 éq.), Br(CH₂)₂Br (10 µL, 1 h, 10 µL), 60°C, 4 h. Avec pour **169** : RX = BuCl ; **170** et **173** : RX = Cl-(CH₂)₃-OH^(*) ; **171** : RX = Ph-(CH₂)₃-Br ; **172** : RX = **155**.^(*) réagit d'abord avec MeMgI (1 éq.), argon, THFa, -20°C, 20 min.

Concernant un squelette à base d'inositol, la littérature était avare d'exemples, bien que certains résultats nous aient paru encourageants, mais l'essai réalisé sur l'inosose **168** s'est révélé infructueux (schéma 9). La cyclohexanone n'ayant pas l'encombrement de notre molécule, cette voie fut abandonnée. En outre la formation de l'inosose impliquerait une étape supplémentaire (et une baisse du rendement global) et le produit de la réaction de Grignard formé sur cet inosose s'éloignerait de notre objectif de synthèse (espaceur en 2' équatorial et non en 2 axial) tel que modélisé. Néanmoins, la tolérance sur cette position ne peut exclure d'aussi bonnes potentialités pour de tels analogues.

Schéma 9 : essai de la réaction de Grignard sur l'inosose **168**.

Cr : crotyle, -CH₂-CH=CH-CH₃ ; a) argon, THFa, Cl-(CH₂)₃-OH^(*) (1 éq.), Mg (4 éq.), Br(CH₂)₂Br (10 µL, 1 h, 10 µL), 60°C, 4 h.

^(*) réagit d'abord avec MeMgI (1 éq.), argon, THFa, -20°C, 20 min.

3.2.3. Réaction d'oléfination de Wittig

La réaction d'oléfination de Wittig^{cccxviii} emploie un sel de phosphonium formé classiquement à partir de la triphénylphosphine et d'un halogénure à température ou pression élevée.^{cccxi} Ce sel, soumis à l'action d'une base, est transformé en ylure de phosphate qui pourra réagir avec le groupement carbonyle de l'inosose. L'inosose **166** n'a pas pu être converti en alcène **175** par cette méthode (schéma 10).^{cccxx, cccxxi} En parallèle de la réaction de Grignard précédente, cette réaction de Wittig, appliquée à nos molécules, n'apparaît pas, non plus, comme une bonne option dans l'optique de greffer un groupement volumineux avec un rendement convenable.

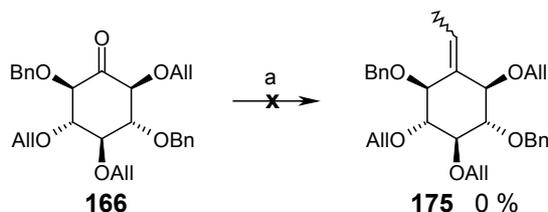


Schéma 10 : tentative de la réaction de Wittig sur l'inosose 166.

a) i. argon, éther sec, bromure d'éthyl(triphényl)phosphonium, *tert*-butanolate de potassium, 0°C, 1 h ; ii. inosose 166, -20°C.

3.2.4. Conclusion sur le recours à la fonction carbonyle

Nous n'avons pas persisté davantage dans cette voie, les réactions modèles ayant fourni de maigres résultats et les quelques réactions tentées sur des inososes n'ayant pas abouti au produit désiré. En outre, le recours à cette voie implique une étape d'oxydation préalable supplémentaire avec un rendement peu élevé, 32 % (partie 3.2.1.).

3.3. Activation de l'alcool de la position 2

En parallèle, nous nous sommes attachés à augmenter la réactivité de l'alcool 2 qui souffre de deux handicaps majeurs : son orientation axiale et un environnement fortement encombré. Nous avons réalisé plusieurs essais en ayant recours à différentes méthodes : couplage d'un nucléofuge et désencombrement stérique, modification de la configuration, modification de la conformation.

3.3.1. Désencombrement stérique par tosylation puis déhydroxylation en 3

L'hydroxyle équatorial en 3 étant plus réactif que celui de la position 2, nous pouvons profiter de cette position 3 pour y coupler un nucléofuge, dont le départ permettra de désencombrer en partie le voisinage de l'hydroxyle 2 (schéma 11).

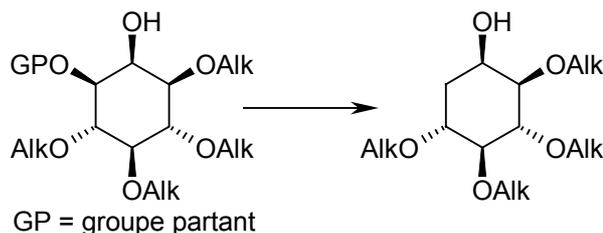


Schéma 11 : diminution de la gêne stérique en 2 par déhydroxylation en 3.

L'alcool de la position 3 est activé par le couplage d'un bon groupe partant comme un sulfonate.^{cccxxii} Le diol **176**, préalablement synthétisé au laboratoire³⁰¹ est tosylé sur la position 1 (schéma **12**, composé **177**) via une catalyse à l'étain.^{cccxxiii} Nous avons espéré pouvoir profiter d'une réaction de déhydroxylation en 3,^{cccxxiv} afin de désencombrer l'hydroxyle axial en 2 (molécule **178** espérée) et ainsi augmenter sa réactivité, afin de le coupler à l'espaceur (dérivé **179** putatif). L'essai réalisé, après tosylation de la position libre voisine de 2 (composé **177**), n'a malheureusement pas abouti à la molécule **178** espérée. Le réducteur employé, le triéthylborohydrure de lithium (LTBH), était probablement trop fort. Il est également décrit comme pouvant donner lieu, sur ce système de type diol monotosylé, à un réarrangement en déhydroxy monocétone, voire à une poly-insaturation du cycle inositol.^{cccxxv} Cette voie n'a pas été poursuivie.

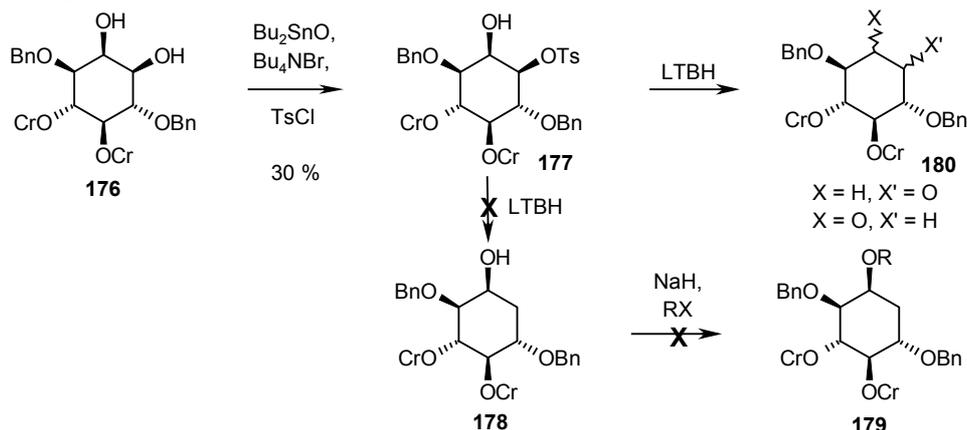


Schéma 12 : suggestion de désencombrement de la position 2.

3.3.2. Inversion de la configuration de l'alcool en position 2

La réduction stéréosélective d'un inosose-2 pourrait nous fournir le dérivé *scyllo* où la configuration du C-2 est inverse de la configuration *myo*. L'hydroxyle-2 ainsi orienté en équatorial serait plus réactif. Quelques réductions stéréo-orientées d'inososes sont décrites, ainsi en 1991 G. Lowe *et al.*^{cccxxvi} et en 1992 J. L. Offer *et al.*^{cccxxvii} rapportent la formation d'un mélange 1/4 de *scyllo*- et de *myo*-inositol après réduction par le borohydrure de sodium (NaBH₄) d'un inosose-2 penta-O-benzylé. En 1996, une inversion totale de configuration en 2 de l'Ins est décrite par Yu *et al.*³²⁵ Elle consiste, après oxydation de cette position en cétone, à la réduire de manière stéréo-orientée avec le "super-hydrure" LTBH. Mais nous n'avons pas recueilli le dérivé *scyllo* **181** (schéma **13**), c'est le dérivé *myo* **182** qui est récupéré. Le spectre RMN ne révèle aucune constante de couplage ³J_{H-H} transantipériplanaire pour H-2.

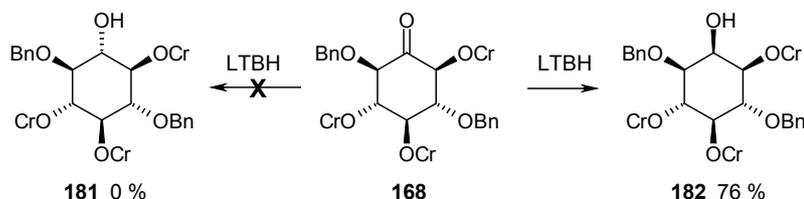


Schéma 13 : réaction de réduction stéréosélective, produit **182** formé au détriment du composé **181**.

3.3.3. Augmentation de la réactivité en 2 par contrainte conformationnelle

La méthode d'orthoestérification, décrite en premier lieu dans la littérature scientifique par Kishi et coll. en 1985,^{cccxxviii} nécessite de reprendre le schéma réactionnel depuis l'inositol (**1**). Cette nouvelle voie de synthèse fait par conséquent l'objet du chapitre suivant.

4. Deuxième voie employée : voie de l'orthoester

4.1. Schéma général de la synthèse du nouvel intermédiaire de couplage

La synthèse de l'orthoester **183**, développée à l'origine sur le *scyllo*-inositol par Kishi *et al.* en 1985,³²⁸ modifiée en 1988 par Baudin *et al.*,^{cccxxix} implique trois hydroxyles alternés deux à deux sur le cycle (schéma **14**). Sa mise en place sur le *myo*-inositol nécessite une inversion de cycle et a également recours à une catalyse par le *p*TSA. Outre le fait de bloquer sélectivement les hydroxyles 1, 3 et 5 du cycle Ins par une triestérification, la méthode amène l'hydroxyle 2 à s'orienter en position équatoriale avec un environnement plus dégagé (schéma **14**).

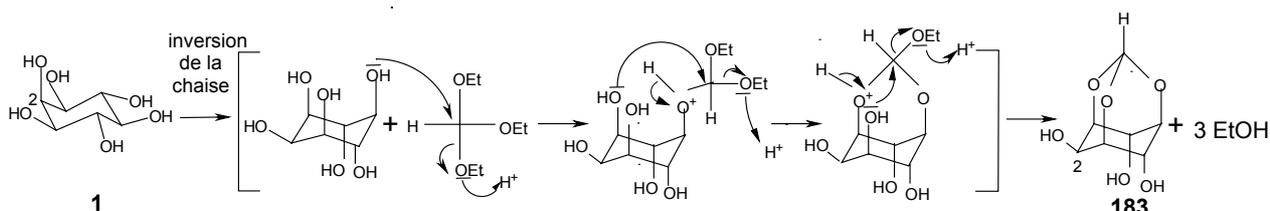


Schéma 14 : mécanisme réactionnel de la formation de l'orthoformate d'inositol (**183**).

Par cette nouvelle voie de synthèse nous arrivons également à un intermédiaire de couplage en 5 étapes (schéma **15**) *via* des synthons certes connus, mais toujours non commerciaux et nécessaires en grandes quantités.

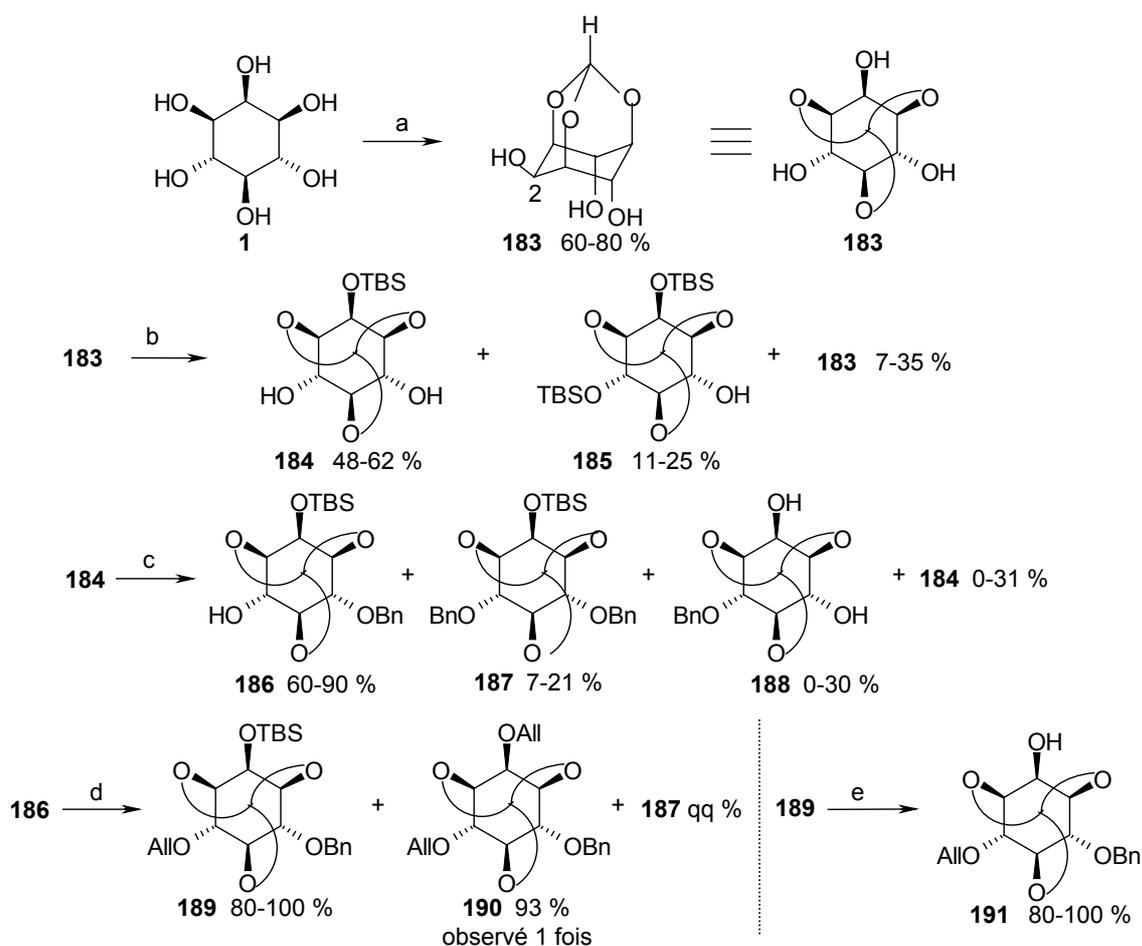


Schéma 15 : synthèse de l'intermédiaire-clé de couplage **191**.

TBS : *tert*-butyldiméthylsilyle, -Si(Me)₂tBu ; a) DMFa, *p*TSA, HC(OEt)₃, reflux, 3 h ; b) argon, DMFa, imidazole (2,5 éq.), TBSCl (0,9 à 1,2 éq.), 0°C à T. A., 12 à 48 h ; c) i. argon, DMFa, NaH, 0°C, 30 min ; ii. BnBr (0,9 ou 1 éq.), catalyseurs, 0°C à T. A., 24 h ; d) i. argon, DMFa, NaH, 0°C, 30 min ; ii. AlIBr (1,3 éq.), catalyseurs, T. A., 24 h ; e) THF, TBAF, T. A., 30 min à 2 h.

L'inositol **1** (15 à 50 g) protégé par un orthoester (composé **183**, schéma **15**) subit une nouvelle protection, régiosélective de la position 2, par un groupement *tert*-butyldiméthylsilyle (communément abrégé TBS).^{328-cccxxx} Le produit monosilylé en 2 **184** est majoritairement formé, avec un rendement voisin de 60 %. Néanmoins, le produit secondaire disilylé **185** est formé de manière non négligeable (jusqu'à 25 %), nous obligeant à travailler avec le réactif halogéné (chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle, TBSCI) en conditions substœchiométriques.^{330-cccxxxi} Le diol **184** perd son caractère *meso* par mono-benzoylation (mono-benzyle **186**).³²⁹ La réaction est favorisée par la présence d'un pont salin *via* un ion Na⁺ entre les deux hydroxyles axiaux, dont l'un est sous forme alcoolate. Il se forme malgré tout du produit dibenzylé **187**. L'optimisation de la formation du produit désiré **186** nécessite ici aussi d'opérer en conditions substœchiométriques en bromure de benzyle (le produit dibenzylé **187** permet, après désilylation, de réaliser des réactions modèles de couplages sur la position 2).³²⁸ Un produit dégradé sur la position 2, le diol **188**,³²⁹ est également isolé avec un rendement le plus souvent négligeable. L'allylation du dernier hydroxyle libre du composé **186** aboutit à l'inositol **189** totalement protégé. On observe dans un cas, un produit dégradé sur la position 2, le diallyle **190**, avec un rendement très élevé de 93 %. La désilylation est réalisée classiquement, selon la méthode ayant recours au fluorure de tétrabutylammonium (TBAF),²⁷¹ nous permettant d'obtenir notre nouvel intermédiaire-clé de couplage, l'alcool **191**,³³⁰ de manière souvent quantitative (ρ global = 45 % depuis **1**).

4.2. Synthèse des espaceurs protégés

Diverses chaînes hydroxylées activées par un atome de brome ou par un groupement tosylo ³²² vont être protégées par un groupement TBS (schéma **16**).^{cccxxxii, cccxxxiii, cccxxxiv} Les chaînes α -bromées, possédant deux et trois atomes de carbone, sont silylées dans le THFa *via* SN avec la base triéthylamine (TEA) et une catalyse par la DMAP. Les produits **192** et **193** sont obtenus respectivement avec un rendement de 76 et de 97 % (litt. : 99,5 %).³³⁴ L'espaceur protégé à quatre atomes de carbone est obtenu à partir du butan-1,4-diol, que nous avons tout d'abord tenté de tosyler dans la pyridine sans succès. En commençant par l'étape de silylation, en conditions substœchiométriques (0,4 éq. de TBSCI) pour réduire la formation de disilyle, nous retrouvons ainsi 82 % du réactif silylé TBSCI couplé sur la chaîne **195**. La chaîne α -tosylée et δ -silylée **196** est finalement obtenue avec un rendement global de 53 %. La réaction de tosylation fournit un produit secondaire sous la forme de l'éther **197** (24 % de la chaîne silylée **195** se retrouve ainsi dans cette espèce dimérique **197**).

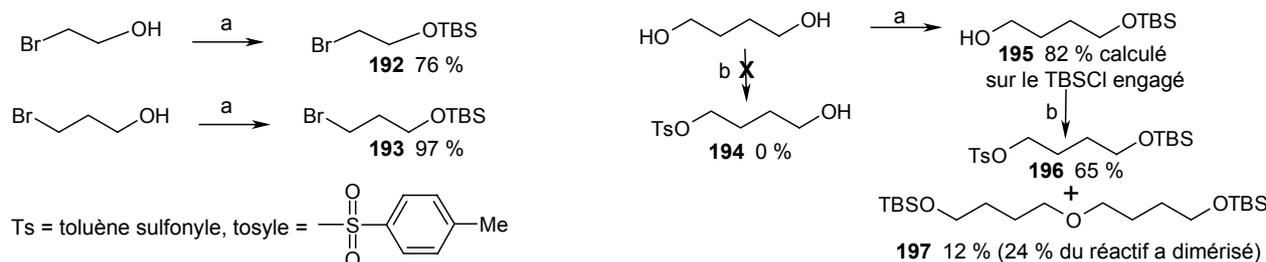


Schéma 16 : synthèses de nouveaux espaceurs protégés.

a) argon, THFa, TEA, TBSCI, DMAP cat., 0°C à T. A., 12 h ; b) i. argon, pyridine, 0°C, 10 min ; ii. TsCl, 0°C à T. A., 12 h.

4.3. Couplage des espaceurs sur la position 2

L'introduction directe des chaînes α -chlorées et ω -purinylées **155** et **157** sur l'intermédiaire **191** n'a pas abouti (tableau **8**).

D'autres halogénures ont été utilisés pour ces essais de couplage, deux chaînes à trois maillons méthylènes se retrouvent dégradées en allyle (diallyle **190**), cette élimination n'a pas lieu quand la chaîne possède un hydroxyle silylé. On constate à nouveau que le DMFa permet d'atteindre de meilleurs rendements dans ce type de réaction. L'essentiel de la quantité du dérivé clé de couplage **191** est récupéré en cas de non-réaction ou de réaction incomplète.

Les produits couplés (fig. **69**) appartiennent à deux catégories. Ceux ayant une chaîne ω -halogénée permettant d'alkyler la purine en milieu basique,^{305, 306} les composés possédant une chaîne ω -hydroxysilylée qui pourront, après désilylation, réagir avec la purine *via* une réaction de Mitsunobu.^{cccxxxv, cccxxxvi}

Halogénures et dérivés tosylés	Rendement (%) du couplage sur le composé 191 (nombre d'essais)
155	0 % (1)
157	0 % (3)
Br-(CH ₂) ₃ -OH	dégradé en dérivé 2-O-allylé 190 (1)
Br-(CH ₂) ₂ -OTBS (192)	0 % (1)
Br-(CH ₂) ₃ -OTBS (193)	20-40 % dans THFa / 62 % dans DMFa 198 (15)
TsO-(CH ₂) ₄ -OTBS (196)	66-71 % (199) et dérivé 2-O-tosylé 4-12 % (200) (3)
Br-(CH ₂) ₂ -Cl	0 % (1)
Br-(CH ₂) ₃ -Cl	dégradé en dérivé 2-O-allylé 190 (2)
Br-(CH ₂) ₄ -Cl	41-45 % (201) (3)
Br-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -Br	7-48 % (202) (11)
Br-(CH ₂) ₅ -Br	30-70 % (203) (2)
TsCl	39 % (200) (1)

Tableau 8 : réactions de couplage tentées sur la position 2 de l'orthoester **191**.

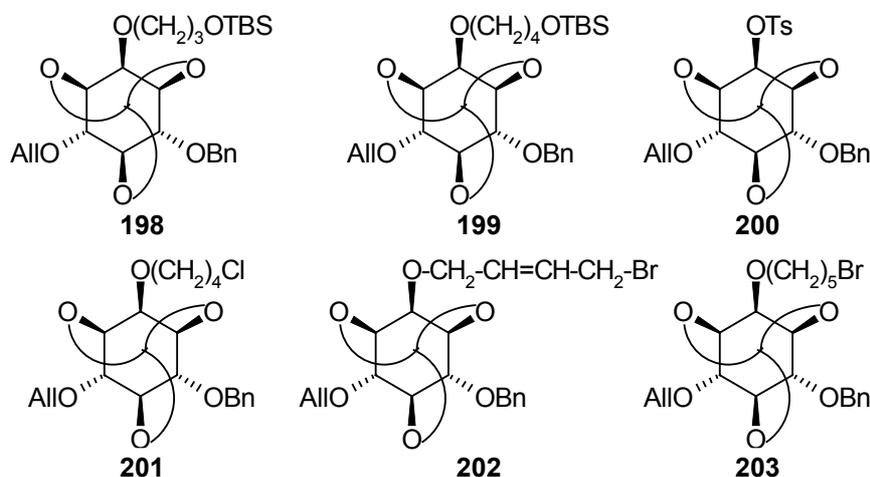


Figure 69 : produits de couplage sur la position 2 du composé **191** obtenus.

4.4. Élaboration des analogues avec l'espaceur propylique

La synthèse des analogues avec l'espaceur propylique s'élabore sur huit étapes (schéma 17).

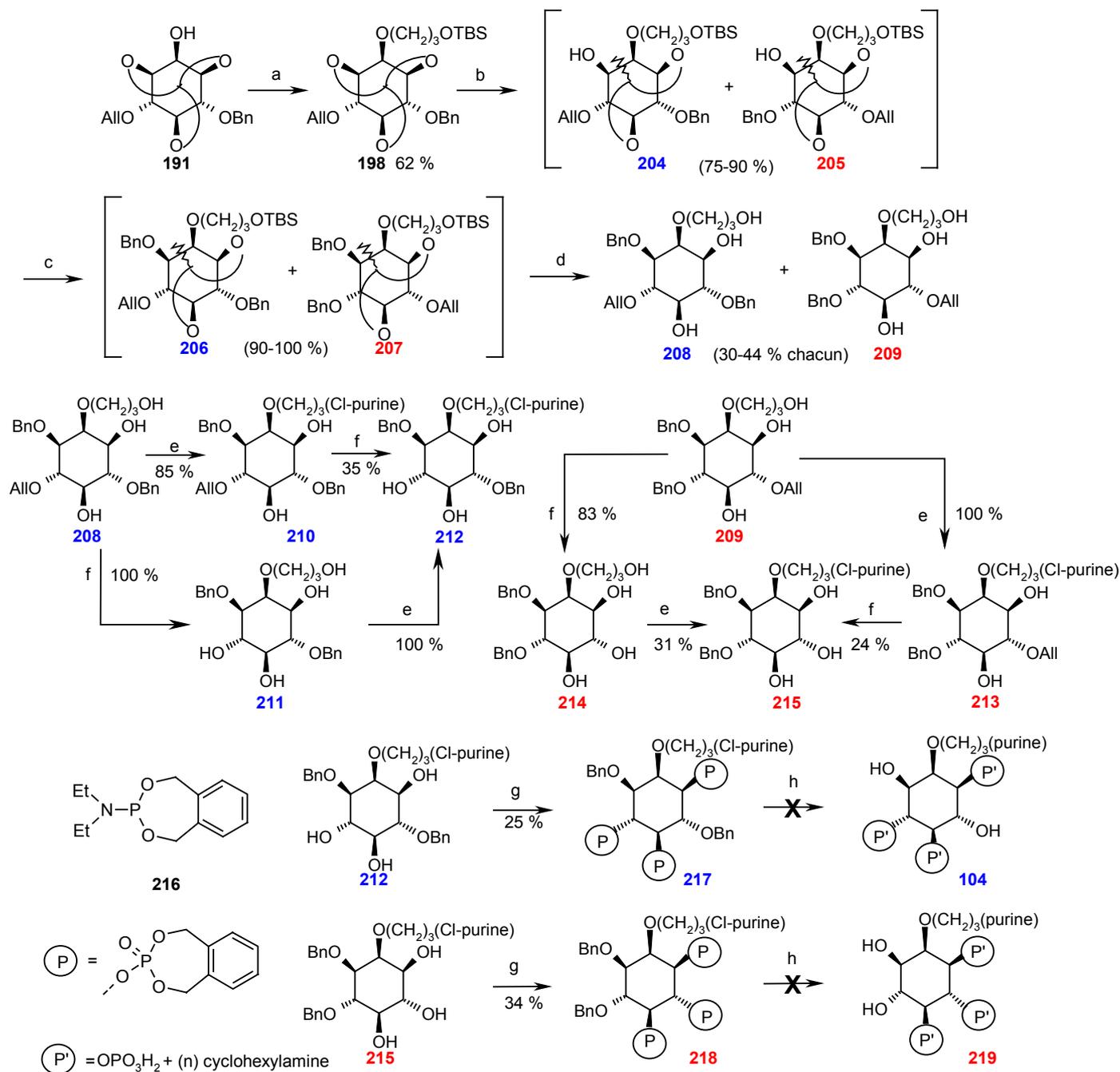


Schéma 17 : synthèse des dérivés tris(phosphates) 104 et 219.

[] = inséparables ; a) i. argon, DMFa, NaH, 0°C à T. A., 25 min ; ii. Br-(CH₂)₃-OTBS 193, catalyseurs, T. A., 12 h ; b) argon, DCMA, AlMe₃, 0°C à T. A., 24 h ; c) i. argon, DMFa, NaH, 0°C à T. A., 15 min ; ii. BnBr, catalyseurs, T. A., 12 h ; d) MeOH, pTSA, reflux, 12 h. e) argon, THFa, PPh₃, DEAD, 6-Cl-purine, T. A., 12-24-48 h ; f) i. EtOH-eau 9/1, DABCO (cat.), RhCl(PPh₃)₃ (cat.), reflux, 6, 12, 24 ou 48 h ; ii. HCl, T. A. à reflux, 1 à 12 h ou déallylation en conditions micro-ondes : f bis) i. tube scellé, EtOH-eau 9/1, DABCO (cat.), RhCl(PPh₃)₃ (cat.), μw, 120°C (4 atm), 5 min ; ii. DABCO (cat.), RhCl(PPh₃)₃ (cat.), μw, 120°C (4 atm), 5 min puis 150°C (10,5 atm), 5 min ; iii. HCl, μw, 135°C (7 atm), 6 min ; g) i. mélange préalable sous argon, DCMA, tétrazole, 2-diéthylamino-1,3,2-benzodioxaphosphépane 216, T. A., 30 min à 1 h ; ii. T. A., 45 min à 2 h ; iii. mCPBA, -78°C, 3 min, retour T. A., 17 à 72 h ; h) i. MeOH-H₂O[∞] 3/1, H₂, Pd/C et/ou Pd(OH)/C, MR acidifié ou neutre, T. A., 7 à 35 atm, 6 à 24 h ; ii. ultrasons, filtration, évaporation et/ou lyophilisation, reprise H₂O[∞], cyclohexylamine, 0°C à T. A., acétone (large excès).

Les premiers couplages sur la position 2 de l'inositol **191** ont été ainsi réalisés avec le 1-bromo-3-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl-propan-3-ol **193**. Celui-ci a pu être couplé, dans le DMFa, avec un rendement satisfaisant de 62 % et de 20 à 40 % dans le THFa (tableau **8** et schéma **17**).

Le schéma se poursuit par l'ouverture réductrice régiosélective de l'orthoester **198** par le triméthylaluminium sur l'une des deux positions voisines de l'hydroxyle axial 2. La position 5 n'est pas touchée par ce réactif.^{cccxxxvii} La réaction conduit ainsi à deux régiomères **204** et **205**, migrant au même front de rétention (R_f) d'après CCM. La proportion de ces deux composés est établie à 1/1 par RMN du brut réactionnel. Le mélange de produits ouverts **204** et **205** est benzylé. Cette nouvelle protection permet notamment d'obtenir le régiomère **206** bloqué par un groupement benzyle sur ses alcools 3 et 6, afin de pouvoir discriminer les positions 1, 4 et 5 qui pourront être phosphorylées. Les deux produits dibenzylés **206** et **207** restent inséparables par chromatographie. Les deux triols régiomères **208** et **209**, obtenus par l'hydrolyse au *p*TSA de l'acétal résiduel et du groupement silylé, sont séparables sur colonne chromatographique. Nous obtiendrons ainsi deux séries de dérivés de l'Ins, l'une donnant accès aux produits cibles, l'autre série, comme la plupart des produits secondaires synthétisés, servira de modèle pour les réactions suivantes.

Nous avons réalisé la suite des réactions sur les deux séries de composés, ainsi qu'en alternant l'enchaînement des deux étapes suivantes : couplage de la 6-chloro-purine par la réaction de Mitsunobu et réaction de déallylation.

L'étape suivante est la triple phosphorylation des triols **212** et **215** (20 à 280 mg). Le 2-diéthylamino-1,3,2-benzodioxaphosphépane **216**,²⁸⁷ réactif en P^{III} , a été utilisé dans un premier temps pour réaliser les phosphorylations (5 essais en tout).^{cccxxxviii} Comme nous l'avons vu précédemment (partie 2.21.), cette étape se déroule en deux temps : phosphitylation catalysée par le tétrazole, puis oxydation du phosphite en phosphate par le *m*CPBA.

Lors de resynthèses ultérieures, la phosphorylation a été tentée avec le TBPP **136** et NaH dans le DMFa, sur ces deux composés **212** et **215** (5 essais). Le composé en série (1,5,6) P_3 **220** a pu être isolé, lors d'un seul essai, avec un rendement de 8 %.

La dernière étape consiste en une hydrogénéolyse catalytique qui permet la déprotection des phosphates et la débenzylation du cycle inositol, cette étape induit également l'hydrogénéolyse du chlore présent sur la position 6 de la purine (imino-chlorure).^{cccxxxix} Les hydrogénéolyses effectuées sur les différents produits phosphorylés (composés **217**, **218** et **220**, 5 essais) n'ont pas permis de recueillir les produits déprotégés avec une pureté suffisante (déterminée par RMN).

4.5. Les réactions de Mitsunobu et de déallylation

4.5.1. Mécanismes

• Le mécanisme de la réaction de Mitsunobu est de type S_N2 et emploie classiquement, en plus des deux réactifs à coupler, de la triphénylphosphine (PPh_3) et du diéthylazodicarboxylate (DEAD) qui forment l'espèce zwitterionique réactante (schéma 18).^{335, 336} Schématiquement, la réaction peut être résumée comme une déshydratation intermoléculaire entre un alcool et un proton labile des deux réactifs à coupler. Dans nos synthèses, la purine est sélectivement couplée sur l'alcool primaire à l'extrémité de l'espaceur, aucun couplage n'a été observé sur un des alcools secondaires du cycle inositol.

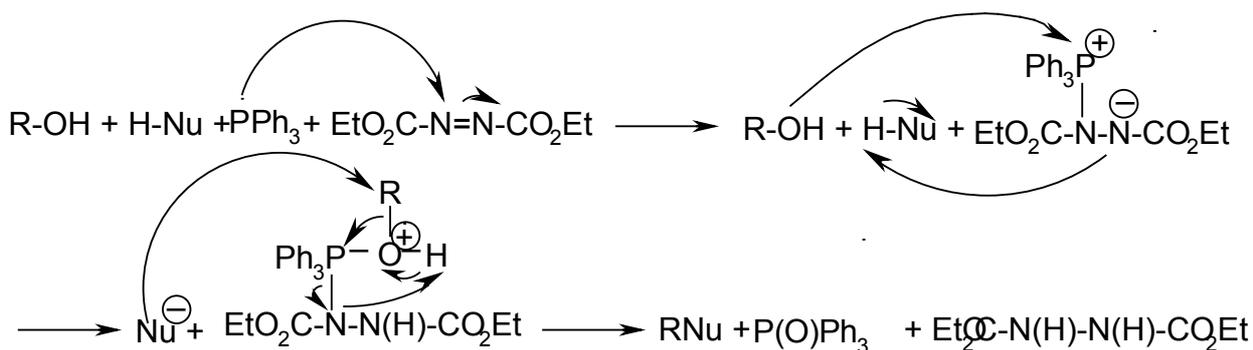


Schéma 18 : mécanisme de la réaction de Mitsunobu.

La régiosélectivité $N-9$ vs $N-7$ de la purine et de ses dérivés vis-à-vis de l'alkylation par S_N a déjà été mentionnée (partie 3.1.).³⁰⁶ La régiosélectivité de la substitution $N-9/N-7$ semble la même *via* la réaction de Mitsunobu. Les dérivés de purine alkylés en $N-7$ par cette méthode sont moins fréquemment décrits dans la littérature. Nous ne les avons observés que dans certains cas et dans des quantités très faibles. Nous affranchissant des inconvénients du DMF, puisque cette réaction de Mitsunobu a recours presque systématiquement au THF, le traitement avant colonne est négligeable. Par contre la chromatographie est ardue, notamment dans le cas de nos produits, qui ont, pour la plupart, des R_f très proches entre eux et de la triphénylphosphine.

• La réaction de déallylation (schéma 19) faisant appel au catalyseur de Wilkinson (chlorure de rhodium tris(triphénylphosphine), $RhCl(PPh_3)_3$)^{cccxi} et au diazabicyclo[2.2.2]octane (DABCO), est publiée par E. J. Corey et J. W. Suggs en 1973.^{cccxi} Le dérivé du rhodium (I) permet l'isomérisation de la liaison π de l'allyle, elle peut être suivie par CCM. L'éther propénylique ainsi formé est labile en milieu fortement acide.

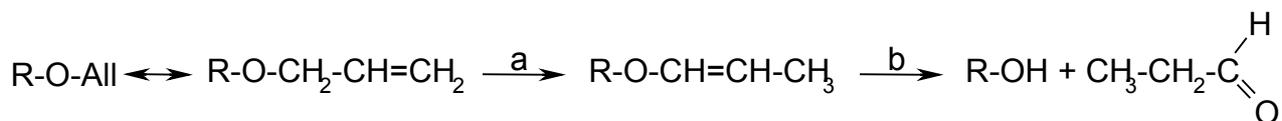


Schéma 19 : isomérisation de l'allyle par un dérivé du rhodium (I) suivie de l'hydrolyse acide déprotégeant l'alcool (d'après Corey et al.).³⁴¹

Protocole d'origine : a) EtOH-eau 9/1, DABCO (cat.), $RhCl(PPh_3)_3$ (cat.), reflux, 3 h ; b) HCl 1 N (pH 2), T. A., quelques min.

4.5.2. Mises en pratique

Les quatre réactions de Mitsunobu et les quatre réactions de déallylation du schéma général (schéma **17**) ont été réalisées entre 3 et 10 fois chacune avec des rendements variant de néant à quantitatif (meilleur rendement indiqué). La reproductibilité est assez ardue, seuls des ajouts de réactifs permettent d'augmenter substantiellement le rendement, au détriment de la purification du MR rendue plus difficile. L'ordre de ces deux étapes (réaction de Mitsunobu et réaction de déallylation) n'influe pas spécialement sur le rendement, par contre cet ordre influe sur le R_f des produits intermédiaires formés (dérivés **210**, **211**, **213** et **214**), permettant une modulation des conditions d'éluion et ainsi d'optimiser, dans les cas favorables, la purification par chromatographie.

Ainsi, après réaction, nous avons noté la disparition du produit de départ sur CCM et la formation d'un ou deux produits en plus des autres réactifs modifiés. Malheureusement, les difficultés de séparation par colonne chromatographique ne permirent pas toujours d'isoler quantitativement le produit désiré. Il est très difficile d'éliminer la triphénylphosphine (également présente dans le catalyseur de Wilkinson) utilisée dans ces deux réactions, que ce soit par cristallisation ou par chromatographie. En effet, aucune tentative de recristallisation n'a abouti à une quelconque séparation de PPh_3 . Par ailleurs, la plupart des dérivés de l'inositol (engagés en début de réaction, comme obtenus en fin de réaction) ont des R_f très proches de celui de PPh_3 , quelque soit le mélange de solvants éluants.

La déallylation semble extrêmement sensible à la pureté du catalyseur. Une amélioration notable du rendement (10 % à quantitatif) a pu être constatée en passant d'un lot de catalyseur pur à 98 % à un lot pur à 99,99 %.

Les conditions micro-ondes (i. tube scellé, EtOH-eau 9/1, DABCO (cat.), $RhCl(PPh_3)_3$ (cat.), μw , 120°C (4 atm), 5 min ; ii. DABCO (cat.), $RhCl(PPh_3)_3$ (cat.), μw , 120°C (4 atm), 5 min puis 150°C (10,5 atm), 5 min ; iii. HCl, μw , 135°C (7 atm), 6 min) sont également testées pour la déallylation. Il n'y a pas de changement particulier dans l'aspect du MR ou le rendement, un deuxième ajout de réactifs est également nécessaire pour compléter l'étape d'isomérisation.

La réaction de déallylation s'est révélée parfois problématique dans la mesure où un produit secondaire est formé de manière importante. Il s'agit de l'analogue possédant l'allyle hydrogéné en propyle qui possède le même R_f que le produit initial. Ce produit est formé aussi bien dans les conditions employant un reflux qu'avec la technique micro-ondes (jusqu'à 50 %). Ces composés secondaires sont inadaptés à la poursuite de la synthèse.

L'étape d'isomérisation a été suivie sur plaque de CCM pour le réactif modèle **221**. Le produit d'hydrolyse est contrôlé à la référence (disponible au laboratoire) par point mixte sur CCM. Les conditions sont résumées dans le tableau **9**. La méthode utilisant le $tBuOK$ dans le DMSO a donné 100 % d'isomérisation,^{cccxlii} de même que le catalyseur de Wilkinson de pureté supérieure (99,99 %). Le lot de ce catalyseur à 98 % de pureté ne semble pas fournir de résultat intéressant, comme nous l'avons constaté avec nos dérivés du schéma **17**. Ce lot est donc abandonné.

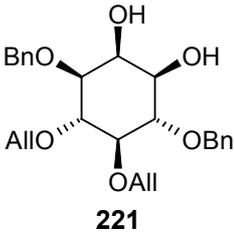
 221	Réactifs permettant l'isomérisation, solvants	T°, durée	Isomérisation suivie sur CCM
50 mg (113 μmol)	<i>t</i> BuOK (4 équ.), DMSOa	80°C, 30 min	100 %
35 mg (79 μmol)	RhCl(PPh ₃) ₃ (98 %) 0,16 équ., DABCO (0,45 équ.), EtOH-H ₂ O 9/1	80°C, 7 h	env. 10 %
35 mg (79 μmol)	RhCl(PPh ₃) ₃ (98 %) 0,24 équ., DABCO (0,67 équ.), EtOH-H ₂ O 9/1	80°C, 7 h	env. 10 %
35 mg (79 μmol)	RhCl(PPh ₃) ₃ (98 %) 0,32 équ., DABCO (0,45 équ.), EtOH-H ₂ O 9/1	80°C, 7 h	env. 10 %
35 mg (79 μmol)	RhCl(PPh ₃) ₃ (98 %) 0,40 équ., DABCO (1,12 équ.), EtOH-H ₂ O 9/1	80°C, 7 h	env. 10 %
55 mg (124 μmol)	RhCl(PPh ₃) ₃ (99,99 %) 0,28 équ., DABCO (0,8 équ.), EtOH-H ₂ O 9/1	80°C, 1,5 h	100 %

Tableau 9 : variation des conditions réactionnelles dans l'isomérisation du groupement allyle.

4.6. Synthèse et purification des produits phosphorylés

La purification du produit phosphorylé protégé doit être optimale, puisque l'étape suivante de déprotection finale par hydrogénolyse catalytique ne permet pas de purifier le tris(phosphate) final par les méthodes chromatographiques classiques. La purification est ainsi généralement effectuée au moyen d'une plaque préparative, suivie d'un ou de plusieurs passages sur l'HPLC semi-préparative (décrite dans la partie expérimentale), en réalisant des dépôts de 10 à 20 mg. L'élution est réalisée par un gradient de MeOH et d'eau additionnée de 0,1 % d'acide trifluoroacétique (TFA). Après ces différentes purifications, les produits phosphorylés protégés sont obtenus avec un rendement allant jusqu'à 25 % pour le produit en (1,4,5)P₃ **217** et 34 % pour le produit en (1,5,6)P₃ **218** (après premier passage HPLC en une vingtaine de dépôts). Néanmoins, la reproductibilité de ces réactions n'est pas satisfaisante (aucun isolement de ces produits dans certains cas).

Différentes conditions d'hydrogénolyse (pression plus ou moins élevée, pH variable), ainsi que différents catalyseurs (Pd/C 10 %, Pd(OH)/C, dont les quantités ont été fortement augmentées) ont été essayés. Les tentatives de salification successives au moyen de cyclohexylamine (schéma **17**) et de chromatographie échangeuse d'ions n'ont pas, ou à peine, amélioré la pureté des tris(phosphates) **104** et **219** (putativement sous la forme de sels de penta ou d'hexacyclohexylammonium).

4.7. Élaboration des analogues avec l'espaceur butylique

En parallèle de la synthèse déjà bien avancée des analogues possédant l'espaceur propylique, nous avons commencé la synthèse des dérivés possédant l'espaceur à quatre chaînons méthylènes (schéma 20), auxquels nous ont conduit les modélisations moléculaires réalisées à partir de la structure RX du site de liaison de l'InsP₃R1 cristallisé.

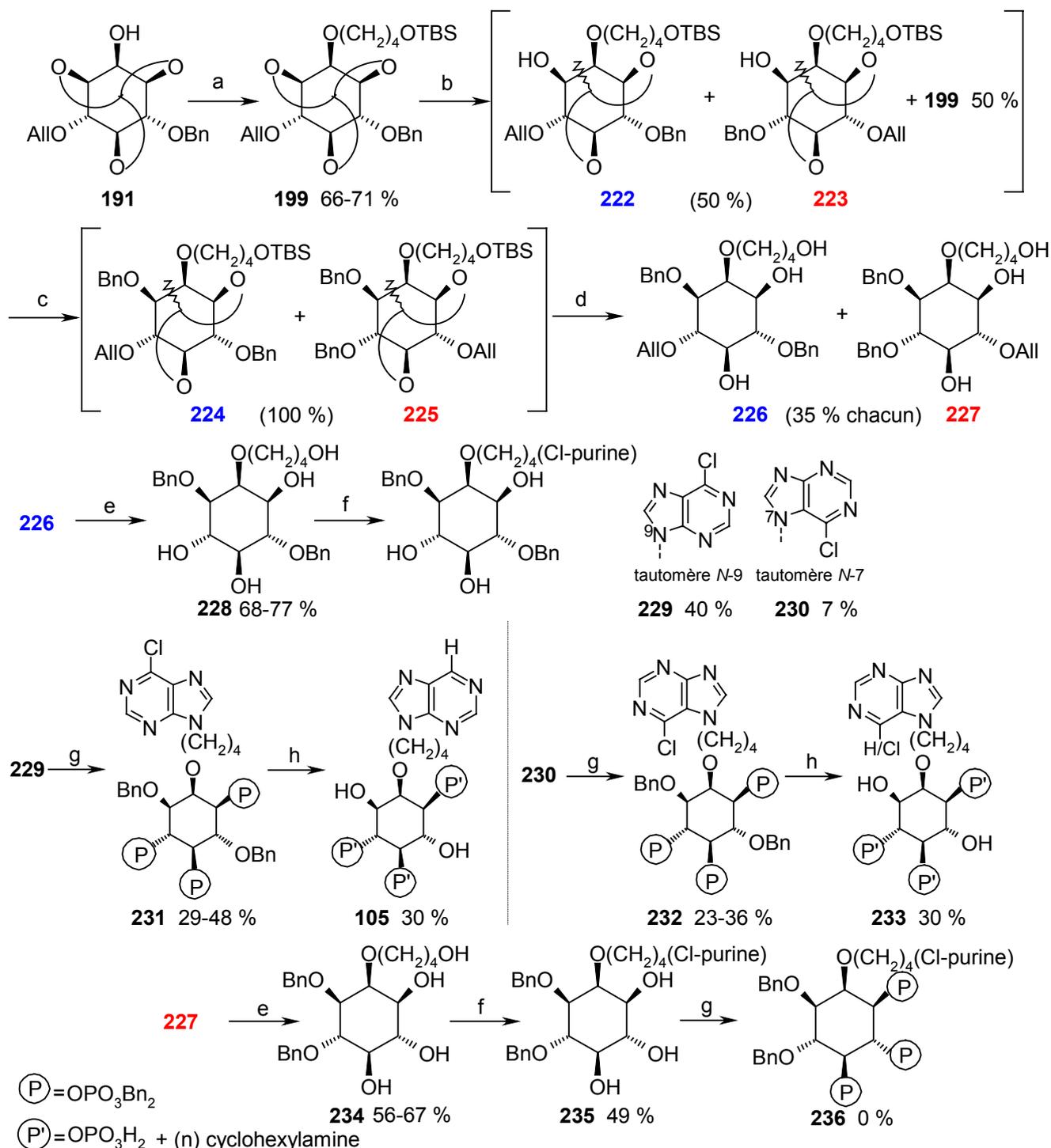


Schéma 20 : synthèse des analogues avec l'espaceur butylique.

[] = inséparables ; a) i. argon, DMFa, NaH, 0°C à T. A., 15 min ; ii. TsO-(CH₂)₄-OTBS 196, catalyseurs, 0°C, 2 h, puis T. A., 48 h ; b) argon, DCMa, AlMe₃, 0°C à T. A., 24 h. c) i. argon, DMFa, NaH, 0°C à T. A., 15 min ; ii. BnBr, catalyseurs, T. A., 12 h ; d) MeOH, pTSA, reflux, 12 h ; e) argon, THFa, PPh₃, DEAD, 6-Cl-purine, T. A., 12-48 h ; f) i. EtOH-eau 9/1, DABCO (cat.), RhCl(PPh₃)₃ (cat.), reflux, 12 à 48 h ; ii. HCl 37 % (1 mL), T. A., 30 min à 1 h ; ou déallylation en conditions micro-ondes : f bis) i. tube scellé, EtOH-eau 9/1, DABCO (cat.), RhCl(PPh₃)₃ (cat.), μw, 120°C (4 atm), 5 min ; ii. HCl, μw, 120°C, 5 min ; g) i. argon, DMFa, NaH, 0°C à T. A., 15 min ; ii. TBPP 136, T. A., 24 h ; h) i. tube scellé, MeOH, cyclohexène, Pd(OH)₂/C, μw, 120°C (7 atm), 5 min ; ii. ultrasons, filtration, évaporation et/ou lyophilisation, reprise H₂O[∞], cyclohexylamine, 0°C à T. A., acétone (large excès).

La voie de synthèse se déroule de la même manière que pour les analogues possédant l'espaceur propylique (schéma 17). Ainsi, nous ne mentionnerons que les différences significatives qui ont été observées. Après l'introduction de la chaîne en position 2 (composé 199), le schéma se poursuit à nouveau par l'ouverture sélective de l'orthoester sur l'une des deux positions voisines de l'hydroxyle axial 2.³³⁷ Cette fois-ci nous obtenons un mélange 1/1 de produits ouverts 222 et 223 en plus du réactif initial de R_f très proche (inositol 199, jusqu'à 50 % dans le MR, d'après RMN). La réaction ne semble pas pouvoir être complétée par une addition modérée du réactif AlMe₃. Un large ajout de réactif ne peut être envisagé, au risque de former des produits secondaires (doubles ouvertures de l'orthoester). Par ailleurs, cette réaction étant menée sur des quantités allant de 5 à 7 g env., la séparation délicate du réactif 199 est abandonnée. Nous choisissons de poursuivre la synthèse sur le mélange de ces trois composés, toutefois débarrassé des autres produits de R_f supérieur et inférieur. La suite du schéma est identique à celle du schéma 17, pour les analogues possédant l'espaceur propylique, nous obtenons également des rendements voisins.

Nous avons également réalisé la suite des réactions sur les deux séries de composés, en commençant systématiquement par la déallylation. Nous obtenons ainsi, lors de la réaction de Mitsunobu suivante, des produits plus polaires, qui sont plus facilement séparables de la triphénylphosphine employée. Nous observons le produit secondaire 230 dans le cas de la série (3,6)dibenzylée lors de la réaction de Mitsunobu. Il s'agit du tautomère de la purine, celle-ci se retrouve ainsi alkylée en N-7 dans une moindre proportion. On observe effectivement une plus forte polarité de l'adduit en N-7 ainsi que les déplacements chimiques attendus par RMN-¹H et ¹³C par comparaison avec le produit majoritaire et les simulations des spectres ¹³C.

La réaction de déallylation nous a encore fourni du produit secondaire, hydrogéné sur l'allyle (22 à 28 % en série 3,6-dibenzylée et 24 à 35 % en série 3,4-dibenzylée). La déallylation, en conditions adaptées pour le micro-ondes (750 mg de composé 226 et 300 mg de composé 227), obtient à peu près le même rendement que la réaction à reflux.

La phosphorylation des triols 229, 230 et 234 (20 à 280 mg) est uniquement réalisée au moyen de TBPP 136 (avec la base NaH et dans le DMFa). À la première purification, les produits phosphorylés 231 et 232 sont obtenus avec un rendement de 48 % et de 36 % respectivement. La purification par HPLC induit une baisse de près d'un tiers de la masse récupérée (soit au final 29 et 23 % de rendement).

La méthode d'hydrogénolyse, sous atmosphère d'hydrogène à l'aide d'un catalyseur à base de palladium, n'a pas non plus fourni de bons résultats. Nous avons alors utilisé le cyclohexène comme espèce donneuse d'hydrogène et un chauffage par les micro-ondes pour faciliter la réaction.²⁷⁷ Les recristallisations au moyen de cyclohexylamine, puis d'acétone, ont dans le meilleur des cas, fourni les composés 105 et 233 sous la forme de pentacyclohexylammonium avec un rendement de 30 % (respectivement, ρ global de 0,25 % et de 0,03 % à partir de 191). La réaction d'hydrogénolyse de l'imino-chlorure du composé 232 est incomplète à 50 %. La purification ne pouvant pas être optimisée au laboratoire, il nous a paru néanmoins intéressant d'en tester les potentialités.

4.8. Réactions modèles sur un système simplifié

Les premières réactions d'hydrogénolyse en conditions classiques (H_2 , Pd/C 10%, P° atm, T. A.) sur les analogues en série purinylée (avec les espaceurs propylique et butylique), ayant échoué, nous avons été incités à reproduire sur un composé modèle ces conditions réactionnelles. À cet effet, une purine substituée par un ω -hydroxyalkyle (composé **237**) nous a semblé être un bon réactif modèle (schéma **21**, meilleurs rendements indiqués). Nous avons ainsi obtenu des résultats intéressants concernant les étapes de phosphorylation par le TBPP **136** et l'hydrogénolyse pallado-catalysée. Ces résultats sont bien plus favorables dans ce système simplifié, probablement de ce fait même, un seul phosphate devant être couplé et, *in fine*, seulement deux et non plus huit benzyles étant hydrogénolysés. Nous avons en outre réalisé des essais d'amination de la 6-chloro-purine, par de l'ammoniac liquide à $0^\circ C$, en vue de nouvelles séries d'analogues purinylés.³³⁹ Notons que cette molécule modèle permettrait d'entreprendre des synthèses où la chaîne latérale serait fixée sur le phosphate en position 1.

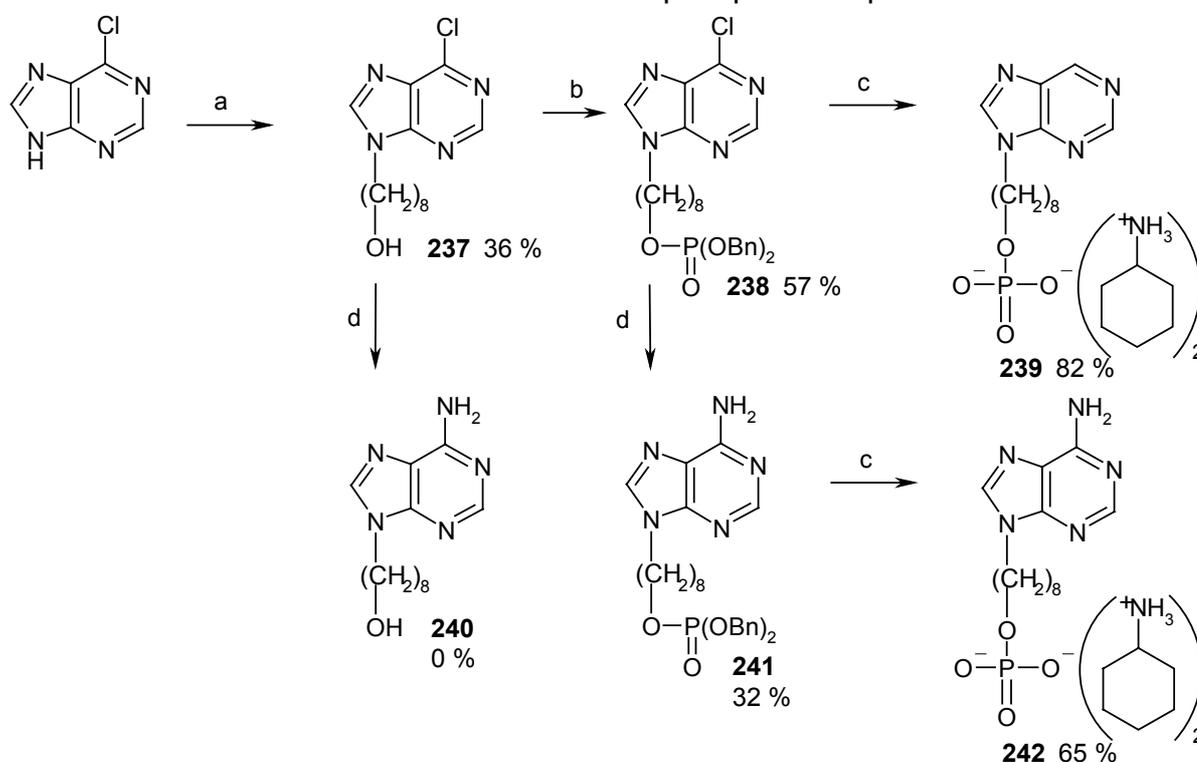


Schéma 21 : réactions modèles des dernières étapes de nos schémas de synthèse et essais d'amination sur un système simplifié.

a) argon, THFa, PPh_3 , DEAD, octan-1,8-diol, T. A., 24 h ; b) i. argon, DMFa, NaH, $0^\circ C$, 15 min, T. A., 10 min ; ii. TBPP, T. A., 6 h ; c) i. MeOH/ H_2O^∞ /THF, H_2 , Pd/C 10%, P° atm, T. A., 2 h ; ii. ultrasons, filtration, cyclohexylamine, évaporation ; iii. acétone/ H_2O^∞ ; d) i. tube scellé, EtOH, NH_3 à $0^\circ C$; ii. $110^\circ C$, 12 h.

4.9. Synthèse sur les dérivés possédant d'autres espaceurs

Les réactions conduites sur les dérivés couplés à l'espaceur buténylique **202** et l'espaceur pentylique **203** n'ont pas pu être poursuivies pour différentes raisons matérielles sur plus de deux étapes (ouverture de l'orthoester par $AlMe_3$ et benzylation). Nous n'avons pas de résultats suffisamment originaux pour les développer plus ici. Les protocoles en rapport sont mentionnés dans la partie expérimentale.

5. Stratégie de synthèse : route des antagonistes

5.1. Discussion du choix de la structure

Un concept, développé par E. J. Äriens, propose de greffer une partie grasse et volumineuse à un ligand de caractère agoniste afin d'obtenir, éventuellement, un composé antagoniste *via* des interactions supplémentaires avec une poche hydrophobe fréquemment rencontrée chez les récepteurs.^{cccxliv} De nombreux antagonistes des RCPG possèdent ainsi un groupement benzhydryle commun, ce qui a été également vérifié dans de précédents travaux au laboratoire concernant le récepteur du GABA.^{cccxliv, cccxlv} Dans ce travail, une chaîne comprenant à son extrémité le groupement benzhydryle a été fixée en 2 sur l'inositol, afin d'obtenir d'autres types d'interactions avec le récepteur et *in fine* renverser le caractère agoniste des analogues, notamment ceux comprenant la base purique, en empêchant, en particulier, la possibilité de former des liaisons hydrogènes. D'autre part, l'occupation d'une autre région du site de liaison, indiquée par la modélisation moléculaire (partie 1.2.) pourrait éventuellement empêcher le repliement de la charnière et ainsi bloquer l'ouverture du canal calcique.

5.2. Méthodes de synthèse employées

Le 4-bromo 1,1-diphénylbut-1-ène **243**, récemment resynthétisé au laboratoire par le Dr Victor N'Goka,³⁴⁴ réagit par élimination (produit diénique **244**) dans la réaction de couplage avec l'intermédiaire **191** (schéma **22**). Afin d'éliminer cette réaction parasite, on désactive la chaîne buténylique par hydrogénation de l'insaturation à l'aide de Nickel de Raney. Le 4-bromo 1,1-diphénylbutane **245** est ainsi obtenu à plus de 90 %.³⁴⁴ Le produit couplé **246** peut être maintenant formé dans les conditions habituelles de la SN. Le schéma de synthèse reprend la séquence déjà évoquée plus haut, après introduction de la chaîne benzhydrylée sur la position 2 (composé **246**) ; ouverture régiosélective de l'orthoester et benzylation de la position libérée. On choisit de faire la déallylation suivie de l'hydrolyse de l'acétal *in situ*. Cette double réaction théoriquement pratique à conduire, s'est révélée délicate à purifier (contamination par la triphénylphosphine). Le régiomère apolaire est pollué par des traces d'un autre produit. La phosphorylation des composés **251** et **252** (39 à 50 mg) au moyen de TBPP **136** (avec du NaH dans le DMFa) n'a hélas pas conduit aux tris(phosphates) attendus **253** et **254**, malgré nos efforts de purification et les analyses RMN sur l'ensemble des fractions disponibles (phases aqueuses, organiques, fractions d'élution).

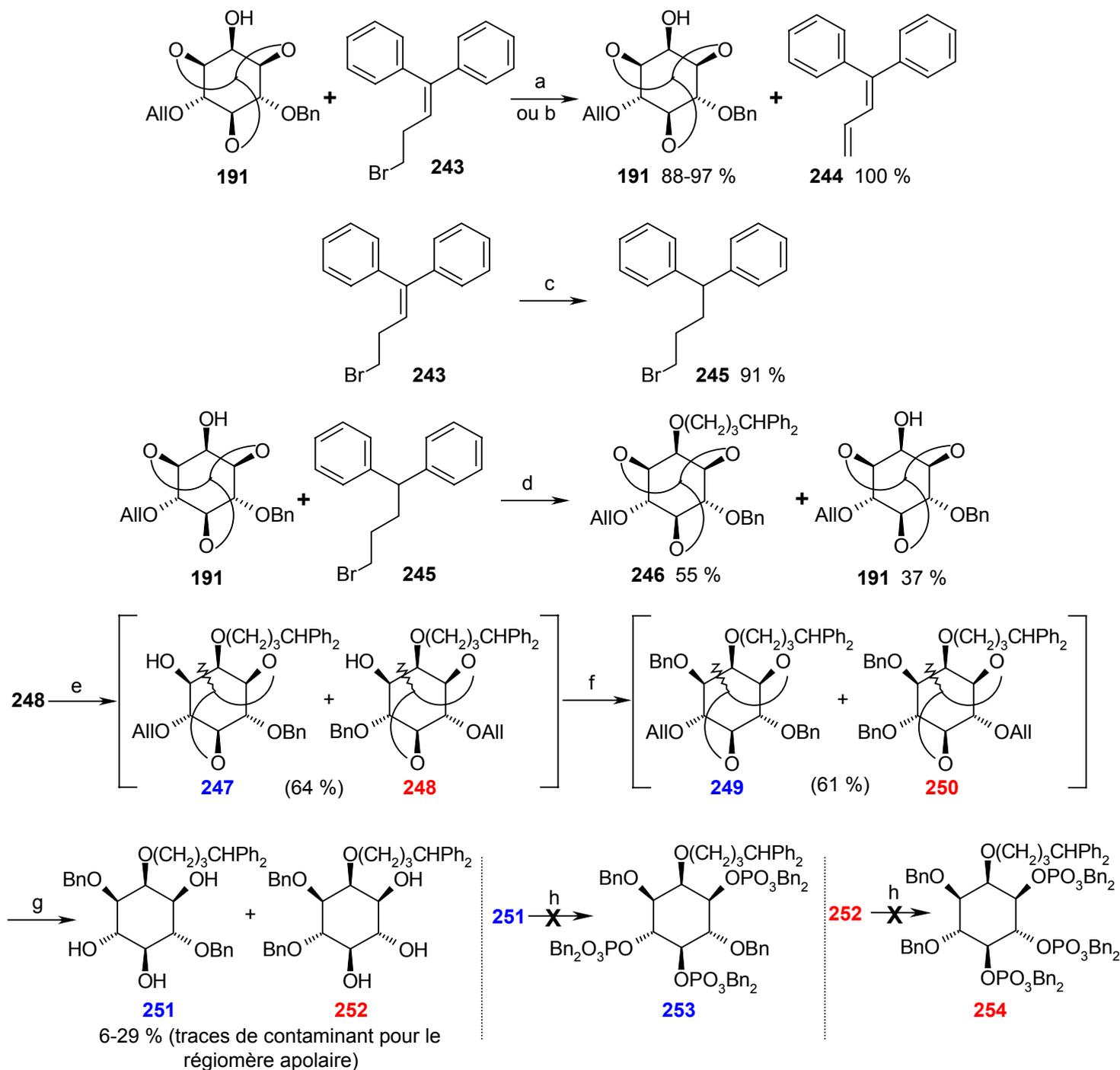


Schéma 22 : synthèse des dérivés benzhydrylés.

[] = inséparables ; a) i. argon, THFa, NaH, 0°C, 5 min ; ii. composé 243, catalyseurs, T. A., 48 h ;
 ou b) i. argon, DMFa, *t*BuOK, 0°C, 5 min ; ii. 243, T. A., 14 h ; iii. 80°C, 4 h ; c) H₂, Ni Raney, 25 atm,
 T. A., 16 h ; d) i. argon, DMFa, NaH, 0°C, 2 min, T. A., 20 min ; ii. composé 245, catalyseurs,
 0°C à T. A., 48 h ; e) argon, DCMA, AlMe₃, 0°C à T. A., 24 h ; f) i. argon, DMFa, NaH, 0°C à T. A.,
 15 min ; ii. BnBr, catalyseurs, T. A., 12 h ; g) i. EtOH-eau 9/1, DABCO (cat.), RhCl(PPh₃)₃ (cat.), reflux,
 12 à 48 h ; ii. HCl 37 % (1 mL), T. A., 30 min à 1 h ; h) i. argon, DMFa, NaH, 0°C à T. A., 15 min ;
 ii. TBPP 136, T. A., 24 h.

6. Tentatives de résolution des composés racémiques

6.1. Stratégies et méthodes utilisables

La résolution optique est généralement envisagée dans le cas d'une activité exceptionnelle après tests pharmacologiques du composé racémique. Dans ce travail, les difficultés de synthèse ne nous ont pas permis d'obtenir rapidement des résultats pharmacologiques. Par contre, une co-cristallisation envisagée de nos dérivés dans le site de liaison de l'InsP₃R, en collaboration avec le Pr Mitsu Ikura,⁹⁵ a nécessité les mises au point supplémentaires qui font l'objet de cette partie.

Deux approches stratégiques sont à considérer afin de déterminer, dans une séquence synthétique, le meilleur moment où cette étape de résolution optique intervient. Une résolution du produit racémique peut être réalisée soit en fin du schéma réactionnel, soit le plus en amont possible, p. e. avant le couplage des espaceurs qui introduit de la diversité à partir de l'intermédiaire-clé **191**. Cette dernière méthode nous obligerait à mener une synthèse sur chaque énantiomère ou de dériver les composés intermédiaires vers des produits de pouvoirs rotatoires connus, puis de poursuivre sur le bon énantiomère. Dans notre synthèse de dérivés de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**), nous pouvons nous affranchir de la synthèse en série (3,5,6)P₃, généralement inactive (partie 2.2.2.).

Au laboratoire, la méthode la plus fréquemment utilisée a recours principalement aux dérivés optiquement actifs du camphre qui permettent d'estérifier les dérivés de l'inositol racémiques en une paire de diastéréomères séparables par cristallisation et/ou chromatographie. Nous avons bénéficié également des conseils du Dr Martine Schmitt qui emploie des systèmes enzymatiques à des fins de résolution de racémiques.^{cccxlvi}

6.2. Esters synthétisés

Nous avons synthétisé différents dérivés de l'inositol (composés **255** à **257**, fig. 70) en ayant recours à des estérifications par l'anhydride chloroacétique ainsi que deux acides optiquement actifs dérivés du camphre (chlorure de l'acide camphanique et chlorure de l'acide camphorsulfonique). Le mélange d'esters **257** est obtenu avec un rendement de 81 % et aucune séparation des diastéréomères ne semble réalisable (même R_f).

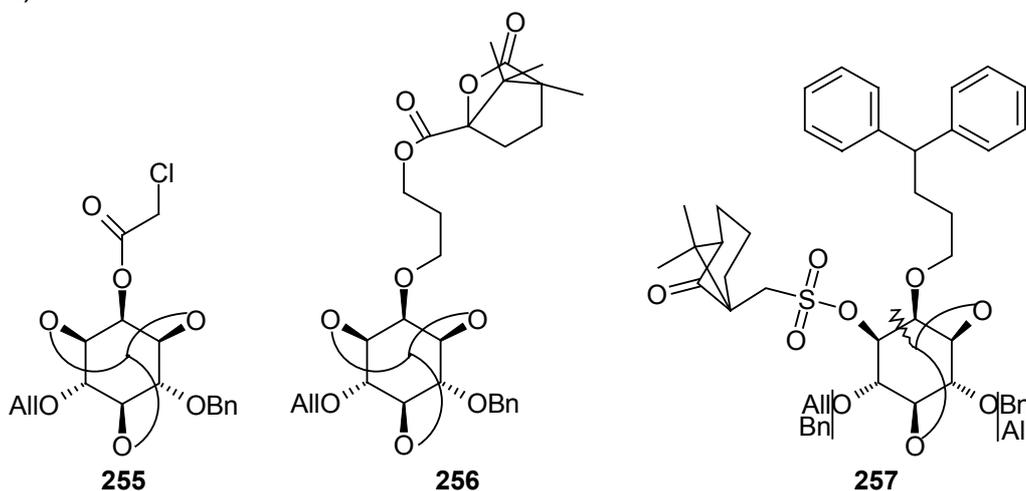


Figure 70 : esters synthétisés permettant d'aboutir à une résolution optique d'inositols racémiques.

6.3. Essais réalisés

Nos premiers essais consistaient à générer *in situ* stéréosélectivement l'ester acétique sur l'hydroxyle 2 du composé **191** (intermédiaire-clé de couplage dans la voie de l'orthoester, 50 mg env.) à l'aide d'acétate de vinyle, la réaction d'hydrolyse étant réversible dans des systèmes non aqueux.³⁴⁶ Les réactions sont conduites à 37°C avec diverses estérases qui sont théoriquement sélectives d'un seul énantiomère (lipases de *Pseudomonas fluorescens*, LPS Amono, Novozymes du Brésil, PPL (lipase pancréatique du porc)). Nous n'avons pas noté, sur CCM, la présence de nouveaux produits au cours de la réaction, malgré différentes variations de T° (de T. A. à 40°C), l'usage de plusieurs solvants (DCM, éther, THF) et une prolongation sur plusieurs jours. Cela pourrait être lié à un voisinage encombré de cet alcool secondaire.

Ces enzymes et ces différentes conditions réactionnelles de T° , de solvant et de durée, ont été également testées sur les esters présynthétisés (composés **255** à **257**, fig. 70). Malheureusement là non plus, les enzymes ne se sont pas montrées efficaces.

CHAPITRE III : PARTIE PHARMACOLOGIQUE

1. Matériel et méthode

Les tests pharmacologiques ont été réalisés par l'équipe du Pr Gaétan Guillemette, à Sherbrooke, au Québec (Canada). Ces tests sont effectués vs D-Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

Pour les analogues racémiques de l'Ins(1,4,5)P₃ **105** et **233**, l'affinité pour l'InsP₃R a été déterminée par des expériences de liaison spécifique sur des microsomes de cortex adrénalien de bœuf (tests de liaison spécifique).

Ces microsomes sont obtenus par une double centrifugation, la première est effectuée à 500 g pendant 5 min (culot éliminé) et la deuxième à 35000 g pendant 20 min. On remet en suspension la fraction sédimentée lors de cette seconde centrifugation : un milligramme de ces protéines est incubé dans un milieu contenant 25 mM Tris / HCl (pH 8,5), 100 mM KCl, 20 mM NaCl, 5 mM KH₂PO₄, 1 mM EDTA et 0,1 % d'albumine sérique de bœuf.

Les valeurs de concentration de ligand non marqué qui inhibe 50 % de la liaison spécifique du radioligand [³H]-Ins(1,4,5)P₃ (CI₅₀) obtenues pour les composés **105** et **233** sont comparées à celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) retesté dans les mêmes conditions, afin d'avoir une valeur relative plus fiable, sachant que les valeurs mentionnées d'une publication à l'autre sont parfois assez éloignées pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) même. Ces valeurs sont obtenues à partir des mesures de radioactivité, exprimées en coups par minute (cpm) et réalisées au moyen d'un spectromètre à scintillation liquide. Les incubations des ligands (composés **105**, **233** et Ins(1,4,5)P₃ (**3**) froid) à différentes concentrations et du radioligand Ins(1,4,5)P₃ tritié ou [³H]-Ins(1,4,5)P₃ (10000 cpm, 1 nM) sont effectuées à 0°C pendant 30 min. La liaison non spécifique est déterminée en présence de 1 µM d'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

Les tests d'activité des molécules **105** et **233** sont réalisés par des mesures de libération de calcium du RE de cellules pancréatiques RINm5F perméabilisées. Ces mesures se font en présence de la sonde chimique Fura-2, sensible au Ca²⁺, par comparaison de la fluorescence émise à 340 nm et à 380 nm. La sonde libre émet la plus forte fluorescence à une longueur d'onde de 380 nm, alors que la sonde liée par le Ca²⁺ émet le plus intensément à 340 nm. Le rapport des intensités de fluorescence mesurées à ces longueurs d'onde, F₃₄₀/F₃₈₀, résulte en un pic proportionnel au taux de calcium libéré qui a été chélaté par la sonde. L'appareil utilisé est un spectrofluoromètre Hitachi F-2000.

2. Propriétés pharmacologiques des analogues de l'Ins(1,4,5)P₃

2.1. Résultats

Les affinités et les activités des composés chimériques de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) et des adénophostines A (**74**) et B (**75**), possédant la chaîne à quatre maillons méthylènes terminée par la purine reliée *via* N-9 (**105**) ou N-7 (**233**) ont été ainsi évaluées pour l'InsP₃R. Ces deux composés sont des agonistes entiers, qui déplacent le [³H]-Ins(1,4,5)P₃ à une concentration inférieure au μM. Chacun des points sur les courbes est le résultat de six mesures (fig. **71** à **74**).

L'affinité du dérivé racémique **105** est de 40 nM vs 10 nM pour l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) (fig. **71**). Il obtient une CE₅₀ de 0,8 μM, soit une activité 2,7 fois plus faible que celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) à 0,3 μM (fig. **72**). En doublant les valeurs obtenues pour notre analogue **105**, sur la base de l'inactivité de l'énantiomère en série (3,5,6)P₃, nous aurions un composé presque aussi affiné et actif que l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**).

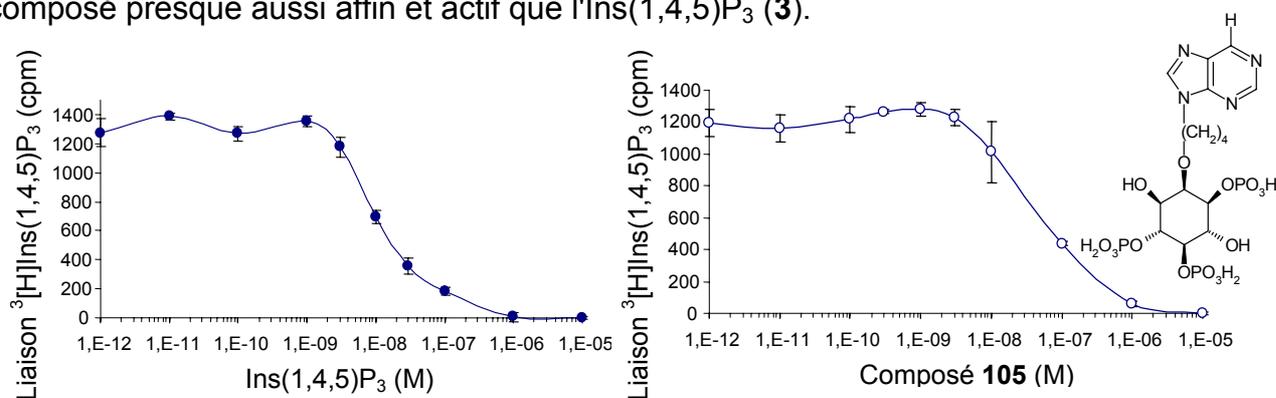


Figure 71 : courbes semi-logarithmiques, représentant la liaison spécifique à l'InsP₃R de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) à gauche et, à droite, celle du composé **105**.

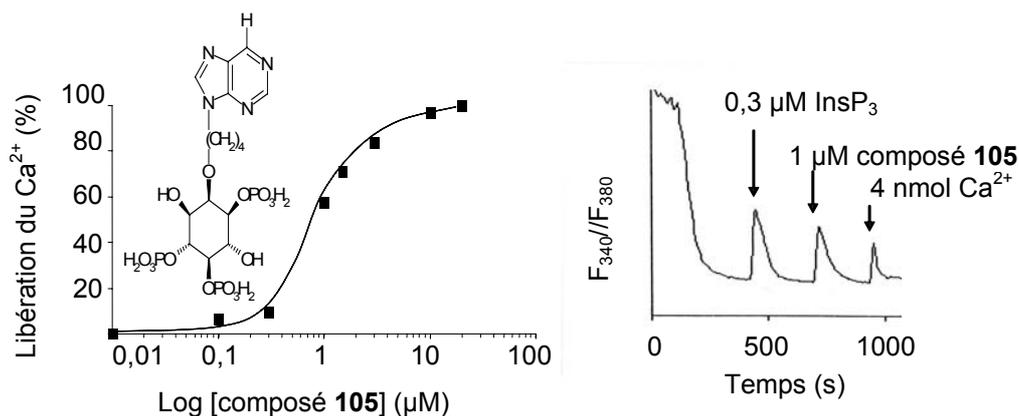


Figure 72 : à gauche, courbe de libération dose-dépendante du Ca²⁺ par le composé **105** obtenue par des mesures de fluorescence (exemple à droite).

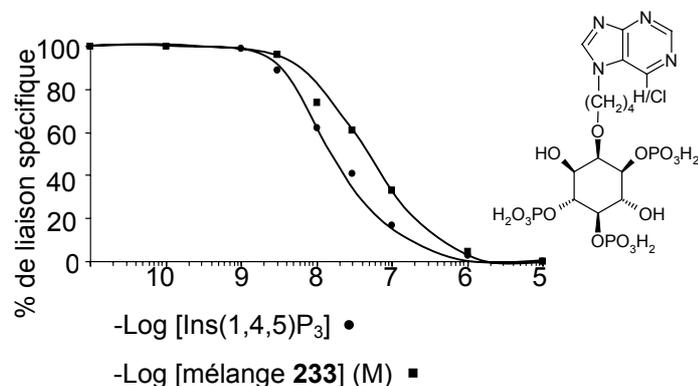


Figure 73 : courbes semi-logarithmiques, représentant la liaison spécifique à l'InsP₃R de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) et celle du mélange 233.

Le mélange **233** a été testé afin de nous orienter sur l'intérêt de ce type de dérivés par rapport à la forme comprenant la purine liée *via* N-9. L'affinité du mélange **233** est de 15 nM, celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (3) étant, dans cette expérience, de 10,5 nM (fig. 73). Nous aurions une affinité comparable, voire supérieure dans la série (1,4,5)P₃ optiquement active, à celle de l'Ins(1,4,5)P₃ (3). Son activité est de 0,6 μM, alors que l'Ins(1,4,5)P₃ (3), dans les mêmes conditions, obtient une CE₅₀ de 0,4 μM. Au moins un des dérivés en série (1,4,5)P₃ dans le mélange **233** pourrait être un peu plus puissant que l'Ins(1,4,5)P₃ (3) (fig. 74). Malheureusement nous ne pouvons pas attribuer à l'une ou l'autre forme de purine (chlorée ou non) une influence plus précise, ne disposant pas de moyen de purification adéquat.

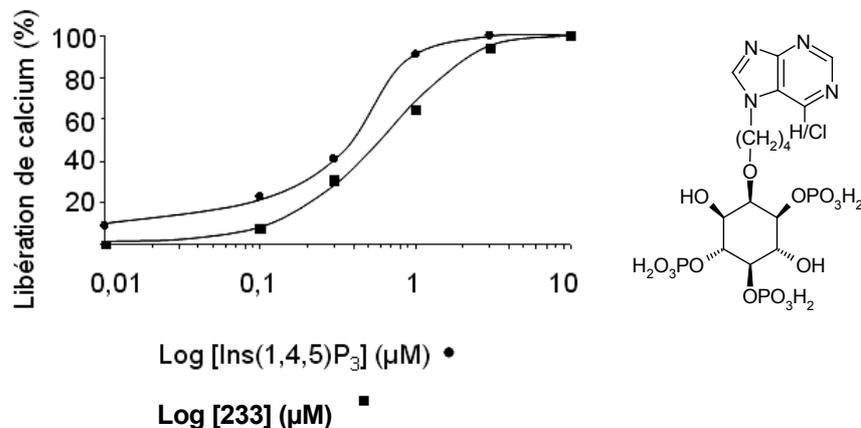


Figure 74 : courbes de libération dose-dépendante du Ca²⁺ par l'Ins(1,4,5)P₃ (3) et le mélange 233.

2.2. Discussion

Travaillant en série racémique, nous pouvons faire l'approximation de l'activité du bon énantiomère qui équivaudrait *a priori* au double de celle mesurée, puisque les composés produits en série $\text{Ins}(3,5,6)\text{P}_3$ sont généralement inactifs ou à peine actifs, ce qu'il conviendrait de vérifier en résolvant les racémiques. Ainsi, parmi les analogues modifiés en 2 sur le cycle inositol, nos composés se situent au même rang que l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ (**3**) au niveau de l'activité et de l'affinité. Le léger surcroît des potentialités du mélange **233** vs celles du composé **105** peut, par hypothèse, résulter de meilleures interactions entre le cycle hétéroaromatique de la purine et l' InsP_3R .

Il a déjà été montré que l'hydroxyle 2 de l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ (**3**) n'était pas indispensable pour l'activité et la reconnaissance du récepteur. Les résultats obtenus pour nos analogues le confirment une nouvelle fois. La conformation et la localisation de ce bras espaceur purinylé, possédant quatre maillons méthylènes, ne sont donc ni une gêne suffisante, ni semble-t-il, un motif d'interaction additionnelle qui renforcerait, d'un facteur important, la stabilité de la liaison. La région occupée par la purine de nos molécules **105** et **233** ne serait pas la même que celle occupée par l'adénine de l'adénophostine. Dans une optique pessimiste nos composés ne seraient reconnus par l' InsP_3R qu'uniquement *via* leur partie $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ (**3**). À l'inverse, nous serions également tentés de penser que ces composés sont les premiers pas vers des analogues puissants, profitant au mieux des avantages permis par l'adénophostine. L'optimisation réside probablement, pour une bonne part, dans les modifications du bras espaceur, mais également dans le motif de la purine, qui pourrait recevoir un ou plusieurs substituants sur une ou plusieurs positions de son cycle hétéroaromatique. La série équivalente, où la base fixée à l'extrémité de l'espaceur serait l'adénine, constitue un but de synthèse particulièrement intéressant afin de vérifier si le gain des potentialités observé pour l'adénophostine (chapitre I, 3.3.) se retrouve également.

Les données *in silico* du dérivé à chaîne butylique **105** établissaient un meilleur ajustement de ce ligand par rapport à l' $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ (**3**) et l'adénophostine A (**74**), l'interprétation du résultat pharmacologique ne semble pas pouvoir être ainsi réalisée. Les modélisations moléculaires réalisées dans le site de liaison de l' InsP_3R indiquent un placement nettement différent des espaceurs à quatre ou à cinq chaînons méthylènes par rapport à la chaîne propylique. Nous pourrions éventuellement obtenir des résultats assez différents, sans toutefois pouvoir présager d'un gain ou d'une perte en affinité et/ou en activité. Malheureusement, les résultats de synthèse ne nous ont pas permis de relativiser plus toutes les données obtenues *in silico*.

CONCLUSION

Ce travail nous a permis d'obtenir de nombreux dérivés de l'inositol, intermédiaires de synthèse, ainsi que quelques phosphates d'inositol (phosphates d'inositol protégés avec chaîne propylique **217**, **218**, **220** ou butylique **231**, **232** et produits finals **105** et **233**).

La mise au point d'une voie de synthèse permettant la préparation d'analogues chimériques de l'adénophostine A (**74**) et de l'Ins(1,4,5)P₃ (**3**) a été définie.^{cccxlvii} Cette voie semble optimisable et le rendement global pourrait être nettement amélioré. Du reste, certaines étapes sont encore limitées par la formation de composés secondaires dont la proportion n'est pas négligeable. Quelques réactions sont restées délicates à conduire et certaines purifications demeurent problématiques.

Les espèces finales testées pharmacologiquement sont en définitive peu nombreuses. Néanmoins les intermédiaires de synthèse et les produits secondaires ont pu être valorisés en regagnant la chimiothèque du laboratoire (produits mis en plaque, destinés à des tests pharmacologiques par criblage) et/ou en servant de composés modèles pour diverses mises au point et optimisations de réactions chimiques. Les intermédiaires de synthèse, les produits secondaires et les phosphates d'inositol finals sont ajoutés à la chimiothèque patrimoine du laboratoire, selon qu'ils répondent aux critères de stabilité, de pureté et de caractérisation et bien sûr dans la limite de la quantité raisonnablement nécessaire à la poursuite d'une voie de synthèse.

L'intérêt notable de certains produits secondaires dans quelques-unes des réactions pratiquées, fut de permettre une modélisation des réactions s'étant révélées les plus ardues, comme les couplages de chaînes ou de la base dans certains cas. Étudiant de cette manière les conditions de réactivité, nous avons pu économiser une certaine quantité de précieux intermédiaires tout en optimisant le rendement. Aussi, ces composés peuvent être, en fonction de leur intérêt, soumis à une dérivatisation nous permettant d'aboutir à des produits plus stables ou *in fine* à des régiomères de phosphorylation.

Les résultats pharmacologiques des composés finals sont encourageants. Toutefois, nos résultats pharmacologiques peuvent être pondérés par le pharmacophore communément admis, dans la mesure où, effectivement, il a été une nouvelle fois confirmé. Malheureusement les synthèses de nombreux autres produits projetés n'ont pas pu être menées à leurs termes. Les activités de ces analogues, confrontées entre elles, nous auraient permis d'augmenter leur impact.

Il serait grandement intéressant d'obtenir d'autres analogues agonistes (espaceurs modifiés en longueur, en degré d'oxydation et de saturation, espaceurs cycliques, autres tris- voire tétrakis(phosphates)) ou antagonistes, sur la base d'interactions distales liées à un groupement hydrophobe et relativement volumineux théorisées par E. J. Åriens, afin de renforcer possiblement l'arsenal thérapeutique ou du moins les connaissances biologiques liées aux phosphates d'inositol. De même qu'une structure RX, réalisée dans le site de liaison de l'InsP₃R co-cristallisé avec de tels analogues optiquement actifs, permettrait d'établir avec certitude les interactions mises en œuvre, modélisées *in silico*.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

1. Généralités concernant les expériences réalisées

1.1. Indications générales

- Les réactions nécessitant des conditions de stricte anhydricité sont conduites dans une verrerie séchée à l'étuve à 110°C puis remise à T. A. sur la pompe à palettes où généralement l'argon est introduit par un deuxième col.

- Les solvants anhydres DMSO, DMF, DCM, THF et éther utilisés pour ces réactions et certaines étapes de purification très délicates sont distillés selon les méthodes classiques, soit sur CaH₂ (et à pression réduite pour le DMF^{cccxlvi} et le DMSO, à P_{atm} pour le DCM), soit sur sodium/benzophénone et à P_{atm} (pour le THF et l'éther). Les solvants DCM, THF et éther sont distillés en continu au laboratoire. Les solvants DMSO et DMF sont conservés sous argon au réfrigérateur et sur TMA. La pyridine et la TEA sont conservées sur pastilles de KOH. Le tamis moléculaire est activé par chauffage à 80°C sous le vide de la pompe à palettes (10⁻³ à 10⁻¹ mm Hg).

- Les milieux réactionnels sont mis sous agitation moyenne (sauf indication contraire) au moyen d'un agitateur magnétique.

- Les protocoles rapportés correspondent en général à une réaction optimisée.

- La conservation des réactifs sensibles se fait à T. A., sous argon avec parafilm et dans un dessiccateur, à l'exception du pyrophosphate de tétrabenzyle conservé sous argon au congélateur de même que les produits finals destinés aux tests pharmacologiques.

- La liste des réactifs employés est située en troisième partie des annexes avec leurs degrés de pureté ainsi que leurs fournisseurs.

1.2. Purification des produits, matériel et méthode

- On emploie un four à boules Büchi (Glass Oven B-580) pour purifier certains produits par distillation.

- Les colonnes chromatographiques sont montées à l'aide de SiO₂ sous la forme de gel 60 (40-63 µm) avec l'éluant contenant éventuellement 0,1 % v/v de TEA. Les silices VWR International SAS (anc. Merck Eurolab) et Macherey Nagel ont été indifféremment utilisées. Les chromatographies sont réalisées classiquement sous pression d'air comprimé.

- On réalise des échanges de cations sur colonne de résine d'amberlite (IRA 120 H⁺) régénérée à l'acide perchlorique 1/6 N. La colonne est ensuite lavée, puis éluée à l'eau "milli-q" (H₂O[∞]) préalablement dégazée à pression réduite. Les fractions sont testées à l'aide de papier pH. Les fractions acides sont rassemblées et évaporées à 40°C sous pression réduite ou lyophilisées.

- Les plaques préparatives (Merck) sont préalablement éluées avec le mélange retenu pour la séparation et séchées au sèche-cheveux ou sous flux d'air. Après une ou

plusieurs éluions, les plaques sont séchées et les bandes fluorescentes (à 254 nm en général) sont grattées à la spatule, puis broyées au pilon dans un mortier. Le produit est désorbé de la silice par un mélange dont le volume est en rapport avec la surface de la bande et dont les solvants principaux sont l'AcOEt et le DCM (ou chloroforme) de qualité analytique, on ajoute également un faible volume d'acétone et d'EtOH voire de MeOH de la même qualité. La désorption est réalisée pendant 0,5 à 4 h sous agitation assez forte selon la quantité de silice à désorber.

- Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont effectuées sur plaques de silice 60 F absorbant à 254 nm et d'épaisseur égale à 0,2 mm (Merck). Leur révélation est réalisée de manière générale par un éclairage préalable de la plaque à 254 et à 365 nm. Le marquage des taches de la plaque de CCM peut se faire par de nombreux moyens : iode, acide sulfurique et acide phosphomolybdique (à 20 % dans l'EtOH).

- Les solvants employés en tant qu'éluants (en mélange ou non) pour les CCM et les colonnes chromatographiques sont de qualité analytique (acétate d'éthyle (AcOEt), chloroforme, dichlorométhane (DCM, CH₂Cl₂), diéthyléther (éther), éthanol (EtOH), heptane, hexane² et méthanol (MeOH)).

Exemple de notation : AcOEt-heptane 1/2 signifie mélange d'un volume d'acétate d'éthyle pour deux volumes d'heptane.

- Certains produits ont été identifiés préalablement par une analyse HPLC dans le cas des mélanges les plus complexes mais également pour des besoins analytiques (RMN). De même, pour la réalisation de la dernière étape d'une séquence (l'hydrogénolyse catalytique) l'inositol phosphorylé a été repurifié par un (voire plusieurs) passage(s) sur HPLC semi-préparative (dépôts de l'ordre de 10 à 20 mg).

- Deux appareillages HPLC (phase inverse) ont été employés : *Shimadzu* (logiciel Chroméléon) et *Waters* (600 pump, 600 controller, 2996 photodiode array detector, logiciel Quickstart Empower) équipés d'une colonne semi-préparative C-18 TP™ DIONEX VIDAC (300 Å, 10-15 µm) utilisés à des débits constants de 8 ou 10 mL/min (8 à 10 atm de pression maximum). Les échantillons HPLC sont préalablement filtrés sur membrane Millipore Millex-HV₁₃.

- Le programme d'éluion HPLC typiquement employé, sauf indication contraire, à 10 mL/min, avec A = MeOH et B = H₂O[∞] + 0,1 % TFA) :

- de t = 0 à t = 2 min : A 35 %, B 65 %,
- jusqu'à t = 38 min : gradient jusqu'à 100 % A,
- 100 % A pendant 9 min,
- retour aux conditions initiales en 3 min.

On a eu recours à de simples modifications de quelques minutes sur une ou plusieurs de ces séquences selon la complexité de l'échantillon.

² Remplacé par l'heptane courant 2003 pour des raisons avérées et enfin reconnues de neurotoxicité.

1.3. Analyse des produits

- Les points de fusion capillaire ont été mesurés sur un appareil Mettler FP62 et ne sont pas corrigés.

- Les microanalyses ont été effectuées par le service de microanalyses du CNRS à Vernaison et de la Faculté de Chimie à Strasbourg.

- Les spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont été enregistrés sur des spectromètres Bruker DPX 200 et Bruker DPX 300. Certaines analyses ont été conduites sur des spectromètres de champ magnétique supérieur : modèles Bruker Avance 500 et 600, afin de caractériser les structures donnant les systèmes les plus complexes et de déterminer de manière optimisée la présence des phosphores.

Fréquences de résonance des isotopes (MHz) \ Modèle spectromètre	AC200	AC300	AC500	AC600
^1H	200,00	300,00	500,00	600,00
^{13}C	50,29	75,43	125,72	150,86
^{31}P	80,96	121,44	202,41	242,89

Tableau 10 : fréquences de résonance des noyaux observés pour les différents spectromètres RMN.

- Sauf mention contraire, les spectres ont été enregistrés à 25°C. Dans certains cas, des irradiations sélectives ont été réalisées. Sauf mention contraire, le spectre décrit correspond à celui réalisé à 25°C et sans irradiation.

- Le déplacement chimique δ est indiqué en ppm, la référence a été prise par rapport à la résiduelle du solvant (p. e. H du chloroforme à 7,26 ppm). Les constantes de couplage nJ (d'ordre n) sont exprimées en Hertz. Les abréviations s, d, t, q, qu, se, m, dd, td (...) correspondent respectivement à un singulet, un doublet, un triplet, un quadruplet, un quintuplet, un sextuplet, un multiplet, un doublet dédoublé, un triplet dédoublé (...). H_{eq} et H_{ax} désignent respectivement des protons en orientation équatoriale et axiale. La lettre l suivant un signal signifie un signal large (sl, dl). On réalise éventuellement l'observation consécutive des protons échangeables (abrégés H éch.). Elle se fait généralement par ajout d'une goutte de CD₃OD (ou de D₂O) dans l'échantillon et comparaison des spectres obtenus avant et après cet ajout.

- L'attribution des atomes est indiquée H-n, C-n ou P-n, avec n correspondant à sa position. Les dérivés (comprenant un cycle inositol) sont généralement caractérisés par une expérience 2D de type COSY (voire HSQC en

complément du ^{13}C , auquel cas ce dernier est rapporté) ou corrélés au spectre du produit initial précisément caractérisé. Les produits phosphorylés sont caractérisés par des spectres couplé et découplé du phosphore (indiqués $\{^{31}\text{P}\}$), voire par diverses expériences 2D (H-P, P-P, NOESY). Le phosphore lui-même est identifié prioritairement par une expérience découplée du proton (indiquée $\{^1\text{H}\}$). Dans ces cas-là les spectres décrits correspondent aux expériences découplées.

- Afin d'observer certains phénomènes d'empilements (stacking) des parties aromatiques de certains dérivés et de résoudre des multiplets enchevêtrés, des expériences RMN ont été conduites dans le benzène deutéré (C_6D_6) ou par addition d'euprotium (non décrits).

- Les spectres ont été traités avec les logiciels WinNMR et Mestrec.

- Les spectres infrarouge ont été enregistrés sur un appareil Perkin Elmer 1600 FTIR. Les longueurs d'ondes sont données en cm^{-1} et sont suivies du groupement fonctionnel correspondant entre parenthèses.

- Les spectres de masse (SM) et les spectres de masse haute résolution (SMHR) ont été réalisés avec un spectromètre de masse Applied Biosystems MARINER 5155 à électro-spray temps de vol (ESI TOF, appareil commun de l'IFR 85).

Quand cet appareil n'était pas disponible, les SM et SMHR ont été réalisés dans le Laboratoire de Spectrométrie de masse BioOrganique du Dr Alain Van Dorsselaer (ECPM à Cronenbourg). Les SM ont été obtenus avec un spectromètre Hewlett-Packard-Agilent MSD 1100 SERIE (simple quad), auquel cas les valeurs sont obtenues à 10^{-1} près. Les SMHR ont été réalisés avec un spectromètre Bruker MicroTOF (ESI) et les GCMS (phase gazeuse) avec un appareil Varian Saturne (impact électronique (IE)).

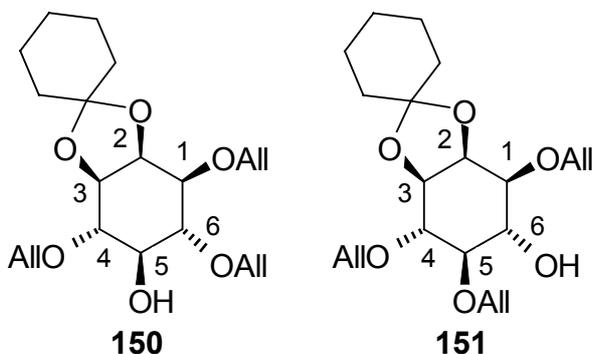
On observe en mode positif ou négatif selon la nature de la molécule : ESI^+ ou ESI^- . On note M la masse exacte calculée suivie de la valeur de l'ion formé correspondant m/z : $(\text{M}+\text{H}^+)$, $(\text{M}+\text{Na}^+)$ par exemple, voire un composite (espèce dimérique formée par réaction ion-molécule) ou l'espèce chargée deux fois $(\text{M}(\pm)2\text{H}^+)/2$. L'échantillon est préparé dans le MeOH à une concentration allant de 10^{-10} à 10^{-6} M. Les échantillons SM sont préalablement filtrés sur membrane Millipore Millex-HV₁₃.

2. Protocoles

2.1. Voie des acétals : à partir du (±)-2,3-O-cyclohexylidène-*myo*-inositol

2.1.1. Intermédiaires communs

(±)-1,4,6-Tri-*O*-allyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol ; $C_{21}H_{32}O_6$: 380,48 $g \cdot mol^{-1}$ (**150**) et (±)-1,4,5-tri-*O*-allyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol ; $C_{21}H_{32}O_6$: 380,48 $g \cdot mol^{-1}$ (**151**)^{67, 276, 299}



Le MR comprend 10,0 g (38,4 mmol) de (±)-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol (**149**) (synthétisé au laboratoire précédemment),³⁰³ du bromure de tétrabutylammonium (2,8 éq., 35,0 g, 108 mmol) et l'oxyde de dibutylétain (3,5 éq., 33,5 g, 134 mmol) dissous dans 200 mL d'acétonitrile. On réalise un montage avec un Soxhlet comprenant du tamis moléculaire

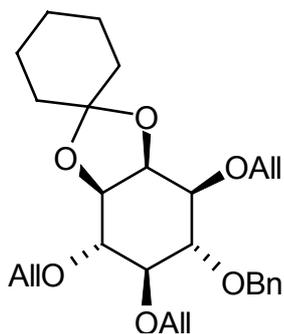
activé (TMA 3Å). Le MR est placé à reflux pendant 2 h afin d'éliminer l'eau et de permettre la formation de l'intermédiaire réactionnel stannylidène. On ajoute goutte à goutte un large excès de bromure d'allyle (40 mL, 450 mmol, soit près de 12 éq.), on laisse à reflux 36 h, puis le MR est évaporé à sec. Le brut réactionnel est repris dans le toluène et évaporé à nouveau pour éliminer l'excès de bromure d'allyle. Le brut réactionnel est extrait dans 300 mL d'AcOEt et 300 mL d'eau. La phase organique est alcalinisée avec 100 mL d'une solution aqueuse saturée de $NaHCO_3$ et agitée pendant une heure dans le but d'éliminer les sels d'étain (essorage). On procède au séchage sur $MgSO_4$ après élimination de la phase aqueuse, puis la phase organique est filtrée sur papier et évaporée. On purifie le mélange par une chromatographie sur gel de silice en éluant avec le mélange éther-hexane $\frac{1}{4}$ avec 0,1 % de TEA pour préserver le groupement cyclohexylidène de l'acidité de la silice. Sur CCM on observe la présence de deux produits de R_f 0,45 et 0,26 (éluant éther-hexane 1/1) qui sont respectivement les dérivés (±)-1,4,6-tri-*O*-allyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol (**150**) et (±)-1,4,5-tri-*O*-allyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol (**151**).^{67, 299} On recueille 2,15 g du dérivé (±)-1,4,6-tri-*O*-allyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol (**150**) (15 %, litt. 32 %)⁶⁷ sous la forme d'un cristal jaune clair (Pf = 100°C), 2,89 g du dérivé (±)-1,4,5-tri-*O*-allyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol (**151**, 20 %, litt. 40 %, ⁶⁷ huile très visqueuse), ainsi qu'un mélange de ces deux régiomères (1,70 g, 12 %) purifié ultérieurement lors d'une resynthèse.

• (±)-1,4,6-Tri-*O*-allyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol (**150**). RMN-¹H (300 MHz, $CDCl_3$) : 6,10-5,90 (m, 3 H, (O- CH_2 -CH=CH₂)₃) ; 5,40-5,10 (m, 6 H, (O- CH_2 -CH=CH₂)₃) ; 4,40-4,10 (m, 7 H, H-2 et (O- CH_2 -CH=CH₂)₃) ; 4,00 (t, ³J = 7,0, 1 H, H-1) ; 3,70-3,40 (m, 3 H, H-4, H-3 et H-6) ; 3,35 (td, ³J = 8,0, ³J = 2,0, 1 H, H-5) ; 2,90 (d, ³J = 2,0, 1 H éch., OH-5) ; 1,80-1,10 (m, 10 H, C₆H₁₀).

• (±)-1,4,5-Tri-*O*-allyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol (**151**). RMN-¹H (300 MHz, $CDCl_3$) : 6,00-5,80 (m, 3 H, (O- CH_2 -CH=CH₂)₃) ; 5,40-5,00 (m, 6 H, (O- CH_2 -CH=CH₂)₃) ; 4,40-4,10 (m, 7 H, où l'on reconnaît à 4,33 (t, ³J = 4,6, 1 H, H-2) et (O- CH_2 -CH=CH₂)₃) ; 3,97 (dd, ³J = 6,6, ³J = 5,3, 1 H, H-3) ; 3,84 (t, ³J = 9,4, 1 H, H-6) ; 3,45 (dd, ³J = 9,3, ³J =

6,7, 1 H, *H*-4) ; 3,41 (dd, $^3J = 9,9$, $^3J = 3,8$, 1 H, *H*-1) ; 3,05 (t, $^3J = 9,3$, 1 H, *H*-5) ; 2,90 (s, 1 H éch., *OH*-6) ; 1,90-1,10 (m, 10 H, C_6H_{10}).

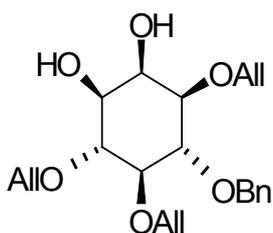
(±)-1,4,5-Tri-*O*-allyl-6-*O*-benzyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol ; $C_{28}H_{38}O_6$: 470,61 g·mol⁻¹ (152)



Le (±)-1,4,5-tri-*O*-allyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol (**151**) (2,89 g, 7,60 mmol) est dissous dans 60 mL de DMF sur TMA, le MR est placé à 0°C et le NaH est ajouté (2,5 éq., 19,0 mmol, 760 mg, à 60 % dans les graisses dans tous les protocoles qui l'emploi). Le bromure de benzyle est ajouté goutte à goutte (2 éq., 15,2 mmol, 1,8 mL). Le MR revient à T. A., reste agité pendant 12 h, puis est précipité à l'eau glacée et extrait deux fois à l'acétate d'éthyle (60 mL). La phase organique est lavée 3 fois à l'eau, séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée. Le produit est recueilli après purification sur colonne chromatographique (éther-hexane 1/4 + 0,1 % TEA). Le produit est révélé sur CCM (élution éther-hexane 1/1) par de l'acide sulfurique (dilution 1/10) avec un R_f de 0,56. On obtient 2,48 g du produit benzylé **152** ($\rho = 69$ %) sous la forme d'une huile visqueuse translucide jaune orange (traces de graisses et de BnBr).

RMN-¹H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7,40-7,30 (m, 5 H, C_6H_5) ; 6,05-5,90 (m complexe partie M d'un ABMXX', 3 H, ($O-CH_2-CH=CH_2$)₃) ; 5,30 (qd, $^3J_{trans} = 17,2$, $^2J = 1,7$, 2 H, ($OCH_2CH=CH_{trans}$)₂) ; 5,28 (qd, $^3J_{trans} = 17,2$, $^2J = 1,7$, 1 H, $OCH_2CH=CH_{trans}$) ; 5,25-5,15 (m (qd enchevêtrés), 3 H, ($O-CH_2-CH=CH_{cis}$)₃) ; , (AB, $\Delta\delta = 0,04$, $J_{AB} = 11,9$, 2 H, $CH_2-C_6H_5$) ; 4,40-4,20 (m, 7 H, où l'on reconnaît à 4,34 (td, $^3J = 5,6$, $^3J = 1,4$, *H*-2) et ($O-CH_2-CH=CH_2$)₃) ; 4,03 (dd, $^3J = 7,0$, $^3J = 5,5$, 1 H, *H*-3) ; 3,82 (t, $^3J = 8,6$, 1 H, *H*-6) ; 3,62 (dd, $^3J = 9,7$, $^3J = 7,2$, 1 H, *H*-4), 3,59 (dd, $^3J = 8,7$, $^3J = 3,7$, 1 H, *H*-1) ; 3,23 (dd, $^3J = 9,7$, $^3J = 8,4$, 1 H, *H*-5) ; 1,80-1,25 (m, 10 H, C_6H_{10}).

(±)-1,4,5-Tri-*O*-allyl-6-*O*-benzyl-*myo*-inositol ; $C_{22}H_{30}O_6$: 390,48 g·mol⁻¹ (153)

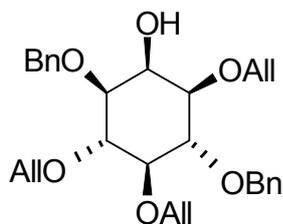


Le (±)-1,4,5-tri-*O*-allyl-6-*O*-benzyl-2,3-*O*-cyclohexylidène-*myo*-inositol (**152**) (2,48 g, 5,27 mmol) est dissous dans 2,5 mL de THF et 25 mL d'éthanol à 95 %. Le mélange H_2O/TFA (5 et 2,5 mL) est alors ajouté et le mélange est porté à reflux durant 2 h. Les solvants sont ensuite évaporés à sec et le brut réactionnel est repris dans un mélange $H_2O-AcOEt$. La phase aqueuse est réextraite à l'AcOEt. Les phases organiques sont rassemblées, lavées avec H_2O , séchées avec $MgSO_4$, filtrées et évaporées. Une chromatographie sur un gel de silice (élution éther-hexane 1/1 + 0,1 % TEA) permet d'obtenir 1,15 g de diol **153** à la première purification (pâte blanche, $\rho = 56$ %, $R_f = 0,15$ par CCM éluee avec éther-hexane 2/1, litt. sirop²⁷⁶).

SM ESI⁺ ($M+Na^+$) ($C_{22}H_{30}O_6Na$) : calc. 413,19 ; obs. 413,30.

RMN-¹H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7,40-7,30 (m, 5 H, C_6H_5) ; 6,10-5,85 (m, 3 H, ($O-CH_2-CH=CH_2$)₃) ; 5,40-5,15 (m, 6 H, ($O-CH_2-CH=CH_2$)₃) ; , (AB, $\Delta\delta = 0,04$, $J_{AB} = 10,4$, 2 H, $CH_2-C_6H_5$) ; 4,50-4,15 (m, 7 H, *H*-2 et ($O-CH_2-CH=CH_2$)₃) ; 3,82 (t, $^3J = 9,5$, 1 H, *H*-6) ; 3,65 (t, $^3J = 9,5$, 1 H, *H*-4) ; 3,43 (dd, 1 H, $^3J = 6,9$, $^3J = 2,8$, *H*-3) ; 3,32 (dd, $^3J = 9,5$, $^3J = 3,0$, 1 H, *H*-1) ; 3,26 (t, $^3J = 9,4$, 1 H, *H*-5) ; 2,51 (sl, 2 H éch., *OH*-2 et *OH*-3).

(±)-1,4,5-Tri-O-allyl-3,6-di-O-benzyl-myoinositol ; C₂₉H₃₆O₆ : 480,61 g•mol⁻¹ (154)²⁷⁶



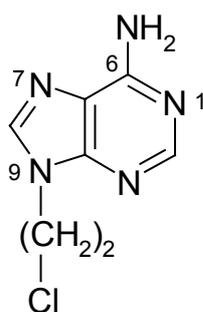
Le (±)-1,4,5-tri-O-allyl-6-O-benzyl-myoinositol (**153**) (1,15 g, 2,95 mmol), l'oxyde de dibutylétain (1,5 équ., 1,11 g, 4,43 mmol), le bromure de tétrabutylammonium (1 équ., 0,95 g, 2,95 mmol) sont placés dans le toluène à reflux pendant une heure. Le bromure de benzyle est ensuite ajouté goutte à goutte (5 équ., 1,75 mL, 15 mmol) et le MR est laissé 48 h à reflux. Après retour à T. A., le MR est évaporé à sec puis repris dans un mélange DCM-H₂O, extrait puis lavé avec une solution aqueuse saturée de NaHCO₃. La phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée. Une CCM du MR nous indique la présence d'un produit majoritaire (R_f = 0,27, éther-hexane 1/1). L'alcool **154** est recueilli après purification sur colonne chromatographique (élution éther-hexane 1/4), sous la forme d'une huile visqueuse (0,66 g, ρ = 47 %, litt. sirop²⁷⁶).

SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₂₉H₃₆O₆Na) : calc. 503,24 ; obs. 503,31.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,40-7,30 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 6,10-5,80 (m, 3 H, (O-CH₂-CH=CH₂)₃) ; 5,40-5,10 (m, 6 H, (O-CH₂-CH=CH₂)₃) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,03, J_{AB} = 10,6, 2 H, CH₂-Ph) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,04, J_{AB} = 11,9, 2 H, CH₂-Ph) ; 4,36 (td, ³J = 4,4, ³J = 1,3, 1 H, H-2) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABMXX', Δδ = 0,15, J_{AB} = 4,3, J_{AM} = J_{BM} = 5,6, J_{AX} = J_{AX'} = J_{BX} = J_{BX'} = 1,4, 6 H, (O-CH₂-CH=CH₂)₃) ; 3,85 (t, ³J = 9,7, 1 H, H-6) ; 3,78 (t, ³J = 9,7, 1 H, H-4) ; 3,31 (dd, ³J = 9,7, ³J = 2,8, 1 H, H-1 ou H-3) ; 3,25 (dd, ³J = 9,5, ³J = 4,2, 1 H, H-5) ; 3,23 (dd, ³J = 9,5, ³J = 2,3, 1 H, H-1 ou H-3) ; 2,42 (s, 1 H éch., OH-2).

2.1.2. Synthèse des 9-N-(ω'-halogéno-alkyl)-adénines

9-N-(2'-Chloro-éthyl)-adénine ; C₇H₈N₅Cl : 197,63 g•mol⁻¹ (155)³⁰⁵

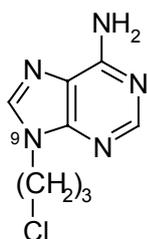


L'adénine (6-amino-purine, 10,0 g, 74,0 mmol) est dissoute dans dans 100 mL de DMFa dans un ballon sous argon et refroidi à 0°C. Le NaH est ajouté (1,3 équ., 3,60 g, 90,0 mmol). Après une agitation d'une heure on rajoute le 1-bromo-2-chloro-éthane (1 équ., 11,0 g) dilué dans 20 mL de DMFa. Après 3 h d'agitation, on ajoute une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium. On réalise une extraction continue au diéthyléther pendant 48 h. L'extrait neutre est séché sur MgSO₄, filtré et évaporé. On réalise une chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange chloroforme-MeOH 9/1 (6,86 g, ρ = 47 % et sur une quantité d'essai de 0,94 g, ρ = 59 %, ρ litt. = 20 %).³⁰⁵ Le produit a un de R_f 0,25 avec un mélange éluant chloroforme-MeOH 9/1. Il est recueilli sous la forme d'un cristal blanc (Pf = 195°C, litt. n. d.).³⁰⁵

Microanalyses (%) calc. : C : 42,5 ; H : 4,10 ; N : 35,4 ; trouvées : C : 42,4 ; H : 4,10 ; N : 34,8.

SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₇H₈N₅ClNa) : calc. 220,04 ; obs. 219,19 (³⁷Cl n'est pas observé).

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-D₆) : 8,16 et 8,14 (2 s, 2 fois 1 H, H-2 et H-8) ; 7,22 (s, 2 H éch., NH₂) ; 4,49 (t, ³J = 5,9, 2 H, N-CH₂) ; 4,06 (t, ³J = 5,9, 2 H, CH₂-Cl).

9-N-(3'-Chloro-propyl)-adénine ; C₈H₁₀N₅Cl : 211,66 g•mol⁻¹ (156)

L'adénine (10,0 g, 74,0 mmol) est dissoute dans 100 mL de DMFa. Le ballon est placé sous argon et refroidi à 0°C. Le NaH est ajouté (1,3 éq., 3,60 g, 90,0 mmol). Après une agitation d'une heure on rajoute le 1-bromo-3-chloropropane (1 éq., 12,0 g) dilué dans 20 mL de DMFa. Après 3 h, on ajoute une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium. On extrait à l'éther.

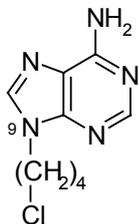
L'extrait neutre est séché sur MgSO₄, filtré et évaporé. On réalise une chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange chloroforme-MeOH 9/1 ($\rho = 14\%$). R_f = 0,30 (chloroforme-MeOH 9/1). Cristal blanc, Pf > 300°C. SMHR ESI⁺, (M+H⁺) C₈H₁₁N₅Cl calc. 212,0697 ; obs. 212,0691, rapport isotopique ³⁵Cl/³⁷Cl 2/1.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-D₆) : 8,13 et 8,12 (2 s, 2 fois 1 H, H-2 et H-8) ; 7,18 (s, 2 H éch., NH₂) ; 4,27 (t, ³J = 7,0, 2 H, N-CH₂) ; 3,63 (t, ³J = 6,4, 2 H, CH₂-Cl) ; 2,28 (qu, ³J = 6,6, 2 H, CH₂-2').

• La réaction faite avec le 1,3-dibromo-propane a conduit à 20 % de 9-N-allyl-adénine **260** (C₈H₉N₅ : 175,19 g•mol⁻¹, solide pâteux jaune orangé) et 57 % de l'adénine initiale. Ce produit a un R_f de 0,23 vs adénine au R_f de 0,07 (CH₂Cl₂-MeOH 9/1).

SM ESI⁺ (M+H⁺) (C₈H₁₀N₅) : calc. 176,09 ; obs. 176.

RMN-¹H (200 MHz, DMSO-D₆) : 8,16 et 8,13 (2 s, 2 fois 1 H, H-2 et H-8) ; 7,23 (sl, 2 H éch., NH₂) ; 6,20-6,00 (m, 1 H, -CH=) ; 5,21 (td, ³J_{cis} = 10,3, ²J = 1,2, 1 H, =CHH_{cis}) ; 5,05 (td, ³J_{trans} = 17,1, ²J = 1,2, 1 H, =CHH_{trans}) ; 4,80 (d, ³J = 5,4, 2 H, N-CH₂).

9-N-(4'-Chloro-butyl)-adénine ; C₉H₁₂N₅Cl : 225,68 g•mol⁻¹ (157)

L'adénine (10,0 g, 74,0 mmol) est dissoute dans 100 mL de DMFa. Le ballon est mis sous argon et refroidi à 0°C. Le NaH est ajouté (1,3 éq., 3,60 g, 90,0 mmol). Après une agitation d'une heure, on additionne le 1-bromo-4-chlorobutane (1 éq., 12,7 g) dilué dans 20 mL de DMFa. Après 3 h, on ajoute une solution aqueuse saturée de chlorure d'ammonium. On extrait à l'éther.

L'extrait neutre est séché au MgSO₄, filtré et évaporé. On réalise une chromatographie sur colonne en éluant avec un mélange chloroforme-MeOH 9/1. On obtient 4,10 g de l'halogénure **157** (cristal beige, Pf = 280°C) confirmé par microanalyses, RMN et SM ($\rho = 25\%$). R_f = 0,48 (chloroforme-MeOH 9/1).

Microanalyses (%) calc. : C : 47,9 ; H : 5,40 ; N : 31,0 ; trouvées : C : 48,0 ; H : 5,30 ; N : 30,7.

SM ESI⁺ (M+H⁺) (C₉H₁₃N₅³⁵Cl) : calc. 226,09 ; obs. 226,10 (rapport isotopique 2/1 ³⁵Cl/³⁷Cl).

RMN-¹H (200 MHz, DMSO-D₆) : 8,14 et 8,13 (2 s, 2 fois 1 H, H-2 et H-8) ; 7,18 (sl, 2 H éch., NH₂) ; 4,17 (t, ³J = 6,9, 2 H éch., N-CH₂) ; 3,65 (t, ³J = 6,5, 2 H, CH₂-Cl) ; 1,92 (qu, 2 H, ³J = 7,1, CH₂-2') ; 1,67 (qu, ³J = 7,0, 2 H, CH₂-3').

RMN-¹³C (200 MHz, Jmod, DMSO-D₆) : 156,77 C-6 ; 153,10 C-2 ; 150,37 C-4 ; 141,53 C-8 ; 120,41 C-5 ; 45,62 C-1' ; 43,14 C-4' ; 30,12 C-3' ; 27,85 C-2'.

Deux autres produits sont isolés :

• La 7-N-(4'-chloro-butyl)-adénine, tautomère **261** (C₉H₁₂N₅Cl : 225,68 g•mol⁻¹), de R_f = 0,38 (chloroforme-MeOH 9/1) est obtenue à raison de 350 mg ($\rho = 2\%$) sous la forme d'un cristal beige (Pf : déc.).

SM ESI⁺ (M+H⁺) (C₉H₁₃N₅³⁵Cl) : calc. 226,09 ; obs. 226,12 (³⁷Cl n'est pas observé).

RMN-¹H (200 MHz, DMSO-D₆) : 8,40 (s, 1 H, H-8) ; 8,10 (sl, 2 H éch., NH₂) ; 7,82 (s, 1 H, H-2) ; 4,37 (t, ³J = 6,8, 2 H, N-CH₂) ; 3,68 (t, ³J = 6,6, 2 H, CH₂-Cl) ; 2,04 (qu, ³J = 7,1, 2 H, CH₂-2') ; 1,72 (qu, ³J = 7,0, 2 H, CH₂-3').

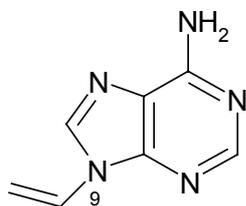
RMN-¹³C (200 MHz, Jmod, HMBC, DMSO-D₆) : 155,57 C-6 ; 152,98 C-2 ; 150,26 C-4 ; 144,04 C-8 ; 120,91 C-5 ; 49,18 C-1' ; 45,33 C-4' ; 29,64 C-3' ; 26,85 C-2'.

• Produit **262** de structure non-définie. R_f = 0,66 (chloroforme-MeOH 9/1) ; masse = 210 mg (solide brun, Pf = 52°C) ; SM ESI⁺ (M+C₄H₆+H⁺) (C₁₃H₁₉N₅Cl) : calc. 280,13 ; obs. 280,16 (rapport isotopique 2/1 ³⁵Cl/³⁷Cl) ; ρ = env. 1 %. Nous pouvons ainsi faire l'hypothèse d'une deuxième alkylation par la chaîne halogénée. Celle-ci peut être cyclisée éventuellement sur l'azote exocyclique, la perte des deux atomes d'hydrogène du groupement amine expliquerait son R_f moins polaire que celui des deux autres produits. RMN-¹H difficilement exploitable ; on observe *a priori* la disparition ou le déplacement du signal du NH₂, ainsi que des pics enchevêtrés en massifs dans les champs faibles. RMN-¹H (300 MHz, DMSO-D₆) : 8,22 et 8,16 (2 s, 2 fois 1 H, H-2 et H-8) ; 4,21 (t, ³J = 6,8, 2 H) ; 3,68 (t, ³J = 6,4, 4 H) ; 2,10-1,90 (m, 7 H) ; 1,80-1,60 (m, 3 H).

2.1.3. Tentatives de couplages et synthèse de nouveaux réactifs de couplage

2.1.3.1. Tentatives de couplage des espaceurs purinylés sur OH-2 de l'inositol 154

9-*N*-Vinyl-adénine ; C₇H₇N₅ : 161,17 g·mol⁻¹ (**159**)



Les essais (détaillés dans le tableau 7) ont consisté à préformer l'alcoolate de l'inositol **154** (déprotonation de l'hydroxyle en 2 du cycle) pendant 15 à 30 min en présence d'éther-couronne [15-5] (focissement du milieu et dégagement gazeux). Pour ce faire on a ajouté 1,3 à 2 éq. d'une base (NaH lavé à l'hexane, BuLi,...) et un cristal d'iode. Ce produit, la 9-*N*-vinyl-adénine (**159**), est obtenu par réaction d'élimination sur la 9-*N*-(2'-chloro-éthyl)-adénine (**155**) (1,3 éq. dans le MR) dans de très grandes proportions (75 à 100 %). Les réactions ont été réalisées dans le DMFa sur TMA comme dans le DMFa distillé sur CaH₂ et sans plus de succès dans le THFa. Le MR resté à T. A. n'a pas évolué. Un chauffage ne semble pas améliorer l'évolution favorable de la réaction (110°C pendant 7 j, essai à 180°C 1 h, puis 160°C 5 j). L'inositol penta-substitué de départ est récupéré en grande partie (plus de 90 %, la plupart des réactions ont été réalisées avec une cinquantaine de mg de produit). Les SM des MR n'ont montré aucune trace > M inositol initial.

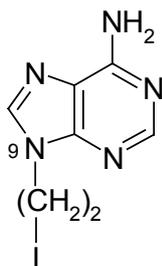
La 9-*N*-vinyl-adénine (**159**), produit d'élimination, a un R_f = 0,42 vs 9-*N*-(2'-chloro-éthyl)-adénine (**155**) de R_f 0,36 (chloroforme-MeOH 9/1). On l'obtient sous la forme d'une poudre blanche (Pf = 198°C).

SM ESI⁺ (M+H⁺) (C₇H₈N₅) : calc. 162,08 ; obs. 162,08.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 8,44 et 8,06 (2 s, 2 fois 1 H, H-2 et H-8) ; 7,27 (dd, ³J_{trans} = 16,1, ³J_{cis} = 9,0, 1 H, N-CH=) ; 5,91 (dd, ³J_{trans} = 16,1, ²J = 1,5, 1 H, =CHH_{trans}) ; 5,80 (sl, 2 H éch., NH₂) ; 5,21 (dd, ³J_{cis} = 9,0, ²J = 1,5, 1 H, =CHH_{cis}).

2.1.3.2. Transhalogénéation de la 9-*N*-(2'-chloro-éthyl)-adénine **155**

9-*N*-(2'-Iodo-éthyl)-adénine ; C₇H₈N₅I : 289,08 g•mol⁻¹ (**160**)



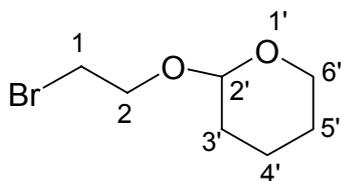
La 9-*N*-(2'-chloro-éthyl)-adénine (**155**, 500 mg, 1,73 mmol) est dissoute dans de l'acétone et placée sous agitation et à 50°C pendant 15 min. On ajoute 2,2 éq. de NaI (5,57 mmol, 840 mg) et on laisse à reflux 72 h, temps au bout duquel on constate que la réaction n'évolue plus. On note la présence d'un nouveau produit migrant sur CCM avec un R_f de 0,40 vs 0,37 pour la 9-*N*-(2'-chloro-éthyl)-adénine (**155**) (élution par un mélange chloroforme-MeOH 9/1). Le MR est filtré (abondant lavage à l'acétone). On purifie sur colonne chromatographique éluée par un mélange DCM-MeOH 39/1 on recueille 120 mg (ρ = 17 %) de 9-*N*-(2'-iodo-éthyl)-adénine (**160**) et 250 mg de 9-*N*-(2'-iodo-éthyl)-adénine (**160**) et de 9-*N*-(2'-chloro-éthyl)-adénine (**155**) éluées dans les mêmes fractions.

SM ESI⁺ (M+H⁺) (C₇H₉N₅I) : calc. 289,99 ; obs. 290,02.

RMN-¹H (200 MHz, DMSO-D₆) : 8,15 et 8,13 (2 s, 2 fois 1 H, *H*-2 et *H*-8) ; 7,22 (sl, 2 H, NH₂) ; 4,49 (t, ³J = 6,6, 2 H, N-CH₂) ; 3,67 (t, ³J = 6,6, 2 H, CH₂-I).

2.1.3.3. Synthèse de deux espaceurs protégés

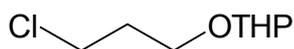
1-Bromo-2-*O*-tétrahydropyranyl-éthan-2-ol ; C₇H₁₃O₂Br : 209,08 g•mol⁻¹ (**161**)



Dans un ballon sec, mis sous argon et contenant 20 mg de *p*TSA, sont injectés à T. A. 40 mL de DCMa, 7,1 mL de 2-bromo-éthan-1-ol (100 mmol) ainsi que 11,2 mL de dihydropyrane (1,2 éq., 120 mmol). La réaction est laissée à réagir pendant une nuit. Après neutralisation par K₂CO₃, le MR est lavé avec 50 mL de solution aqueuse saturée en NaHCO₃. La phase aqueuse est réextraite avec 2 × 50 mL de DCM. Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO₄, puis filtrées sur papier et évaporées à sec. On obtient 8,85 g de liquide incolore (42 %) après purification sur gel de silice élué par un mélange éther-hexane 1/19.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 4,68 (t, ³J = 3,4, 1 H, CH-2' THP) ; 4,00-3,50 (m, 4 H, CH₂-2 et CH₂-6') ; 3,50 (td, ³J = 6,4, ³J = 4,5, 2 H, CH₂-1) ; 1,90-1,50 (m, 6 H, (CH₂)₃ THP).

1-Chloro-3-*O*-tétrahydropyranyl-propan-3-ol ; C₈H₁₅O₂Cl : 178,66 g•mol⁻¹ (**162**)

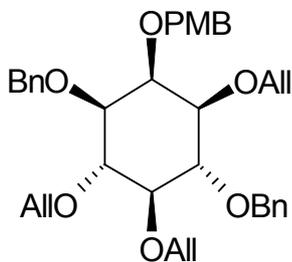


Dans un ballon sec, mis sous argon et contenant 20 mg de *p*TSA, sont injectés à T. A. 40 mL de DCMa, 8,4 mL de 3-Cl-propan-1-ol (100 mmol) ainsi que 11,2 mL de dihydropyrane (1,2 éq., 120 mmol). Le MR chauffe et devient violet, on procède à un dégazage rapide. L'agitation à T. A. est maintenue 48 h durant. Après neutralisation par K₂CO₃, le MR est lavé avec 50 mL de solution aqueuse saturée en NH₄Cl. La phase aqueuse est réextraite avec 50 mL de DCM. Les phases organiques rassemblées sont lavées par 100 mL d'eau distillée. La phase organique est séchée sur MgSO₄, puis filtrée sur papier et évaporée à sec. On distille à pression réduite (2•10⁻³ atm) les 19,5 g de brut liquide à l'aide d'un four à boules Büchi (chauffage 94-96°C). On recueille 16,2 g (91 %) de produit sous la forme d'une huile incolore (litt. huile incolore).³⁰⁹ R_f = 0,60 (éther-hexane 1/2).

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 4,44 (t, ³J = 3,4, 1 H, CH-2' THP) ; 3,71 (m, 2 H, CH₂) ; 3,51 (td, ³J = 6,4, ³J = 1,0, 2 H, CH₂) ; 3,36 (m, 2 H, CH₂) ; 1,89 (qud, ³J = 6,2, ³J = 1,1, 2 H, CH₂) ; 1,70-1,30 (m, 6 H, (CH₂)₃ THP).

2.1.3.4. Essais de couplage réalisés avec d'autres halogénures (voir tableau 7)

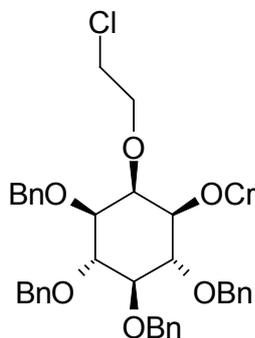
(±)-1,4,5-Tri-O-allyl-3,6-di-O-benzyl-2-O-*para*-méthoxybenzyl-*myo*-inositol ;
C₃₇H₄₄O₇ : 600,76 g•mol⁻¹ (163)



Le (±)-1,4,5-tri-O-allyl-3,6-di-O-benzyl-*myo*-inositol (**154**) (49,3 mg, 103 μmol) est dissous dans 2 mL de DMF anhydre dans un petit bicol sous argon et refroidi à 0°C. Le NaH (lavé deux fois à l'hexane sec) est ajouté (2,2 équ., 9 mg, 230 μmol). Après une agitation d'une demi-heure on rajoute goutte à goutte le chlorure de *para*-méthoxybenzyle dans 1 mL de DMFa (0,75 équ., 10,5 μL, 77 μmol). Au bout de 24 h, on procède à l'extraction à l'éther. L'extrait neutre est séché sur MgSO₄, filtré et évaporé. On purifie sur une petite colonne chromatographique (30 mL de capacité). On obtient 16 mg de produit, il en reste quelques mg à repurifier. Le rendement en l'état est de 35 % (calcul sur l'halogénure engagé). CCM DCM-MeOH 9/1 : R_f = 0,93.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-D₆) : 7,40-7,25 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; $\overline{\text{---}}$ ((AB)₂, Δδ = 0,35, J_{AB} = 8,7, 4 H, C₆H₄) ; 5,92 (ddd, ³J_{trans} = 22,2, ³J_{cis} = 10,6, ³J = 5,0, 3 H, OCH₂CH=CH₂)₃) ; 5,35-4,90 (m, 6 H, (O-CH₂-CH=CH₂)₃) ; 4,66 (d, ⁴J = 10,9, 2 H, CH₂-Ph) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,21, J_{AB} = 10,9, 2 H, CH₂-Ph) ; 4,41 (d, ⁴J = 5,6, 2 H, CH₂-C₆H₄) ; 4,30-4,15 (m, 5 H, H-2 et O-CH₂-CH=CH₂)₂) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,13, J_{AB} = 13,4, 2 H, O-CH₂-CH=CH₂) ; 3,73 (s, 3 H, O-Me) ; 3,65 (t, ³J = 9,5, 1 H, H-4 ou H-6) ; 3,59 (t, ³J = 9,4, 1 H, H-4 ou H-6) ; 3,35-3,15 (m, 3 H, H-1, H-3 et H-5).

(±)-3,4,5,6-Tétra-O-benzyl-2-O-(2'-chloro-éthyl)-1-O-crotyl-*myo*-inositol ;
C₄₀H₄₅O₆Cl : 657,25 g•mol⁻¹ (164)



Le (±)-3,4,5,6-tétra-O-benzyl-1-O-crotyl-*myo*-inositol (54 mg, 90 μmol, produit patrimoine)³⁰¹ est dissous dans 2 mL de DMF anhydre dans un petit bicol sous argon et refroidi à 0°C. Le NaH (lavé deux fois à l'hexane sec) en dispersion dans 5 mL de DMF anhydre est ajouté (2 équ., 7,3 mg, 180 μmol). On ajoute environ 0,1 mL d'éther-couronne [15-5]. Après une agitation d'une demi-heure on rajoute le 1-bromo-2-chloro-éthane en large excès (1 mL, 12,1 mmol, 134 équ.). 72 h après on procède à l'extraction à l'éther. L'extrait neutre est séché sur MgSO₄, filtré et évaporé. On purifie sur une petite colonne chromatographique (30 mL de capacité) éluée avec éther-hexane 1/4 + 0,1 % TEA. Sur CCM, éluée par un mélange éther-hexane 1/1, le produit **164** a un R_f de 0,20 vs 0,14 pour l'inositol de départ. On obtient 11,3 mg de produit (ρ = 19 %) que l'on utilise entièrement pour constituer l'échantillon RMN. L'échantillon s'est retrouvé contaminé et dégradé, car on note la disparition des signaux caractéristiques du CH=CH crotylique. On intègre 4 H

supplémentaires entre 3,90 et 4,50 ppm, on aurait donc couplé la chaîne éthyle mais une réaction parasite a vraisemblablement dégradé le produit.

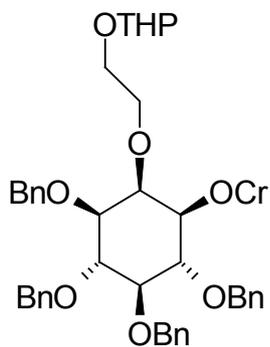
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,40-7,30 (m, 20 H, (C₆H₅)₄) ; 5,00-4,80 (m, 6 H, (CH₂-Ph)₄) ; 4,76 (s, 2 H, CH₂-Ph) ; 4,50-3,90 (m, 9 H) ; 3,50-3,25 (m, 4 H) ; 2,51 (sl, 1 H) ; 1,90-1,80 (m, 3 H, CH₃) ; 1,80-1,20 (m, 52 H, H aliphatiques, graisses). Il n'y a apparemment pas de H échangés après ajout de CD₃OD.

Le spectre de masse de l'échantillon contaminé présente un pic majoritaire à 777 et plusieurs pics voisins (775, 776 et 778). Cela indiquerait qu'une déchloration (élimination ou transhalogénéation) et une iodation se sont produites, probablement en passant par un intermédiaire iodonium formé sur l'insaturation du crotyle. Toutefois la masse calculée pour C₄₀H₄₇O₆NaI soit 773, n'est pas atteinte par ce simple mécanisme.

Le résidu de l'échantillon constitué pour la RMN et non utilisé est également testé : SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₄₀H₄₅O₆³⁵ClNa) : calc. 679,28 ; obs. 679,38 et 681,38 (³⁷Cl, rapport isotopique 2/1).

Cinq autres essais, antérieurs ou postérieurs, se sont soldés par autant d'échecs (avec ou sans cryptant du sodium [15-5], excès de NaH et du réactif dihalogéné, durée de plusieurs jours).

(±)-3,4,5,6-Tétra-O-benzyl-2-O-(2'-O-tétrahydropyranyl-éthan-2'-ol)-1-O-crotyl-myoinositol ; C₄₅H₅₄O₈ : 722,93 g•mol⁻¹ (165)



Le (±)-3,4,5,6-tétra-O-benzyl-1-O-crotyl-myoinositol (317 mg, 533 μmol, produit patrimoine)³⁰¹ est dissous dans 5 mL de THFa sous argon. Le ballon est refroidi à 0°C. Le NaH est ajouté (2 éq., 50 mg, 1,07 mmol). On ajoute environ 50 μL d'éther-couronne [15-5] et un cristal d'iode. Après une agitation de 5 min, on injecte le bromo-alcool protégé **161** (150 mg, 693 μmol, 1,3 éq.). Au bout de 48 h, il reste de l'inositol tétrabenzylé de départ et de nombreuses taches sont révélées sur CCM. On procède à l'extraction à l'éther après 8 j. L'extrait neutre est séché sur MgSO₄, filtré et évaporé (0,25 g). On purifie sur un gel de 200 g de silice (dépôt sec avec 1 g de silice) élué avec un mélange éther-hexane 1/1. Par CCM éluee par un mélange éther-hexane 1/1, le produit couplé **165** a un R_f de 0,53 vs 0,33 pour l'inositol de départ. On obtient 140 mg de produit couplé **165** (ρ = 36 %) et 60 mg de produit initial (ρ = 19 %).

La RMN montre à la fois les signaux de la chaîne tétrahydropyranylée et de l'inositol tétrabenzylé, de plus l'hydroxyle libre n'apparaît plus (à 2,49 dans le produit initial). La plupart des signaux sont enchevêtrés, ce qui rend l'attribution difficile.

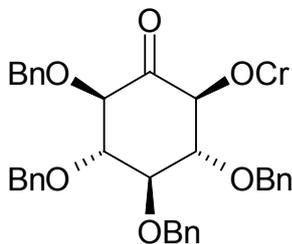
RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 7,50-7,20 (m, 20 H, (C₆H₅)₄) ; 5,80-5,60 (m, 2 H, CH=CH) ; 5,00-4,70 (m, 5 H, (CH₂-Ph)₂ et CH-2" THP) ; 4,91 et 4,76 (2 sl, 4 H, (CH₂-Ph)₂) ; 4,15-3,90 (m, 9 H, dont H-2, CH₂-6" THP, CH₂ crotylique) ; 3,80-3,70 (m, 1 H) ; 3,60-3,45 (m, 2 H dont H-5), 3,38 (dd, ³J = 9,8, ³J = 2,2, 1 H, H-1 ou H-3) ; 3,26 (dd, ³J = 9,8, ³J = 2,2, 1 H, H-1 ou H-3) ; 2,00-1,50 (m, 9 H, dont 6 H THP et à 1,74 (d, ³J = 5,2, 3 H, CH₃)).

2.1.4. Passage en série carbonylée

2.1.4.1. Synthèse des inososes

2.1.4.1.1. Oxydation de l'alcool en 2 du cycle inositol par la réaction de Swern

(±)-3,4,5,6-Tétra-O-benzyl-1-O-crotyl-2-inosose ; $C_{38}H_{40}O_6$: 592,74 $g \cdot mol^{-1}$ (167)



Le DMSOa (6,3 éq., 0,45 mL, 6,3 mmol) est dilué par 10 mL de DCMa et placé à $-78^{\circ}C$ sous argon. On ajoute goutte à goutte 5 éq. de chlorure d'oxalyle (0,45 mL, 5,0 mmol). On laisse revenir à T. A. pendant 10 min, puis on replace le MR à $-78^{\circ}C$. On injecte goutte à goutte 1 éq. de (±)-3,4,5,6-tétra-O-benzyl-1-O-crotyl-*myo*-inositol (594 mg, 1 mmol, produit patrimoine)³⁰¹ en solution dans 10 mL de DCMa. Au bout de 40 min la TEA (20 éq., 2,79 mL, 20 mmol) est versée dans le MR qui revient à T. A. durant 20 min. Le MR est dilué par 40 mL de DCM, lavé deux fois par 50 mL d'eau distillée puis par deux fois 50 mL de saumure. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée et évaporée à sec. On purifie sur colonne de silice. Le produit n'est pas isolé.

• **2° essai** : la réaction est refaite dans les mêmes conditions exceptées :

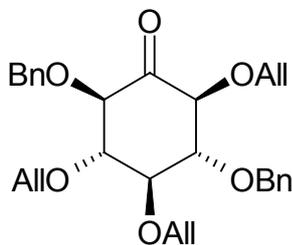
- l'inositol de départ employé est le (±)1,4,5-tri-O-allyl-3,6-di-O-benzyl-*myo*-inositol **154**,
- la durée de réaction à T. A. est de 72 h, seul le produit initial est récupéré (74 %).

• **3° essai** : la réaction est refaite dans les conditions du 2° essai exceptées :

- après 24 h à T. A. sans évolution on ajoute un mélange identique DMSOa-(COCl)₂, on replace le MR 24 h à T. A., puis sous reflux pendant 1 h,
- un nouveau produit migre au R_f de 0,65 vs produit initial **154** (dont il reste une grande proportion) de R_f 0,33 (CCM éluee par un mélange éther-hexane 1/1),
- on laisse à reflux 48 h, le MR n'a semble-t-il pas évolué. Le produit **167** n'a pas été retrouvé après élution.

2.1.4.1.2. Oxydation de l'alcool en 2 du cycle inositol par le chlorochromate de pyridinium (PCC)

(±)1,4,5-Tri-O-allyl-3,6-di-O-benzyl-2-inosose ; $C_{29}H_{34}O_6$: 478,59 $g \cdot mol^{-1}$ (166)



Le (±)1,4,5-tri-O-allyl-3,6-di-O-benzyl-*myo*-inositol **154** (620 mg, 1,29 mmol) dissous dans 10 mL de DCMa est mis à réagir avec 560 mg de PCC (2 éq., 2,60 mmol) pendant 24 h à T. A., puis le MR est évaporé à sec. On purifie les produits **154** et **166** sur colonne de silice (élution AcOEt-hexane 1/1). Le R_f de l'inosose est de 0,58 vs inositol initial **154** de R_f 0,28 (CCM éther-hexane 1/1). Ils sont recueillis respectivement à raison de 200 mg (32 %) et 160 mg (26 %).

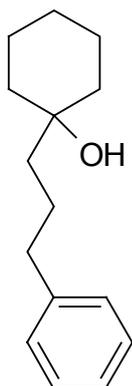
IR (KBr) : 1730 cm^{-1} , forte et fine (C=O).

SM ESI⁺ : aucun pic n'est observé (pas d'ionisation).

RMN : globalement possible, les δ apparaissent conformes aux signaux attendus, mais la résolution du spectre est insuffisante.

2.1.4.2. Réactions de Grignard (schémas 8 et 9)

1-(3'-Phénylpropane)-cyclohexan-1-ol ; C₁₅H₂₂O : 218,34 g•mol⁻¹ (171)



Le 1-bromo-3-phényl-propane (10 mmol, 1,52 mL) est dilué dans le THFa sous argon. On ajoute le magnésium (4 éq., 16 mmol) ainsi que 10 µL de Br(CH₂)₂Br et un cristal de I₂ pour raison catalytique, puis le MR est placé à 60°C durant 18 h. On transfère l'organomagnésien précédemment formé et on ajoute la cyclohexanone goutte à goutte dans le THFa à -78°C. On agite 30 min à cette température. On poursuit par 3 extractions avec 50 mL de DCM, séchage sur MgSO₄ des phases organiques rassemblées que l'on évapore à sec. On purifie sur colonne de silice éluée par un mélange éther-hexane 1/9. Sur CCM, le 1-(3'-phénylpropane)-cyclohexan-1-ol **171** a un R_f = 0,56 vs 0,66 pour la cyclohexanone après élution par un mélange éther-hexane 1/1. Le ρ maximum (5 essais) obtenu avec le 1-bromo-3-phényl-propane est de 25 %.

SM ESI⁺ (M+H⁺) (C₁₅H₂₃O) : calc. 219,17 ; obs. 219,17.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,30-7,15 (m, 5 H, C₆H₅) ; 3,65 (s, 1 H, OH) ; 2,63 (t, ³J = 7,5, 2 H, CH₂-1) ; 2,40-1,90 (m, 2 H, CH₂-2 ou 3) ; 1,80-1,10 (m, 12 H, CH₂-3 ou 2 et C₆H₁₀).

• On emploie à nouveau ce protocole avec la cyclohexanone mise en réaction (à 60°C, durant 4 à 18 h) :

- avec le 4-chloro-butane ; observation d'un nouveau produit de R_f = 0,56 vs 0,66 (éther-hexane 1/1) pour la cyclohexanone, forte suspicion du produit 1-butyl cyclohexan-1-ol **169**, traces observées par RMN-¹H (inexploitable, trop de bruit de fond, idem avec CD₃OD), RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 3,68 (s, 1 H) ; 2,50-1,10 (7 m, 2+2+1+9+3+2 H),
- avec le 3-chloro-propan-1-ol, l'intermédiaire CIMg-Pr-OMgl est préalablement formé *in situ*, le produit couplé 1-(propan-3'-ol) cyclohexan-1-ol **170** est observé par RMN, mais de pureté insuffisante (traces),
- avec la 9-N-(2'-chloro-éthyl)-adénine (**155**) : pas de produit couplé 9-N-(2'-(cyclohexan-1''-ol)-éthyl)-adénine **172**, la 9-N-(2'-chloro-éthyl)-adénine (**155**) est récupérée à 95 %.

• Avec une autre cétone modèle, la benzophénone :

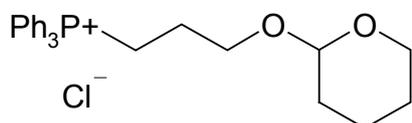
- réaction du 3-chloro-propan-1-ol, l'intermédiaire CIMg-Pr-OMgl est préalablement formé *in situ*. Par révélation UV de la CCM du MR nous n'observons que la cétone initiale, le produit couplé 1,1-diphényl butan-1,4-diol **173** ne semble pas se former.

• Avec l'inosose **168** :

- réaction du 3-chloro-propan-1-ol, l'intermédiaire CIMg-Pr-OMgl est préalablement formé *in situ* : pas d'évolution du MR sur CCM, le produit couplé (±)-3,6-di-O-benzyl-1,4,5-tri-O-crotyl-2-propan-3'-ol-*myo*-inositol **174** n'est pas détecté.

2.1.4.3. Réaction d'oléfination de Wittig sur l'inosose 166

Préparation d'un réactif de Wittig (263)

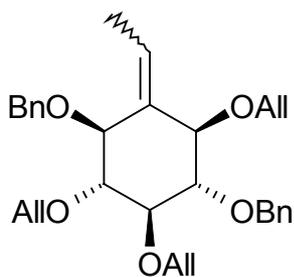


On dissout 1,08 g de PPh₃ (4,08 mmol) ainsi que 880 mg de 1-chloro-3-O-tétrahydropyranyl-propan-3-ol (**162**) (1,2 éq., 4,92 mmol) dans 20 mL de mélange toluène-benzène 3/7. On ajoute un cristal de I₂ catalytique. Au bout de 12 h il reste au moins 90 % des

réactifs, le MR est placé à 55°C et on ajoute 1 éq. de I₂ (1,25 g). Au bout de 24 h il ne reste plus d'alcool protégé initial. Le MR est évaporé à sec et placé sur la pompe à palettes. D'autres essais en conditions plus douces ont abouti à une réaction incomplète d'après RMN. Des essais de recristallisation se sont révélés infructueux ($\rho < 5\%$).

Les difficultés de purification (pureté insuffisante par la présence importante de triphénylphosphine, excès de protons aromatiques constaté par RMN), et de caractérisation des sels synthésés (composition incertaine due à d'autres sels formés) nous ont conduits à préférer un réactif commercial pour tenter la réaction.

(±)1,4,5-Tri-O-allyl-3,6-di-O-benzyl-2-déhydroxy-2-(Z/E)méthyl-éthène-myo-inositol ; C₃₁H₃₈O₅ : 490,64 g•mol⁻¹ (175)

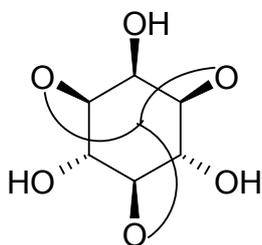


Dans un bicol sous argon, placé à 0°C et contenant 10 mL d'éther sec, on ajoute 117 mg de bromure d'éthyl (triphényl)phosphonium (1,51 éq., 315 μ mol) auquel on additionne 36 mg (1,5 éq.) de *tert*-butanolate de potassium. Au bout d'une heure, le MR devenu rapidement jaune orangé est placé à -20°C et on ajoute 96 mg de (±)1,4,5-tri-O-allyl-3,6-di-O-benzyl-2-inosose (**166**, 1 éq., 201 μ mol). On remet à T. A. au bout de 15 min et on laisse réagir durant 48 h. Par CCM on relève une tache très intense de l'inosose initial **166**, on injecte 0,5 mL de HMPT dans le MR et à nouveau 10 mL d'éther sec. En l'absence d'évolution au bout des 48 h suivantes on ajoute 1,5 éq. de BuLi (125 μ L) à 0°C. Le MR est évaporé à sec au bout des 20 h suivantes, puis repris dans 100 mL de DCM. On procède à un lavage par 100 mL de solution aqueuse saturée en NH₄Cl. La phase aqueuse est réextraite par 3 fois 100 mL de DCM. On sèche les phases organiques rassemblées sur MgSO₄, on les filtre et les évapore à sec. On monte une colonne de 60 g de SiO₂ avec AcOEt-heptane 1/4 et 0,1 % de TEA. On ne recueille que l'inosose initial **166** (env. 50 mg).

2.2. Nouvelle voie de synthèse : à partir du myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate

2.2.1. Synthèse du nouvel intermédiaire de couplage 191

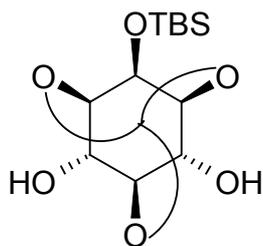
Myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₇H₁₀O₆ : 190,15 g•mol⁻¹ (183) ^{328, 329, 331}



Le myo-inositol **1** (15,0 g, 83,3 mmol) est dispersé dans 200 mL de DMFa sous argon. On ajoute 0,25 éq. de *p*TSA monohydrate (21,0 mmol, 4,00 g) et le MR est chauffé à 140°C et devient translucide. On ajoute goutte à goutte l'orthoformate de triéthyle (1,8 éq., 150 mmol, 25,0 mL) et le MR est laissé à réagir durant 3 h. Après retour à T. A., 50 mL d'une solution aqueuse saturée en NaHCO₃ sont versés dans le ballon et mélangés au MR pendant 30 min. Puis le MR est évaporé à sec, repris dans 400 mL de MeOH à 50°C. Le MR est filtré et 2,70 g d'inositol (**1**) de départ (18 %) sont récupérés dans le filtre. On cristallise l'orthoester **183** dans du chloroforme (12,6 g de cristaux beiges : 80 %, Pf = 300°C, litt. $\rho = 76\%$, Pf = 300-302°C ³²⁸ et litt. $\rho = 91\%$, cristaux incolores, Pf = n. d., ³²⁹ litt. $\rho = 80\%$, cristaux, Pf = n. d. ³³¹).

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-D₆) : 5,44 (s, 3 H éch., (OH)₃) ; 5,41 (d, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; 4,28 (t, ³J = 3,8, 2 H, H-4 et H-6) ; 4,06 (dtd, ³J = 3,4, ³J = 3,4, ³J = 1,9, 1 H, H-2) ; 4,00 (qd, ³J = 4,7, ³J = 1,9, 1 H, H-5) ; 3,95 (t, ³J = 1,9, 1 H, H-1 ou H-3) ; 3,94 (t, ³J = 1,9, 1 H, H-1 ou H-3).

(±)-2-O-*Tert*-butyldiméthylsilyl-*myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₁₃H₂₄O₆Si : 304,42 g·mol⁻¹ (184)³²⁸⁻³³¹



Le *myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate (**183**, 12,3 g 64,7 mmol) est mélangé dans 60 mL de DMFa à 2,5 éq. d'imidazole (163 mmol, 11,0 g) sous argon. Le MR est placé à 0°C et 1,2 éq. de TBSCl sont ajoutés (78,1 mmol, 11,7 g). La réaction revient à T. A. et est laissée à évoluer durant 48 h. Le MR est évaporé à sec puis déposé, dans un peu de DCM, sur colonne de silice éluée avec un mélange éther-heptane 1/2. On obtient 9,48 g (48 %, litt. $\rho = 48$ %, ³²⁸ $\rho = 58$ %, ³²⁹ $\rho = 74$ % ³³¹) du produit monosilylé **184**, de R_f = 0,21 (éluant éther-heptane 1/1), sous la forme de fins cristaux blancs (Pf = 180°C, litt. 179-181°C, ³²⁸ n. d., ³²⁹ et 167-169°C ³³¹).

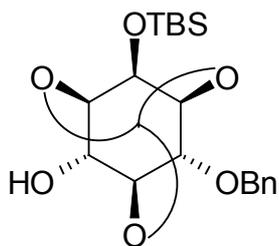
SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₁₃H₂₄O₆SiNa) : calc. 327,12 ; obs. 327,1.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 5,51 (d, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; 4,60-4,55 (m, 2 H, H-4 et H-6) ; 4,30-4,25 (m, 2 H, H-2 et H-5) ; 4,16 (td, ³J = 2,8, ³J = 1,6, 2 H, H-1 et H-3) ; 3,36 (d, ³J = 7,5, 2 H éch., (OH)₂) ; 0,96 (s, 9 H, tBu) ; 0,17 (s, 6 H, (CH₃)₂).

• Le (±)-2,4-di-O-*tert*-butyldiméthylsilyl-*myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate **185** (C₁₉H₃₈O₆Si₂ : 418,68 g·mol⁻¹) est également obtenu à raison de 6,84 g (25 %, R_f = 0,74 dans éther-heptane 1/1) sous la forme de gros cristaux blancs (Pf = 77°C, litt. 79-81°C (75-78°C, référence interne)³³⁰ et 77°C ³³¹).

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 5,51 (d, ⁴J = 1,0, 1 H, HC(OCH)₃) ; 4,59 (td, ³J = 4,1, ³J = 2,2, 1 H, H-6) ; 4,45 (dtd, ³J = 10,0, ³J = 4,1, ³J = 2,2, 1 H, H-4) ; 4,27 (q, ³J = 1,2, 1 H, H-2) ; 4,20-4,15 (m, 2 H, H-1 et H-3) ; 4,04 (td, ³J = 4,1, ³J = 2,2, 1 H, H-5) ; 3,84 (d, ³J = 10,0, 1 H éch., OH) ; 0,96 (s, 9 H, tBu) ; 0,93 (s, 9 H, tBu) ; 0,20 (s, 3 H, CH₃) ; 0,17 (s, 3 H, CH₃) ; 0,16 (s, 6 H, (CH₃)₂).

(±)-6-O-Benzyl-2-O-*tert*-butyldiméthylsilyl-*myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₂₀H₃₀O₆Si : 394,54 g·mol⁻¹ (186)³²⁹



L'orthoformate d'inositol silylé **184** (10,1 g, 33,2 mmol) est dissous sous argon dans 15 mL de DMFa. Le ballon est placé à 0°C puis on incorpore 1 éq. de NaH (1,33 g). On laisse se former l'alcoolate pendant une trentaine de min et on ajoute 1 éq. de BnBr (4,05 mL) goutte à goutte à 0°C ainsi que 0,6 mL de HMPT. Après une nuit de réaction, on observe sur plaque de CCM une trace de dérivé dibenzylé (R_f = 0,78) et une tache intense du produit attendu dont le R_f est de 0,57 (CCM éther-heptane 1/1).

Le MR est précipité par de l'eau glacée, puis dilué par de l'eau distillée (env. 200 mL) et additionné de NaCl à saturation. On extrait cette phase aqueuse par trois fois avec 200 mL d'éther. On sèche sur MgSO₄ les phases organiques rassemblées et en partie évaporées à l'évaporateur rotatif. Cette phase reconcentrée est ensuite filtrée sur papier et évaporée à sec. On obtient après purification sur colonne de silice (dépôt liquide de 19,5 g de liquide jaune orange sur gel de 250 g de silice dans mélange éluant éther-heptane 1/2 + 0,1 % TEA) : 1,81 g de réactif **184** (18 %), 0,27 g de mélange des produits mono et dibenzylés, 7,80 g de produit monobenzylé **186** (liquide translucide légèrement jaune, 60 %, litt. 99 %, huile après colonne, recristallisation hexane, Pf = 51-53°C).³²⁹

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 7,40-7,30 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,47 (s, 1 H, HC(OCH)₃) ; 4,65 (s, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,40-4,10 (m, 6 H, H Ins) ; 3,63 (d, ³J = 10,0, 1 H éch., OH) ; 0,95 (s, 9 H, tBu) ; 0,14 (s, 6 H, (CH₃)₂).

• (\pm)-4,6-Di-*O*-benzyl-2-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl-*myo*-inositol 1,3,5-*O*-orthoformate **187** isolé ultérieurement (huile translucide jaune, traces de graisses et de BnBr, litt. huile visqueuse)³²⁸ :

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 7,31 (sl, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 5,57 (s, 1 H, HC(OCH)₃) ; 4,66 (sl, 4 H, (CH₂-C₆H₅)₂) ; 4,40-4,20 (m, 6 H, *H* Ins) ; 0,95 (s, 9 H, *t*Bu) ; 0,14 (s, 6 H, (CH₃)₂).

• D'autres dérivés sont observés lors de resynthèses. Le (\pm)-6-*O*-benzyl-*myo*-inositol 1,3,5-*O*-orthoformate **188** (non *meso*, vérifié par RMN) a été également observé fréquemment et isolé lors de resynthèses (jusqu'à 30 %) sous la forme d'une huile translucide légèrement jaune (R_f = 0,14, éther-heptane 2/1).³²⁹

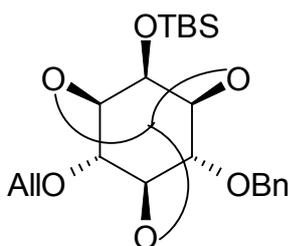
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,45-7,25 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,55 (d, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta$ = 0,03, J_{AB} = 11,6, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,55-4,45 (m, 2 H, *H*-4 et *H*-5) ; 4,35-4,20 (m, 3 H, *H*-1, *H*-3, *H*-6) ; 4,15-4,10 (m, 1 H, *H*-2) ; 3,75 (d, ³J = 10,2, 1 H éch., *OH*) ; 3,16 (d, ³J = 11,8, 1 H éch., *OH*).

• Le (\pm)-6-*O*-benzyl-2,4-di-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl-*myo*-inositol 1,3,5-*O*-orthoformate **264** (pâte blanche) a été isolé une seule fois, lors d'une autre réaction faite dans les mêmes conditions, mais sur 33,0 g de réactif **184**, avec un rendement de 4 % (R_f = 0,66, éther-heptane 1/1).

SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₂₆H₄₄O₆Si₂Na) : calc. 531,26 ; obs. 531,2. Sa présence peut résulter d'une trans-silylation comme d'une purification insuffisante à l'étape précédente.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 7,40-7,30 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,55 (d, ⁴J = 1,1, 1 H, HC(OCH)₃) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta$ = 0,09, J_{AB} = 12,0, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,60-4,50 (m, 1 H, *H* Ins) ; 4,45-4,40 (m, 1 H, *H* Ins) ; 4,35-4,30 (m, 1 H, *H* Ins) ; 4,30-4,20 (m, 1 H, *H* Ins) ; 4,20-4,15 (m, 1 H, *H* Ins) ; 4,00-3,95 (m, 1 H, *H* Ins) ; 0,99 (s, 9 H, *t*Bu) ; 0,86 (s, 9 H, *t*Bu) ; 0,19 (s, 6 H, (CH₃)₂) ; 0,11 (s, 6 H, (CH₃)₂).

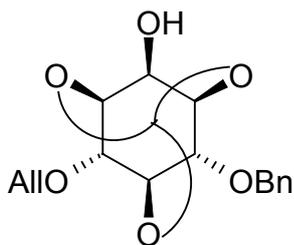
(\pm)-4-*O*-Allyl-6-*O*-benzyl-2-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl-*myo*-inositol 1,3,5-*O*-orthoformate ; C₂₃H₃₄O₆Si : 434,61 g·mol⁻¹(**189**)



Le (\pm)-6-*O*-benzyl-2-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl-*myo*-inositol 1,3,5-*O*-orthoformate (**186**, 100 mg, 253 μ mol) est dissous sous argon dans 4 mL de DMF anhydre. Le ballon est placé à 0°C puis on incorpore 1,3 éq. de NaH (329 μ mol, 13,2 mg). On laisse se former l'anion pendant une vingtaine de min et on ajoute 1,3 éq. d'AlI₂Br (40 μ L) goutte à goutte ainsi que quelques cristaux catalytiques de NaI. On rajoute par la suite (au bout de 12 h) les mêmes quantités de réactifs dans les mêmes conditions. Après une nuit de réaction le MR est traité par de la glace pilée, puis dilué par de l'eau distillée (env. 100 mL) et extrait avec 100 mL d'AcOEt. La phase organique est lavée par une solution aqueuse à 10 % de Na₂S₂O₃ (50 mL). On sèche sur MgSO₄ la phase organique recueillie et on la filtre sur papier. Elle est évaporée puis reprise par du toluène (10 mL). On purifie sur colonne de silice et on obtient 107 mg (97 %) de produit **189** (huile incolore) de R_f 0,73 par CCM éluee par éther-heptane 1/1.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 7,45-7,25 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,87 (ddt, ³J_{trans} = 17,3, ³J_{cis} = 10,5, ³J = 5,4, 1 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,53 (dl, ⁴J = 1,5, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,27 (qd, ³J_{trans} = 17,4, ²J = 1,7, 1 H, OCH₂CH=CH*H*_{trans}) ; 5,18 (qd, ³J_{cis} = 11,7, ²J = 1,5, 1 H, OCH₂CH=CH*H*_{cis}) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta$ = 0,08, J_{AB} = 11,7, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,45-4,25 et 4,25-3,95 (2 m, 8 H, OCH₂CH=CH₂, *H*-1, *H*-2, *H*-3, *H*-4, *H*-5, *H*-6) ; 0,95 (s, 9 H, C(CH₃)₃) ; 0,15 (s, 6 H, C(CH₃)₂).

(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-*myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₁₇H₂₀O₆ : 320,35 g·mol⁻¹ (191)



Le (±)-4-O-allyl-6-O-benzyl-2-O-*tert*-butyldiméthylsilyl-*myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate (**189**, 86 mg, 198 μmol) est dissous dans 2 mL de THFa (sous Ar) à 0°C. On ajoute 1,1 éq. de Bu₄NF (à 1 M dans le THF), soit 0,22 mL. Après 30 min d'agitation, le MR est dilué par 50 mL d'AcOEt et lavé 2 fois par 25 mL de NaCl en

solution aqueuse saturée. On sèche sur MgSO₄, filtre sur papier et évapore à sec la phase organique. L'alcool **191** (R_f = 0,22, éther-heptane 2/1, huile incolore, 59 mg, 93 %) est purifié sur gel de silice élué par un mélange AcOEt-éther-heptane 1/2/1 (litt. gomme).³³⁰

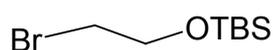
Microanalyses (%) calc. : C : 63,74 ; H : 6,29 ; trouvées : C : 63,06 ; H : 6,81.

SMHR ESI⁺ (M+Na⁺) (C₁₇H₂₀O₆Na) : calc. 343,1185 ; obs. 343,1299.

RMN-¹H (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 7,37 (sl, 5 H, C₆H₅) ; 5,88 (ddt, ³J_{trans} = 17,2, ³J_{cis} = 10,4, ³J = 5,0, 1 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,47 (dl, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,28 (qd, ³J_{trans} = 17,2, ²J = 1,5, 1 H, OCH₂CH=CHH_{trans}) ; 5,20 (qd, ³J_{cis} = 10,3, ²J = 1,3, 1 H, OCH₂CH=CHH_{cis}) ; , (AB, Δδ = 0,08, J_{AB} = 11,7, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,45 (tt, ³J = 3,4, ³J = 1,7, 1 H, H-5) ; 4,36 (td, ³J = 3,7, ³J = 1,7, 1 H, H-4) ; 4,32 (td, ³J = 3,7, ³J = 1,5, 1 H, H-6) ; 4,25 (td, ³J = 3,7, ³J = 1,8, 1 H, H-1) ; 4,23 (td, ³J = 4,0, ³J = 1,9, 1 H, H-3) ; 4,20-4,15 (m, 1 H, H-2) ; , (AB d'un système ABMXX', Δδ = 0,10, J_{AB} = 12,7, J_{AM} = J_{BM} = 5,7, J_{AX} = J_{AX'} = J_{BX} = J_{BX'} = 1,4, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; 3,28 (sl, H éch., 1 H, OH-2).

2.2.2. Synthèse de nouveaux espaceurs protégés

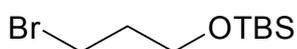
1-Bromo-2-O-*tert*-butyldiméthylsilyl-éthan-2-ol ; C₈H₁₉OSiBr : 239,23 g·mol⁻¹ (192)



Dans un bicol de 100 mL séché à l'étuve et mis sous argon sont ajoutés à T. A. et dans 40 mL de THFa, le bromoéthanol (3,00 mL, 40,0 mmol, 1 éq.), 0,05 éq. de DMAP (244 mg, 2,00 mmol) et 1,3 éq. de TEA (7,31 mL, 52,0 mmol). On ajoute par portions le chlorure de *tert*-butyldiméthylsilyle (7,09 g, 1,2 éq., 48,0 mmol). Après 20 h d'agitation sous atmosphère inerte, le MR est filtré sur célite, la célite est rincée par 4 × 25 mL de THF. L'ensemble des phases organiques est évaporé à sec et déposé sur un gel de 110 g de silice en éluant avec un mélange CH₂Cl₂-hexane 1/9. On obtient 7,25 g (76 %) d'halogénoalcool protégé **192** (liquide transparent) de R_f = 0,67 dans un mélange CH₂Cl₂-hexane 1/4.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 3,90 (t, ³J = 6,6, 2 H, O-CH₂) ; 3,40 (t, ³J = 6,5, 2 H, CH₂-Br) ; 0,91 (s, 9 H, *t*Bu) ; 0,09 (s, 6 H, (CH₃)₂).

1-Bromo-3-O-*tert*-butyldiméthylsilyl-propan-3-ol ; C₉H₂₁OSiBr : 253,26 g·mol⁻¹ (193)³³⁴

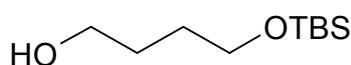


Dans un bicol sec et mis sous argon sont introduits à T. A. 40,0 mmol de propan-1-ol (3,75 mL), dans 20 mL de THFa, 1,3 éq. de TEA (52 mmol, soit 7,31 mL) et 0,05 éq. (2,00 mmol, soit 244 mg) de DMAP. Après quelques min, 1,2 éq. de TBSCl (48,0 mmol, soit 7,09 g) est adjoint au milieu par portions

de un gramme environ. Le MR devient laiteux, prend en masse (mousse épaisse blanche) et chauffe, on injecte alors 10 mL de THFa. Après 36 h de réaction le MR est versé dans 100 mL de solution aqueuse saturée en NH_4Cl . On procède à des extractions au DCM (3×200 mL). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , puis filtrées sur papier et évaporées à sec. On dépose 11,2 g de liquide incolore avec une faible proportion de petits cristaux blancs (solubles dans le DCM) sur gel de silice que l'on élue avec un mélange éther-heptane-DCM 3/6/1. On obtient après séchage sur la pompe à palettes 9,82 g de l'halogénoalcool silylé **193** ($R_f = 0,67$, DCM-heptane 1/4) sous la forme d'un liquide incolore (97 %, litt. 99,5 %, huile incolore).³³⁴

RMN-¹H (300 MHz, CDCl_3) : 3,75 (t, $^3J = 5,69$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-O}$) ; 3,53 (t, $^3J = 6,45$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-Br}$) ; 2,05 (qu, $^3J = 5,78$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$) ; 0,92 (sl, 9 H, tBu) ; 0,09 (sl, 6 H, Me_2).

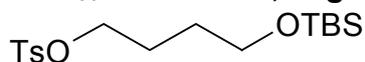
1-O-Tert-butyldiméthylsilyl-butan-1,4-diol ; $\text{C}_{10}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Si}$: 204,39 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (195)³³⁴



On ajoute au butan-1,4-diol (500 mmol, 44,3 mL), à 0°C, dans 500 mL de THFa et sous argon, 1 éq. de TEA (soit 70,0 mL) et 600 mg de DMAP. Après quelques min l'agent de silylation TBSCl est adjoint par portions au milieu à raison de 200 mmol (0,2 éq. / fonction réactive) soit 29,6 g. Le MR est maintenu à 0°C pendant 30 min puis revient à T. A.. Après une nuit de réaction le MR est versé dans 400 mL de solution aqueuse saturée de NaCl. On procède à des extractions au DCM (3×500 mL). Lors de la première extraction, la phase aqueuse laiteuse est plus dense que la phase organique. Les phases organiques combinées sont séchées sur MgSO_4 , puis filtrées sur papier et évaporées à sec. On dépose 56,0 g de liquide incolore avec une faible proportion de liquide pâteux blanc sur gel de 300 g de silice que l'on élue avec un mélange équimoléculaire d'éther et d'heptane. On obtient après séchage sur la pompe à palettes 33,6 g de liquide incolore (82 % du TBSCl utilisé). La chaîne silylée **195** a un R_f de 0,43 sur CCM élue par un mélange éther-heptane 2/1.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl_3) : 3,66 (m, 4 H, $(\text{O-CH}_2)_2$) ; 2,98 (sl, 1 H, OH) ; 1,59 (m, 4 H, $(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2)_2$) ; 0,86 (sl, 9 H, tBu) ; 0,03 (sl, 6 H, Me_2).

1-O-Tosyl-4-O-tert-butyldiméthylsilyl-butan-1,4-diol ; $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{O}_4\text{SiS}$: 358,58 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (196)



La chaîne silylée **195** (33,6 g, 164 mmol) est diluée dans un mélange de 250 mL d'éther sec et de 250 mL de pyridine sous argon et à 0°C pendant 10 min. On ajoute 34,8 g de chlorure de tosyloxy (180 mmol, 1,1 éq.), le MR revient à T. A. et après une nuit, le MR est évaporé à sec et séché quelques heures à la pompe à palettes. Sur CCM (éther-heptane 1/1) on constate l'absence du produit de départ de R_f 0,28 et l'apparition d'un produit majoritaire de R_f 0,52 (fluorescent à 254 nm), ainsi qu'une autre tache de R_f 0,91 invisible aux UV mais révélée par l'acide phosphomolybdique. Le brut évaporé est repris dans 1 L de CH_2Cl_2 et lavé avec 500 mL de solution aqueuse saturée de NaCl. La phase aqueuse est réextraite par 500 mL de CH_2Cl_2 . Les phases organiques combinées sont séchées sur MgSO_4 , puis filtrées sur papier et évaporées à sec. On obtient 55,4 g de cristal blanc un peu huileux (après une nuit sur la pompe à palettes). Après purification sur deux colonnes de 300 g de silice, on

obtient 42,5 g de liquide incolore contenant les deux produits. Leur proportion, déterminée par RMN, permet de déterminer un rendement de 65 % pour le produit attendu tosylé **196**. Une purification sur une plus petite quantité permet de recueillir les produits purs pour les analyses RMN.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,81 (d, ³J = 8,10, 2 H, C₆H₄) ; 7,36 (d, ³J = 8,10, 2 H, C₆H₄) ; 4,07 (t, ³J = 6,54, 2 H, CH₂-OTs) ; 3,57 (t, ³J = 5,93, 2 H, CH₂-OTBS) ; 2,46 (s, 3 H, CH₃-C₆H₄) ; 1,73 (qu, ³J = 6,87, 2 H, CH₂-C) ; 1,52 (qu, ³J = 6,87, 2 H, CH₂-C) ; 0,86 (sl, 9 H, *t*Bu) ; 0,01 (sl, 6 H, Me₂).

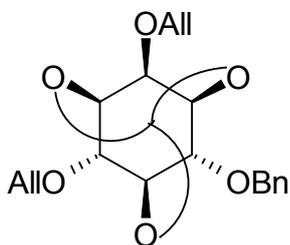
• Le 1-*O*-*tert*-butyldiméthylsilyl 4-(4'-*O*-*tert*-butyldiméthylsilylbutoxy)-butane **197** observé au R_f de 0,91 correspond à une dimérisation du réactif silylé **195** en un composé dimérique (éther) de formule (TBSO(CH₂)₄)₂O (soit C₂₀H₄₆O₃Si₂ : 390,76 g•mol⁻¹), recueilli sous la forme d'un liquide incolore (24 % du réactif consommé, selon proportion calculée par RMN).

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 3,66 (t, ³J = 6,24, 4 H, 2 CH₂-OTBS) ; 3,59 (t, ³J = 6,71, 4 H, CH₂-O-CH₂) ; 1,88 (qu, ³J = 6,87, 4 H, (CH₂-CH₂-CH₂)₂) ; 1,69 (qu, ³J = 6,84, 4 H, (CH₂-CH₂-CH₂)₂) ; 0,90 (sl, 18 H, (*t*Bu)₂) ; 0,06 (sl, 12 H, (Me₂)₂).

Le mélange des deux chaînes **196** et **197** peut être utilisé en l'état pour le couplage sur l'alcool de l'inositol **191**.

2.2.3. Couplage des espaceurs sur la position 2 du composé **191** (voir tableau 8)

(±)-2,4-di-*O*-Allyl-6-*O*-benzyl-*myo*-inositol 1,3,5-*O*-orthoformate ; C₂₀H₂₄O₆ : 360,41 g•mol⁻¹ (**190**)



À une solution de l'alcool **191** (600 mg, 1,87 mmol) dans le DMFa (80 mL) est ajouté à 0°C le NaH (1 éq., 75 mg). On laisse revenir à T. A. pendant 10 min. Le 1-bromo-3-chloro-éthane (1,1 éq., 2,06 mmol, 170 µL) est ajouté goutte à goutte. On catalyse la réaction à l'aide de quelques cristaux de NaI. Après 3 h de

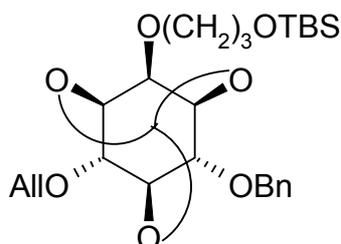
réaction, on constate une forte présence (70-80 %) de réactif **191** (R_f de 0,24 dans éther-hexane 1/1) et l'apparition d'un nouveau produit (R_f de 0,40 dans éther-hexane 1/1). On ajoute après 24 h 0,6 éq. de NaH à 0°C (45 mg) et 0,5 éq. du dihalogénure (80 µL). On ne constate pas d'évolution au bout de 3 h par CCM. On rajoute 200 mg de NaH (2,67 éq.) à 0°C ainsi que 200 µL de [15-5] et des cristaux de NaI. On constate après 48 h que tout l'alcool **191** est consommé. On traite les hydrures non réactants par ajout de 3 ml d'eau glacée. Le MR est dilué dans 150 mL d'une solution aqueuse saturée en NH₄Cl puis extrait par 3 × 150 mL d'éther. Les phases étherées combinées sont séchées avec MgSO₄, filtrées et évaporées à sec. Le brut d'extraction est chromatographié sur gel de silice (100 g) en éluant avec éther-hexane 1/2 puis 1/1. On obtient 670 mg (99 %) du produit diallylé **190** (huile incolore, R_f identique à celui dans le MR avant traitement de la réaction) qui a subi une élimination sur l'espaceur halogéné couplé sur l'hydroxyle 2 de l'inositol **191**.

Ce résultat est obtenu également avec le 1-bromo-propan-3-ol.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,40-7,30 (m, 5 H, C₆H₅) ; 6,10-5,80 (m, 2 H, (OCH₂CH=CH₂)₂) ; 5,54 (d, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,34 (qd, ³J_{trans} = 12,0, ²J = 1,6, 1 H,

OCH₂CH=CH*H*_{trans}) ; 5,29 (qd, ³J_{trans} = 12,0, ²J = 1,6, 1 H, OCH₂CH=CH*H*_{trans}) ; 5,24 (qd, ³J_{cis} = 4,5, ²J = 1,4, 1 H, OCH₂CH=CH*H*_{cis}) ; 5,20 (qd, ³J_{cis} = 4,4, ²J = 1,4, 1 H, OCH₂CH=CH*H*_{cis}) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta$ = 0,12, J_{AB} = 11,9, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,45 (dtd, ³J = 3,3, ³J = 3,3, ³J = 1,6, 1 H, *H*-5) ; 4,40-4,35 (m, 2 H, *H* Ins) ; 4,35-4,30 (m, 2 H, *H* Ins) ; 4,20-4,10 (m, 2 H, (OCH₂CH=CH₂)₂) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABMXX', $\Delta\delta$ = 0,06, J_{AB} = 12,8, J_{AM} = 5,4, J_{BM} = 5,7, J_{AX} = J_{AX'} = 1,4, J_{BX} = J_{BX'} = 1,5, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; 4,00-3,95 (m, 1 H, *H*-2).

(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-2-O-(3'-O-tert-butylidiméthylsilyl-propyl) myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₂₆H₄₀O₇Si : 492,69 g·mol⁻¹ (198)



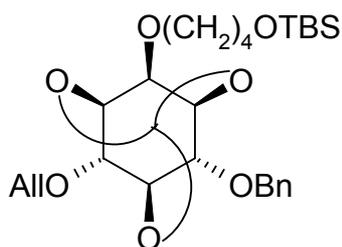
À une solution de l'alcool **191** (4,95 g, 15,5 mmol) dans le DMFa (80 mL) est ajouté à 0°C le NaH (1,3 éq., 20,1 mmol, 804 mg). On laisse revenir à T. A. pendant 25 min. Le bromo-propanol silylé **193** (1,3 éq., 5,09 g) est ajouté goutte à goutte. On catalyse la réaction à l'aide d'un cristal d'iode.

Après une nuit de réaction on traite les hydrures non réactants par ajout à 0°C d'environ 2 ml d'eau glacée. Le MR est dilué dans 200 mL d'éther et lavé par une solution aqueuse saturée en NaCl (200 mL). Cette dernière est extraite à l'éther (2 × 200 mL). Les phases étherées combinées sont séchées avec MgSO₄, filtrées et évaporées à sec. Le résidu (9,36 g) est chromatographié sur gel de silice (100 g) en éluant avec un mélange éther-heptane 1/1.

On obtient 1,91 g de réactif **191** (39 %, R_f = 0,18, CCM éther-heptane 1/1) et 4,79 g de produit couplé **198** (huile visqueuse avec une partie des graisses de l'hydrure, 63 % en l'état, R_f = 0,51).

RMN-¹H (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 7,40-7,30 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,90 (ddt, ³J_{trans} = 17,2, ³J_{cis} = 10,6, ³J = 5,7, 1 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,52 (d, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,29 (qd, ³J_{trans} = 17,2, ²J = 1,5, 1 H, OCH₂CH=CH*H*_{trans}) ; 5,21 (qd, ³J_{cis} = 10,4, ²J = 1,3, 1 H, OCH₂CH=CH*H*_{cis}) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta$ = 0,11, J_{AB} = 11,8, 2 H, CH₂C₆H₅) ; 4,43 (dtd, ³J = 3,4, ³J = 3,4, ³J = 1,6, 1 H, *H*-5) ; 4,35-4,30 (m, 2 H, *H* Ins) ; 4,30-4,25 (m, 2 H, *H* Ins) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABMXX', $\Delta\delta$ = 0,08, J_{AB} = 12,6, J_{AM} = 5,7, J_{BM} = 5,6, J_{AX} = J_{AX'} = 1,5, J_{BX} = J_{BX'} = 1,2, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; 3,87 (m, 1 H, *H*-2) ; 3,74 (t, ³J = 5,9, 2 H, CH₂-3') ; 3,68 (t, ³J = 6,3, 2 H, CH₂-1') ; 1,87 (qu, ³J = 6,2, 2 H, CH₂-2') ; 0,90 (s, 9 H, C(CH₃)₃) ; 0,06 (s, 6 H, C(CH₃)₂).

(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-2-O-(4'-O-tert-butylidiméthylsilyl-butyl) myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₂₇H₄₂O₇Si : 506,72 g·mol⁻¹ (199)



L'alcool **191** (1,91 g, 5,96 mmol) est dissous dans 50 mL de DMFa sous argon. On y ajoute 1,3 éq. de NaH (7,75 mmol, 310 mg) à 0°C pendant 5 min puis on remet à T. A. 15 min. On injecte le réactif tosylé **196** (1,25 éq., 2,45 g) goutte à goutte et on laisse la réaction évoluer une nuit. Sur CCM (éther-heptane

1/1) on constate la disparition de la chaîne tosylée (normalement au R_f 0,40) et un reste de l'alcool réactif **191** (de R_f 0,15), ainsi qu'un produit majoritaire de R_f 0,46 et un produit minoritaire de R_f 0,21. On traite les hydrures avec env. 5 mL d'eau glacée et on ajoute 200

mL de phase aqueuse saturée de NaCl. On extrait la phase aqueuse par 3 fois 250 mL d'éther. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄ puis filtrées sur papier et évaporées à sec. On obtient après 2 purifications sur colonne chromatographique de silice (2 × 100 g de SiO₂, élution éther-heptane 1/1, puis éther seul) 0,40 g de réactif **191** (21 %), 2,02 g du produit couplé silylé attendu **199** (67 %, pâte blanche) et 0,12 g du produit **200** (de R_f 0,21, pâte jaune pâle) qui correspond à l'inositol **191** estérifié en 2 par un tosyl (C₂₄H₂₆O₈S : 474,53 g•mol⁻¹, 4 %). Il reste un mélange de 0,42 g contenant les inositols diversement substitués en 2, **199** et **200**.

SMHR ESI⁺ (M+Na⁺) (C₂₇H₄₂O₇SiNa) calc. 529,2598 ; obs. 529,2578.

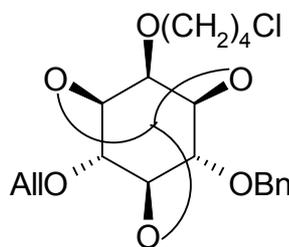
RMN-¹H (600 MHz, COSY, HSQC, CDCl₃) : 7,4-7,3 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,90 (ddt, ³J_{trans} = 17,2, ³J_{cis} = 10,4, ³J = 5,7, 1 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,51 (s, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,29 (qd, ³J_{trans} = 17,2, ²J = 1,6, 1 H, OCH₂CH=CHH_{trans}) ; 5,22 (qd, ³J_{cis} = 10,4, ²J = 1,4, 1 H, OCH₂CH=CHH_{cis}) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,12, J_{AB} = 11,9, 2 H, CH₂C₆H₅) ; 4,43 (td, ³J = 2,3, ³J = 1,6, 1 H, H-5) ; 4,35-4,33 (m, 1 H, H-4) ; 4,32 (tq, ³J = 3,8, ³J = 1,7, 1 H, H-1) ; 4,30-4,28 (m, 1 H, H-6) ; 4,28-4,26 (m, 1 H, H-3) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABMXX', Δδ = 0,20, J_{AB} = 12,7, J_{AM} = 5,8, J_{BM} = 5,5, J_{AX} = J_{AX'} = 1,4, J_{BX} = J_{BX'} = 1,2, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; 3,85 (t, ³J = 1,5, 1 H, H-2) ; 3,64 (t, ³J = 6,4, 2 H, CH₂-4') ; 3,58 (t, ³J = 6,6, 2 H, CH₂-1') ; 1,71 (qu, ³J = 7,1, 2 H, CH₂-2') ; 1,60 (qu, ³J = 6,9, 2 H, CH₂-3') ; 0,89 (s, 9 H, C(CH₃)₃) ; 0,05 (s, 6 H, C(CH₃)₂).

RMN-¹³C (150 MHz, CDCl₃) : 134,1 CH= allyl ; 128,4 (2 C) CH= arom ortho ; 127,9 CH= arom para, 127,6 (2 C) CH= arom méta ; 117,6 CH₂= allyl ; 103,2 CH orthoester ; 73,9 C-4 ; 73,8 C-6 ; 71,7 CH₂ benzyl ; 70,8 -CH₂- allyl ; 70,5 C-1 ; 70,4 C-3 ; 69,5 C-1' ; 68,0 2 C, C-2 et C-5 ; 62,9 C-4' ; 29,4 C-3' ; 26,4 C-2' ; 25,9 3 C, Me₃ ; 18,3 C(Me₃) ; -5,3 2 C, Me₂.

• (±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-2-O-tosyl myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate **200** :

SMHR ESI⁺ (M+Na⁺) (C₂₄H₂₆O₈SNa) calc. 497,1246 ; obs. 497,1239 et dimère+Na⁺ (C₄₈H₅₂O₁₆S₂Na) calc. 971,2595 ; obs. 971,2641.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : $\overline{\text{---}}$ ((AB)₂, Δδ = 0,44, J_{AB} = 7,6, 4 H, OC₆H₄CH₃) ; 7,40-7,30 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,81 (ddt, ³J_{trans} = 17,1, ³J_{cis} = 10,7, ³J = 5,4, 1 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,49 (dl, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,22 (qd, ³J_{trans} = 11,7, ²J = 1,7, 1 H, OCH₂CH=CHH_{trans}) ; 5,16 (qd, ³J_{cis} = 4,9, ²J = 1,7, 1 H, OCH₂CH=CHH_{cis}) ; 5,02 (q, ³J = 1,6, 1 H, H-2) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,12, J_{AB} = 11,8, 2 H, CH₂C₆H₅) ; 4,39 (dtd, ³J = 3,2, ³J = 3,2, ³J = 1,2, 1 H, H-5) ; 4,30-4,25 (m, 3 H, H Ins) ; 4,20-4,15 (m, 1 H, H Ins) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABMXX', Δδ = 0,16, J_{AB} = 12,7, J_{AM} = 5,6, J_{BM} = 5,4, J_{AX} = J_{AX'} = J_{BX} = J_{BX'} = 1,5, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; 2,41 (s, 3 H, O-C₆H₄-CH₃).



(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-2-O-(4'-chloro-butyl) myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₂₁H₂₇O₆Cl : 410,90 g•mol⁻¹ (**201**)

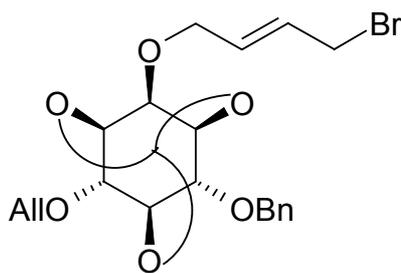
Le (±)-4-O-allyl-6-O-benzyl-myoinositol 1,3,5-O-orthoformate **191** (310 mg, 968 μmol) est dissous dans 20 mL de DMFa. Le ballon est placé sous argon et à 0°C, on ajoute 1,1 éq. de NaH (43 mg, 1,07 mmol). Au bout de 10 min, on ajoute 1 éq. de 1-bromo-4-chloro-butane (115 μL). On laisse revenir à T. A. et réagir pendant 24 h. Après ce laps de temps le MR est traité par ajout de glace pilée. Puis on le complète jusqu'à un volume de 150 mL que l'on extrait 3 fois par 150 mL d'éther. Les phases organiques sont rassemblées et séchées sur MgSO₄, filtrées sur papier et évaporées à sec. Le brut est purifié sur colonne chromatographique montée avec 100 g de silice et éluee par un mélange éther-hexane 1/2 (+0,1 % TEA pour le montage), puis éther pur. Le produit chloré **201** a un R_f de 0,36

dans éther-hexane 1/1 vs alcool **191** de R_f 0,23. On obtient 180 mg (soit 45 %) du chlorure **201** sous la forme d'une huile incolore et 160 mg de l'alcool réactif **191** (52 %).

Microanalyses (%) calc. : C : 61,39 ; H : 6,62 ; trouvées : C : 61,44 ; H : 6,67.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7,40-7,30 (m, 5 H, C_6H_5) ; 5,90 (ddt, $^3J_{\text{trans}} = 17,3$, $^3J_{\text{cis}} = 10,4$, $^3J = 5,6$, 1 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 5,55 (d, $^4J = 1,1$, 1 H, $\text{HC}(\text{OCH}_3)_3$) ; 5,40-5,20 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; (AB, $\Delta\delta = 0,14$, $J_{\text{AB}} = 11,8$, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) ; 4,47 (dtd, $^3J = 3,2$, $^3J = 3,2$, $^3J = 1,6$, 1 H, $H-5$) ; 4,40-4,25 (m, 4 H, H Ins) ; 4,25-4,05 (m, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 3,89 (m, 1 H, $H-2$) ; 3,63 (t, $^3J = 6,3$, 2 H, CH_2-1') ; 3,61 (t, $^3J = 6,4$, 2 H, CH_2-4') ; 2,05-1,75 (m, 4 H, CH_2-2' et CH_2-3').

(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-2-O-(4'-bromo-trans-but-2'-ényl) myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{O}_6\text{Br}$: 453,33 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (202**)**

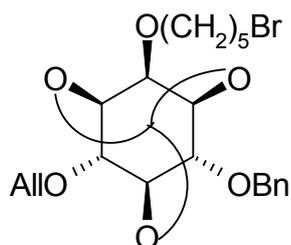


L'alcool intermédiaire-clé de couplage **191** (2,07 g, 6,46 mmol) est dissous dans 50 mL de DMFa sous argon. On y ajoute 1,3 équ. de NaH (8,39 mmol, 336 mg) à 0°C pendant 5 min, puis à 35°C durant 1 h. On ajoute à T. A. 1,80 g de 1,4-dibromo-*trans*-but-2-ène (1,3 équ.) ainsi que 50 mg d'éther-couronne [15-5] cristallin. Après une nuit à T. A. il

reste env. 90 % de réactif **191**. On ajoute les mêmes quantités de NaH (à 0°C) et de dihalogénure (à T. A.) ainsi qu'une bille de I_2 sublimé. La réaction est laissée à T. A. pendant une seconde nuit. Sur CCM (AcOEt-heptane 1/1) on constate l'apparition d'un nouveau produit (de R_f 0,66) et un reste important (env. 40 %) de l'alcool **191** (de R_f 0,52). La réaction est traitée par 3 mL d'eau glacée puis évaporée à sec. On obtient, après une purification sur colonne chromatographique de silice (150 g de SiO_2 , élution AcOEt-heptane 1/4) 1,40 g de produit bromé **202** (48 %, huile translucide jaune, traces de graisses) ; l'alcool **191** est élué en mélange avec des impuretés polaires (0,54 g).

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7,40-7,20 (m, 5 H, C_6H_5) ; 6,0-5,8 (m, 3 H, $(\text{CH}=\text{C})_3$) ; 5,52 (d, $^4J = 1,3$, 1 H, $\text{HC}(\text{OCH}_3)_3$) ; 5,29 (qd, $^3J_{\text{trans}} = 17,1$, $^2J = 1,6$, 1 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}H_{\text{trans}}$) ; 5,21 (qd, $^3J_{\text{cis}} = 10,3$, $^2J = 1,3$, 1 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}H_{\text{cis}}$) ; (AB, $\Delta\delta = 0,13$, $J_{\text{AB}} = 11,7$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$) ; 4,45-4,40 (m, 1 H, $H-5$) ; 4,40-4,30 (m, 4 H, H Ins) ; 4,15 (dl, $^3J = 5,0$, 2 H, CH_2-1') ; (AB d'un ABMXX', $\Delta\delta = 0,06$, $J_{\text{AB}} = 12,6$, $J_{\text{AM}} = J_{\text{BM}} = 5,9$, $J_{\text{AX}} = J_{\text{AX}'} = J_{\text{BX}} = J_{\text{BX}'} = 1,6$, 2 H, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) ; 3,95-3,90 (m, 3 H, comprenant $H-2$ et à 3,94 (dl, $^3J = 6,2$, 2 H, CH_2-4')).

(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-2-O-(5'-bromo-pentyl) myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{O}_6\text{Br}$: 469,38 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (203**)**



L'alcool **191** (1,64 g, 5,12 mmol) est dissous dans 40 mL de DMFa sous argon. On y ajoute 1,3 équ. de NaH (6,66 mmol, 266 mg) à 0°C pendant 15 min, puis on remet à T. A. durant 30 min. On ajoute à 0°C le réactif dihalogéné (2,6 équ., 1,80 mL, 13,3 mmol) ainsi qu'une bille d'iode sublimé et on laisse la réaction revenir lentement à T. A. au cours de la nuit. Sur CCM (AcOEt-heptane 1/1) on constate

l'apparition d'un nouveau produit (de R_f 0,74) et un reste important (env. 60 %) de l'alcool **191** (de R_f 0,49). La réaction est traitée par traitement des hydrures avec 3 mL d'eau glacée puis une évaporation à sec. On obtient, après une purification sur colonne chromatographique de silice (150 g de SiO_2 , élution AcOEt-heptane 1/4, puis 1/2, puis

AcOEt seul), 0,71 g du produit bromé attendu **203** (30 %) sous la forme d'une huile très visqueuse jaune clair (traces de graisses).

SMHR ESI⁺ (M+Na⁺) (C₂₂H₂₉O₆BrNa) calc. 491,1045 ; obs. 491,1022 ; 493,1010, rapport isotopique ⁷⁹Br/⁸¹Br 1/1.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,40-7,30 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,91 (ddt, ³J_{trans} = 17,2, ³J_{cis} = 10,4, ³J = 5,7, 1 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,52 (d, ⁴J = 1,3, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,30 (qd, ³J_{trans} = 17,2, ²J = 1,6, 1 H, OCH₂CH=CH_{trans}) ; 5,22 (qd, ³J_{cis} = 10,4, ²J = 1,3, 1 H, OCH₂CH=CH_{cis}) ; , (AB, Δδ = 0,13, J_{AB} = 11,9, 2 H, CH₂C₆H₅) ; 4,46 (dtd, ³J = 3,3, ³J = 3,3, ³J = 1,7, 1 H, H-5) ; 4,40-4,25 (m, 4 H, H Ins) ; , (AB d'un ABMXX', Δδ = 0,07, J_{AB} = 12,7, J_{AM} = 5,5, J_{BM} = 5,8, J_{AX} = J_{AX'} = 1,4, J_{BX} = J_{BX'} = 1,5, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; 3,89 (q, ³J = 1,5, 1 H, H-2) ; 3,57 (t, ³J = 6,5, 2 H, CH₂-1') ; 3,42 (t, ³J = 6,8, 2 H, CH₂-5') ; 1,95-1,85 (m, 2 H, CH₂-2') ; 1,75-1,50 (m, 4 H, CH₂-3' et CH₂-4').

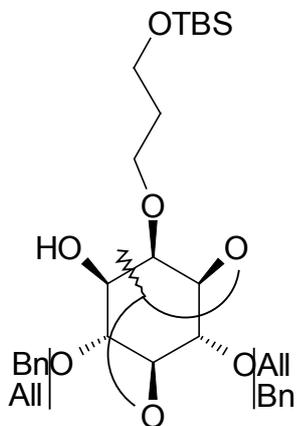
L'alcool **191** est récupéré à 55 % (0,91 g). Des traces de produit couplé et iodé (soit 2-O-(5'-iodo-pentylé)), de R_f légèrement supérieur au produit couplé bromé, sont recueillies en mélange avec ce dernier (huile saumon, 0,09 g).

2.2.4. Élaboration des analogues avec l'espaceur propylique

2.2.4.1. Intermédiaires aux séries 3,4- et 3,6-di-O-benzylées synthétisés en commun

(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(3'-O-*tert*-butyldiméthylsilylpropyl) *myo*-inositol ; C₂₇H₄₄O₇Si : 508,73 g•mol⁻¹ (**204**)

(±)-6-O-Allyl-4-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(3'-O-*tert*-butyldiméthylsilylpropyl) *myo*-inositol ; C₂₇H₄₄O₇Si : 508,73 g•mol⁻¹ (**205**)



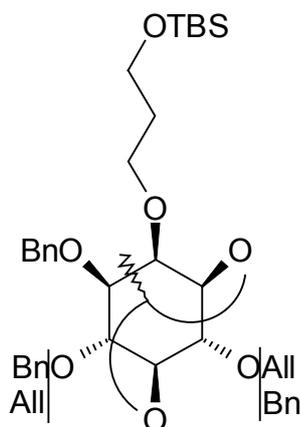
L'orthoester **198** (8,14 g, 16,5 mmol) est dissous dans 120 mL de DCMA sous argon. On injecte à 0°C et goutte à goutte 2,3 éq. de triméthylaluminium (à 2 M dans le THF, soit 38,0 mmol, 19,0 mL). On laisse réagir une nuit durant. La CCM (éther-heptane 1/1) réalisée par la suite montre un nouveau produit de R_f 0,71 et l'absence du réactif initial présent normalement au R_f 0,65 (confirmation par point mixte). On dilue le MR avec 120 mL de DCM, puis la réaction est traitée avec 100 mL d'une solution à 500 g•L⁻¹ de tartrate mixte de sodium et potassium à laquelle sont ajoutés 200 mL d'une solution aqueuse saturée en NH₄Cl, sous forte agitation pendant une heure. Le mélange est extrait quatre

fois par 200 mL de DCM. On sèche sur MgSO₄ les phases organiques rassemblées. Cette phase est ensuite filtrée sur papier et évaporée à sec. On dépose le brut sur gel de 100 g de SiO₂ dans éther-heptane 1/1. Le mélange d'alcools inséparables **204** et **205** (même R_f) est récupéré à raison de 7,59 g sous la forme d'une huile visqueuse transparente (90 %). Ce mélange est utilisé en l'état pour la benzoylation suivante. RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : spectre complexe non résolu comprenant les signaux des allyles, benzyles, éthylidènes, inositols, propyles et TBS des deux régiomères **204** et **205**. Une analyse du mélange des alcools **204** et **205** a été réalisée par HPLC (gradient classique (voir 1.2. Purification des produits, matériel et méthode), un seul pic observé de temps de rétention de 13,0 min.

SM ESI⁺ (C₂₇H₄₄O₇Si) calc. 508,29 ; obs. 531,3 (M+Na⁺).

(±)-4-O-Allyl-3,6-di-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(3'-O-*tert*-butyldiméthylsilyl-propyl) *myo*-inositol ; C₃₄H₅₀O₇Si : 598,86 g•mol⁻¹ (206)

(±)-6-O-Allyl-3,4-di-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(3'-O-*tert*-butyldiméthylsilyl-propyl) *myo*-inositol ; C₃₄H₅₀O₇Si : 598,86 g•mol⁻¹ (207)



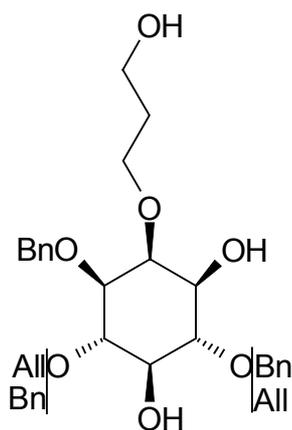
Le mélange d'isomères inséparables **204** et **205** (2,31 g, 4,54 mmol) est dissous dans 20 mL de DMFa sous argon. On ajoute à 0°C, 0,24 g de NaH (à 60 % dans graisses : 5,90 mmol, soit 1,3 éq.). On remet à T. A. au bout de 15 min et après une quinzaine de min (tout en faisant régulièrement dégazer le MR) on injecte goutte à goutte le bromure de benzyle (1,3 éq., 0,72 mL), puis on introduit un cristal d'iode catalytique. Sur CCM on constate la formation d'un produit de R_f 0,87 vs initial au R_f de 0,67 (éther-heptane 1/1). Après une nuit de réaction le MR est traité par de l'eau glacée, puis dilué par de l'eau distillée (100 mL) et additionné de NaCl à saturation. On

extrait cette phase aqueuse par de l'éther (3 × 100 mL). On sèche sur MgSO₄ les phases organiques rassemblées. Cette phase est ensuite filtrée et évaporée à sec. On dépose le brut sur gel de 100 g de SiO₂ dans éther-heptane 1/2. Le mélange d'isomères inséparables **206** et **207** est recueilli à raison de 2,76 g sous la forme d'un liquide visqueux transparent un peu jaune (quantitatif). Ce mélange est utilisé en l'état pour la réaction d'hydrolyse suivante.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : spectre complexe non résolu comprenant les signaux des allyles, benzyles (proportion doublée), éthylidènes, inositols, propyles et TBS des deux régiomères **206** et **207**.

(±)-4-O-Allyl-3,6-di-O-benzyl-2-O-propan-3'-ol *myo*-inositol ; C₂₆H₃₄O₇ : 458,56 g•mol⁻¹ (208)

(±)-6-O-Allyl-3,4-di-O-benzyl-2-O-propan-3'-ol *myo*-inositol ; C₂₆H₃₄O₇ : 458,56 g•mol⁻¹ (209)



Le mélange d'isomères inséparables **206** et **207** (2,76 g, 4,61 mmol) est dissous dans 45 mL de MeOH. On adjoint au MR 1,05 éq. de *p*TSA (4,85 mmol, 0,92 g) et le ballon est mis sous reflux. L'évolution est conforme sur plaque de CCM après une nuit de chauffage : disparition du produit de départ et observation de deux taches intenses de R_f 0,09 et 0,06 (CCM éther-heptane 1/1). On alcalinise le MR (après dilution par 50 mL de MeOH et retour à T. A.) par 2 mL de TEA. Le MR est ensuite évaporé à sec et déposé sur gel de 100 g de SiO₂ élué par AcOEt qui permet de recueillir l'essentiel des isomères sous la forme d'un mélange mais sans les impuretés de R_f inférieur ou supérieur. Un nouveau dépôt sur colonne

chromatographique du même type, cette fois-ci éluée par un mélange AcOEt-heptane 2/1, permet d'obtenir globalement 0,89 g du triol **208** et 0,91 g du triol **209**, soit un rendement total de 85 % dû à la "pureté" du mélange réactif (reste de solvant probable). Les triols sont obtenus sous la forme d'huiles visqueuses incolores. Microanalyses (%) calc. : C : 68,10 ; H : 7,47 ; trouvées pour **208** : C : 68,25 ; H : 7,36 et pour **209** C : 68,71 ; H : 7,38.

• (±)-4-O-Allyl-3,6-di-O-benzyl-2-O-propan-3'-ol *myo*-inositol **208**. SMHR ESI⁺, (M+Na⁺) (C₂₆H₃₄O₇) C₂₄H₃₂O₇Na calc. 481,2197 ; obs. 481,2187 (maj.) et 497,1928 (M+K⁺).

RMN-¹H (300 MHz, COSY, HSQC, CDCl₃) : 7,50-7,30 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 5,99 (ddt, ³J_{trans} = 16,2, ³J_{cis} = 10,5, ³J = 5,7, 1 H, OCH₂-CH=CH₂) ; 5,32 (qd, ³J_{trans} = 15,9, ²J = 1,6, 1 H, OCH₂-CH=CH_{trans}) ; 5,22 (qd, ³J_{cis} = 10,4, ²J = 1,4, 1 H, OCH₂-CH=CH_{cis}) ; (AB, Δδ = 0,19, J_{AB} = 11,4, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,72 (s, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; (AB d'un ABMXX', Δδ = 0,19, J_{AB} = 12,6, J_{AM} = J_{BM} = 5,7, J_{AX} = J_{AX'} = 1,5, J_{BX} = J_{BX'} = 1,2, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; (AB d'un ABX₂ partiellement masqué, Δδ = 0,13, J_{AB} = 9,3, J_{AX} = J_{BX} = 5,4, 2 H, CH₂-1') ; 3,86 (t, ³J = 3,1, 1 H, H-2) ; 3,77 (t, ³J = 5,6, 2 H, CH₂-3') ; 3,67 (t, ³J = 9,3, 1 H, H-6) ; 3,64 (t, ³J = 9,5, 1 H, H-4) ; 3,48 (t, ³J = 6,4, 1 H, H-5) ; 3,45 (dd, ³J = 9,6, ³J = 3,0, 1 H, H-3) ; 3,37 (dd, ³J = 9,6, ³J = 2,5, 1 H, H-1) ; 2,87 (sl, 2 H éch., (OH)₂ Ins) ; 2,61 (s, 1 H éch., CH₂-OH) ; 1,79 (qu, ³J = 5,5, 2 H, CH₂-2').

RMN-¹³C (AC 300, DEPT, HSQC, C₆D₆) : 139,85 =CH, 128,60-127,74 C₆H₅ ; 116,26 =CH₂ ; 82,04 C-4 ; 81,74 C-6 ; 81,07 C-5 ; 79,20 C-2 ; 75,79 C-3 ; 75,23 CH₂-C₆H₅ ; 74,45 =CHCH₂ ; 72,98 CH₂-C₆H₅ ; 72,53 C-1' et C-1 ; 60,70 C-3' ; 32,69 C-2'.

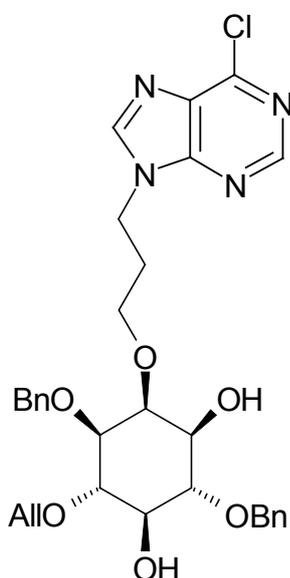
• (±)-6-O-Allyl-3,4-di-O-benzyl-2-O-propan-3'-ol *myo*-inositol **209**. SMHR ESI⁺, (M+Na⁺) (C₂₆H₃₄O₇) C₂₄H₃₂O₇Na calc. 481,2197 ; obs. 481,2201 (maj.) et 497,1938 (M+K⁺).

RMN-¹H (300 MHz, COSY, HSQC, CDCl₃) : 7,50-7,30 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 5,98 (ddt, ³J_{trans} = 17,1, ³J_{cis} = 10,6, ³J = 5,8, 1 H, OCH₂-CH=CH₂) ; 5,31 (qd, ³J_{trans} = 17,3, ²J = 1,4, 1 H, OCH₂-CH=CH_{trans}) ; 5,21 (qd, ³J_{cis} = 10,4, ²J = 1,3, 1 H, OCH₂-CH=CH_{cis}) ; (AB, Δδ = 0,23, J_{AB} = 11,2, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,74 (s, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; (AB d'un ABMXX', Δδ = 0,14, J_{AB} = 12,6, J_{AM} = 5,7, J_{BM} = 6,0, J_{AX} = J_{AX'} = 1,5, J_{BX} = J_{BX'} = 1,2, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; (AB d'un ABX₂ partiellement masqué, Δδ = 0,11, J_{AB} = 9,6, J_{AX} = 5,7, J_{BX} = 5,1, 2 H, CH₂-1') ; 3,90 (t, ³J = 2,7, 1 H, H-2) ; 3,82 (t, ³J = 5,5, 2 H, CH₂-3') ; 3,77 (t, ³J = 9,1, 1 H, H-6) ; 3,54 (t, ³J = 9,1, 1 H, H-4) ; 3,48 (t, ³J = 8,1, 1 H, H-5) ; 3,46 (m, 1 H, H-3) ; 3,43 (dd, ³J = 9,6, ³J = 2,4, 1 H, H-1) ; 2,96 (sl, 2 H éch., (OH)₂ Ins) ; 2,52 (s, 1 H éch., CH₂-OH) ; 1,82 (qu, ³J = 5,9, 2 H, CH₂-2').

RMN-¹³C (AC 300, DEPT, HSQC, C₆D₆) : 139,82 =CH, 128,60-127,74 C₆H₅ ; 116,60 =CH₂ ; 82,03 C-4 ; 81,73 C-6 ; 81,18 C-5 ; 79,07 C-2 ; 75,78 C-3 ; 75,66 CH₂-C₆H₅ ; 74,07 =CHCH₂ ; 73,00 CH₂-C₆H₅ ; 72,63 C-1' ; 72,45 C-1 ; 60,79 C-3' ; 32,75 C-2'.

2.2.4.2. Série 3,6-di-O-benzylée

(±)-4-O-Allyl-3,6-di-O-benzyl-2-O-[3'(9''-N-(6''-chloro-puriny))propyl] *myo*-inositol ; C₃₁H₃₅N₄O₆Cl : 595,10 g·mol⁻¹ (**210**)



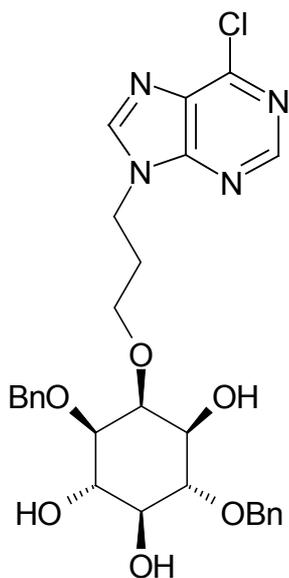
Le triol **208** (810 mg, 1,77 mmol) est dissous dans 15 mL de THFa sous argon. La solution est injectée goutte à goutte à un milieu contenant 2,12 mmol de 6-chloro-purine (1,2 éq., 331 mg) dans 100 mL de THFa auxquels avaient été ajoutés au préalable 1,2 éq. de PPh₃ (560 mg) avec 1,2 éq. de DEAD (400 μL) à T. A.. On ajoute, après 24 h, 1,2 éq. de PPh₃ et de DEAD afin de consommer tout l'alcool réactif **208**. La réaction est complète après 48 h d'après CCM éluee par de l'AcOEt : réactif **208** de R_f 0,68, absent d'après point mixte et purine **210** de R_f 0,64. On évapore le MR à sec et on dépose 3,94 g de brut sur un gel de 300 g de SiO₂ dans AcOEt-hexane 7/3. La purine **210** est récupérée à raison de 895 mg sous la forme d'une huile jaune (85 %). Le DEAD saturé après réaction a été également identifié par RMN après isolement (cristal blanc, Pf = 122°C).

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 8,75 et 8,27 (2 s, 2 H, *H*-2'' et *H*-8'') ; 7,45-7,25 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 6,10-5,90 (m, 1 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,40-5,20 (m, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; , (AB, Δδ = 0,18, J_{AB} = 11,5, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; , (AB, Δδ = 0,05, J_{AB} = 11,5, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,50-4,40 (m, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; 4,40-3,90 (m, 4 H, CH₂-1' et CH₂-3') ; 3,84 (t, ³J = 2,2, 1 H, *H*-2) ; 3,69 (t, ³J = 9,3, 2 H, *H*-4 et *H*-6) ; 3,55-3,45 (m, 2 H, *H*-3 et *H*-5) ; 3,38 (dd, ³J = 9,7, ³J = 2,2, 1 H, *H*-1) ; 2,82 (d, ³J = 4,2, 1 H éch., OH) ; 2,64 (d, ³J = 2,0, 1 H éch., OH) ; 2,20-2,05 (m, 2 H, CH₂-2').

Une analyse des dérivés **208** et **210** a été réalisée par HPLC (gradient classique) :

- le triol **208** a un temps de rétention de 25,0 min,
- la purine **210** a un temps de rétention de 28,4 min.

(±)-3,6-Di-O-benzyl-2-O-[3'(9''-N-(6''-chloro-puriny))propyl] myo-inositol ; C₂₈H₃₁N₄O₆Cl : 555,04 g·mol⁻¹ (212)

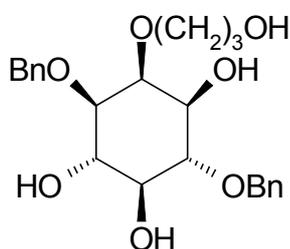


L'allyle **210** (895 mg, 1,50 mmol) est dissous dans 25 mL d'un mélange 9/1 EtOH-eau. On ajoute 0,4 éq. de DABCO (67,5 mg, 602 μmol) ainsi que 0,11 éq. de catalyseur de Wilkinson (RhCl(PPh₃)₃, 218 mg, 236 μmol). Le ballon est placé sous reflux à 100°C pendant une nuit. On ajoute après 24 h env. 50 mg de catalyseur afin de compléter l'isomérisation de l'allyle, puis à nouveau 12 h, 24 h et 36 h après. La réaction est traitée après 4 j : reprise dans 100 mL d'une solution aqueuse saturée en NaCl extraite par 2 × 100 mL de DCM. Le brut d'extraction est hydrolysé après reprise dans 10 mL d'un mélange 3/2 de THF-H₂O sous forte agitation pendant près d'une heure par une solution d'acétate de mercure II (1,1 éq., 1,65 mmol, 540 mg dissous rapidement dans 5 mL d'eau). On dilue le MR avec 100 mL d'une solution aqueuse saturée en

NaCl. On extrait avec CHCl₃ (3 × 100 mL). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, filtrées sur papier et évaporées à sec : le brut (1,37 g d'huile orange foncé) est déposé sur un gel de 120 g de SiO₂ dans DCM-MeOH 19/1. Le triol **212** produit (de R_f 0,30 dans DCM-MeOH 9/1) est récupéré à raison de 290 mg sous la forme de cristaux blancs partiellement colorés en marron (35 %). Le triol **212** reste contaminé par le catalyseur (ou un de ses dérivés produits) ce qui se traduit par un excès de signaux des H aromatiques et une perturbation de la résolution par le rhodium.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 8,76 et 8,08 (2 s, 2 H, *H*-2'' et *H*-8'') ; 7,50-7,25 (m, 14 H, (C₆H₅)₂ et reste de catalyseur de Wilkinson) ; , (AB, Δδ = 0,09, J_{AB} = 11,4, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; , (AB, Δδ = 0,06, J_{AB} = 11,8, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,55-3,85 (m, 4 H, CH₂-1' et CH₂-3') ; 3,80-3,40 (m, 5 H, *H* Ins) ; 3,30 (dd, ³J = 9,6, ³J = 2,0, 1 H, *H*-1) ; 2,68 (sl, 3 H éch., (OH)₃) ; 2,20-2,00 (m, 2 H, CH₂-2').

(±)-3,6-Di-O-benzyl-2-O-propan-3'-ol-myoinositol ; C₂₃H₃₀O₇ : 418,49 g·mol⁻¹ (211)



L'allyle **208** (636 mg, 1,39 mmol) est dissous dans 40 mL d'un mélange 9/1 EtOH-eau. On ajoute 0,2 éq. de DABCO (31 mg, 0,27 mmol) ainsi que 0,1 éq. de catalyseur de Wilkinson (RhCl(PPh₃)₃, 99,99 %, 128 mg, 139 μmol). Le ballon est placé sous reflux à 100°C pendant 4 h, il reste beaucoup de l'allyle **208** d'après CCM. On ajoute les mêmes quantités de DABCO et de catalyseur et

on laisse la réaction à reflux pendant 48 h. On ajoute, à 0°C et goutte à goutte, 1 mL d'HCl (à 37 %). On poursuit l'agitation 5 min à 0°C, puis 30 min à T. A., puis on évapore l'EtOH. On procède à l'extraction, après reprise du ballon avec de l'eau distillée (env. 10 mL) et addition d'env. 80 mL d'une solution aqueuse saturée en NH₄Cl, par 2 × 150 mL d'AcOEt. Les phases organiques combinées sont séchées sur MgSO₄, puis filtrées sur papier et évaporées à sec. Le brut d'env. 1,3 g est déposé sur un gel de 100 g de SiO₂ dans l'AcOEt. Le tétraol **211** (de R_f 0,38 dans l'AcOEt) est récupéré à raison de 600 mg (quantitatif) sous la forme de cristaux blancs (Pf = 155°C). Le tétraol **211** ne semble pas être contaminé par des traces de catalyseur (ou un de ses dérivés produits).

• SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₂₃H₃₀O₇Na) : calc. 441,19 ; obs. 441,27.

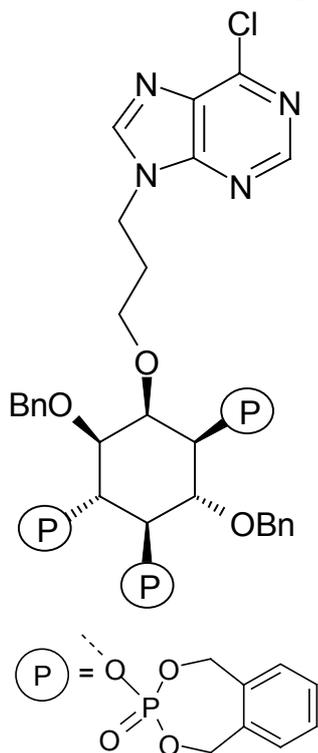
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,60-7,30 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,12, J_{AB} = 11,3, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,09, J_{AB} = 11,7, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX₂ partiellement masqué, J_{AB} = 9,3, J_{AX} = 5,3, 2 H, CH₂-1') ; 3,90 (t partiellement masqué, ³J = 5,7, 1 H, H-4) ; 3,89 (t fin non résolu, 1 H, H-2) ; 3,76 (t, ³J = 5,6, 2 H, CH₂-4') ; 3,63 (t, ³J = 9,3, ³J = 2,0, 1 H, H-4) ; 3,49 (dd, ³J = 9,5, ³J = 2,6, 1 H, H-1) ; 3,45 (t, ³J = 9,1, 1 H, H-5) ; 3,26 (dd, ³J = 9,6, ³J = 2,0, 1 H, H-3) ; 2,71 (sl, 4 H éch., (OH)₄) ; 1,78 (qu, ³J = 5,6, 2 H, CH₂-2').

• Le produit secondaire (±)-3,6-di-O-benzyl-2-O-(propan-3'-ol)-4-O-propyl-*myo*-inositol **265**, résultant d'une hydrogénation sur le groupe allyle du composé **211**, est également observé lors de resynthèses, de même R_f que l'allyle **208**.

SMHR ESI⁺, (M+K⁺) C₂₆H₃₆O₇K calc. 499,2093 ; obs. 499,2063 (maj.) et 483,2325 (M+Na⁺). Les signaux du -CH=CH₂ de l'allyle observés par RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) deviennent 1,63 (se, ³J = 6,9, 2 H, CH₂) et 0,93 (t, ³J = 7,5, 3 H, CH₃). Les autres signaux sont globalement retrouvés, mais un résidu de catalyseur perturbe l'homogénéité du champ magnétique par la présence du rhodium, ce qui rend l'attribution des autres signaux, de déplacements chimiques proches, difficilement réalisable.

(±)-3,6-Di-O-benzyl-2-O-[3'(9''-N-(6''-chloro-purinyl))propyl] *myo*-inositol

1,4,5-tri-O-(orthoxylylène)phosphate ; C₅₂H₅₂N₄O₁₅P₃Cl : 1101,38 g·mol⁻¹ (**217**)



Le triol **212** (280 mg, 504 μmol), dissous dans 5 mL de DCMa, est mis à réagir dans un mélange préalable (pendant 30 min à T. A.) de 6 éq. de 2-diéthylamino-1,3,2-benzodioxaphosphépane **216** (3,03 mmol, 720 mg) et de 9 éq. de tétrazole (4,54 mmol, 320 mg) et sous argon dans 5 mL DCMa. Après 45 min, on ajoute à -78°C 6,5 éq. de *m*CPBA (220 μmol, 54,3 mg) séché dans du DCMa sur MgSO₄. On replace à T. A. au bout de 2 min env., puis le MR est agité 17 h, filtré sur coton et rincé par 3 mL de DCM. Il est ensuite lavé par Na₂SO₃ à 10 % dans l'eau (2 × 10 mL) puis NaHCO₃ à saturation dans l'eau (2 × 10 mL), la phase organique est séchée sur MgSO₄, filtrée sur papier et évaporée à sec. Le brut de 1,44 g est purifié d'abord par chromatographies sur plaques préparatives (401 mg récupérés), puis par HPLC. Les plaques préparatives sont éluées une fois par un mélange DCM-MeOH 19/1. Les bandes sont récupérées et désorbées par un mélange AcOEt-DCM-MeOH-acétone 19/19/1/1, les produits récupérés sont

redéposés à raison de 20 mg dans 0,5 mL de MeOH sur HPLC (une vingtaine d'injections).

Le triol **212** a un temps de rétention de 32,2 min avec le programme d'élution HPLC classique. Il montre, par observation à 254 nm, 55 % de pureté après la plaque préparative, l'impureté majoritaire étant le réactif de phosphorylation **216** (dégradé) ayant un temps de rétention de 21,6 min. Sur CCM le produit attendu a un R_f de 0,74 (DCM-MeOH 9/1). On obtient ainsi sur plusieurs jours de purification 139 mg de produit tris(phosphorylé) **217** sous la forme de cristaux blancs gras (25 %). Le faible rendement peut s'expliquer par un temps de réaction trop court, car reproduit d'une expérience où une seule position devait être phosphorylée (avant l'étape d'oxydation). De plus quelques pertes peuvent être imputées à une HPLC en mauvais état. Une première partie est directement engagée pour la déprotection finale, la partie restante est utilisée pour les analyses RMN.

D'autre part une légère dégradation de l'échantillon RMN a été observée au bout de quelques jours nécessitant une nouvelle purification. Après repurification HPLC du produit tris(phosphorylé) **217** (sur un lot de 66 mg) et une HPLC analytique (2 et 8 % d'impuretés selon que l'on est à 254 ou à 220 nm) : 46 mg sont obtenus après plusieurs jours de séchage sur la pompe à palettes.

RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ (AC 500, COSY, CDCl_3) : 8,70 et 8,41 (2 s, 2 H, $H-2''$ et $H-8''$) ; 7,40-7,10 (m, 22 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$ et $(\text{C}_6\text{H}_4)_3$) ; 5,60-4,70 (m simplifié par $\{^{31}\text{P}\}$, 18 H, $((\text{CH}_2)_2-\text{C}_6\text{H}_4)_3$ et $(\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5)_2$), où l'on reconnaît à 5,22 (t, $^3\text{J} = 7,0$, 1 H, $H-4$) et à 4,78 (t, $^3\text{J} = 9,6$, 1 H, $H-5$) ; $\overline{\quad}$ (AB d'un ABX_2 , $\Delta\delta = 0,05$, $\text{J}_{\text{AB}} = 14,4$, $\text{J}_{\text{AX}} = 7,4$, $\text{J}_{\text{BX}} = 7,2$, 2 H, CH_2-1') ; 4,35 (tl, $^3\text{J} = 2,4$, 1 H, $H-2$) ; 4,32 (ddl, $^3\text{J} = 9,6$, $^3\text{J} = 2,8$, 1 H, $H-1$, ddd avant $\{^{31}\text{P}\}$, $\text{J}_{\text{H-P}} = 9,6$) ; 4,02 (t, $^3\text{J} = 9,5$, 1 H, $H-6$) ; 3,80 (tl, $^3\text{J} = 5,5$, 2 H, CH_2-3') ; 3,54 (ddl, $^3\text{J} = 10,1$, $^3\text{J} = 2,2$, 1 H, $H-3$) ; 2,21 (qu, $^3\text{J} = 6,0$, 2 H, CH_2-2').

RMN- ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (AC 500, CDCl_3) : 0,30 (s, 1 P) ; 0,24 (s, 1 P) ; -1,71 (s, 1 P).

Tentatives d'hydrogénolyse catalytique et de préparation de sels de cyclohexylammonium du (\pm) -2-O-[3'(9''-N-puriny)propyl] myo-inositol 1,4,5-tris(phosphate) ; $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_{15}\text{P}_3 + (\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_3)_5$: 1076,16 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (104)

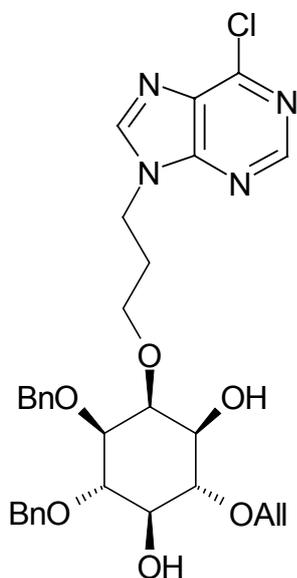
Remarques préalables : au pH neutre on attend un produit sous forme de sels de pentacyclohexylammonium. Le chlore est sensible aux conditions d'hydrogénolyse utilisées ici, l'imino-chlorure peut être partiellement hydrogéné selon les conditions réactionnelles et donner lieu à un mélange de produits.

L'hydrogénolyse à T. A. (pression de 7 à 35 atm pendant 6 à 24 h), conduite sur 10 à 60 mg de produit tris(phosphorylé) **217** (H_2 , Pd/C 10%) dans un mélange MeOH- H_2O 3/1 (à pH neutre ou acide) et les conditions de récupération des sels (phosphates de cyclohexylammonium recristallisés dans l'acétone) n'ont pas permis de récupérer le produit attendu dans des conditions satisfaisantes de pureté et de rendement. L'hydrogénolyse catalytique des groupements benzyles semble efficace, le déplacement du chlore n'est pas quantitatif. Une remise en hydrogénation semble fatale au produit et nous reperdons un peu en pureté à chaque traitement : recristallisations ou resalifications précédées d'échange du cation (essai de rebenzylation également infructueux).

2.2.4.3. Série 3,4-di-O-benzylée

- Réaction de Mitsunobu suivie d'une déallylation

(±)-6-O-Allyl-3,4-di-O-benzyl-2-O-[3'(9''-N(6''-chloro-purinyl))propyl] *myo*-inositol ; $C_{31}H_{35}N_4O_6Cl$: 595,10 $g \cdot mol^{-1}$ (213)

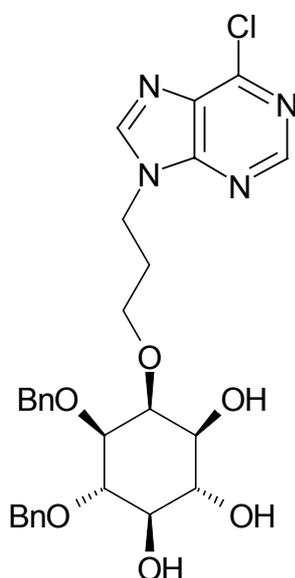


Le triol **209** (370 mg, 807 μmol) est dissous dans 10 mL de THFa sous argon. Cette solution est injectée goutte à goutte et à T. A. à un mélange préalable de 1 éq. de 6-chloro-purine (150 mg), 1,2 éq. de PPh_3 (968 μmol , 250 mg) et 1,2 éq. de DEAD (185 μL) réalisé dans 40 mL de THFa pendant env. 15 min à T. A.. On évapore le MR à sec après 24 h de réaction. On dépose le brut sur un gel de 300 g de silice dans l'AcOEt. La purine **213**, de R_f 0,43 vs triol **209** de R_f 0,53 (CCM éluee par de l'AcOEt), est récupérée à raison de 342 mg sous la forme d'une pâte beige clair (71 %) après une deuxième chromatographie. On retrouve également 8 % du triol **209** (29 mg). On obtient aussi un mélange de 180 mg des composés **209** et **213** avec une majorité d'impuretés de type PPh_3/PPh_3O .

RMN- 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 8,77 et 8,41 (2 s, 2 H, $H-2''$ et $H-8''$) ; 7,40-7,30 (m, 10 H, $(C_6H_5)_2$) ; 6,10-5,95 (m, 1 H, $OCH_2CH=CH_2$) ; 5,40-5,15 (m, 2 H, $OCH_2CH=CH_2$) ; $\overline{\quad}$ (AB, $\Delta\delta = 0,22$, $J_{AB} = 11,2$, 2 H, $CH_2-C_6H_5$) ; $\overline{\quad}$ (AB, $\Delta\delta = 0,05$, $J_{AB} = 11,5$, 2 H, $CH_2-C_6H_5$) ; 4,65-4,30 (m, 4 H, $OCH_2CH=CH_2$ et CH_2-3') ; 3,95 (X d'un ABXX', m, 1 H, $CHH-1'$) ; 3,88 (t, $^3J = 2,1$, 1 H, $H-2$) ; 3,80 (t, $^3J = 9,3$, 1 H, $H-4$ ou $H-6$) ; 3,59 (t, $^3J = 9,2$, 1 H, $H-6$ ou $H-4$) ; 3,56 (t, $^3J = 9,3$, 1 H, $H-5$) ; 3,55-3,45 (X' d'un ABXX', m, 1 H, $CHH-1'$) ; 3,47 (dd, $^3J = 9,4$, $^3J = 2,6$, 1 H, $H-3$) ; 3,44 (dd, $^3J = 9,6$, $^3J = 2,2$, 1 H, $H-1$) ; 2,40-2,10 (m, 4 H, $(OH)_2$ et CH_2-2').

Lors d'une des premières réactions, faite sur 89 mg de composé **209**, une analyse et une purification du MR ont été réalisées par HPLC (gradient classique) :

- un mélange DEAD saturé/ PPh_3/PPh_3O est recueilli avec un temps de rétention de 25,2 min,
- le triol **209** a un temps de rétention de 26,5 min,
- la purine **213** a un temps de rétention de 29,6 min.



(±)-3,4-Di-O-benzyl-2-O-[3'(9''-N(6''-chloro-purinyl))propyl] *myo*-inositol ; $C_{28}H_{33}N_4O_6Cl$: 555,04 $g \cdot mol^{-1}$ (215)

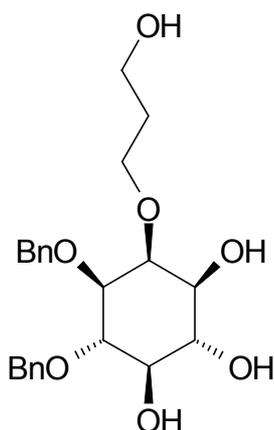
L'allyle **213** (290 mg, 487 μmol) est dissous dans 10 mL d'un mélange 9/1 de MeOH-eau. On ajoute 0,6 éq. de DABCO (26 mg, 292 μmol) ainsi que 0,3 éq. de catalyseur de Wilkinson ($RhCl(PPh_3)_3$, 81 mg, 146 μmol). Le ballon est placé sous reflux à 85°C pendant une nuit. On ajoute après 24 h 0,3 éq. de catalyseur afin de compléter l'isomérisation de l'allyle. La réaction est traitée au bout des 5 h suivantes : reprise dans 100 mL d'eau distillée puis extraction au DCM (2 \times 100 mL). Pour améliorer le rendement d'extraction, on ajoute à la phase aqueuse du NaCl à saturation : après une nouvelle extraction

avec 100 mL de DCM, la phase aqueuse est décolorée. Les phases organiques sont séchées ensemble sur MgSO_4 , filtrées sur papier, puis évaporées à sec : on obtient 0,28 g. Le brut d'extraction est hydrolysé sous forte agitation pendant près d'une heure par $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ (1,1 éq., 536 μmol , 170 mg dissous rapidement dans 3 mL H_2O) dans 6 mL d'un mélange 5/1 de THF- H_2O . On dilue le MR avec 100 mL H_2O . On extrait avec CHCl_3 (3×100 mL) et DCM (1×100 mL). Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées sur papier et évaporées à sec : le brut est déposé sur gel de 100 g de SiO_2 dans DCM-MeOH 19/1. Le triol **215** (de R_f 0,10 dans l'AcOEt) est récupéré à raison de 65,6 mg sous la forme d'une pâte beige clair (24 %).

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 8,74 et 8,43 (2 s, 2 H, $H-2''$ et $H-8''$) ; 7,40-7,20 (m, 10 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,19$, $J_{\text{AB}} = 11,3$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,04$, $J_{\text{AB}} = 11,7$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX_2 , $\Delta\delta = 0,18$, $J_{\text{AB}} = 8,7$, $J_{\text{AX}} = 5,7$, $J_{\text{BX}} = 5,4$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-4}'$) ; 3,96 (X d'un ABXX' , td apparent, $^3J = 4,9$, $^3J = 10,1$, 1 H, $\text{CHH-1}'$) ; 3,85 (t, $^3J = 2,3$, 1 H, $H-2$) ; 3,80 (t, $^3J = 9,8$, 1 H, $H-6$) ; 3,72 (t, $^3J = 9,2$, 1 H, $H-4$) ; 3,55-3,40 (m, 4 H, comprenant $H-1'$, $H-3'$, $H-5'$ et $\text{CHH-1}'$) ; 3,10 (s plat très étalé, 3 H éch., $(\text{OH})_3$) ; 2,25-2,05 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-2}'$).

• Réaction de déallylation suivie d'une réaction de Mitsunobu

(±)-3,4-Di-O-benzyl-2-O-propan-3'-ol-myoinositol ; $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_7$: 418,49 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (**214**)



L'allyle **209** (1,32 g 2,88 mmol) est dissous dans 100 mL d'un mélange EtOH-eau 9/1. On ajoute 0,53 éq. de DABCO (180 mg, 1,60 mmol) ainsi que 0,052 éq. de catalyseur de Wilkinson ($\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$, 99,99 %, 140 mg, 151 μmol). Le ballon est placé à 70°C pendant 18 h. On évapore l'EtOH du MR et on le complète avec 240 mL de saumure. Le mélange est extrait par 5 fois 250 mL d'AcOEt. Le produit a un R_f de 0,32 dans DCM-EtOH 9/1. Les phases organiques sont séchées ensemble sur MgSO_4 , filtrées sur papier, puis évaporées à sec : on obtient 1,83 g. Ce brut est déposé sur un gel de 100 g de SiO_2 dans DCM avec 1 % puis 2 % d'EtOH.

• Le tétraol **214** est récupéré à raison de 1,00 g sous la forme d'une huile incolore (83 %).

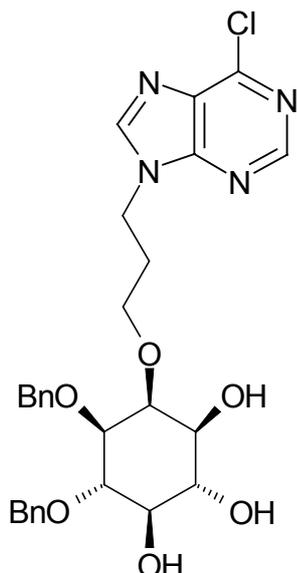
RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7,40-7,20 (m, 10 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,04$, $J_{\text{AB}} = 11,2$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$) ; 4,68 (sl, 6 H, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ et $(\text{OH})_4$) ; 3,96 (X d'un ABXX' partiellement masqué, td apparent, $^3J = 9,3$, $^3J = 4,5$, 1 H, $\text{CHH-1}'$) ; 3,85-3,60 (m, 6 H, $H-2$, $H-4$, $H-6$, $\text{CHH-1}'$ et $\text{CH}_2\text{-4}'$) ; 3,45-3,30 (m, 3 H, $H-1'$, $H-3'$ et $H-5'$) ; 1,90-1,60 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-2}'$).

• Le (±)-3,4-di-O-benzyl-2-O-(propan-3'-ol)-6-O-propyl-myoinositol **266** résultant d'une hydrogénation de l'allyle **209**, est également observé et isolé lors de resynthèses (même R_f que l'allyle **209**).

SM ESI^+ ($\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_7$) calc. 460,25 ; obs. 483,2 ($\text{M}+\text{Na}^+$).

Les signaux du $-\text{CH}=\text{CH}_2$ de l'allyle, observés par RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3), deviennent 1,63 (se, $^3J = 7,1$, 2 H, CH_2) et 0,93 (t, $^3J = 7,3$, 3 H, CH_3). Les autres signaux sont globalement retrouvés, mais un résidu de catalyseur perturbe l'homogénéité du champ magnétique par la présence du rhodium, ce qui rend l'attribution des autres signaux, de déplacements chimiques proches, difficilement réalisable.

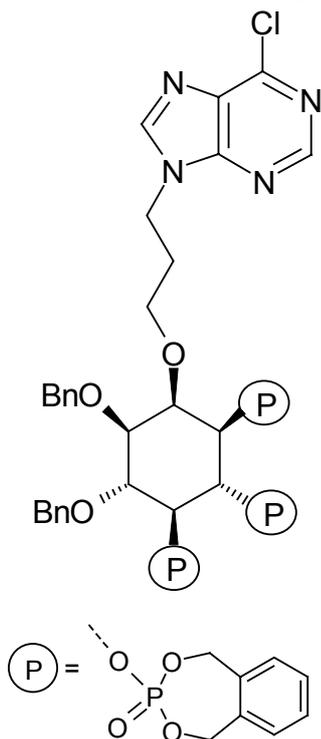
(±)-3,4-Di-O-benzyl-2-O-[3'(9''-N-(6''-chloro-purinyl))propyl] *myo*-inositol ;
 C₂₈H₃₁N₄O₆Cl : 555,04 g•mol⁻¹ (215)



Le tétraol **214** (100mg, 239 μ mol) est dissous dans 5 mL de THFa sous argon. On injecte goutte à goutte cette solution à un mélange préalable, réalisé sous argon, de 6-chloro-purine (1,2 éq., 298 μ mol, 46 mg) dissoute dans 15 mL de THFa avec 1,2 éq. de PPh₃ (77 mg) et 1,2 éq. de DEAD (56 μ L). Après 4 j à T. A. le MR est évaporé à sec. Le brut de 320 mg est déposé sur une colonne de 100 g de SiO₂ éluée par DCM-MeOH 24/1 + 0,1 % de TEA, puis par DCM-MeOH 6/1. La purine **215** (de R_f 0,52 dans l'AcOEt) est récupérée à raison de 41,0 mg sous la forme d'une pâte beige clair (31 %). La RMN est conforme (*cf* partie précédente *Réaction de Mitsunobu suivie d'une déallylation*).

• *Phosphorylation par la méthode des phosphoramidites*

(±)-3,4-Di-O-benzyl-2-O-[3'(9''-N-(6''-Cl-purinyl))propyl] *myo*-inositol
 1,5,6-tri-O-(orthoxylylène)phosphate ; C₅₂H₅₂N₄O₁₅P₃Cl : 1101,38 g•mol⁻¹ (218)



Le triol **215** (18,8 mg, 33,9 μ mol) est mis à réagir dans un mélange préalable (réalisé à T. A. et sous argon, dans 1 mL de DCMA pendant 30 min) de 2-diéthylamino-1,3,2-benzodioxaphosphépane **216** (6 éq., 203 μ mol, 48,6 mg) et de tétrazole (9 éq., 305 μ mol, 21,8 mg) 30 min à T. A. et sous argon. Après 45 min, on ajoute à -78°C 6,5 éq. de *m*CPBA (220 μ mol, 54,3 mg) séché dans DCMA sur MgSO₄. On replace à T. A. au bout de 3 min Le MR est traité après 48 h : complété à 10 mL de DCM, il est lavé par Na₂SO₃ à 10 % dans l'eau (2 × 10 mL) puis NaHCO₃ à saturation dans l'eau (2 × 10 mL), séchage de la phase organique sur MgSO₄, filtration sur papier et évaporation à sec. Le brut de 52,9 mg est déposé sur une petite colonne montée avec 10 g de SiO₂ éluée par un mélange DCM-MeOH 19/1. Une partie des impuretés est éliminée, on redépose le mélange sur une nouvelle colonne (30 g de SiO₂, élution DCM-

MeOH 19/1), à nouveau une partie des impuretés est éliminée. Les mélanges testés par RMN et CCM au cours des purifications permettent de situer le produit attendu au R_f de 0,51, le réactif de phosphorylation dégradé étant de R_f 0,60 (CCM éluée également par le mélange DCM-MeOH 19/1). On dépose le dernier mélange ainsi obtenu (38 mg) sur une plaque préparative éluée 4 fois par DCM-MeOH 19/1. On sépare l'impureté de R_f 0,60 et des traces de produits de R_f inférieur à 0,51. La bande désorbée (après broiement au pilon) par un mélange habituellement utilisé à cet effet (AcOEt-DCM-MeOH-acétone 19/19/1/1) est repurifiée en 3 injections HPLC : pureté observée de 68 % à 220 nm et de 89 % à 254 nm (temps de rétention de 33,5 min). On obtient ainsi 12,7 mg de cristaux

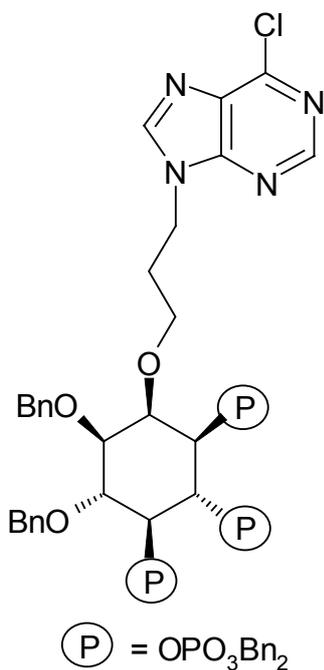
blancs gras du composé tris(phosphorylé) **218** (34 %).

RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ (300 MHz, COSY, CDCl_3) : 8,73 et 8,39 (2 s, 2 H, $H\text{-}2''$ et $H\text{-}8''$) ; 7,40-7,00 (m, 22 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$ et $(\text{C}_6\text{H}_4)_3$) ; 5,60-4,75 (m simplifié par $\{^{31}\text{P}\}$, 16 H, $((\text{CH}_2)_2\text{-C}_6\text{H}_4)_3$ et $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$, où l'on distingue à 5,26 (m, 1 H, $H\text{-}6$) et à 4,79 (q, $^3\text{J} = 9,3$, 1 H, $H\text{-}5$) ; , (AB, $\Delta\delta = 0,02$, $J_{\text{AB}} = 11,4$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$) ; 4,50-4,40 (m, 4 H, $H\text{-}1$, $H\text{-}2$ et $\text{CH}_2\text{-}3'$) ; 4,01 (t, $^3\text{J} = 9,6$, 1 H, $H\text{-}4$) ; 3,95-3,75 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-}1'$) ; 3,59 (ddl, $^3\text{J} = 9,9$, $^3\text{J} = 1,5$, 1 H, $H\text{-}3$) ; 2,30-2,20 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-}2'$).

RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (AC 200, CDCl_3) : 0,223 (s, 1 P) ; 0,255 (s, 1 P) ; 0,256 (s, 1 P).

• *Phosphorylation par le pyrophosphate tétrabenzylé*

(±)-3,4-Di-O-benzyl-2-O-[3'(9''-N(6''-chloro-puriny))propyl] myo-inositol 1,5,6-tri-O-(dibenzyle)phosphate ; $\text{C}_{70}\text{H}_{70}\text{O}_{15}\text{N}_4\text{P}_3\text{Cl}$: 1335,73 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (220)



Le triol **215** (37 mg, 67 μmol) est dissous dans 3 mL de DMFa sous argon puis mis à réagir à 0°C avec 3,9 éq. de NaH (0,26 mmol, 10 mg) ; au bout de 5 min on remet à T. A. pendant 5 nouvelles min. On ajoute à T. A. 3,9 éq. de pyrophosphate tétrabenzylé **136** (0,14 g). Après une nuit de réaction le triol **215** semble absent du MR d'après CCM. On traite la réaction par ajout de 25 mL d'eau distillée suivi de NaCl à saturation. La phase aqueuse est extraite par trois fois 25 mL de DCM. Les phases organiques combinées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées sur fritté et évaporées à sec. On obtient un brut de 153 mg que l'on dépose sur une colonne de 30 g de SiO_2 (élution DCM-MeOH 9/1 puis 4/1). On obtient un mélange de 77 mg qui montre 3 pics par RMN- ^{31}P (les autres fractions testées par RMN sont abandonnées). Cette fraction est repurifiée par

d'autres chromatographies jusqu'à obtenir le produit tris(phosphorylé) **220** (de R_f 0,75 dans l'AcOEt) suffisamment propre. On en obtient finalement 7 mg (8 %, pâte blanche).

RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ (300 MHz, HMBC $^1\text{H}\text{-}^{31}\text{P}$, COSY, CDCl_3) : 8,70 et 8,24 (2 s, 2 H, $H\text{-}2''$ et $H\text{-}8''$) ; 7,40-7,10 (m, 40 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_8$) ; 5,20-4,40 (m simplifié par $\{^{31}\text{P}\}$, 18 H, où l'on distingue $H\text{-}6$ à 4,47, $H\text{-}5$ à 4,76 et $(\text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5)_8$) ; 4,32 (td, $^3\text{J} = 6,9$, $^3\text{J} = 3,1$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-}3'$) ; 4,22 (t fin non résolu, 1 H, $H\text{-}2$) ; 4,16 (dd, $^3\text{J} = 9,7$, $^3\text{J} = 1,7$, 1 H, $H\text{-}1$, ddd avant $\{^{31}\text{P}\}$, $^3\text{J}_{\text{H-P}} = 7,5$) ; 3,98 (t, $^3\text{J} = 9,5$, 1 H, $H\text{-}4$) ; 3,75-3,60 (m, 2 H, $\text{CH}_2\text{-}1'$) ; 3,39 (dd, $^3\text{J} = 9,7$, $^3\text{J} = 1,7$, 1 H, $H\text{-}3$) ; 2,07 (qu, $^3\text{J} = 5,5$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-}2'$).

RMN- ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (AC 200, CDCl_3) : -0,38, -0,85, -1,22 (3 s, 3 P).

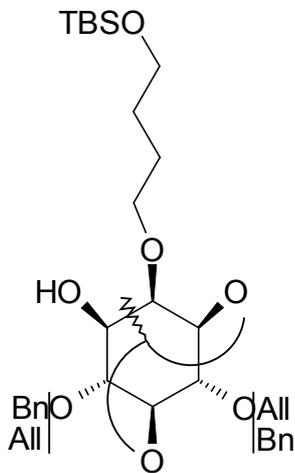
Tentatives de préparation de sels de cyclohexylammonium du (±)-2-O-[3'(9''-N-puriny))propyl] myo-inositol 1,5,6-tris(phosphate) ; $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_{15}\text{N}_4\text{P}_3$ + $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NH}_3)_5$: 1076,16 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (219)

Mêmes remarques et conclusions que pour la série 3,6-di-O-benzylée, où le tris(phosphate) **104** n'a pas pu être obtenu.

2.2.5. Élaboration des analogues avec l'espaceur butylique

2.2.5.1. Intermédiaires aux séries 3,4- et 3,6-di-O-benzylées synthétisés en commun

(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(4'-O-*tert*-butyldiméthylsilyl-butyl) *myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₂₈H₄₆O₇Si : 522,76 g·mol⁻¹ (**222**)
 (±)-6-O-Allyl-4-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(4'-O-*tert*-butyldiméthylsilyl-butyl) *myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₂₈H₄₆O₇Si : 522,76 g·mol⁻¹ (**223**)



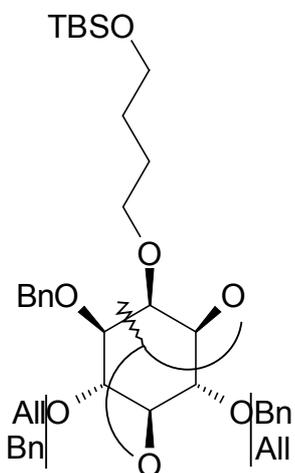
L'orthoester **199** (2,02 g, 3,86 mmol) est dissous dans 40 mL de DCMa sous argon. On injecte à 0°C et goutte à goutte 2 éq. de triméthylaluminium (à 2 M dans THF soit 7,73 mmol, 3,86 mL). Après une nuit de réaction, on observe la présence d'un nouveau produit de R_f 0,58 vs 0,53 (CCM éther-heptane 1/1) pour le réactif **199** (encore très présent dans le MR) et des traces de produits plus polaires (R_f 0,33, 0,29, 0,19 et 0,10). On traite la réaction avec 150 mL d'une solution à 500 g·L⁻¹ de tartrate mixte de sodium et de potassium à laquelle est adjointe 150 mL d'une solution aqueuse saturée en NH₄Cl, sous forte agitation et pendant une heure. Le mélange est extrait deux fois par 200 mL de DCM. On sèche sur

MgSO₄ les phases organiques combinées. Cette phase est ensuite filtrée sur papier et évaporée à sec.

On dépose le brut (1,95 g) sur gel de 300 g de SiO₂ dans un mélange éther-heptane 1/1, élution poursuivie à l'éther pur. Les régioisomères inséparables **222** et **223** sortent en mélange avec le réactif **199** (1,45 g, env. 70 % en mol de produits "ouverts", les alcools **222** et **223**, par rapport au produit "fermé", l'orthoester **199** d'après RMN). Ce mélange est utilisé tel quel pour la benzylation suivante. RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : spectre complexe non résolu comprenant les groupements allyles, benzyles, éthylidènes, butyles, inositols, orthoester et TBS des composés **199**, **222** et **223**.

(±)-4-O-Allyl-3,6-di-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(4'-O-*tert*-butyldiméthyl-silyl-butyl) *myo*-inositol ; C₃₅H₅₂O₇Si : 612,89 g·mol⁻¹ (**224**)

(±)-6-O-Allyl-3,4-di-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(4'-O-*tert*-butyldiméthyl-silyl-butyl) *myo*-inositol ; C₃₅H₅₂O₇Si : 612,89 g·mol⁻¹ (**225**)



Le mélange 70/30 (0,97 g) des alcools **222** et **223** et de l'orthoester **199** (env. 1,89 mmol, produits de MM très proches) est dissous dans 40 mL de DMFa sous argon. La réaction de benzylation peut être réalisée sans inconvénient avec des excès de réactifs (la stœchiométrie sera donc définie sur le mélange par commodité) et les régioisomères dibenzylés seront plus facilement séparables de l'orthoester **199**. Ainsi, sont ajoutés à 0°C, 1 éq. de NaH (à 60 % dans graisses : 0,24 g). On remet à T. A. au bout de 15 min et après une quinzaine de min (tout en faisant régulièrement dégazer le MR) on injecte goutte à goutte le bromure de benzyle (1 éq., 0,23 mL) ainsi qu'un cristal d'iode catalytique.

Après une nuit de réaction, il reste du mélange des alcools **222** et **223** d'après

CCM éluée avec un mélange éther-heptane 1/2 (R_f de 0,41 vs orthoester **199** de R_f 0,36). Sont observés, en plus des graisses de R_f 0,97, le BnBr de R_f 0,69 et un nouveau produit de R_f 0,51. On rajoute les mêmes réactifs dans les mêmes conditions, mais le MR ne semble plus évoluer pendant les 24 h suivantes. Il est donc traité par de l'eau glacée, puis dilué par une solution aqueuse saturée en NaCl (env. 200 mL). On extrait cette phase aqueuse par du dichlorométhane (2×200 mL). On sèche les phases organiques rassemblées sur $MgSO_4$. Cette phase est ensuite filtrée et évaporée à sec.

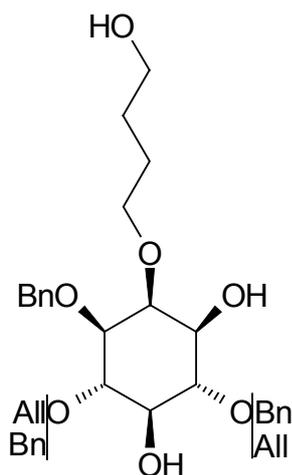
On dépose le brut (1,81 g) sur gel de 300 g de SiO_2 dans éther-heptane 1/1 puis éther. On obtient un mélange des alcools **222** et **223** (0,50 g, 52 %). Les régiomères dibenzylés inséparables **224** et **225** sont élués en même temps qu'une partie des graisses et du BnBr (2,6 éq. d'après RMN) à raison de 0,48 g sous la forme d'un liquide visqueux jaune. Les puretés des réactifs et des produits recueillis ne permettent pas d'établir un quelconque rendement. Le mélange est utilisé tel quel pour l'étape suivante.

(±)-4-O-Allyl-3,6-di-O-benzyl-2-O-(4'-butanol) *myo*-inositol ;

$C_{27}H_{36}O_7$: 472,58 $g \cdot mol^{-1}$ (**226**)

(±)-6-O-Allyl-3,4-di-O-benzyl-2-O-(4'-butanol) *myo*-inositol ;

$C_{27}H_{36}O_7$: 472,58 $g \cdot mol^{-1}$ (**227**)



Le mélange des régiomères dibenzylés **224** et **225** (0,48 g, soit 816 μmol au maximum) est dissous dans 15 mL de MeOH. On ajoute 1 éq. (théorique) de *p*TSA (155 mg) et le MR est mis à reflux durant 48 h. L'évolution est conforme sur plaque de CCM après une nuit de chauffage : disparition des réactifs dibenzylés **224** et **225**, observation de deux taches intenses de R_f 0,68 et 0,48 (CCM éluée par l'AcOEt). On alcalinise le MR (après dilution par 30 mL de MeOH et retour à T. A.) par 1 mL de TEA. Le MR est ensuite évaporé à sec et le brut (0,56 g) est déposé sur un gel de 300 g de SiO_2 élué par de l'AcOEt qui permet de séparer entièrement les

deux triols régiomères **226** et **227** (respectivement 88 et 84 mg sous la forme de pâtes blanches, pas de rendement significatif, 23 et 22 % de rendement relatif, sur la base du mélange 1/1 initial de 0,48 g).

• (±)-4-O-Allyl-3,6-di-O-benzyl-2-O-(4'-butanol) *myo*-inositol **226**.

SM ESI⁺ ($C_{27}H_{36}O_7$) calc. 472,25 ; obs. 495,2 ($M+Na^+$).

RMN-¹H (300 MHz, COSY, $CDCl_3$) : 7,50-7,30 (m, 10 H, $(C_6H_5)_2$) ; 5,99 (ddt, $^3J_{trans} = 17,4$, $^3J_{cis} = 10,2$, $^3J = 5,4$, 1 H, $OCH_2-CH=CH_2$) ; 5,33 (qd, $^3J_{trans} = 17,2$, $^2J = 1,6$, 1 H, $OCH_2-CH=CH_{trans}$) ; 5,18 (qd, $^3J_{cis} = 10,3$, $^2J = 1,8$, 1 H, $OCH_2-CH=CH_{cis}$) ; (AB, $\Delta\delta = 0,12$, $J_{AB} = 11,3$, 2 H, $CH_2-C_6H_5$) ; 4,68 (s, 2 H, $CH_2-C_6H_5$) ; (AB d'un ABMXX', $\Delta\delta = 0,18$, $J_{AB} = 12,5$, $J_{AM} = 5,9$, $J_{BM} = 5,6$, $J_{AX} = J_{AX'} = 1,2$, $J_{BX} = J_{BX'} = 1,3$, 2 H, $OCH_2-CH=CH_2$) ; 3,85 (t, $^3J = 2,5$, 1 H, H-2) ; (AB d'un ABX₂, 2 H, $J_{AB} = 9,5$, $J_{AX} = J_{BX} = 5,6$, CH_2-1') ; 3,70-3,60 (m, 2 H, CH_2-4') ; 3,68 (t, $^3J = 7,7$, 1 H, H-4) ; 3,63 (t, $^3J = 7,9$, 1 H, H-6) ; 3,45 (t, $^3J = 9,0$, 1 H, H-5) ; 3,43 (ddl, $^3J = 9,6$, $^3J = 2,9$, 1 H, H-3) ; 3,33 (dd, $^3J = 9,6$, $^3J = 2,4$, 1 H, H-1) ; 2,70 et 2,20 (2 sl, 2 H éch., $(OH)_2$) ; 1,75-1,55 (m, 4 H, CH_2-2' et CH_2-3').

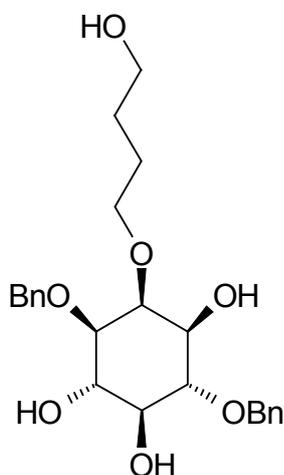
- (\pm)-6-O-Allyl-3,4-di-O-benzyl-2-O-(4'-butanol) *myo*-inositol **227**.

RMN-¹H (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 7,40-7,20 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 5,98 (ddt, ³J_{trans} = 17,2, ³J_{cis} = 10,3, ³J = 5,7, 1 H, OCH₂-CH=CH₂) ; 5,31 (qd, ³J_{trans} = 17,2, ²J = 1,6, 1 H, OCH₂-CH=CHH_{trans}) ; 5,18 (qd, ³J_{cis} = 10,3, ²J = 1,1, 1 H, OCH₂-CH=CHH_{cis}) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta$ = 0,21, J_{AB} = 11,2, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,70 (s, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABMXX', $\Delta\delta$ = 0,10, J_{AB} = 12,6, J_{AM} = 5,9, J_{BM} = 5,7, J_{AX} = J_{AX'} = 1,3, J_{BX} = J_{BX'} = 1,2, 2 H, OCH₂-CH=CH₂) ; 3,90 (t, ³J = 2,4, 1 H, H-2) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX₂, $\Delta\delta$ = 0,15, J_{AB} = 9,5, J_{AX} = 6,5, J_{BX} = 5,6, 2 H, CH₂-1') ; 3,76 (t, ³J = 9,6, 1 H, H-6) ; 3,68 (t, ³J = 5,7, 2 H, CH₂-4') ; 3,52 (t, ³J = 8,6, 1 H, H-4) ; 3,45 (t, ³J = 9,5, 1 H, H-5) ; 3,38 (ddl, ³J = 9,7, ³J = 2,7, 2 H, H-1 et H-3) ; 2,70 et 2,20 (2 sl, 2 H éch., (OH)₂) ; 1,75-1,55 (m, 4 H, CH₂-2' et CH₂-3').

SMHR ESI⁺ (M+Na⁺) (C₂₇H₃₆O₇Na) : calc. 495,2358 ; obs. 495,2131.

2.2.5.2. Série 3,6-di-O-benzylée

(\pm)-3,6-Di-O-benzyl-2-O-butan-4'-ol *myo*-inositol ; C₂₄H₃₂O₇ : 432,52 g•mol⁻¹ (**228**)



L'allyle **226** (500 mg, 1,05 mmol) est dissous dans un mélange EtOH-eau distillée 9/1 de 20 mL. On y ajoute 0,2 éq. de DABCO (212 μ mol, 24 mg) à T. A., ainsi que 0,1 éq. de catalyseur de Wilkinson à 99,99 % (106 μ mol, 98 mg). La réaction est mise à reflux durant une nuit. On constate peu d'évolution après ce laps de temps, on rajoute les mêmes quantités de réactifs (DABCO et catalyseur) et on replace à reflux pendant 24 h. On ajoute lentement et sous forte agitation, après retour à T. A., 5 gouttes d'HCl concentré puis 1 mL. On rajoute au bout de 5 min 2 mL d'eau, puis 3 mL de TEA au bout de 25 min env. Il semble rester de

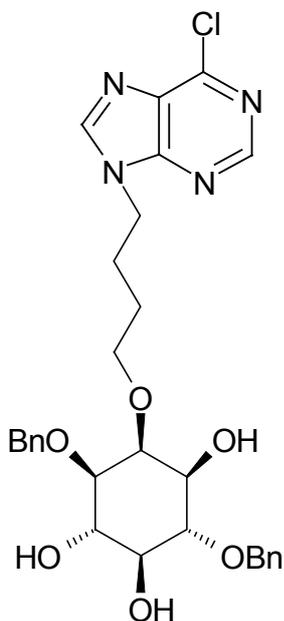
l'allyle initial **226** de R_f 0,71 vs produit déallylé, le tétraol **228** de R_f 0,36 (CCM éluee par AcOEt). Le MR est passé aux ultrasons puis filtré sur fritté et célite (lavage THF env. 30 mL) et évaporé à sec. On réalise un dépôt sec en le reprenant dans env. 20 mL de CHCl₃ auxquels sont adjoints 2 g de SiO₂, ce mélange est évaporé à sec puis placé sous le vide de la pompe à palettes une nuit durant. On purifie sur colonne de 200 g de SiO₂ éluee par un mélange AcOEt-DCM-MeOH 30/19/1 (+ 0,1 % TEA), puis 10/4/1. On obtient 284 mg de pâte blanche (62 %) du tétraol **228** après une 2^o purification en vue d'éliminer les traces de catalyseur. Le produit de R_f 0,71 est le réactif **226** ayant subi une hydrogénation de l'allyle (60 mg, 12 %). SMHR ESI⁺, (M+Na⁺) (C₂₄H₃₂O₇Na) calc. 455,2040 ; obs. 455,2044 (maj.) et 471,1783 (M+K⁺).

RMN-¹H (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 7,4-7,2 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta$ = 0,10, J_{AB} = 11,5, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta$ = 0,07, J_{AB} = 11,9, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 3,84 (t, ³J = 2,5, 1 H, H-2) ; 3,82 (t partiellement résolu, 1 H, H-4) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX₂ partiellement masqué, J_{AB} = 9,4, J_{AX} = 4,5, 2 H, CH₂-1') ; 3,65-3,55 (m, 3 H, contenant à 3,59 (t, ³J = 5,6, 2 H, CH₂-4') et H-6) ; 3,48 et 3,35 (2 sl, 2 H éch., (OH)₂) ; 3,43 (ddl, ³J = 9,4, ³J = 2,5, 1 H, H-1) ; 3,39 (t, ³J = 9,4, 1 H, H-5) ; 3,20 (dd, ³J = 9,2, ³J = 2,4, 1 H, H-3) ; 2,89 et 2,72 (2 sl, 2 H éch., (OH)₂) ; 1,70-1,45 (m, 4 H, CH₂-2' et CH₂-3').

• Le (\pm)-3,6-Di-O-benzyl-2-O-(butan-4'-ol)-4-O-propyl-*myo*-inositol **267**, résultant de l'hydrogénation du groupe allyle du composé **226** et de même R_f , est également observé lors de resynthèses effectuées avec le four à micro-ondes (22 à 28 % vs 68 à 77 % du tétraol **228**). SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₂₇H₃₈O₇Na) : calc. 497,25 ; obs. 475 (M+H⁺) et 497.

Les signaux du -CH=CH₂ de l'allyle observés par RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) deviennent 1,67 (se, ³J = 7,2, 2 H, CH₂) et 0,97 (t, ³J = 7,3, 3 H, CH₃). Les autres signaux sont globalement retrouvés, mais un résidu de catalyseur perturbe l'homogénéité du champ magnétique par la présence du rhodium, ce qui rend l'attribution des autres signaux, de déplacements chimiques proches, difficilement réalisable.

(\pm)-3,6-Di-O-benzyl-2-O-[4'(9''-N-(6''-chloro-puriny))butyl] *myo*-inositol ;
C₂₉H₃₃N₄O₆Cl : 569,06 g•mol⁻¹ (229)



Le tétraol **228** (280 mg, 647 μ mol) est dissous dans 5 mL de THFa sous argon et injecté (à T. A. et goutte à goutte) à un milieu contenant de la 6-chloro-purine (1 éq., 100 mg), PPh₃ (1 éq., 170 mg), ainsi que du DEAD (1 éq., 120 μ L) dans 30 mL de THFa.

La réaction paraît complète après 24 h sur CCM (AcOEt) : en fait la zone autour du tétraol réactif **228** de R_f 0,37 (d'après point mixte) est relativement riche en produits, dont l'impureté aromatique est visible essentiellement aux UV (PPh₃O possiblement). Les différents produits observés sont situés aux R_f suivants : 0,08, 0,22, 0,27, 0,34, 0,67 et 0,95. On évapore le MR à sec. On essaye sans succès de recristalliser une partie des impuretés aromatiques dans l'éthanol, PPh₃ résiduel pouvant être ainsi éliminé. On se sépare du DEAD saturé par recristallisation dans l'éther. On dépose le brut (adsorbé sur 1 g de silice) sur un gel de 150 g de SiO₂ élué par AcOEt. On obtient 85 mg de réactif **228** en mélange avec env. 0,5 éq. de PPh₃O d'après RMN.

La purine **229** est récupérée à raison de 123 mg sous la forme d'une pâte amorphe beige (33 %) après deux colonnes supplémentaires, la dernière colonne étant réalisée avec un mélange éther-EtOH 19/1 qui permet de mieux séparer le produit purinylé du sous-produit aromatique dérivé de PPh₃ (voire PPh₃ lui-même), ceux-ci ayant respectivement des R_f de 0,32 (R_f sur le centre de la tache très étalée) et de 0,57 dans ce mélange éluant. En dehors de la fraction pure, un mélange de 6 mg contenant la purine **229** et l'impureté aromatique est obtenu. Pour une raison pratique de nécessité de poursuite de la synthèse, on réalise les RMN approfondies sur cet échantillon.

Les autres produits (plus polaires) ne sont pas récupérés et analysés ici. Néanmoins, le produit **230** comprenant la purine substituée en N-7, de R_f = 0,08 (DCM-MeOH 9/1), a été isolé et analysé lors d'une autre expérience réalisée sensiblement dans les mêmes conditions (avec 3,7 fois plus de tétraol **228** et 1,1 éq. des autres réactifs). Le (\pm)-3,6-di-O-benzyl-2-O-[4'(7''-N-(6''-chloro-puriny))butyl] *myo*-inositol **230** a été obtenu avec un rendement de 7 % (et 40 % de dérivé substitué en N-9 **229**). Remarque : probable rétention de produits lors des différentes purifications sur colonne.

• (±)-3,6-di-O-benzyl-2-O-[4'(9''-N-(6''-chloro-purinyl))butyl] *myo*-inositol **229**.

RMN-¹H (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 8,76 et 8,08 (2 s, 2 H, *H*-2'' et *H*-8'') ; 7,6-7,4 (m, 10 H (C₆H₅)₂) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,11$, $J_{AB} = 11,4$, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,04$, $J_{AB} = 11,8$, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX₂, $\Delta\delta = 0,03$, $J_{AB} = 7,1$, $J_{AX} = J_{BX} = 3,6$, 2 H, CH₂-4') ; 3,94 (t, ³J = 2,3, 1 H, *H*-2) ; 3,93 (t, ³J = 9,3, 1 H, *H*-4) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX₂, $\Delta\delta = 0,13$, $J_{AB} = 9,3$, $J_{BX} = 6,0$, $J_{AX} = 5,6$, 2 H, CH₂-1') ; 3,65 (t, ³J = 9,2, 1 H, *H*-6) ; 3,53 (dd, partiellement masqué, 1 H, *H*-1) ; 3,51 (t, ³J = 8,9, 1 H, *H*-5) ; 3,20 (dd, ³J = 9,8, ³J = 2,3, 1 H, *H*-3) ; 2,79 (sl, 2 H éch., (OH)₂) ; 2,69 (s, 1 H éch., OH) ; 2,02 (qu, ³J = 7,2, 2 H, CH₂-3') ; 1,62 (qu, ³J = 7,2, 2 H, CH₂-2').

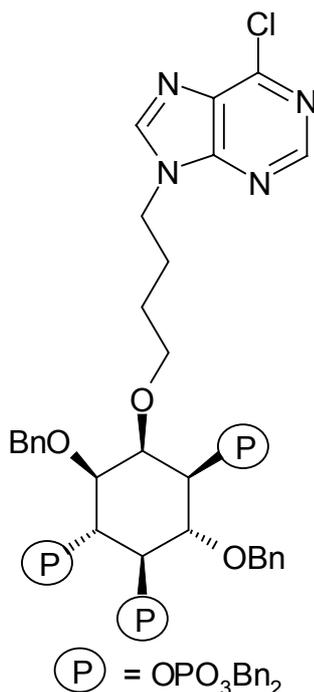
RMN-¹³C (75,43 MHz, DEPT, HMBC, CDCl₃) : 152,01 C-2'' ; 145,53 C-8'' ; 132,3-128,0 (CH Ar)₂ ; 81,43 C-2 ; 80,32 C-6 ; 77,60 C-3 ; 75,22 C-4 ; 74,91 CH₂-C₆H₅ ; 72,98 C-5 ; 72,89 CH₂-C₆H₅ ; 72,54 C-1' ; 44,23 C-4' ; 27,13 et 27,02 C-2' et C-3'.

• (±)-3,6-di-O-benzyl-2-O-[4'(7''-N-(6''-chloro-purinyl))butyl] *myo*-inositol **230**.

RMN-¹H (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 8,86 et 8,22 (2 s, 2 H, *H*-2'' et *H*-8'') ; 7,45-7,25 (m, 10 H (C₆H₅)₂) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,16$, $J_{AB} = 11,4$, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,69 (s, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX₂, $\Delta\delta = 0,03$, $J_{AB} = 8,2$, $J_{AX} = J_{BX} = 7,2$, 2 H, CH₂-4') ; 3,94 (t, ³J = 2,2, 1 H, *H*-2) ; 3,91 (t, ³J = 9,4, 1 H, *H*-4) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX₂, $\Delta\delta = 0,02$, $J_{AB} = 6,0$, $J_{AX} = J_{BX} = 4,1$, CH₂-1') ; 3,63 (t, ³J = 9,2, 1 H, *H*-6) ; 3,52 (t, ³J = 9,1, 1 H, *H*-5) ; 3,50 (dd, ³J = 9,1, ³J = 4,5, 1 H, *H*-1) ; 3,31 (dd, ³J = 9,7, ³J = 2,3, 1 H, *H*-3) ; 2,74 (sl, 2 H éch., (OH)₂) ; 2,63 (sl, 1 H éch., OH) ; 2,00 (qu, ³J = 7,4, 2 H, CH₂-3') ; 1,68 (qu, ³J = 6,5, 2 H, CH₂-2').

RMN-¹³C (50,29 MHz, HMBC, CDCl₃) : 162,08 C-4'' ; 152,66 C-2'' ; 149,98 C-8'' ; 138,92 C-6'' ; 138,01 C-5'' ; 129-128 (CH Ar)₂ ; 81,54 C-4 ; 80,53 C-3 ; 78,01 C-1' ; 75,55 C-5 ; 75,26 CH₂-C₆H₅ ; 73,78 CH₂-C₆H₅ ; 73,52 C-2 ; 72,87 C-6 ; 72,30 C-1 ; 47,22 C-4' ; 29,03 C-2' ; 26,96 C-3'.

(±)-3,6-Di-O-benzyl-2-O-[4'(9''-N-(6''-chloro-purinyl))butyl] *myo*-inositol 1,4,5-O-tris(dibenzylphosphate) ; C₇₁H₇₂N₄O₁₅P₃Cl : 1349,76 g·mol⁻¹ (231)



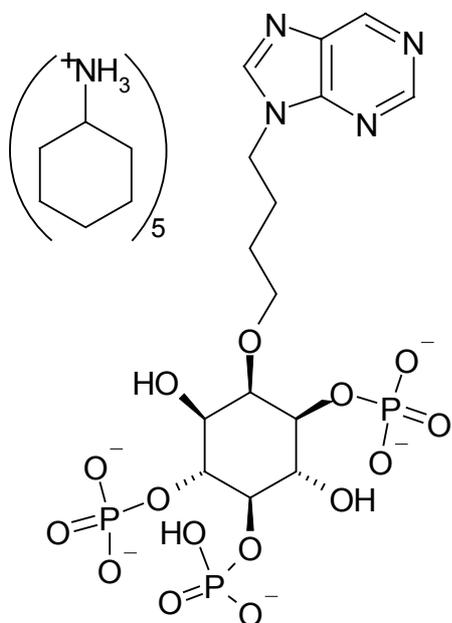
Le triol **229** (217 mg, 381 μ mol) est dissous dans 40 mL de THFa sous argon puis mis à réagir à 0°C avec 6 éq. NaH (2,29 mmol, 91 mg) et 100 μ L de cryptant [15-5] pendant env. 3 min, puis à 50°C pendant env. 30 min, puis de nouveau placé à 0°C. On ajoute 6 éq. de pyrophosphate tétrabenzylé **136** (1,23 g). Le MR est traité après une nuit à T. A. avec une solution aqueuse saturée en NaHCO₃ (100 mL) puis dilué avec 60 mL DCM. La phase aqueuse est à nouveau extraite par 100 mL de DCM. Les phases organiques combinées sont séchées sur MgSO₄, filtrées sur fritté et évaporées à sec. Le produit tris(phosphorylé) (majoritaire) a un R_f de 0,45 dans un mélange éther-EtOH 19/1. Le composé tris(phosphorylé) **231** (HPLC, temps de rétention de 43,0 min) est obtenu sous la forme d'une pâte blanche (201 mg, 39 %) après séparation sur un gel de 150 g de SiO₂ (élution éther-MeOH 19/1).

RMN-¹H {³¹P} (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 8,71 et 8,16 (2 s, 2 H, *H*-2'' et *H*-8'') ; 7,40-6,90 (m, 40 H, (C₆H₅)₈) ; 5,10-4,40 (m, 18 H, (CH₂-C₆H₅)₈) et

H-4 à 4,97, *H*-5 à 4,56, apparaît plus complexe sans $\{^{31}\text{P}\}$; 4,23 (dd, $^3\text{J} = 9,8$, $^3\text{J} = 1,9$, 1 H, *H*-1, devient ddd avec $^3\text{J}_{\text{H-P}} = 7,4$ sans $\{^{31}\text{P}\}$; 4,15 (tl, $^3\text{J} = 7,4$, 3 H, $\text{CH}_2\text{-1}'$ et *H*-2) ; 3,68 (tl, $^3\text{J} = 4,5$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-4}'$) ; 3,41 (dd, $^3\text{J} = 9,5$, $^3\text{J} = 1,7$, 1 H, *H*-3) ; 1,94 (qu, $^3\text{J} = 7,4$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-3}'$) ; 1,53 (qu, $^3\text{J} = 6,3$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-2}'$).

RMN- ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (121,49 MHz, CDCl_3) : -0,94, -1,07, -1,19 (3 s, 3 P).

(±)-2-O-[4'(9''-*N*-Purinyl)butyl] *myo*-inositol 1,4,5-tris(phosphate) pentacyclohexyl-ammonium ; $\text{C}_{45}\text{H}_{91}\text{N}_9\text{O}_{15}\text{P}_3$: 1091,20 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (105)



L'inositol tris(phosphate) totalement protégé **231** (140 mg, 103 μmol) est dissous dans le MeOH (5 mL, chromapur pour ce protocole). Le MR comprend également du cyclohexène (excès, 0,9 mL) et $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (10 mg). Le tube scellé contenant le MR est placé dans un four à micro-ondes à 120°C pendant 5 min. Le MR est ensuite filtré par une membrane Millipore (MillexGV 0,22 μm) que l'on rince par du MeOH (30 mL) et $\text{H}_2\text{O}^\infty$ (10 mL). La solution noire est traitée par du charbon actif et refiltrée. Les solvants sont évaporés à l'évaporateur rotatif à 40°C (et pas au-delà pour ce protocole) en vue d'une RMN de contrôle (41,8 mg). Le mélange est repris dans 5 mL $\text{H}_2\text{O}^\infty$ à 0°C ; on ajoute un large excès de cyclohexylamine (5 mL) goutte à goutte, puis on agite manuellement durant 1 min et on évapore à sec

le ballon. Le MR est repris dans env. 0,5 mL $\text{H}_2\text{O}^\infty$, solution à laquelle sont ajoutés goutte à goutte 100 mL d'acétone P. A. On laisse se former les cristaux pendant une nuit à 4°C. On obtient des cristaux d'aspect noir après prélèvement de l'acétone à la seringue. On reprend le produit brut dans 4 mL $\text{H}_2\text{O}^\infty$, puis on en prélève 1 mL dilué à nouveau par 20 mL $\text{H}_2\text{O}^\infty$. L'aliquote est traité pendant env. 20 min avec du charbon actif à T. A. puis filtré sur millipore et lyophilisé.

• SM ESI^- (M) ($\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_{15}\text{P}_3$) : calc. 594,05 ; obs. 593,08 ((M- H^+)/1), 296,04 ((M-2 H^+)/2).

RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ (200 MHz, D_2O) : 9,08, 8,90, 8,57 (3 s, 3 H, *H*-2'', *H*-6'' et *H*-8'') ; 4,40-3,60 (m, 10 H, $\text{CH}_2\text{-1}'$, $\text{CH}_2\text{-4}'$ et *H*-1, *H*-2, *H*-3, *H*-4, *H*-5, *H*-6) ; 3,20-3,00 (m, 5 H, (N-CH)₅) ; 2,10-1,20 (m, 54 H, $\text{CH}_2\text{-2}'$, $\text{CH}_2\text{-3}'$ et (CH₂)₂₅ cyclohexylamine).

RMN- ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (121,49 MHz, D_2O) : 4,34, 3,31 et 2,92 (3 s, 3 P).

• Un aliquote est désalifié sur colonne échangeuse d'ions (IRA 120 H^+).

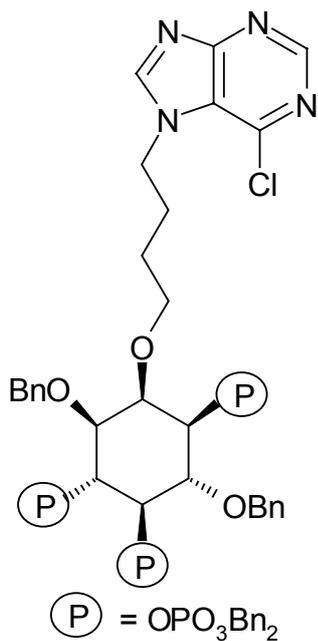
SMHR ESI^- (M-2 H^+)/2 : calc. 296,0106 ; obs. 296,0095.

RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ (300 MHz, HMBC $^1\text{H}\text{-}^{31}\text{P}$, COSY, D_2O) : 9,35, 9,24, 8,93 (3 s, 3 H, *H*-2'', *H*-6'' et *H*-8'') ; 4,47 (t, $^3\text{J} = 7,2$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-1}'$) ; 4,25-3,55 (m, 8 H, contenant *H*-4 à 4,23, *H*-5 à 3,95, *H*-2 à 3,90, *H*-1 à 3,86, $\text{CH}_2\text{-4}'$ à 3,78, *H*-6 à 3,75 et *H*-3 à 3,67) ; 2,13 (qu, $^3\text{J} = 7,2$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-3}'$) ; 1,61 (qu, $^3\text{J} = 8,0$, 2 H, $\text{CH}_2\text{-2}'$).

RMN- ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (121,49 MHz, D_2O) : 1,26, 0,87 et 0,04 (3 s, 3 P).

Le tris(phosphate) **105**, conservé sous la forme de sel de pentacyclohexylammonium, est maintenu à -28°C en attendant d'être testé (rendement moyen de 30 % établi uniquement sur deux autres réactions réalisées avec 19 et 12 mg de réactif **231**).

2.2.5.3. Série 3,6-di-O-benzylée comprenant le tautomère N-7 de la purine

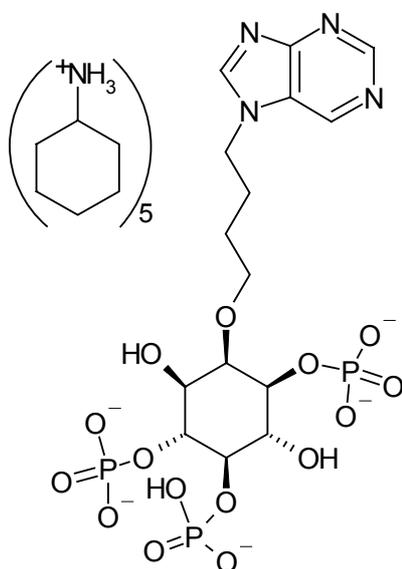
(±)-3,6-Di-O-benzyl-2-O-[4'(7''-N-(6''-chloro-purinyl))butyl] myo-inositol 1,4,5-O-tris(dibenzylphosphate) ; C₇₁H₇₂N₄O₁₅P₃Cl : 1349,76 g·mol⁻¹ (232)

Le triol **230** (118 mg, 207 μmol) est dissous dans 25 mL de THFa sous argon puis mis à réagir 3 min à 0°C avec 6 équ. NaH (1,24 mmol, 50 mg) et 100 μL de cryptant [15-5], puis à 50°C pendant env. 30 min, puis de nouveau placé à 0°C. On ajoute 6 équ. de pyrophosphate tétrabenzylé **136** (0,67 g). Le MR est traité après une nuit à T. A. avec une solution aqueuse saturée en NaHCO₃ (50 mL) puis dilué avec 100 mL DCM. La phase aqueuse est à nouveau extraite par 2 fois 100 mL de DCM. Les phases organiques combinées sont séchées sur MgSO₄, filtrées sur fritté et évaporées à sec. Le produit tris(phosphorylé) (majoritaire) a un R_f de 0,22 (vs 0,06) dans un mélange éther-EtOH 19/1 (autres taches de R_f 0,78 et 0,89). 101 mg (36 %) de pâte blanche sont récupérés après séparation sur un gel de 80 g de SiO₂ préparé avec 0,1 % de TEA (élution

éther-MeOH 19/1, puis éther-EtOH 4/1). Le produit est déposé en deux fois sur colonne semi-préparative HPLC (temps de rétention de 43,4 min). Après évaporation des fractions collectées on obtient 64 mg (23 %) de produit tris(phosphorylé) **232** sous la forme d'une huile incolore.

RMN-¹H {³¹P} (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 8,86 et 8,24 (2 s, 2 H, H-2'' et H-8'') ; 7,50-6,95 (m, 40 H, (C₆H₅)₈) ; 5,10-4,45 (m plus complexe sans {³¹P}, 18 H, (CH₂-C₆H₅)₈ dans lequel on reconnaît H-4 à 4,95 et à 4,58 (t, ³J = 9,2, 1 H, H-5) ; 4,29 (tl, ³J = 7,5, 2 H, CH₂-4') ; 4,23 (dd, ³J = 7,5, ³J = 1,8, 1 H, H-1) ; 4,16 (t fin non résolu, 1 H, H-2) ; 4,04 (t, ³J = 9,5, 1 H, H-6) ; 3,71 (tl, ³J = 5,4, 2 H, CH₂-1') ; 3,41 (dd, ³J = 9,9, ³J = 1,9, 1 H, H-3) ; 1,91 (qu, ³J = 8,1, 2 H, CH₂-3') ; 1,54 (qu, ³J = 6,0, 2 H, CH₂-2').

RMN-³¹P {¹H} (AC 200, CDCl₃) : -1,25, -1,33, -1,41 (3 s, 3 P).

(±)-2-O-[4'(7''-N-Purinyl)butyl] myo-inositol 1,4,5-tris(phosphate) pentacyclohexylammonium ; C₄₅H₉₁N₉O₁₅P₃ : 1091,20 g·mol⁻¹ (233)

L'inositol totalement protégé **232** (16 mg, 12 μmol) est dissous dans le MeOH (2 mL, chromapur pour ce protocole). Le MR comprend également du cyclohexène (excès, 1,5 mL) et Pd(OH)₂ (env. 5 mg). Le tube scellé contenant le MR est placé dans un four à micro-ondes à 120°C pendant 5 min (7 atm). Le MR est ensuite filtré par une membrane Millipore (MillexGV 0,22 μm) que l'on rince par du MeOH (5 mL). Le MR est évaporé à l'évaporateur rotatif à 40°C (et pas au-delà pour ce protocole). Reprise dans 0,5 mL H₂O_∞ à 0°C et ajout d'1 mL de cyclohexylamine, on agite manuellement 1 min puis on évapore à sec le ballon. Le brut est lavé par 2 mL d'AcOEt (séché sur Na₂SO₄). Le produit n'est pas pur en l'état et les efforts de purification déployés sont ineffectifs.

La résolution du spectre RMN est moyenne et les impuretés observées correspondent en fait à la forme résiduelle de la chloro-purine dont l'imino-chlorure semble avoir été hydrogénéolysé à 50 %. Il en va de même pour un deuxième essai de cette réaction. Les H de la purine relaxant moins bien (intensité relative plus faible par rapport aux autres signaux), l'intégration des pics est indicative.

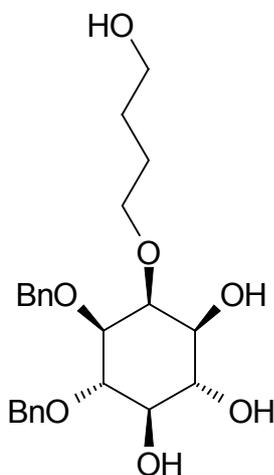
RMN- ^1H $\{^3\text{P}\}$ (200 MHz, D_2O) : 9,18, 8,94, 8,66, 8,24, 8,10 (5 sl, 5 H, 2 $H-2''$, $H-6''$ et 2 $H-8''$, purine et 6-Cl-purine) ; 4,50-3,60 (m, 20 H, CH_2-1' , CH_2-4' et $H-1$, $H-2$, $H-3$, $H-4$, $H-5$, $H-6$ des deux produits) ; 3,20-3,00 (m, 10 H, $(\text{N-CH})_5$ des deux produits) ; 2,10-1,00 (m, 108 H, CH_2-2' , CH_2-3' et $(\text{CH}_2)_{25}$ cyclohexylamine des deux produits).

RMN- ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (AC 200, D_2O) : 3,63 (sl, 1 P) ; 2,46 (sl, 2 P).

Le tris(phosphate) **233** (env. 30 % de rendement) conservé sous forme de sel de pentacyclohexylammonium est maintenu à -28°C en attendant d'être testé.

2.2.5.4. Série 3,4-di-O-benzylée

(±)-3,4-Di-O-benzyl-2-O-butan-4'-ol-*myo*-inositol ; $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_7$: 432,52 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (**234**)



L'allyle **227** (675 mg, 1,43 mmol) est dissous dans un mélange EtOH-eau distillée 9/1 de 25 mL. On y ajoute 0,2 éq. de DABCO (286 μmol , 32 mg) à T. A., ainsi que 0,1 éq. de catalyseur de Wilkinson (143 μmol , 132 mg). La réaction est mise à reflux durant une nuit. On constate la présence du produit intermédiaire isomérisé sur l'allyle majoritaire au R_f 0,70 vs allyle initial **227** situé normalement au R_f 0,53 d'après point mixte sur CCM éluee par l'AcOEt. Le MR est ensuite partiellement évaporé (élimination d'EtOH), repris dans un mélange de 100 mL de CHCl_3 et 100 mL d'eau saturée en NaCl. La phase aqueuse est séparée puis réextraite deux fois par 100 mL CHCl_3 . Les phases organiques

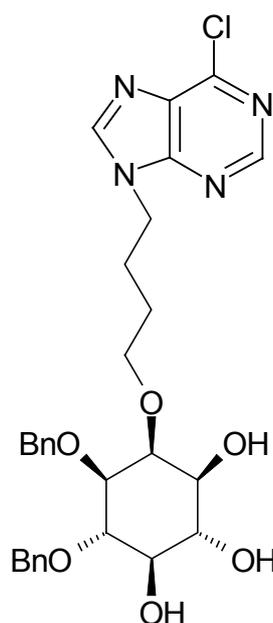
rassemblées sont évaporées. Le brut d'extraction est dissous dans un mélange THF-eau distillée (5 et 3,5 mL respectivement). On ajoute rapidement une solution fraîche d'acétate de mercure II (1,2 éq., 1,71 mmol, 0,546 g dans 6 mL d'eau), le mélange est fortement agité durant 30 min. Les phases sont ensuite séparées, la phase aqueuse est extraite par deux fois avec 100 mL CHCl_3 . Sur CCM, on observe dans un éluant plus polaire (CHCl_3 -MeOH 3/1) un nouveau produit majoritaire de R_f 0,71 vs allyle initial **227** de R_f 0,94 et allyle isomérisé de R_f 0,98.

Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO_4 , filtrées sur papier et évaporées à sec. On purifie sur colonne de silice éluee par un mélange CHCl_3 -MeOH 47/3, puis CHCl_3 -MeOH 22/3, puis CHCl_3 -MeOH 2/1. On obtient 375 mg de cristaux nacrés légèrement ocre du tétraol **234** (61 %, traces de contaminants). SMHR ESI $^+$, ($\text{M}+\text{Na}^+$) ($\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_7\text{Na}$) calc. 455,2040 ; obs. 455,2040 (maj.) et 471,1798 ($\text{M}+\text{K}^+$).

RMN- ^1H (300 MHz, COSY, HSQC, CDCl_3) : 7,40-7,25 (m, 10 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$) ; (AB, $\Delta\delta = 0,16$, $J_{\text{AB}} = 11,1$, 2 H, $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$) ; 4,70 (sl, 2 H, $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$) ; 4,00 (X d'un ABXX' (X' masqué), $J_{\text{AB}} = 9,0$, $J_{\text{AX}} = J_{\text{BX}} = 4,9$, 1 H, $\text{CHH}-1'$) ; 3,88 (t fin, $^3J = 2,3$, 1 H, $H-2$) ; 3,80-3,60 (m, 5 H, comprenant à 3,77 (t, $^3J = 9,5$, 1 H, $H-6$), à 3,74 (t, $^3J = 9,5$, 1 H, $H-4$), à 3,75-3,65 (X' d'un ABXX', masqué, 1 H, $\text{CHH}-1'$) et à 3,70-3,60 (m, 2 H, CH_2-4') ; 3,42 (dd, $^3J = 9,6$, $^3J = 2,1$, 1 H, $H-1$) ; 3,37 (t, $^3J = 9,2$, 1 H, $H-5$) ; 3,35 (ddl non résolu, 1 H, $H-3$) ; 1,82 (sl, 4 H éch., $(\text{OH})_4$) ; 1,75-1,65 (m, 4 H, CH_2-2' et CH_2-3').

RMN-¹³C (AC 300, DEPT, HSQC, CDCl₃) : 128,57, 128,17, 127,92 et 127,80 (et autres non résolus) (C₆H₅)₂ ; 81,25 et 81,12 C-4 et C-6 ; 78,39 C-1 ; 75,61 CH₂-C₆H₅ ; 74,75 C-2 ; 73,69 CH₂-C₆H₅ ; 73,63 C-3 ou C-5 ; 72,91 CH₂-1' ; 72,09 C-5 ou C-3 ; 62,60 CH₂-4' ; 29,85 CH₂-3' ; 27,13 CH₂-2'.

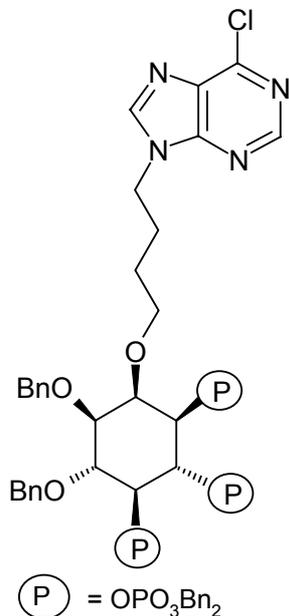
• Le (±)-3,4-di-O-benzyl-2-O-(butan-4'-ol)-6-O-propyl-*myo*-inositol **268**, produit secondaire ayant l'allyle hydrogéné, de même R_f que l'allyle **227**, est également observé lors de resynthèses effectuées avec le four à micro-ondes (24 à 35 % vs 56 à 67 % de tétraol attendu **234**). Les signaux du -CH=CH₂ de l'allyle observés par RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) deviennent 1,64 (se, ³J = 7,2, 2 H, CH₂) et 0,93 (t, ³J = 7,5, 3 H, CH₃). Les autres signaux sont globalement retrouvés, mais un résidu de catalyseur perturbe l'homogénéité du champ magnétique par la présence du rhodium, ce qui rend l'attribution des autres signaux, de déplacements chimiques proches, difficilement réalisable.



(±)-3,4-Di-O-benzyl-2-O-[4'(9'')-N-(6''-chloro-purinyl)]butyl]-*myo*-inositol ; C₂₉H₃₃N₄O₆Cl : 569,06 g·mol⁻¹ (**235**)

Le tétraol **234** (375 mg, 0,867 mmol) est dissous dans 5 mL de THFa sous argon et injecté (à T. A. et goutte à goutte) à un milieu contenant de la 6-chloro-purine (1 éq., 134 mg), PPh₃ (1 éq., 227 mg), ainsi que du DEAD (164 µL) dans 40 mL de THFa. La réaction est incomplète après 24 h sur CCM (CHCl₃-MeOH 3/1) : tétraol **234** de R_f 0,46, purine **235** de R_f 0,56, on évapore le MR à sec. On dépose le brut (env. 1 g adsorbé sur 3 g de silice) sur un gel de 150 g de SiO₂ élué par un mélange CHCl₃-MeOH 47/3. Le DEAD saturé après réaction a été également isolé et identifié par RMN. On obtient 100 mg de tétraol **234**. La purine **235** est obtenue à raison de 240 mg sous la forme d'une pâte beige (49 %).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 8,74 et 8,21 (2 s, 2 H, H-2'' et H-8'') ; 7,40-7,20 (m, 10 H (C₆H₅)₂) ; (AB, Δδ = 0,17, J_{AB} = 11,2, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,68 (sl, 5 H (3 H éch.), CH₂-C₆H₅ et (OH)₃) ; 4,29 (t, ³J = 7,1, 2 H, CH₂-4') ; 4,05-3,90 (X d'un ABXX' (X' masqué), td, J_{AB} = 9,3, J_{AX} = J_{BX} = 5,5, 1 H, CHH-1') ; 3,91 (t fin, ³J = 2,1, 1 H, H-2) ; 3,85-3,70 (m, 3 H, H-4, H-6 et CHH-1') ; 3,50-3,40 (m, 3 H, comprenant H-3, H-5 et H-1) ; 2,02 (se, ³J = 6,6, 2 H, CH₂-3') ; 1,60 (qu, ³J = 6,0, 2 H, CH₂-2').



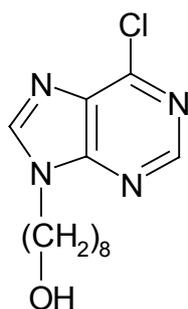
(±)-3,4-Di-O-benzyl-2-O-[4'(9'')-N-(6''-chloro-purinyl)]butyl]-*myo*-inositol 1,5,6-O-tris(dibenzylphosphate) ; C₇₁H₇₂N₄O₁₅P₃Cl : 1349,76 g·mol⁻¹ (**236**)

Le triol **235** (155 mg, 260 µmol) est dissous dans 10 mL de DMFa sous argon puis mis à réagir à 0°C avec 4 éq. de NaH (1,04 mmol, 42 mg) pendant 1 min, puis à T. A. pendant env. 20 min. On ajoute 4 éq. de pyrophosphate tétrabenzylé **136** (560 mg). Après une nuit de réaction, on observe sur CCM (éluée par CHCl₃-MeOH 3/1) la présence de 4 produits de R_f 0,25, 0,43, 0,75 et 0,90 vs 0,71 pour le triol initial **235** (possible effet sur l'éluion du DMF résiduel déposé). Les hydrures sont traités après 3 j par 3 mL d'eau glacée, puis le MR est évaporé à sec avec 5 g de SiO₂ pour réaliser un dépôt sec. La chromatographie

est réalisée avec un gel de 100 g de SiO₂ dans DCM-MeOH 19-1 puis un rinçage avec DCM-MeOH 1/1 (élution de l'acide dibenzylphosphorique). Différentes fractions plus ou moins propres sont recueillies et analysées par RMN. On reprend les mélanges de R_f supérieur au R_f du triol **235** sur colonne de 100 g de SiO₂ éluee par de l'AcOEt (+0,1 % TEA). On reteste les fractions par RMN-¹H et RMN-³¹P, aucun signal de phosphore n'est détecté. Finalement, le triol **235** n'a pas été retrouvé et le composé tris(phosphorylé) **236** n'a pas été détecté. Un deuxième essai s'est également soldé par un échec, malgré des efforts de purification au moyen de l'HPLC et d'une plaque préparative.

2.2.6. Dernières étapes testées sur système simplifié : purinyl-octyl-phosphate

Remarque : ce modèle nous a permis également de tester la réaction d'amination de la purine en position 6.



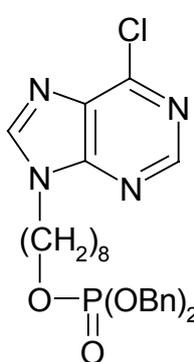
6-Chloro-(9-N-(octan-8'-ol))-purine ; C₁₃H₁₉N₄OCl : 282,77 g•mol⁻¹ (237)

La réaction est conduite en milieu très dilué avec un large excès de diol ajouté rapidement afin de favoriser sa monosubstitution.

La 6-chloro-purine (0,55 g, 3,56 mmol) est dissoute sous argon dans 150 mL de THFa. On ajoute à T. A. 1 éq. de DEAD (0,67 mL) et de PPh₃ (0,93 g). Au bout de 5 min on ajoute rapidement 3 éq. d'octan-1,8-diol (10,7 mmol, 1,57 g) et après une nuit à T. A. le MR est évaporé à sec. Sur CCM (élution par l'AcOEt), on retrouve le diol de départ au R_f 0,44, PPh₃O au R_f 0,40 et l'apparition d'un produit au R_f 0,30 (fluorescent à 254 nm). Une purification sur colonne de silice (100 g SiO₂) éluee par AcOEt permet de recueillir le produit en 2 lots testés par RMN : 0,30 g comprenant 1,1 éq. PPh₃O et 0,26 g comprenant 0,2 éq. PPh₃O, lots d'aspect amorphe et blanc. Globalement on aboutit à 36 % de l'alcool **237**.

SM ESI⁺ (C₁₃H₁₉N₄OCl) calc. 282,12 ; obs. 283,2 (M+H⁺), 305,2 (M+Na⁺), rapport isotopique ³⁵Cl/³⁷Cl 2/1.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 8,69 (s, 1 H, H-2) ; 8,13 (s, 1 H, H-8) ; 4,26 (t, ³J = 7,2, 2 H, N-CH₂) ; 3,57 (t, ³J = 6,5, 2 H, O-CH₂) ; 2,68 (sl, 1 H éch., OH) ; 1,88 (qu, ³J = 6,8, 2 H, N-CH₂-CH₂) ; 1,52 (qu, ³J = 6,4, 2 H, O-CH₂-CH₂) ; 1,28 (sl, 8 H, (CH₂)₂-(CH₂)₄-(CH₂)₂).



6-Chloro-(9-N-(8'-dibenzylphosphate-octan-8'-ol))-purine ; C₂₇H₃₂N₄O₄PCl : 543,01 g•mol⁻¹ (238)

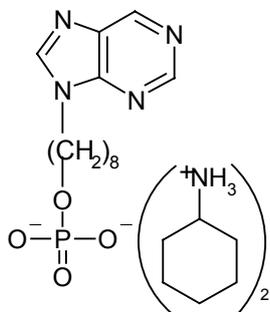
L'alcool **237** (0,26 g, "contaminé" par 0,2 éq. de PPh₃O, soit 766 μmol) est dissous dans 10 mL de DMFa sous argon. On ajoute, à 0°C, 1,5 éq. de NaH (1,15 mmol, 46 mg) et on laisse se former l'anion durant 15 min à 0°C, puis 10 min à T. A.. On ajoute enfin le pyrophosphate de tétrabenzyle **136** (1,5 éq., 620 mg). Au bout de 6 h, il reste une trace de l'alcool **237** sur CCM (élution AcOEt) de R_f 0,27 vs 0,41 pour le produit phosphorylé **238**. Le MR est placé à 0°C et traité par 5 mL d'eau distillée, puis évaporé à sec et déposé sur colonne de silice (100 g SiO₂) éluee par l'AcOEt. On recueille le produit phosphorylé **238** à raison de 239 mg, soit 57 % en l'état (ainsi qu'un mélange de 61 mg) sous la forme d'une pâte blanche.

SMHR ESI⁺ **238**, (M+H⁺) (C₂₇H₃₃N₄O₄PCl) calc. 543,1928 ; obs. 543,1887, 545,1880 ; (M+Na⁺) (C₂₇H₃₂N₄O₄PClNa) calc. 565,1747 ; obs. 565,1713, 567,1668, rapport isotopique ³⁵Cl/³⁷Cl 2/1.

RMN-¹H {³¹P} (200 MHz, CDCl₃) : 8,74 (s, 1 H, *H*-2) ; 8,10 (s, 1 H, *H*-8) ; 7,50-7,20 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 5,02 (d, ⁴J = 8,1, 4 H, (CH₂-C₆H₅)₂) ; 4,26 (t, ³J = 7,2, 2 H, N-CH₂) ; 3,96 (q, ³J = 6,7, 2 H, O-CH₂) ; 1,90 (qu, ³J = 7,3, 2 H, N-CH₂-CH₂) ; 1,58 (qu, ³J = 6,4, 2 H, O-CH₂-CH₂) ; 1,28 (m, 8 H, (CH₂)₂-(CH₂)₄-(CH₂)₂).

RMN-³¹P {¹H} (AC 300, CDCl₃) : -0,17 (s, 1 P).

9-*N*-(8'-phosphate-octanyl)-purine bis(cyclohexylammonium) ;
C₂₅H₄₇N₆O₄P : 526,66 g•mol⁻¹ (239)



Le phosphate dibenzylé **238** (43 mg, 79,2 μmol) est dissous dans un mélange de 10 mL de MeOH-H₂O∞-DCM-THF 6/1/1/1, on ajoute 4,5 mg de catalyseur Pd/C (à 10 %). On place le MR sous atmosphère d'hydrogène à T. A. et à Patm. Tout le produit semble être débénylé en moins d'une heure. Le MR est dilué avec 10 mL H₂O∞ et passé aux ultrasons pendant 2 min, puis filtré sur fritté, on évapore (à l'évaporateur rotatif à 40°C) partiellement le mélange de

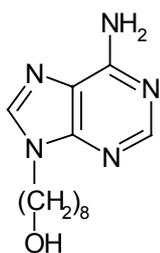
solvants, jusqu'à ce qu'il ne reste plus que l'eau. On ajoute 5 gouttes de cyclohexylamine à T. A., on agite 1 min puis on évapore à sec le ballon. Le MR est repris dans env. 0,5 mL H₂O∞ puis noyé dans 100 mL d'acétone P. A., puis placé une nuit au frigo. On obtient 34 mg (82 %) du phosphate de bis(cyclohexylammonium) **239** (pâte blanche).

SM ESI⁻ (M-H⁺) (C₁₃H₂₀O₄N₄P) : calc. 327,12 ; obs. 327,11 (majoritaire) ; 328,11 ; 329,11 et traces du dimère à 655,23.

RMN-¹H {³¹P} (300 MHz, D₂O) : 8,96, 8,78 et 8,39 (3 s, 3 H, *H*-2, *H*-6 et *H*-8) ; 4,69 (sl, 14 H, (NH₃⁺)₂ et H₂O résiduel) ; 4,21 (t, ³J = 6,9, 2 H, N-CH₂) ; 3,69 (q, ³J = 6,6, 2 H, O-CH₂) ; 3,02 (m, 2 H, (N-CH)₂) ; 2,00-1,00 (m, 32 H, CH₂-(CH₂)₆-CH₂ + (C₅H₁₀)₂).

RMN-³¹P {¹H} (AC 300, D₂O) : 1,56 (s, 1 P).

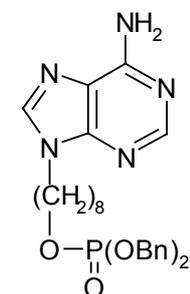
6-Amino-(9-*N*-(octan-8'-ol))-purine ou 9-*N*-(octan-8'-ol)-adénine ;
C₁₃H₂₁N₅O : 263,34 g•mol⁻¹ (240)



L'imino-chlorure **237** (85 mg, 0,30 mmol) est repris dans 3 mL d'EtOH absolu dans un tube scellé placé à -78°C, on fait buller de l'ammoniac pendant 5 min, puis le tube scellé est chauffé à 110°C pendant une nuit. On observe sur CCM un nouveau produit de R_f 0,62 dans CHCl₃-MeOH 3/1 vs chloro-purine **237** au R_f 0,77 dont il reste une trace (RMN du brut mal résolue). Le MR est évaporé à sec et séché sur la pompe à palettes puis

déposé sur un gel de 100 g de silice réalisé avec un mélange CHCl₃-MeOH 9/1. Le brut réactionnel apparaît comme un mélange plus complexe en sortie de colonne (par dégradation ou contamination en amont). La chromatographie ne permet pas d'isoler le produit aminé **240**.

6-Amino-(9-*N*-(8'-dibenzylphosphate-octan-8'-ol))-purine ou
9-*N*-(octan-8'-ol)-adénine ; C₂₇H₃₄N₅O₄P : 523,58 g•mol⁻¹ (241)

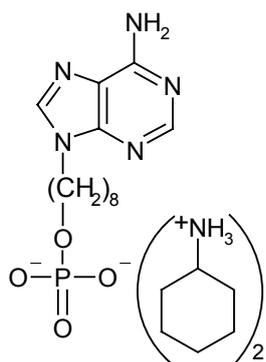


Le produit chloré et phosphorylé **238** est repris dans 15 mL de THF dans un tube scellé placé à 0°C, on fait buller de l'ammoniac pendant 5 min, puis on place le tube scellé à 105°C pendant 48 h. Un nouveau produit est visible sur CCM révélée à 254 nm, de R_f 0,73 (élution par l'AcOEt) vs

chloro-purine **238** dont il reste une trace au R_f 0,83. Le MR est évaporé à sec et déposé avec un peu de silice sur un gel de 100 g SiO_2 réalisé avec un mélange CHCl_3 -MeOH 19/1 utilisé pour le début de l'élution et dont la polarité est augmentée progressivement (jusqu'à CHCl_3 -MeOH 5/1). On obtient le produit aminé **241** sous la forme de cristaux blancs amorphes (20 mg, 32 %).

RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ (200 MHz, CDCl_3) : 8,40 (s, 1 H, $H-2$) ; 7,82 (s, 1 H, $H-8$) ; 7,50-7,30 (m, 10 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$) ; 5,85 (sl, 2 H éch., NH_2) ; 5,06 (d, $^4\text{J} = 8,0$, 4 H, $(\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5)_2$) ; 4,21 (t, $^3\text{J} = 7,2$, 2 H, $\text{N}-\text{CH}_2$) ; 3,98 (q, $^3\text{J} = 6,6$, 2 H, $\text{O}-\text{CH}_2$) ; 1,90 (m, $\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$) ; 1,61 (m, 2 H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2$) ; 1,29 (m, 8 H, $(\text{CH}_2)_2-(\text{CH}_2)_4-(\text{CH}_2)_2$).

6-Amino-(9-N-(8'-phosphate-octyl))-purine bis(cyclohexylammonium) ou 9-N-(8'-phosphate-octyl)-adénine bis(cyclohexylammonium) ; $\text{C}_{25}\text{H}_{48}\text{N}_7\text{O}_4\text{P}$: 541,68 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (242**)**



Le produit aminé **241** (20 mg, 38,3 μmol) est dissous dans un mélange de 9 mL de MeOH- H_2O -THF 6/2/1, on ajoute 2 mg de catalyseur Pd/C (à 10 %). On place le MR sous atmosphère d'hydrogène à T. A. et à Patm pour la nuit. Le MR est passé aux ultrasons pendant 2 min, puis filtré sur fritté, on évapore (à l'évaporateur rotatif à 40°C) jusqu'à ce qu'il ne reste plus que de l'eau. On ajoute 5 gouttes de cyclohexylamine à T. A., on agite 1 min puis on évapore à sec le ballon. Le MR est repris dans près de 1 mL

H_2O puis noyé dans 100 mL d'acétone P. A. puis placé une nuit au frigo. On obtient très peu de cristaux après 24 h, mais un peu plus au bout des 24 h suivantes. Finalement les solvants sont évaporés à sec et les cristaux rincés par du DCM. On obtient 13 mg du phosphate de bis(cyclohexylammonium) **242** (cristaux blancs gras, 65 %).

RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ (200 MHz, D_2O) : 8,14 et 8,05 (2 s, 2 H, $H-2$ et $H-8$) ; 4,69 (sl, 180 H, NH_2 , $(\text{NH}_3^+)_2$ et H_2O résiduel) ; 4,14 (t, $^3\text{J} = 6,0$, 2 H, $\text{N}-\text{CH}_2$) ; 3,67 (q, $^3\text{J} = 5,8$, 2 H, $\text{O}-\text{CH}_2$) ; 3,15-2,95 (m, 2 H, $(\text{N}-\text{CH})_2$) ; 2,00-1,00 (m, 32 H, $\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_6-\text{CH}_2 + (\text{C}_6\text{H}_{10})_2$).

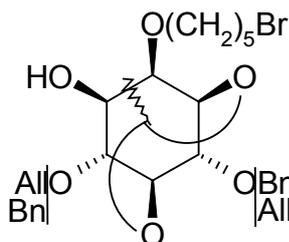
RMN- ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ (AC 200, D_2O) : 2,6 (s, 1 P).

2.2.7. Autres dérivés envisagés

2.2.7.1. Série avec l'espaceur pentylique

(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(5'-bromo-pentane) myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{O}_6\text{Br}$: 485,42 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (269**)**

(±)-6-O-Allyl-4-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(5'-bromo-pentane) myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; $\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{O}_6\text{Br}$: 485,42 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (270**)**



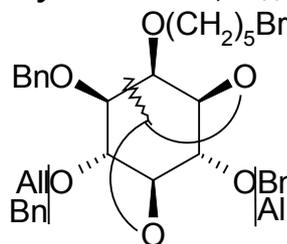
L'orthoester **203** (100 mg, 213 μmol) est dissous dans 3 mL de DCMA sous argon. On y ajoute goutte à goutte 200 μL de triméthylaluminium (2 éq. solution 2 M dans toluène) à 0°C. Le MR reste à T. A. pendant 48 h puis 200 μL d' AlMe_3 sont à nouveau injectés. La réaction se poursuit durant 24 h puis est finalement traitée par 20 mL d'une solution à 500 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de tartrate mixte de sodium et de potassium à laquelle est adjoint le même volume d'une solution aqueuse saturée en NH_4Cl , sous forte agitation et pendant 1 h. Puis cette phase aqueuse est extraite par 2 fois 100 mL de DCM, séchée sur MgSO_4 puis filtrée sur fritté. Les produits

ouverts (régiomères **269** et **270**) auraient le même R_f que le produit initial. On établit le taux de conversion par RMN du brut réactionnel à 50 % (126 mg).

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) : spectre complexe mal résolu rassemblant les signaux des alcools régiomères **269** et **270** et de l'orthoester **203**.

(±)-4-O-Allyl-3,6-di-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(5'-bromo-pentane)
myo-inositol ; $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{O}_6\text{Br}$: 575,74 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (**271**)

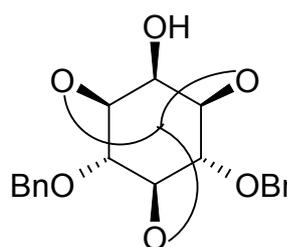
(±)-6-O-Allyl-3,4-di-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(5'-bromo-pentane)
myo-inositol ; $\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{O}_6\text{Br}$: 575,74 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (**272**)



Le mélange des alcools régiomères inséparables **269** et **270** (126 mg, 260 μmol env.) est dissous dans 5 mL de DMFa sous argon. La réaction peut être réalisée sans inconvénient avec des excès de réactifs (la stoechiométrie sera donc définie sur le mélange par commodité) et le produit benzylé sera plus

facilement isolable de l'inositol non réactant de l'étape précédente. Ainsi sont ajoutés à 0°C 2 éq. de NaH (520 μmol , 21 mg). On remet à T. A. au bout de 15 min et, après 15 nouvelles min, on injecte goutte à goutte le bromure de benzyle (2 éq., env. 63 μL) ainsi que quelques cristaux de I_2 , de DMAP et de [15-5] pour raison catalytique. Après une nuit de réaction on remet 2 éq. de NaH à T. A. et 150 μL de BnBr. Après 12 h, la réaction est traitée par 3 mL d'une solution saturée par Na_2SO_3 . Le mélange est agité 3 min puis extrait par 2 fois 50 mL d'éther que l'on sèche sur MgSO_4 . La phase organique est filtrée sur fritté puis évaporée à sec. Ce brut de 305 mg est déposé sur un gel de 50 g de silice élué par AcOEt-heptane 1/1. Un mélange de 190 mg est recueilli. Il contiendrait d'après RMN une proportion majoritaire de produit dibenzylé. Ce mélange est remis à benzyle dans les mêmes conditions, toutefois malgré un traitement similaire, aucune quantité significative de produit n'a pu être isolée.

2.2.7.2. Séries 4,6-di-O-benzylées, *in fine* 1,4,6-tris(phosphates)

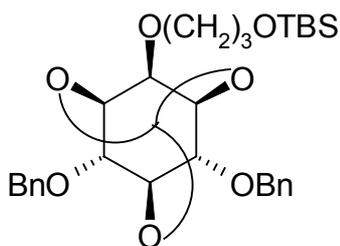


4,6-Di-O-benzyl-*myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate ;
 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_6$: 370,41 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (**273**) ³²⁸⁻³³⁰

Le silyle **187** (3,43 g, 7,08 mmol) est dissous dans 15 mL de THFa sous argon. A 0°C on ajoute 1 éq. de Bu_4NF (à 1 M dans le THF) soit 7,1 mL. Le MR est mis à T. A. au bout de 10 min et est agité pendant 12 h. Le MR est dilué par 200 mL d'AcOEt et lavé par 150 mL de saumure. La phase aqueuse est réextraite par 2 fois 200 mL d'AcOEt. On sèche les phases organiques rassemblées sur MgSO_4 . On filtre sur papier et évapore à sec la phase organique. On purifie le brut de 4,85 g (huile jaune avec cristaux blancs) sur un gel de 100 g de silice élué par un mélange éther-heptane 1/1. Le produit désilylé a un R_f de 0,39 vs 0,80 pour le silyle **187** dans un mélange éluant éther-heptane 2/1 ou 0,13 vs 0,55 dans éther-heptane 1/1. On obtient 2,43 g de l'alcool **273** sous la forme d'un cristal blanc (93 %, Pf = 119°C , litt. $118-120^\circ\text{C}$ ³³⁰ et $124-125^\circ\text{C}$ ³²⁸).

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) : 7,29 (sl, 10 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2$) ; 5,49 (s, 1 H, $\text{HC}(\text{OCH})_3$) ; (AB, $\Delta\delta = 0,08$, $J_{\text{AB}} = 11,3$, 4 H, $\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$) ; 4,50-4,45 (m, 1 H, H-5) ; 4,40 (tl, $^3J = 3,6$, 1 H, H-4 et H-6) ; 4,30-4,20 (m, 3 H, H-1, H-3 et H-2) ; 3,05 (d, $^3J = 11,7$, 1 H éch., OH-2).

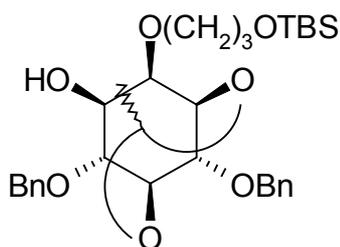
4,6-Di-O-benzyl-2-O-(3'-O-*tert*butyldiméthylsilyl-propyl) *myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₃₀H₄₂O₇Si : 542,75 g·mol⁻¹ (274)



Le 4,6-di-O-benzyl-*myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate (**273**, 1,00 g, 2,70 mmol) est dissous dans 27 mL de DMFa sous argon. On y ajoute 1,3 éq. de NaH (3,51 mmol, 0,14 g) à 0°C pendant 3 min puis à T. A. pendant 15-20 min. On injecte le réactif silylé **193** (1,3 éq., 0,89 g) goutte à goutte et on laisse la réaction évoluer pendant 14 h. On traite les hydrures avec env. 10 mL d'eau glacée et on évapore le MR à sec. On purifie sur colonne chromatographique de silice (100 g de SiO₂ avec 0,5 mL TEA) éluee par un mélange éther-heptane 1/1. On obtient 0,83 g du produit couplé silylé **274** (de R_f 0,59 dans cet éluant) sous la forme d'une huile incolore (57 %), ainsi que de l'alcool initial **273** (40 %, R_f 0,19).

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 7,35 (sl, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 5,56 (s, 1 H, HC(OCH)₃) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,13, J_{AB} = 12,7, 4 H, (CH₂-C₆H₅)₂) ; 4,49 (sl, 1 H, H-5) ; 4,39 (sl, 4 H, H-1, H-3, H-4 et H-6) ; 3,97 (sl, 1 H, H-2) ; 3,79 (t, ³J = 5,8, 2 H, CH₂-3') ; 3,69 (t, ³J = 6,2, 2 H, CH₂-1') ; 1,90 (qu, ³J = 5,7, 2 H, CH₂-2') ; 0,94 (s, 9 H, C(CH₃)₃) ; 0,10 (s, 6 H, C(CH₃)₂).

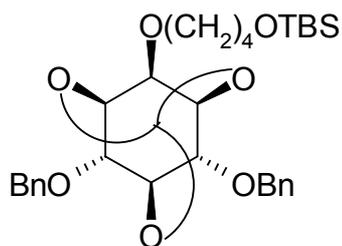
(±)-4,6-Di-O-benzyl-1,5-O-éthylidène-2-O-(3'-O-*tert*butyldiméthylsilyl-propyl) *myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₃₁H₄₆O₇Si : 558,79 g·mol⁻¹ (275)



L'orthoester **274** (0,76 g, 1,40 mmol) est dissous dans 10 mL de DCMA sous argon. On y ajoute 3 éq. de triméthylaluminium (à 2 M dans hexane, soit 4,20 mmol, 2,10 mL) à 0°C et goutte à goutte. On laisse réagir durant 48 h. La CCM (éther-heptane 1/1) réalisée suite, montre un nouveau produit majoritaire de R_f 0,63 et l'absence de l'orthoester **274** présent normalement au R_f 0,56 (confirmation par point mixte). Deux produits plus polaires ont des R_f de 0,32 et de 0,17. On dilue le MR avec 120 mL de DCM puis la réaction est traitée avec 50 mL d'une solution à 500 g·L⁻¹ de tartrate mixte de sodium et potassium à laquelle est ajoutée 50 mL d'une solution aqueuse saturée en NH₄Cl, sous forte agitation pendant une heure. Le mélange est extrait quatre fois par 125 mL de DCM. On sèche sur MgSO₄ les phases organiques rassemblées. Cette phase est ensuite filtrée sur papier et évaporée à sec. On dépose le brut sur un gel de 200 g de SiO₂ (avec 1 mL de TEA) élué par éther-heptane 1/2 puis éther seul. L'alcool **275** est obtenu à raison de 0,37 g sous la forme d'une huile visqueuse transparente (47 %).

RMN-¹H (300 MHz, COSY, irradiations sélectives, ¹H à 25 et 45°C, CDCl₃) : 7,50-7,30 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 5,32 (q, ³J = 4,6, 1 H, CH-CH₃) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,08, J_{AB} = 12,1, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,28, J_{AB} = 11,4, 2 H, CH₂-C₆H₅) ; 4,50-4,40 (m, 3 H, où l'on distingue H-1 à 4,50, H-4 à 4,45 et H-5 à 4,40) ; 4,10-4,00 (m, 2 H, comprenant H-6 suivi de H-3) ; 3,90-3,60 (m, 5 H, où l'on distingue H-2 à 3,90, CH₂-3' à 3,87 et CH₂-1' à 3,65) ; 3,45 (dl, ³J_{H₃OH} = 4,4, 1 H éch., OH) ; 1,88 (qu, ³J = 6,2, 2 H, CH₂-2') ; 1,29 (d, ³J = 4,7, 3 H, CH₃ éthylidène) ; 0,97 (s, 9 H, C(CH₃)₃) ; 0,13 (s, 6 H, C(CH₃)₂).

**4,6-Di-O-benzyl-2-O-(4'-O-tert-butyl-diméthylsilyl-butyl) myo-inositol
1,3,5-O-orthoformate ; C₃₁H₄₄O₇Si : 556,78 g·mol⁻¹ (276)**



Le 4,6-di-O-benzyl-*myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate **273** (1,92 g, 5,18 mmol) est dissous dans 20 mL de DMF sur TMA sous argon. On y ajoute 1,3 éq. de NaH (6,74 mmol, 0,27 g) à T. A. (pas de dégazage observé, aspect laiteux du MR). On injecte, après 15 min env., le réactif tosylé **196** (pur à 84%

d'après RMN, en mélange avec la chaîne disilylée **197**, soit 2,62 g) goutte à goutte, ainsi que les catalyseurs habituels (NaI, [15-5], HMPT, DMAP) et on laisse la réaction évoluer une nuit. Après 45 min, on constate sur CCM (AcOEt-heptane 1/3) la présence majoritaire de l'inositol initial (de R_f 0,10). On ajoute les mêmes quantités de NaH et de chaîne tosylée **196** à T. A. et on prolonge l'agitation durant 48 h. Le MR est repris par 150 mL de DCM et 150 mL de solution aqueuse saturée de NH₄Cl. La phase organique est séparée et la phase aqueuse est réextraite par 200 mL de DCM. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur MgSO₄, puis filtrées sur papier et évaporées à sec (10,8 g de brut).

On obtient, après 2 purifications sur colonne chromatographique de silice (AcOEt-heptane 1/9, puis 1/3, puis AcOEt seul) :

- 437 mg du mélange réactif **196** (R_f = 0,46, CCM AcOEt-heptane 1/3),
- 370 mg d'inositol 2-O-silylé **187** (R_f = 0,38, C₃₁H₃₆O₆Si : 484,67 g·mol⁻¹, ρ = 15 %),
- 515 mg du produit couplé silylé **276** (R_f = 0,31, ρ = 18 %),

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,40-7,20 (m, 10 H, C₆H₅) ; 5,53 (d, ⁴J = 1,3, 1 H, HC(OCH)₃) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,13, J_{AB} = 11,7, 4 H, (CH₂C₆H₅)₂) ; 4,47 (dtd, ³J = 1,6, ³J = 3,4, ³J = 3,4, 1 H, H-5) ; 4,38 (tl, ³J = 3,8, 2 H, H-4 et H-6) ; 4,35-4,30 (m, 2 H, H-1 et H-3) ; 3,90 (dt, ³J = 1,5, ³J = 3,1, 1 H, H-2) ; 3,65 (t, ³J = 6,2, 2 H, CH₂-4') ; 3,55 (t, ³J = 6,6, 2 H, CH₂-1') ; 1,80-1,55 (m, 4 H, CH₂-2' et CH₂-3') ; 0,91 (s, 9 H, C(CH₃)₃) ; 0,06 (s, 6 H, C(CH₃)₂),

• 550 mg 4,6-di-O-benzyl-2-O-tosyl-*myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate **277** (R_f = 0,18, C₂₈H₂₈O₈S : 524,60 g·mol⁻¹, ρ = 20 %),

SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₂₈H₂₈O₈SNa) : calc. 547,14 ; obs. 547,1 (avec 563,1, M+K⁺),

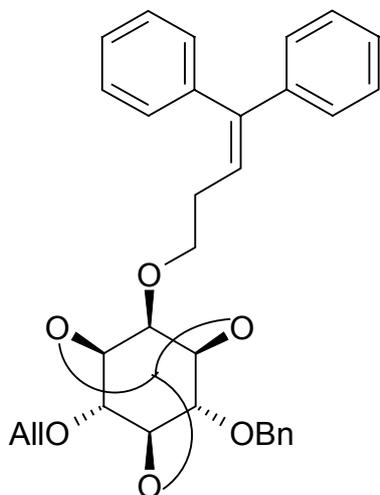
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : 7,79 ((AB)₂ à demi-masqué, J_{AB} = 8,4, 2 H, OC₆H₂H₂CH₃) ; 7,40-7,15 (m, 12 H, OC₆H₂H₂CH₃ et (C₆H₅)₂) ; 5,51 (dl, ⁴J = 1,3, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,06 (q, ³J = 1,6, 1 H, H-2) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, Δδ = 0,09, J_{AB} = 11,3, 2 H, CH₂C₆H₅) ; 4,44 (dd, ³J = 3,3, ³J = 1,6, 1 H, H-5) ; 4,32 (tl, ³J = 3,8, 2 H, H-4 et H-6) ; 4,30-4,25 (m, 2 H, H-1 et H-3) ; 2,37 (s, 3 H, O-C₆H₄-CH₃),

- 861 mg de l'alcool initial **273** (R_f = 0,10, ρ = 45 %).

2.3. Élaboration des analogues benzhydriylés

2.3.1. Couplage de l'espaceur benzhydriylé **243**

(±)-6-O-Allyl-4-O-benzyl-2-O-(4',4'-diphényl-(but-3'-ène)) *myo*-inositol
1,3,5-O-orthoformate ; $C_{33}H_{34}O_6$: 526,63 $g \cdot mol^{-1}$ (**278**)



L'alcool **191** (3,85 g, 12,0 mmol) est dissous dans 40 mL de DMFa sous argon. On y ajoute 1,3 éq. de NaH à 60 % (15,6 mmol, 625 mg) à 0°C pendant 3 min, puis on remet à T. A. durant 15 min. On ajoute à 0°C le réactif halogéné insaturé **243** (produit patrimoine du laboratoire,³⁴⁴ conservé à 4°C, contrôlé par RMN et sur CCM) : 1,3 éq. (MM = 287,20 $g \cdot mol^{-1}$) soit 4,49 g. On injecte également 100 μ L de HMPT et 100 μ L de cryptant du sodium [15-5]. Quelques cristaux de I_2 sont introduits suite. On laisse la réaction revenir lentement à T. A. au cours de la nuit. Sur CCM (éther-heptane 1/1), après 12 h, comme après 36 h de réaction, il

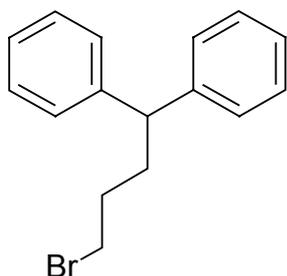
ne semble y avoir dans le MR qu'un "reste" conséquent de l'alcool **191**. Par contre le réactif halogéné **243** semble avoir disparu et un nouveau produit apparaît légèrement au-dessus, d'après un point mixte sur CCM éluee avec éther-heptane 1/1, ce nouveau produit a un R_f de 0,90 vs 0,85 pour le réactif halogéné **243**. Au bout de près de 48 h, on traite la réaction par 3 mL d'eau glacée, aucun signe de la présence des hydrures n'est observé (effet exothermique ou dégagement gazeux). On reprend le MR dans env. 200 mL de solution aqueuse saturée en NaCl que l'on extrait 4 fois par 250 mL d'éther. La phase organique est séchée sur $MgSO_4$, filtrée et évaporée à sec. On obtient, après une purification sur colonne chromatographique de silice (100 g de SiO_2 , élution éther-heptane 1/19, puis 1/2 et finalement AcOEt pour récupérer plus rapidement l'inositol initial) 3,79 g de l'alcool **191** (98 %) et 3,23 g de liquide jaune translucide correspondant au réactif de couplage déhalogéné par élimination (1,1-diphénylbuta-1,3-diène **244**, MM = 206,29 $g \cdot mol^{-1}$, 100 %).

- Réactif déhalogéné diénique **244**, SM (IE, GCMS) ($C_{16}H_{14}$) calc. 206,11 ; obs. 206.

RMN- 1H (300 MHz, $CDCl_3$) : 7,50-7,30 (m, 10 H, $(C_6H_5)_2$) ; 6,75 (d, $^3J = 11,0$, 1 H, $CH_2=CH-CH=$) ; 6,47 (td, $^3J_{trans} = 17,0$, $^3J_{cis} = 10,6$, 1 H, $CH_2-CH=$) ; 5,42 (dd, $^3J_{trans} = 16,8$, $^2J = 1,0$, 1 H, CHH_{trans}) ; 5,16 (dd, $^3J_{cis} = 10,0$, $^2J = 1,0$, 1 H, CHH_{cis}).

2.3.2. Synthèse du réactif de couplage pour les analogues benzhydriylés

1-Bromo-4,4-diphénylbutane ; $C_{16}H_{17}Br$: 289,22 $g \cdot mol^{-1}$ (**245**)³⁴⁴



Le réactif halogéné insaturé **243** (4,25 g, 14,7 mmol, produit patrimoine du laboratoire,³⁴⁴ conservé à -28°C, contrôlé par RMN et CCM) est dilué dans 50 mL d'EtOH absolu. On ajoute une petite spatulée de Nickel de Raney (conservé à 50 % dans l'eau) préalablement séché sur coton et papier absorbant. On place la cuve dans un hydrogénéateur pendant 4 h à 3,4 atm. Le MR est ensuite filtré sur terre de Füller et évaporé à sec. Une

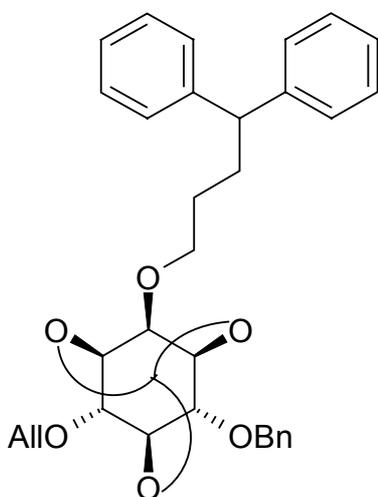
RMN est faite et montre une conversion de 36 % du produit. Le brut réactionnel est repris dans les mêmes conditions, mais placé à pression plus élevée (25 atm) pendant une nuit. Le brut de nouveau recueilli par un traitement similaire est de 3,80 g et indique par RMN une conversion d'au moins 90 % du produit. Le brut est utilisé tel quel par la suite, car le produit butylique **245** nouvellement formé est de R_f extrêmement proche de celui du réactif insaturé **243**.

SM (IE, GCMS) : (C₁₆H₁₇Br) calc. 288,05 ; obs. 288.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) : 7,6-7,2 (m, 10 H, (C₆H₅)₂) ; 4,00 (t, ³J = 7,9, 1 H, CH) ; 3,48 (t, ³J = 6,6, 2 H, CH₂-Br) ; 2,29 (td, ³J = 9,0, ³J = 7,8, 2 H, CH₂-CH) ; 1,91 (qd, ³J = 6,4, ³J = 3,4, 2 H, CH₂-CH₂-Br).

2.3.3. Couplage de l'espaceur benzhydrylé **245**

(±)-6-O-Allyl-2-O-(3'-(benzhydryl)-propyl)-4-O-benzyl *myo*-inositol
1,3,5-O-orthoformate ; C₃₃H₃₆O₆ : 528,65 g·mol⁻¹ (**246**)



L'alcool **191** (1,00 g, 3,12 mmol) est dissous dans 20 mL de DMFa sous argon. On y ajoute 1,4 éq. de NaH à 60 % (4,38 mmol, 175 mg) à 0°C pendant 2 min, puis on remet à T. A. durant 20 min. On ajoute à 0°C le réactif halogéné saturé **245** (1,17 g, 4,06 mmol, 1,3 éq.). La réaction est laissée à revenir lentement à T. A. au cours de la nuit. Sur CCM (AcOEt-heptane 1/1) on constate après 12 h de réaction, la présence de réactif halogéné ($R_f = 0,87$), de l'inositol initial ($R_f = 0,51$) et d'un nouveau produit au R_f de 0,75. On ajoute à T. A. 167 mg de NaH (3,43 mmol, 1,1 éq.)

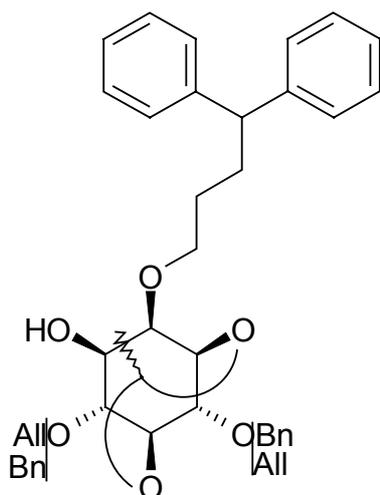
et la réaction se poursuit durant un 48 h. La réaction est traitée par 3 mL d'eau glacée (durée globale de la réaction : 4 j). On reprend le MR dans env. 100 mL d'eau distillée que l'on extrait 3 fois par 150 mL d'éther. La phase aqueuse est finalement saturée par ajout de NaCl et réextraite par 2 fois 150 mL d'éther. La phase étherée rassemblée est séchée sur MgSO₄, filtrée et évaporée à sec. On obtient 2,48 g de brut après 3 h de séchage à la pompe à palettes.

On obtient, après purification sur une colonne chromatographique de silice (200 g de SiO₂, élution AcOEt-heptane 1/4, puis AcOEt seul pour éluer plus rapidement l'inositol initial), 374 mg de l'alcool **191** (37 %) et 907 mg d'huile jaune très visqueuse correspondante au produit couplé benzhydrylé **246** (55 %).

RMN-¹H (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 7,50-7,20 (m, 15 H, (C₆H₅)₃) ; 5,89 (ddt, ³J_{trans} = 17,2, ³J_{cis} = 10,4, ³J = 5,6, 1 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,51 (d, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,29 (qd, ³J_{trans} = 17,2, ²J = 1,5, 1 H, OCH₂CH=CHH_{trans}) ; 5,21 (qd, ³J_{cis} = 10,4, ²J = 1,3, 1 H, OCH₂CH=CHH_{cis}) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,12$, J_{AB} = 11,9, 2 H, CH₂C₆H₅) ; 4,45-4,40 (m, 1 H, H-5) ; 4,33 (t, ³J = 4,1, 1 H, H-4) ; 4,30-4,25 (m, 2 H, H-3 et H-6) ; 4,25-4,20 (m, 1 H, H-1) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABMXX', $\Delta\delta = 0,07$, J_{AB} = 12,8, J_{AM} = 5,6, J_{BM} = 5,8, J_{AX} = J_{AX'} = J_{BX} = J_{BX'} = 1,3, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; 3,93 (t, ³J = 8,9, 1 H, CH-4') ; 3,82 (d fin, ³J = 0,8, 1 H, H-2) ; 3,57 (t, ³J = 6,6, 2 H, CH₂-1') ; 2,20-2,10 (m, 2 H, CH₂-3') ; 1,70-1,60 (m, 2 H, CH₂-2').

**(±)-4-O-Allyl-2-O-(3'-(benzhydryl)-propyl)-6-O-benzyl-1,5-O-éthylidène
myo-inositol ; C₃₄H₄₀O₆ : 544,69 g•mol⁻¹ (247)**

**(±)-6-O-Allyl-2-O-(3'-(benzhydryl)-propyl)-4-O-benzyl-1,5-O-éthylidène
myo-inositol ; C₃₄H₄₀O₆ : 544,69 g•mol⁻¹ (248)**

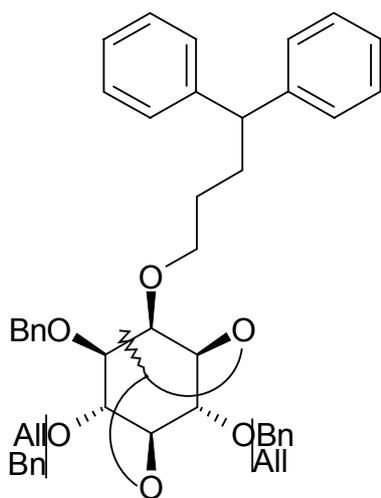


L'orthoester **246** (907 mg, 1,71 mmol) est dissous dans 50 mL de DCMa sous argon. On injecte à 0°C et goutte à goutte 3 éq. de triméthylaluminium (à 2 M dans le THF soit 5,13 mmol, 2,56 mL). Après une nuit de réaction on observe des traces de nouveaux produits. On rajoute à T. A. 3 éq. d'AlMe₃. Au bout de quelques heures, on constate sur CCM (AcOEt-heptane 1/1) la disparition de l'orthoester **246** de R_f 0,69 vs 0,72 pour le nouveau produit majoritaire, ainsi que des traces de produits plus polaires (de R_f 0,64, 0,57, 0,49 et 0,31). Le MR est versé lentement dans un mélange de 100 mL d'une solution à 500 g•L⁻¹ de tartrate mixte de sodium et de potassium et de 150 mL d'une solution aqueuse saturée en NH₄Cl, sous forte agitation et pendant une heure. Le mélange est extrait trois fois par 150 mL de DCM. On sèche sur MgSO₄ les phases organiques combinées. Cette phase est ensuite filtrée sur papier et évaporée à sec avec 3 g de SiO₂. On réalise ainsi un dépôt sec sur un gel de 200 g de SiO₂ dans AcOEt-heptane 1/3. Le mélange majoritaire des alcools régiomères **247** et **248** est récupéré à raison de 595 mg sous la forme d'une pâte jaune orangée (64 %).

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : spectre complexe mal résolu comprenant les groupements allyles, benzhydryles, benzyles, éthylidènes, inositols et propyles des deux alcools régiomères **247** et **248**.

**(±)-4-O-Allyl-2-O-(3'-(benzhydryl)-propyl)-3,6-di-O-benzyl-1,5-O-éthylidène
myo-inositol ; C₄₁H₄₆O₆ : 634,82 g•mol⁻¹ (249)**

**(±)-6-O-Allyl-2-O-(3'-(benzhydryl)-propyl)-3,4-di-O-benzyl-1,5-O-éthylidène
myo-inositol ; C₄₁H₄₆O₆ : 634,82 g•mol⁻¹ (250)**



Le mélange d'alcools régiomères **247** et **248** (0,30 g, 0,55 mmol) est dissous dans 10 mL de DMFa sous argon. On y ajoute 1,3 éq. de NaH (0,72 mmol, 29 mg) ainsi que quelques cristaux de DMAP à 0°C pendant 5 min, puis on remet à T. A. durant 20 min. On ajoute BnBr à 0°C (87 µL, 1,3 éq.). La réaction remonte lentement à T. A. au cours de la nuit. Sur CCM (AcOEt-heptane 1/3), on constate après 12 h de réaction l'absence des alcools **247** et **248** (R_f = 0,41) et la présence d'un nouveau produit majoritaire au R_f de 0,51, des traces de produits migrent également au R_f 0,55 et 0,46. On ajoute 20 mL d'eau distillée puis 100 mL de saumure. On extrait 4 fois par 100 mL d'éther. La phase aqueuse est finalement saturée par ajout de NaCl et réextraite par 100 mL d'AcOEt et 100 mL de DCM. Les phases organiques mélangées sont séchées sur MgSO₄, filtrées sur fritté et évaporées à sec. On obtient 0,73 g de brut que l'on dépose sur 75 g de SiO₂ (élution AcOEt-heptane 1/9). On obtient le produit avec les traces d'impuretés de R_f supérieur et inférieur, les différents mélanges sont à nouveau déposés sur des gels de silice plus ou moins importants (dont des

seringues de 5 et 10 mL contenant 2 et 4 g de SiO₂). Le mélange de régiomères di-O-benzylés **249** et **250** est finalement recueilli sous la forme d'une huile incolore (213 mg, 61 %).

SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₄₁H₄₆O₆Na) : calc. 657,32 ; obs. 657,4.

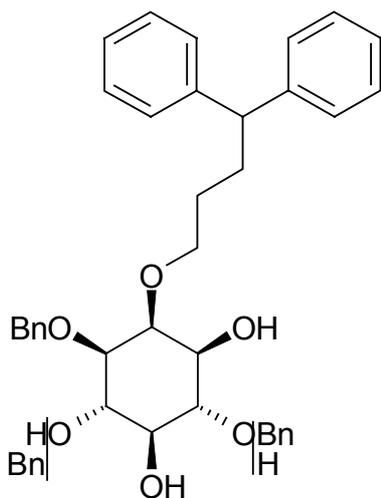
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : spectre complexe mal résolu comprenant les groupements allyles, benzhydryles, benzyles (doublés), éthylidènes, inositols et propyles des deux alcools régiomères **249** et **250**.

(±)-2-O-(3'-(Benzhydryl)-propyl)-3,6-di-O-benzyl *myo*-inositol ;

C₃₆H₄₀O₆ : 568,72 g•mol⁻¹ (**251**)

(±)-2-O-(3'-(Benzhydryl)-propyl)-3,4-di-O-benzyl *myo*-inositol ;

C₃₆H₄₀O₆ : 568,72 g•mol⁻¹ (**252**)



Le mélange de régiomères **249** et **250** (200 mg, 315 μmol) est dissous dans un mélange EtOH-eau distillée 9/1 de 10 mL. On y ajoute 50 mg de DABCO à 70°C, ainsi que 0,1 éq. de catalyseur de Wilkinson à 99,99 % (env. 0,1 éq., 32 μmol, 29 mg). La réaction est testée par CCM au bout de 2 h, on constate l'apparition du produit isomérisé (env. 20 %) au R_f de 0,48 vs initial de R_f 0,41 (CCM AcOEt-heptane 1/3) ainsi que des traces polaires de R_f 0,16 et 0,08. On ajoute encore 50 mg de DABCO et 200 mg de catalyseur (lot à 98 %), on place le MR à 90°C pendant une nuit. On hydrolyse ensuite simultanément l'allyle isomérisé et l'acétal

éthylénique par ajout de 5 mL d'HCl 2 M (50 mg de *p*TSA étant apparus comme une condition trop douce même en chauffant plusieurs heures). Au bout d'une heure à 90°C on n'observe plus de dérivé possédant l'allyle isomérisé. Le MR est filtré sur terre de Füller, le ballon étant préalablement repris avec du DCM. Le filtrat est évaporé à sec puis repris dans 100 mL d'AcOEt et lavé par une solution aqueuse de KHCO₃ (75 mL à 0,1 M). La phase aqueuse est diluée par 25 mL d'eau distillée et extraite à l'AcOEt (1 × 100 mL) et au DCM (2 × 200 mL). On obtient ainsi un peu plus de 300 mg de brut. Les triols régiomères **251** et **252** apparaissent aux R_f 0,80 et 0,38 par CCM élue à l'AcOEt et aux R_f 0,98 et 0,23 par CCM élue par un mélange éther-EtOH 19/1. Dans ce dernier système éluant, on observe une troisième molécule de R_f 0,57 (fluo à 254 nm, mais faiblement révélée par l'acide phosphomolybdique contrairement aux deux autres). Après une première colonne, on retrouve ce produit sous la forme de cristaux blancs de composante aromatique par RMN des mélanges avec les triols **251** et **252**, il s'agit très probablement de la triphénylphosphine issue du catalyseur. Les recristallisations des triols régiomères **251** et **252** étant contaminées par PPh₃, on redépose les mélanges sur 2 colonnes de 100 g de silice élues par un gradient de 3 à 10 % d'EtOH dans l'éther. Le régiomère apolaire (triol **251** présumé) est recueilli à raison de 52 mg (29 %) d'huile collée à la paroi du ballon. Le régiomère polaire (triol **252** présumé) est recueilli à raison de 11,5 mg (6 %) de cristaux blancs (par nécessité de poursuite de la synthèse, nous ne pouvons pas engager quelques mg de produit pour mesurer le Pf dans un capillaire) ainsi

que dans un lot contaminé par un large excès de PPh_3 (104 mg, 190 H aromatiques en trop, soit 12,7 éq.).

La différence notable observée de R_f devrait être due pour le régiomère le plus polaire à la présence des 3 hydroxyles vicinaux. Dans des systèmes éluants tels que l'AcOEt (ou un mélange comprenant majoritairement de l'éther), de telles interactions sont logiquement plus fortes que celles exercées entre 3 hydroxyles dont seulement 2 sont vicinaux. Les 3 alcools vicinaux, retrouvés dans nos autres séries d'analogues, ont été également caractérisés par RMN comme appartenant au régiomère le plus polaire.

- (\pm)-2-O-(3'-(Benzhydryl)-propyl)-3,6-di-O-benzyl *myo*-inositol **251**, régiomère apolaire.

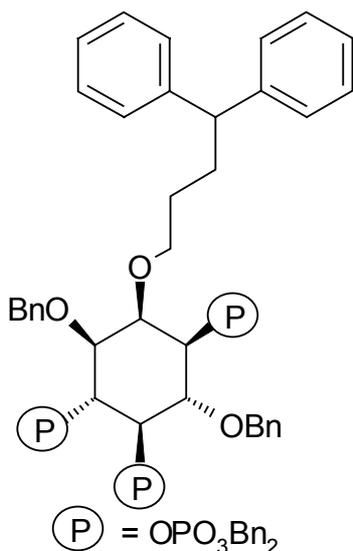
SM ESI^+ ($\text{M}+\text{Na}^+$) ($\text{C}_{36}\text{H}_{40}\text{O}_6\text{Na}$) : calc. 591,27 ; obs. 591,3.

RMN- ^1H (300 MHz, COSY, CDCl_3) : 7,50-7,10 (m, 20 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_4$) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,03$, $J_{\text{AB}} = 11,4$, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,11$, $J_{\text{AB}} = 11,6$, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) ; 3,95-3,90 (m, 3 H, comprenant *H*-2, *H*-4 et *CH*-4') ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX_2 à moitié masqué, m+td à 3,65, $J_{\text{AB}} = 9,1$, $J_{\text{BX}} = 6,3$, 1+1 H, CH_2 -1') ; 3,60-3,50 (m, 2 H, *H*-6 et *H*-1) ; 3,45 (t, $^3J = 9,0$, 1 H, *H*-5) ; 3,25 (dd, $^3J = 9,6$, $^3J = 2,3$, 1 H, *H*-3) ; 2,57 (s, 2 H éch., $(\text{OH})_2$) ; 2,32 (s, 1 H éch., OH) ; 2,15-2,15 (m, 2 H, CH_2 -3') ; 1,60-1,50 (m, 2 H, CH_2 -2'),

- (\pm)-2-O-(3'-(Benzhydryl)-propyl)-3,4-di-O-benzyl *myo*-inositol **252**, régiomère polaire.

RMN- ^1H (300 MHz, COSY, CDCl_3) : 7,50-7,10 (m, 20 H, $(\text{C}_6\text{H}_5)_4$) ; $\overline{\text{---}}$ (AB, $\Delta\delta = 0,16$, $J_{\text{AB}} = 11,2$, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) ; 4,68 (s, 2 H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) ; 3,92 (t, $^3J = 7,8$, 1 H, *CH*-4') ; 3,88 (t, $^3J = 2,4$, 1 H, *H*-2) ; $\overline{\text{---}}$ (AB d'un ABX_2 , $\Delta\delta = 0,32$, $J_{\text{AB}} = 8,7$, 2 H, CH_2 -1') ; 3,75 (t, $^3J = 9,6$, 1 H, *H*-6) ; 3,72 (t, $^3J = 9,3$, 1 H, *H*-4) ; 3,42 (dd, $^3J = 9,6$, $^3J = 2,4$, 1 H, *H*-1) ; 3,38 (dd, $^3J = 9,6$, $^3J_{\text{H-OH}} = 3,6$, 1 H, *H*-5) ; 3,34 (dd, $^3J = 3,9$, $^3J = 6,9$, 1 H, *H*-3) ; 2,54 (sl, 3 H éch., $(\text{OH})_3$) ; 2,13 (q, $^3J = 7,5$, 2 H, CH_2 -3') ; 1,65-1,50 (m, 2 H, CH_2 -2').

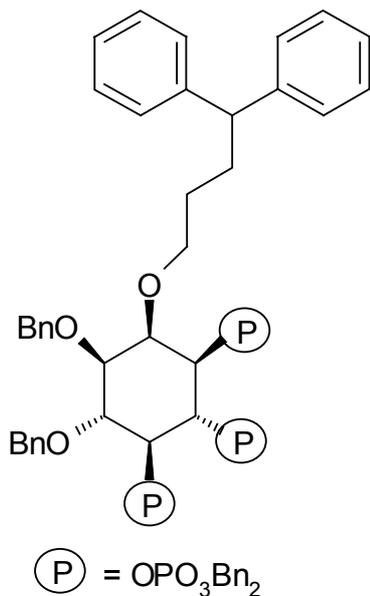
**(\pm)-2-O-(3'-(Benzhydryl)-propyl)-3,6-di-O-benzyl *myo*-inositol
1,4,5-tris(dibenzylphosphate) ; $\text{C}_{78}\text{H}_{79}\text{O}_{15}\text{P}_3$: 1349,41 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (**253**)**



Le triol **251** (39 mg, 69 μmol) est dissous dans 10 mL de THFa sous argon puis mis à réagir T. A. avec 6 éq. NaH (16 mg, 0,41 mmol) et 100 μL de cryptant [15-5] pendant 30 min. On ajoute 6 éq. de pyrophosphate tétrabenzylé **136** (332 mg, 0,62 mmol). Le MR est traité après 48 h à T. A. avec 3 mL d'eau glacée. On ajoute 10 mL de solution aqueuse saturée en NH_4Cl . La phase aqueuse est extraite avec 30 mL d'AcOEt. La phase organique est séchée sur MgSO_4 , filtrée sur fritté et évaporée à sec. Le brut est déposé sur plaque préparative éluee deux fois par un mélange AcOEt-pentane 2/3, puis deux fois par AcOEt seul. Les produits désorbés des deux bandes les plus apolaires montrent des signaux en RMN- ^{31}P .

L'ensemble de près de 70 mg est déposé en plusieurs fois sur HPLC semi-préparative. Les fractions recueillies (de temps de rétention compris entre 37 et 46 min) sont testées en RMN- ^{31}P et RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$. Le produit tris(phosphorylé) **253** n'a pas pu être isolé en pureté et en quantité suffisante.

(±)-2-O-(3'-(Benzhydryl)-propyl)-3,4-di-O-benzyl *myo*-inositol 1,5,6-O-tris(dibenzylphosphate) ; C₇₈H₇₉O₁₅P₃ : 1349,41 g•mol⁻¹ (254)



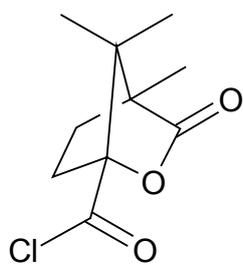
Le triol **252** (28 mg, 49 μmol) est dissous dans 5 mL de THFa sous argon, puis mis à réagir à T. A. avec 10 éq. NaH (0,50 mmol, 20 mg) pendant env. 1 min, puis à T. A. pendant 30 min. On ajoute 16 éq. de pyrophosphate tétrabenzylé **136** (426 mg, 0,791 mmol). Le MR est traité après 96 h à T. A. avec 20 mL d'eau distillée, le mélange est additionné de NaCl à saturation, puis extrait par AcOEt (3 × 25 mL) que l'on sèche sur MgSO₄. La phase organique est filtrée sur fritté et évaporée à sec, on obtient un brut de 0,21 g. La RMN-³¹P {¹H} du brut indique la présence de plusieurs espèces phosphorylées. On se sépare du solide résiduel insoluble dans un mélange CHCl₃/acétone 1/1 de 10 mL env., on obtient après évaporation du filtrat 168 mg de

pâte blanche que l'on dépose sur une plaque préparative que l'on élue avec de l'AcOEt. Malgré d'autres purifications (plaques préparatives et HPLC) le produit tris(phosphorylé) **254** n'a pas pu être isolé. Les différents échantillons issus de ces chromatographies ont été pesés, testés en RMN (³¹P {¹H} et ¹H {³¹P}) et éventuellement en masse.

2.4. Tentatives de résolution des composés racémiques

2.4.1. Synthèse du chlorure de l'acide camphanique

Chlorure de l'acide camphanique (+) ; C₁₀H₁₃O₃Cl : 396,83 g•mol⁻¹ (279)

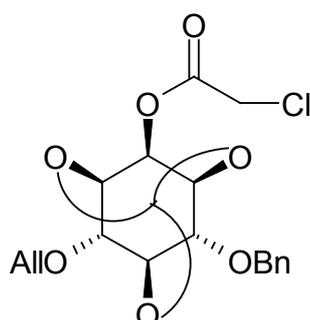


L'acide camphanique (+) (2,00 g, 10,1 mmol) est dissous dans 15 mL de SOCl₂ sous argon. On met le MR à 90°C pendant 2 h. On revient à T. A. et on ajoute 50 mL de toluène, puis le MR est évaporé à sec. On obtient 2,32 g de cristaux beiges du chlorure **279** (quantitatif).

RMN (200 MHz, CDCl₃) : 2,62-2,48 (m, 1 H) ; 2,28-2,14 (m, 1 H) ; 2,09-1,95 (m, 1 H) ; 1,86-1,72 (m, 1 H) ; 1,18 (sl, 3 H, CH₃) ; 1,14 (sl, 3 H, CH₃) ; 1,09 (sl, 3 H, CH₃).

2.4.2. Synthèse des esters d'inositols diversement substitués

(±)-4-O-Allyl-6-O-benzyl-2-O-(chloro-acétyl) *myo*-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₁₉H₂₁O₇Cl : 396,83 g•mol⁻¹ (255)



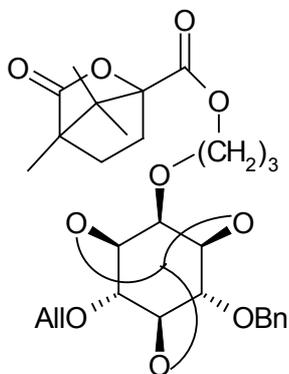
L'inositol intermédiaire-clé **191** (720 mg, 2,25 mmol) est dissous dans 30 mL de THFa sous argon. On additionne à T. A. et goutte à goutte 0,63 mL de triéthylamine (4,50 mmol, 2 éq.) ainsi que 0,79 g d'anhydride chloroacétique (2 éq.) et env. 30 mg de DMAP catalytique. Après 30 min de réaction on observe la disparition de l'alcool **191** de R_f 0,49 d'après point mixte vs un seul nouveau produit de R_f 0,72 (CCM AcOEt-heptane 1/1). Le MR est

éaporé à sec (2,5 g de brut) et déposé sur gel de 300 g de SiO₂ dans AcOEt-heptane 1/3. On recueille 738 mg (83 %) de l'inositol estérifié **255** sous la forme d'un cristal blanc (Pf = 74°C). IR (KBr) : 1754 cm⁻¹, forte et fine (C=O).

SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₁₉H₂₁O₇³⁵ClNa) : calc. 419,09 ; obs. 419,19 (³⁵Cl) ; 421,19 (³⁷Cl, rapport isotopique 2/1).

RMN-¹H (600 MHz, COSY, CDCl₃) : 7,35-7,30 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,89 (m complexe partie M d'un ABMXX', J_{MX} = 17,4, J_{MX'} = 10,2, J_{MA} = J_{MB} = 5,4, 2 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,53 (d, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,43 (dl, J = 1,2, 1 H, H-2) ; 5,28 (X d'un ABMXX', J_{MX} = 17,4, J_{XA} = J_{XB} = J_{XX'} = 1,2, 1 H, OCH₂CH=CHH_{trans}) ; 5,20 (X' d'un ABMXX', J_{MX'} = 10,2, J_{X'A} = J_{X'B} = J_{XX'} = 1,2, 1 H, OCH₂CH=CHH_{cis}) ; $\overline{\text{ , }} (AB, \Delta\delta = 0,04, J_{AB} = 11,4, 2 \text{ H, CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5)$; 4,48 (tt, ³J_{H₅H₄} = ³J_{H₅H₆} = 3,3, ⁴J = 1,8, 1 H, H-5) ; 4,41 (tt, ³J = 3,3, ⁴J = 1,8, 1 H, H-4 ou H-6) ; 4,40-4,35 (m, 2 H, H-1 et H-3) ; 4,34 (td, J = 3,6, J = 1,8, 1 H, H-6 ou H-4) ; 4,23 (s, 2 H, CH₂-Cl) ; 4,13 (qd, J = 6,0, J = 1,8, 2 H, OCH₂CH=CH₂).

4-O-Allyl-6-O-benzyl-2-O-(3'-O-camphanate)-propan-3'-ol myo-inositol 1,3,5-O-orthoformate ; C₃₀H₃₈O₁₀ : 558,63 g•mol⁻¹ (256)



L'inositol **198** est désilylé classiquement par le TBAF. Le produit obtenu (250 mg, 661 μmol) est dissous dans 30 mL de DCMA sous argon. On injecte à T. A. et goutte à goutte 4 mL de triéthylamine (large excès). On ajoute une dizaine de mg de DMAP catalytique ainsi que 286 mg de chlorure de l'acide camphanique (+) (2 éq., 1,32 mmol). Après 1 nuit à T. A. il reste beaucoup d'inositol initial on rajoute 2 éq. du chlorure d'acide ainsi que 30 mg de NaH.

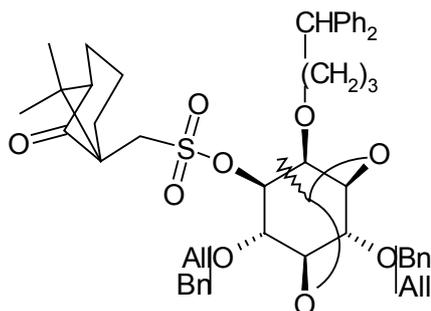
Pas d'évolution notable au cours des 3 h suivantes. On place le MR à 75°C, on ajoute 100 mg de DMAP et 2 éq. de chlorure d'acide et on agite encore 3 h. Il reste moins d'un tiers du réactif dérivé de l'inositol de R_f 0,13, le nouveau produit majoritaire se situe au R_f 0,43 (CCM AcOEt-heptane 1/1). Le MR est traité par 50 mL d'eau distillée et 50 mL de chlorure d'ammonium à saturation dans l'eau. On ajoute 100 mL de DCM au mélange précédent. On sépare la phase aqueuse et on la réextrait par 100 mL de DCM. Les phases organiques sont séchées sur MgSO₄, filtrées sur fritté et évaporées à sec. On dépose le brut de 1,26 g sur un gel de 100 g de SiO₂ dans AcOEt-heptane 1/3, élué par la suite par AcOEt-heptane 1/2, puis 1/1. On recueille 179 mg (49 %) de l'inositol estérifié **256** sous la forme d'une pâte blanche.

SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₃₀H₃₈O₁₀Na) : calc. 581,24 ; obs. 581,33.

RMN-¹H (300 MHz, COSY, CDCl₃) : 7,35-7,25 (m, 5 H, C₆H₅) ; 5,89 (ddt, ³J_{trans} = 17,2, ³J_{cis} = 10,6, ³J = 5,6, 1 H, OCH₂CH=CH₂) ; 5,49 (d, ⁴J = 1,2, 1 H, HC(OCH)₃) ; 5,28 (qd, ³J_{trans} = 17,3, ²J = 1,6, 1 H, OCH₂CH=CHH_{trans}) ; 5,20 (qd, ³J_{cis} = 10,4, ²J = 1,4, 1 H, OCH₂CH=CHH_{cis}) ; $\overline{\text{ , }} (AB, \Delta\delta = 0,12, J_{AB} = 11,8, 2 \text{ H, CH}_2\text{C}_6\text{H}_5)$; 4,43 (dtd, ³J = 3,4, ³J = 3,4, ³J = 1,7, 1 H, H-5) ; 4,38 (t, ³J = 6,3, 2 H, CH₂-3') ; 4,35-4,25 (m, 4 H, H-1, H-3, H-4 et H-6) ; $\overline{\text{ , }} (AB \text{ partiellement résolu d'un ABMXX'}, \Delta\delta = 0,06, J_{AB} = 12,7, J_{AM} = 5,6, J_{BM} = 5,7, J_{AX} = J_{AX'} = J_{BX} = 1,4, 2 \text{ H, OCH}_2\text{CH=CH}_2)$; 3,84 (q, ³J = 1,5, 1 H, H-2) ; 3,65 (t, ³J = 6,1, 2 H, CH₂-1') ; 2,50-2,35 (m, 1 H, CHH camphanate) ; 2,10-1,80 (m, 4 H, CH₂ camphanate et à 2,03 (t, ³J = 6,2, 2 H, CH₂-2')) ; 1,75-1,60 (m, 1 H, CHH camphanate) ; 1,11 (sl, 3 H, CH₃) ; 1,09 (sl, 3 H, CH₃) ; 1,02 (sl, 3 H, CH₃).

(±)-4-O-Allyl-2-O-(3'-benzhydryl-(propane))-6-O-benzyl-3-O-camphorsulfonyl-1,5-O-éthylidène-*myo*-inositol ; C₄₄H₅₄O₉S : 758,98 g•mol⁻¹ (257-1)

(±)-6-O-Allyl-2-O-(3'-benzhydryl-(propane))-4-O-benzyl-3-O-camphorsulfonyl-1,5-O-éthylidène-*myo*-inositol ; C₄₄H₅₄O₉S : 758,98 g•mol⁻¹ (257-2)



Le mélange d'alcools régiomères **247** et **248** (249 mg, 2,19 mmol) est dissous dans 5 mL de DCMa sous argon. On ajoute à T. A. et goutte à goutte 3 mL de triéthylamine ainsi que 1,10 g (4,38 mmol, 2 éq.) de chlorure de l'acide camphorsulfonique suivi d'une pointe de spatule de DMAP catalytique. Après une nuit de réaction on observe la disparition du mélange des réactifs **247** et **248** de R_f 0,73 d'après point mixte vs un nouveau produit majoritaire de R_f

0,70, ainsi que des traces de R_f 0,65 et 0,52 (CCM AcOEt-heptane 1/1). Après 24 h de réaction le MR est traité par ajout de 2 ml d'eau distillée, 5 mL de chloroforme et 5 mL de toluène puis est évaporé à sec. Le brut est repris dans 20 mL d'éther et lavé 2 fois par 20 mL d'eau distillée. Les phases aqueuses combinées sont extraites par 100 mL de CHCl₃. Cette phase est ensuite évaporée à sec après séchage sur MgSO₄ et filtration sur fritté. On obtient 1,3 g de brut extractionnel ce qui n'est pas satisfaisant, il est donc nécessaire de faire un lavage acido-basique : reprise par 150 mL de CHCl₃ lavé par 40 mL de NaHCO₃ à 5 %, puis lavage de la phase organique décantée par 40 mL de solution molaire d'acide chlorhydrique. On réitère l'étape de séchage et d'évaporation finale aboutissant à un brut de 0,2 à 0,3 g. On purifie partiellement le produit sur un gel de 50 g de SiO₂ dans AcOEt-heptane 1/4, nous permettant ainsi d'en recueillir 232 mg sous la forme d'une huile saumon translucide. Après deux nouvelles colonnes (de 10 et 20 g de SiO₂), on aboutit à un rendement global de 81 % du mélange **257** des quatre diastéréomères inséparables (régiomères **257-1** et **257-2**). RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) : spectre complexe mal résolu comprenant les groupements allyles, benzhydryles, benzyles, camphorsulfonyles (signaux apparemment dédoublés), éthylidènes, inositols et propyles des régiomères présents dans le mélange **257**.

SM ESI⁺ (M+Na⁺) (C₄₄H₅₄O₉SNa) : calc. 781,34 ; obs. 781,48, 782,49 et 783,49 (^{32/33}S, ^{12/13}C).

2.4.3. Protocole type de résolution enzymatique des racémiques

2.4.3.1. Intermédiaire chiral formé *in situ*

On a recours à des estérases d'origines diverses (Lipases *Pseudomonas fluorescens*, LPS Amono, Novozymes du Brésil, PPL), à raison de 5-20 mg pour env. 10-50 mg de substrat (intermédiaire-clé de couplage **191**). Le MR est assemblé dans un pilulier de 3 mL avec env. 2 mL de solvant (DCM, éther, THF) ainsi que 0,1 à 0,5 mL d'acétate de vinyle. On utilise un bain de sable chauffé à 30, 40 puis 50°C. Les réactions sont suivies sur CCM. Le produit estérifié n'est pas observé, la réaction n'évolue pas. Les réactions sont éventuellement prolongées sur plusieurs jours (on complète le solvant évaporé).

2.4.3.2. Intermédiaire chiral présynthétisé

On réemploie les mêmes enzymes à raison de 5-20 mg pour env. 10-50 mg de substrat (molécules **255**, **256** et **257**). Le MR est assemblé dans un pilulier de 3 mL avec env. 2 mL de solvant (DCM, éther, THF). On utilise un bain de sable chauffé à 30, 40 puis 50°C. Les réactions sont suivies sur plaque de CCM. On ne note pas la présence de produit hydrolysé. Les réactions sont éventuellement prolongées sur plusieurs jours (on complète le solvant évaporé).

3. Spectres RMN des composés 105 et 233

3.1. RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ du composé 105

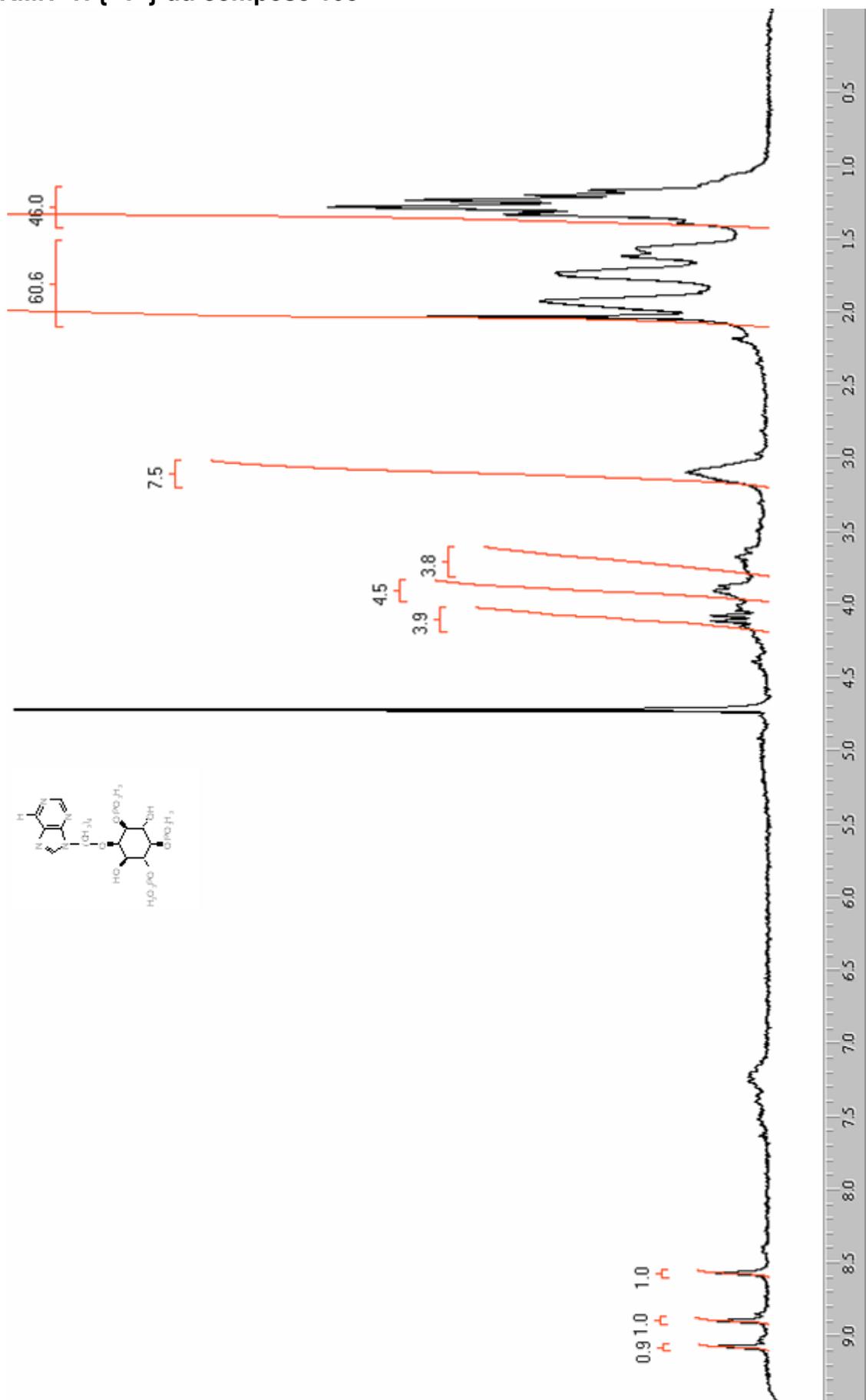
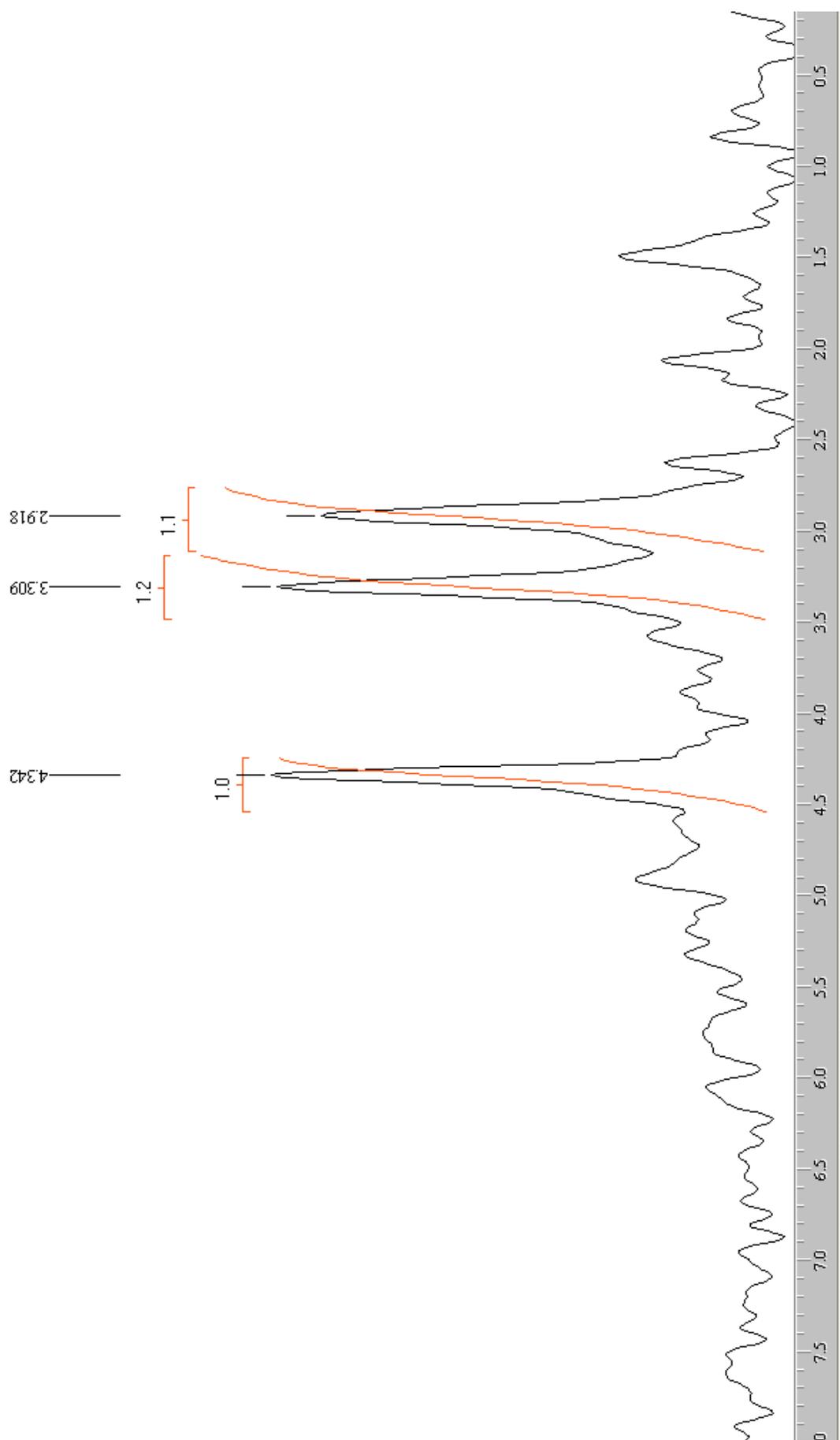
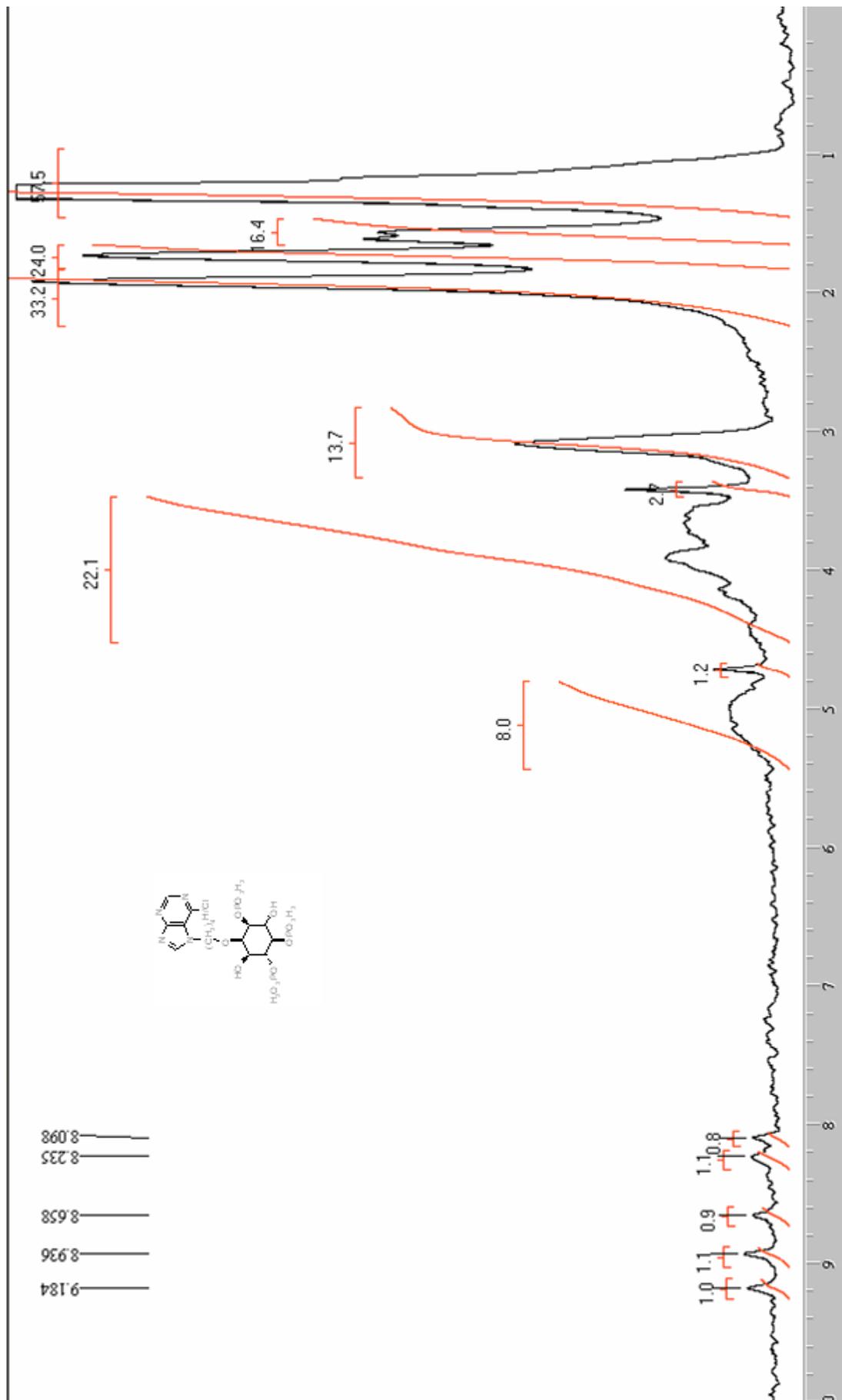
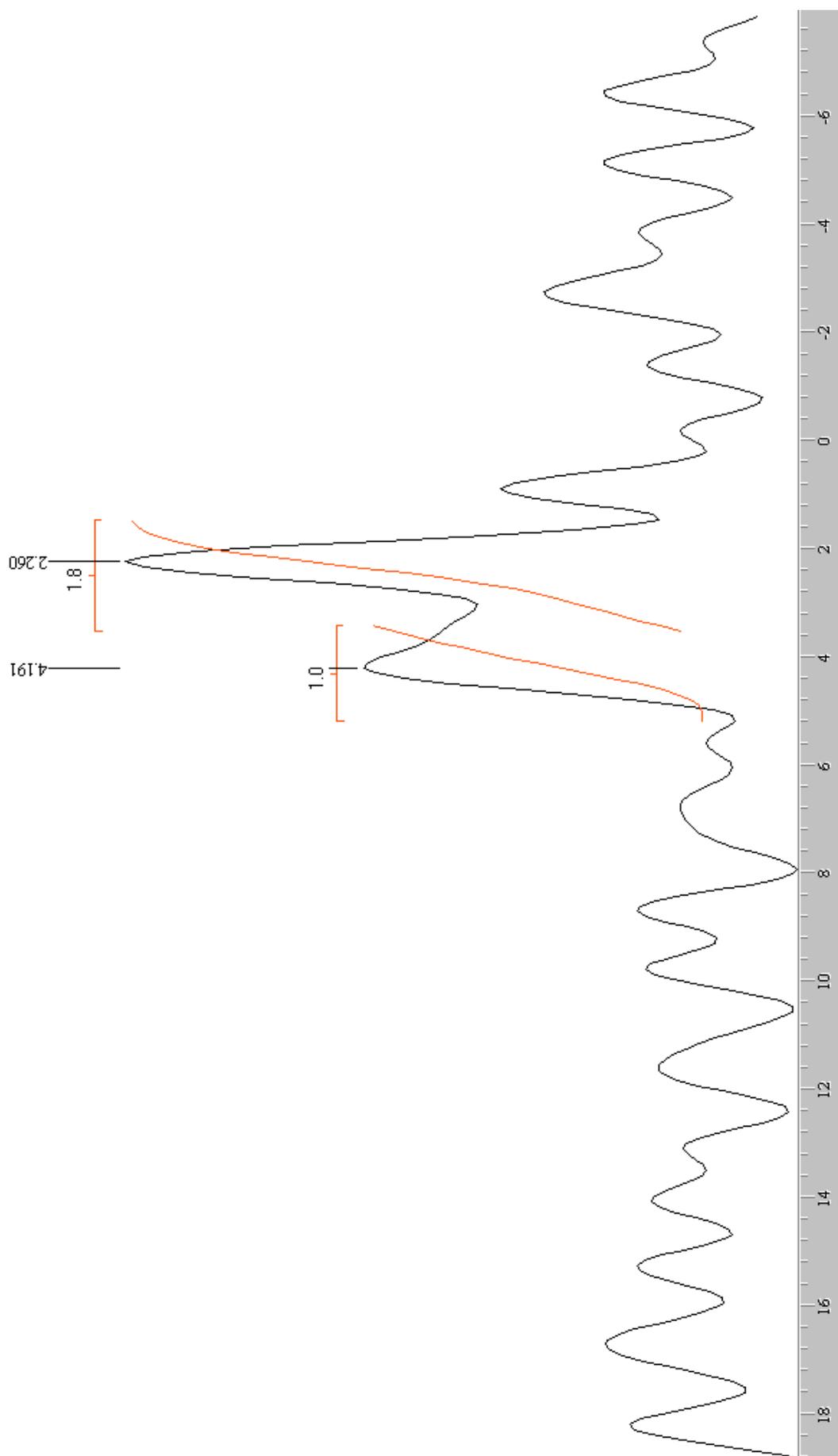


Figure 75 : spectre RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ du composé 105.

3.2. RMN- ^{31}P { ^1H } du composé 105Figure 76 : spectre RMN- ^{31}P { ^1H } du composé 105.

3.3. RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ du composé 233Figure 77 : spectre RMN- ^1H $\{^{31}\text{P}\}$ du composé 233.

3.4. RMN- ^{31}P { ^1H } du composé 233Figure 78 : spectre RMN- ^{31}P { ^1H } du composé 233.

4. Index des réactifs employés

Cet index regroupe la majorité des composés chimiques employés et mentionnés dans cette thèse en dehors de leur usage éventuel en tant que solvant. Leur abréviation utilisée dans les protocoles est rapportée entre parenthèses, suivie du distributeur du produit, de sa pureté telle que décrite sur le contenant et d'un éventuel retraitement au laboratoire entre parenthèses.

Acétate de vinyle	LANCASTER, 99 %
Acide acétique	PROLABO, normapur 100 %
Acide chlorhydrique	RIEDEL DE HAEN, 37 %
Acide 1-R-(+)camphanique	MERCK, pour synthèse
Acide 1-S-(-)camphanique	JANSSEN, 99 %
Acide dibenzyle phosphorique	ACROS, 99 %
Acide formique	PROLABO, 98 %
Acide <i>meta</i> -chloro-perbenzoïque (<i>m</i> CPBA, H ₂ O)	ACROS, 70-75 %
Acide <i>para</i> -toluène-sulfonique monohydrate (<i>p</i> TSA, H ₂ O)	KODAK-EASTMAN
Acide perchlorique (HClO ₄)	PROLABO, 70 %
Acide phosphomolybdique	SIGMA ALDRICH, 20 % dans l'EtOH
Acide trifluoroacétique (TFA)	SIGMA ALDRICH, ≥ 99 % ; AVOCADO, 99 %
Adénine (6-amino-purine)	ACROS, 99,5+ %
Alcool benzylique (BnOH)	ACROS, 98 %
Ammoniac	LINDE GAS SA, bonbonne
Anhydride chloroacétique	AVOCADO, 97 %
Benzophénone	FLUKA, 99 %
1-Bromo-4-chloro-butane	ACROS, 99 %
1-Bromo-2-chloro-éthane	FLUKA, 100 % (distillé labo)
1-Bromo-3-chloro-propane	ACROS, 99 %
4-Bromo-1,1-diphénylbut-1-ène	patrimoine labo (synthétisé : an 2000) ³⁴⁴
2-Bromoéthylbenzène	ACROS, 99 %
3-Bromo-propan-1-ol	SIGMA ALDRICH, 97 %
Bromure d'allyle (AlBr)	ACROS, 98 %
Bromure de benzyle (BnBr)	ACROS, 98 %
Bromure de crotyle (CrBr)	FLUKA, 15 % de 3 bromo-but-1-ène
Bromure de tétrabutylammonium (TBABr)	SIGMA ALDRICH, 99 %
Butan-1,4-diol	JANSSEN, 99+ %
Butyllithium (BuLi)	SIGMA ALDRICH, 2,5 M dans l'hexane ; MERCK, 15 % dans le n-hexane
Carbonate de potassium (K ₂ CO ₃)	SDS, 99,5+ %

1-Chloro-butane	JANSSEN, 97 %
3-Chloro-propan-1-ol	ACROS, 98 %
6-Chloro-purine	JANSSEN, 99+ %
Chlorochromate de pyridinium (PCC)	ACROS, 98 %
Chlorure d'ammonium (NH ₄ Cl)	RIEDEL DE HAEN, P. A.
Chlorure de l'acide camphanique (formes (+) et (-) utilisées)	SIGMA ALDRICH, 98 %
Chlorure de l'acide	SIGMA ALDRICH, 97 %
1-R-(-)10-camphorsulfonique	
Chlorure de benzoyle (BzCl)	FLUKA, >99,5 %
Chlorure de <i>para</i> -méthoxybenzyle (<i>p</i> MeOBnCl)	SIGMA ALDRICH, 98 %
Chlorure de <i>tert</i> -butyldiméthylsilyle (TBSCl)	ACROS, 98 %
Chlorure de thionyle (SOCl ₂)	SIGMA ALDRICH, 99 %
Chlorure de toluène-4-sulfonyle (TsCl, Chlorure de tosyle)	FLUKA, 99+ %
Chlorure de tris(triphényle)rhodium (RhCl(PPh ₃) ₃ , catalyseur de Wilkinson)	ACROS, 98 % ; SIGMA ALDRICH, 99,99 %
Chlorure d'oxalyle ((COCl) ₂)	ACROS (distillé, labo)
Cyclohexanone	LANCASTER (distillée, labo)
Cyclohexène	ACROS, 99 %
Cyclohexylamine	LANCASTER (distillée, labo)
Diacétate de mercure II (Hg(OAc) ₂)	SIGMA ALDRICH, 98 %
Diazabicyclo [2,2,2] octane (DABCO)	SIGMA ALDRICH, 98 %
1,4-Dibromo- <i>trans</i> -but-2-ène	FLUKA, purum
1,2-Dibromoéthane	ACROS, 99 %
1,5-Dibromopentane	SIGMA ALDRICH, 97 %
1,3-Dibromopropane	ACROS, 98 %
Dicyclohexylcarbodiimide (DCC)	AVOCADO, 99 %
Diéthylamine (DEA)	FLUKA, 99 %
2-Diéthylamino-1,3,2-benzodioxaphosphépane	patrimoine labo (synthèse : an 2000)
Diéthylazodicarboxylate (DEAD)	FLUKA, 97 %
3,4-Dihydro-2H-pyrane (DHP)	ACROS, 99 % (distillé, labo)
Diisopropylazodicarboxylate (DIAD)	LANCASTER, 94 %
Diisopropylamine (DIA)	LANCASTER, 99+ %
2,2-Diméthoxypropane	LANCASTER, 98 %
Diméthyl-aminopyridine (DMAP)	AVOCADO, 99 %
Diméthylsulfoxyde (DMSO)	RIEDEL DE HAEN, P. A. (distillé, labo) ; SDS, pour synthèse
Éther-couronne [15-5] et [18-6] (cryptants du sodium et du potassium)	ACROS, 98 %
Fluorure de tétrabutylammonium (TBAF)	LANCASTER, 1 M dans le THF

Formate d'ammonium (HCOONH ₄)	LANCASTER, 97 % (séchage dans toluène, labo)
Hexaméthylphosphoramidate (HMPT)	MERCK, P. A. (distillé, labo)
Hydrate d'hydrazine	LANCASTER, 100 %
Hydruure de sodium (NaH)	LANCASTER, 60 % dans graisses
Imidazole	MERCK, 99+ %
Inositol	AVOCADO, 98 %
Iode (Diode, I ₂)	ACROS, sublimé
Iodure de méthylmagnésium	SIGMA ALDRICH, 3 M dans l'éther
Iodure de sodium (NaI)	FLUKA, 99+ %
Iodure de tétrabutylammonium (TBAI)	SIGMA ALDRICH, 98 %
Magnésium (barreau)	FLUKA (copeaux frais, labo)
Nickel de Raney (activé)	PROLABO, 50 % dans l'eau
Octan-1,8-diol	SIGMA ALDRICH, 98 %
Oxyde de dibutylétain (Bu ₂ SnO)	ACROS, 98 %
Palladium sur carbone (Pd/C)	LANCASTER, 10 % ; JANSSEN 10 %
Palladium dihydroxylé (Pd(OH) ₂ /C, 20%)	SIGMA ALDRICH, 20 % (sur support sec), ≤ 50% eau
Pyridine (Pyr)	PROLABO, P. A. (mise sur KOH, labo)
Tartrate mixte (de sodium et de potassium)	ACROS, P. A.
<i>Tert</i> -butanolate de potassium (<i>t</i> BuOK)	ACROS, 98 % (sublimé, labo)
1- <i>H</i> -Tétrazole	ACROS, 98 %
Tributylphosphine (PBU ₃)	FLUKA, 97 %
Triéthylamine (TEA)	JANSSEN, 99+ %
Triéthylorthoformate (HCO(Et) ₃)	LANCASTER, 98 %
Triméthylaluminium (AlMe ₃)	SIGMA ALDRICH, 2 M (dans l'hexane ou le toluène)
Triméthylorthoformate (HCO(Me) ₃)	ACROS, 99 %
Triphénylphosphine (PPh ₃)	ACROS, 99 %
Triéthylborohydruure de lithium (LTBH, "super-hydrure")	SIGMA ALDRICH, 1 M dans le THF
Zinc (poudre)	différents lots, lot neuf : SIGMA ALDRICH, 99,998 %

Enzymes (estérases, conservées à -20°C)

Lipase de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	FLUKA
LPS Amono	sans indication (tranvasement, labo)
Novozymes du Brésil	sans indication (tranvasement, labo)
Pancreas Pig Lipase (PPL)	sans indication (tranvasement, labo)

ANNEXES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Statistiques bibliographiques

Le tableau suivant fait état du nombre d'articles cités selon les requêtes dans les moteurs de recherche en ligne des principaux éditeurs de littérature scientifique. De simple valeur statistique, ce tableau permet de conclure néanmoins à l'intérêt relativement fort et croissant de l'inositol en général dans les domaines chimiques, biologiques et à leur interface.

Source*	Mot(s)-clé(s)**	Période				
		avant 1971	1971-1980	1981-1990	1991-2000	2001-2005***
	Inositol	97	156	891	1621	385
	<i>Myo</i> -inositol	37	64	140	365	98
	IP3	0	0	19	112	47
	Inositol phosphate	16	18	217	331	31
	Adenophostin****	-	-	-	2	2
	Inositol	45	17	20	115	62
	IP3	0	0	0	5	0
	Adenophostin	-	-	-	6	2
	Inositol	157				
	IP3	54				
	Adenophostin	0				
	Inositol	370				
	IP3	4				
	Adenophostin	1				
	Inositol	2	11	27	123	61
	IP3	0	0	0	4	16
	Adenophostin	-	-	-	1	0
	Inositol	0	2	47	47	35
	IP3	0	0	0	7	9
	Adenophostin	-	-	-	0	0
	Inositol	479	385	2216	3345	1147
	<i>Myo</i> -inositol	95	129	243	318	156
	Inositol phosphate	25	49	307	373	98
	IP3	0	0	27	185	108
	Adenophostin	-	-	-	26	15
	Inositol	561	470	2670	4300	1330
	<i>Myo</i> -inositol	297	496	2080	6230	5660
	Inositol phosphate	34	62	353	494	110
	IP3	0	1	19	140	91
	Adenophostin	-	-	-	37	14
	Inositol	9	3	25	66	18
	IP3	0	0	0	0	0
	Adenophostin	-	-	-	3	1

* <http://www.sciencedirect.com> / <http://pubs.acs.org> / <http://www.thieme-connect.com> / <http://www.springerlink.com> / <http://www.blackwell-synergy.com> / <http://www.nature.com> / <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> / <http://scholar.google.com> / <http://www.rsc.org> (par ordre d'apparition).

** Les requêtes ont été réalisées quand cela était possible par la recherche de mots-clés situés dans le titre des articles ainsi que sur les périodes renseignées dans les colonnes.

*** Statistiques bibliographiques mises à jour le 20 janvier 2006 sur les sites internet (*) des services de diffusion mentionnés, l'éventuelle présence de doublons est apparue nulle ou très négligeable.

**** Les mots-clés ont été entrés par nécessité dans leur version anglaise.

2. Références citées

- i. Helmreich, E. *The biochemistry of cell signalling*. Éditeur : Oxford University Press, **2001**, 368 p.
- ii. Karp, G. *Biologie cellulaire et moléculaire*. Éditeur : De Boeck Université, **2004**, 872 p.
- iii. Cooper, G. M. *La cellule*. Éditeur : De Boeck Université, **1999**, 706 p.
- iv. Hokin, M. R. ; Hokin, L. E. Enzyme secretion and the incorporation of ³²P into phospholipids of pancreas slices. *J. Biol. Chem.*, **1953**, 203, 967-977.
- v. Sutherland, E. W. ; Rall, T. W. Formation of a cyclic adenine ribonucleotide. *J. Biol. Chem.*, **1958**, 232, 1065-1076.
- vi. Sutherland, E. W. ; Rall, T. W. Fraction and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *J. Biol. Chem.*, **1958**, 232, 1077-1091.
- vii. Streb, H. ; Irvine, R. F. ; Berridge, M. J. ; Schultz, I. Release of Ca²⁺ from a nonmitochondrial intracellular store in pancreatic acinar cells by inositol-1,4,5-trisphosphate. *Nature*, **1983**, 306, 67-69.
- viii. Lapetina, E. G. ; Michell, R. H. A membrane-bound activity catalysing phosphatidylinositol breakdown to 1,2-diacylglycerol, D-*myo*-inositol 1 : 2-cyclic phosphate and D-*myo*-inositol 1-phosphate. *Biochem. J.*, **1973**, 131, 433-442.
- ix. Jones, L. M. ; Michell, R. H. The relationship of calcium to receptor-controlled stimulation of phosphatidylinositol turnover. *Biochem. J.*, **1975**, 148, 479-485.
- x. Voet, D. ; Voet, J. G. *Biochimie*. Éditeur : De Boeck Université, **2002**, 1380 p.
- xi. Sitaramayya, A. *Introduction to cellular signal transduction*. Éditeur : Springer, **2001**, 328 p.
- xii. Scherer, J. Uber eine neue, aus dem Muskelfleische gewonnene Zuckerart. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1850**, 73, 322-328.
- xiii. Bouveault L. De l'isométrie optique dans les corps à chaînes fermées. *Bull. de la Société Chimique de Paris*, **1894**, 11, 44-147.
- xiv. Weil, J. H. *Biochimie générale*. Éditeur : Masson (7^o édition), **1994**, 566 p.
- xv. Angyal, S. J. ; Anderson, C. Cyclitols. *Adv. Carbohydr. Chem.*, **1959**, 14, 135-212.
- xvi. Agranoff, B. W. Cyclitol confusion. *Trends in Biochem. Sci.*, **1978**, 3, 283-285.
- xvii. <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/cyclitol/myo.html> site de l'Université de Londres qui reproduit les dernières recommandations établies par les Comités de Nomenclature de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée et de l'Union Internationale de Biochimie et de Biologie Moléculaire (commissions réunies) parues dans *Biochem.J.*, **1989**, 258, 1-2 et *Eur. J. Biochem.*, **1989**, 180, 485-486, (dernière consultation le 13/09/05).
- xviii. Liste non exhaustive, recherches dans les catalogues (parmi les années 2000-2005) et sur les sites internet (dernière consultation le 26/09/05) de Fisher (<https://fscimage.fishersci.com/msds/54348.htm>) et de Sigma-Aldrich (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/ProductDetail/SIGMA/I5125>) et de l'Université d'Akron <http://ull.chemistry.uakron.edu/erd/chemicals/9/8454.html>.
- xix. Fisher, S. K. ; Novak, J. E. ; Agranoff, B. W. Inositol and higher inositol phosphates in neural tissues: homeostasis, metabolism and functional significance. *J. Neurochem.*, **2002**, 82, 736-754.
- xx. Downes, C. P. ; MacPhee, C. H. *myo*-Inositol metabolites as cellular signals. *Eur.*

- J. Biochem.*, **1990**, *193*, 1-18.
- xxi. Sherman, W. R. ; Stewart, M. A. ; Zinbo, M. Mass spectrometric study on the mechanism of D-glucose 6-phosphate-L-*myo*-inositol 1-phosphate cyclase. *J. Biol. Chem.*, **1969**, *244* (20), 5703-5708.
- xxii. Sherman, W. R. ; Rasheed, A. ; Mauk, L. A. ; Wieko, J. Incubations of testis *myo*-inositol 1-phosphate synthase with D-[5-¹⁸O]glucose 6-phosphate and with H₂¹⁸O show no evidence of Schiff base formation. *J. Biol. Chem.*, **1977**, *252*, 5672-5676.
- xxiii. Eisenberg Jr, F. D-Myoinositol 1-phosphate as the product of cyclization of glucose 6-phosphate and substrate for a specific phosphatase in rat testis. *J. Biol. Chem.*, **1967**, *242* (7), 1375-1382.
- xxiv. Loewus, F. A. ; Loewus, M. W. *myo*-Inositol: its biosynthesis and metabolism. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **1983**, *34*, 137-161.
- xxv. Ferrier, R. J. ; Middleton, S. The conversion of carbohydrate derivatives into functionalized cyclohexanes and cyclopentanes. *Chem. Rev.*, **1993**, *93* (8), 2779-2831.
- xxvi. Reddy, N. R. ; Sathe, S. K. *Food phytates*. Éditeur : CRC Press, **2001**, 280 p.
- xxvii. Ju, S. ; Greenberg, M. L. 1D-*myo*-inositol 3-phosphate synthase: conservation, regulation, and putative target of mood stabilizers. *Clinical Neuroscience Research*, **2004**, *4*, 181-187.
- xxviii. Chikhale, E. G. ; Balbo, A. ; Galdzicki, Z. ; Rapoport, S. I. ; Shetty, H. U. Measurement of *myo*-inositol turnover in phosphatidylinositol: description of a model and mass spectrometric method for cultured cortical neurons. *Biochemistry*, **2001**, *40*, 11114-11120.
- xxix. Vernon, D. M. ; Bohnert, H. J. Increased expression of a *myo*-inositol methyl transferase in *Mesembryanthemum crystallinum* is part of a stress response distinct from crassulacean acid metabolism induction. *Plant Physiol.*, **1992**, *99* (4), 1695-1698.
- xxx. Loewus, F. A. ; Murthy, P. P. N. *myo*-Inositol metabolism in plants. *Plant Science*, **2000**, *150*, 1-19.
- xxxi. Armstrong, C. M. The Na/K pump, Cl ion, and osmotic stabilization of cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2003**, *100* (10), 6257-6262.
- xxxii. Dittmer, J. C. ; Dawson, R. M. C. The isolation of a new complex lipid: triphosphoinositide from ox brain. *Biochim. Biophys. Acta*, **1960**, *40*, 379-380.
- xxxiii. Grado, C. ; Ballou, C. E. *myo*-Inositol phosphates obtained by alkaline hydrolysis of beef brain phosphoinositide. *J. Biol. Chem.*, **1961**, *236* (1), 54-60.
- xxxiv. Tomlinson, R. V. ; Ballou, C. E. Complete characterization of the *myo*-inositol polyphosphates from beef brain phosphoinositide. *J. Biol. Chem.*, **1961**, *236*, 1902-1906.
- xxxv. Berridge, M. J. ; Irvine, R. F. Inositol trisphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature*, **1984**, *312*, 315-321.
- xxxvi. Jones, L. M. ; Cockcroft, S. ; Michell, R. H. Stimulation of phosphatidylinositol turnover in various tissues by cholinergic and adrenergic agonists, by histamine and by cærulein. *Biochem. J.*, **1979**, *182*, 669-676.
- xxxvii. Cockcroft, S. ; Gomperts, B. D. Evidence for a role of phosphatidylinositol turnover

- in stimulus-secretion coupling. *Biochem. J.*, **1979**, *178*, 681-687.
- xxxviii. Cockcroft, S. ; Thomas, G. M. H. Inositol-lipid-specific phospholipase C isoenzymes and their differential regulation by receptors. *Biochem. J.*, **1992**, *288*, 1-14.
- xxxix. Rhee, S. G. ; Bae, Y. S. Regulation of phosphoinositide-specific phospholipase C isozymes. *J. Biol. Chem.*, **1997**, *272* (24), 15045-15048.
- xl. Cocco, L. ; Manzoli, L. ; Barnabei, O. ; Martelli, A. M. Significance of subnuclear localization of key players of inositol lipid cycle. *Advances in Enzyme Regulation*, **2004**, *44* (1), 51-60.
- xli. Manzoli, L. ; Martelli, A. M. ; Billi, A. M. ; Faenza, I. ; Fiume, R. ; Cocco, L. Nuclear phospholipase C: involvement in signal transduction. *Progress in Lipid Research*, **2005**, *44*, 185-206.
- xlii. Moore-Nichols, D. ; Arnott, A. ; Dunn, R. C. Regulation of nuclear pore complex conformation by IP₃ receptor activation. *Biophysical Journal*, **2002**, *83*, 1421-1428.
- xliii. Saiardi, A. ; Carey, J. J. ; Snyder, S. H. ; Shears, S. B. Inositol polyphosphate multikinase (ArgRIII) determines nuclear mRNA export in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Letters*, **2000**, *468*, 28-32.
- xliv. Pattni, K. ; Millard, T. H. ; Banting, G. Calpain cleavage of the B isoform of IP₃ 3-kinase separates the catalytic domain from the membrane anchoring domain. *Biochem. J.*, **2003**, *375*, 643-651.
- xlv. Bootman, M. D. ; Collins, T. J. ; Peppiatt, C. M. ; Prothero, L. S. ; MacKenzie, L. ; de Smet, P. ; Travers, M. ; Tovey, S. C. ; Seo, J. T. ; Berridge, M. J. ; Ciccolini, F. ; Lipp, P. Calcium signalling-an overview. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, **2001**, *12*, 3-10.
- xlvi. Pattni, K. ; Banting, G. Ins(1,4,5)P₃ metabolism and the family of IP₃-3kinases. *Cell. Sign.*, **2004**, *16*, 643-654.
- xlvii. Majerus, P. W. ; Kisseleva, M. V. ; Norris, F. A. The role of phosphatases in inositol signaling reactions. *J. Biol. Chem.*, **1999**, *274* (16), 10669-10672.
- xlviii. Shears, S. B. How versatile are inositol phosphate kinases? *Biochem. J.*, **2004**, *377*, 265-280.
- xlix. Van Dijken, P. ; de Haas, J.-R. ; Craxton, A. ; Erneux, C. ; Shears, S. B. ; van Haastert, P. J. M. A novel, phospholipase C-independent pathway of inositol 1,4,5-trisphosphate formation in *Dictyostelium* and rat liver. *J. Biol. Chem.*, **1995**, *270* (50), 29724-29731.
- I. Parker, P. J. ; Murray-Rust, J. PKC at a glance. *Journal of Cell Science*, **2004**, *117*, 131-132.
- li. Takai, Y. ; Kishimoto, A. ; Iwasa, Y. ; Kawahara, Y. ; Mori, T. ; Nishizuka Y. Calcium-dependent activation of a multifunctional protein kinase by membrane phospholipids. *J. Biol. Chem.*, **1979**; *254*, 3692-3695.
- lii. Tanimura, A. ; Nezu, A. ; Morita, T. ; Hashimoto, N. ; Tojyo, Y. Interplay between calcium, diacylglycerol, and phosphorylation in the spatial and temporal regulation of PKC-GFP. *J. Biol. Chem.*, **2002**, *277* (32), 29054-29062.
- liii. Newton, A. C. Protein kinase C: structure, function, and regulation. *J. Biol. Chem.*, **1995**, *270* (48), 28495-28498.
- liv. Castagna, M. ; Takai, Y. ; Kaibuchi, K. ; Sano, K. ; Kikkawa, U. ; Nishizuka, Y.

- Direct activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase by tumor-promoting phorbol esters. *J. Biol. Chem.*, **1982**; 257 (13), 7847-7851.
- lv. Polokoff, M. A. ; Bencen, G. H. ; Vacca, J. P. ; de Solms S. J. ; Young, S. D. ; Huff, J. R. Metabolism of synthetic inositol trisphosphate analogs. *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263 (24), 11922-11927.
- lvi. Challiss, R. A. ; Willcocks, A. L. ; Mulloy, B. ; Potter, B. V. L. ; Nahorski, S. R. Characterization of inositol 1,4,5-trisphosphate- and inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate-binding sites in rat cerebellum. *Biochem. J.*, **1991**, 274 (3), 861-867.
- lvii. Lampe, D. ; Potter, B. V. L. Synthesis of 2-fluoro-2-deoxy-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate and *scyllo*-inositol 1,2,4-trisphosphate, novel analogues of the second messenger *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34, 2365-2368.
- lviii. Potter, B. V. L. ; Lampe, D. Chemistry of inositol lipid-mediated cellular signalling. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, 34, 1933-1972.
- lix. Hirata, M. ; Watanabe, Y. ; Ishimatsu, T. ; Ikebe, T. ; Kimura, Y. ; Yamaguchi, K. ; Osaki, S. ; Koga, T. Synthetic inositol trisphosphate analogs and their effects on phosphatase, kinase and the release of Ca^{2+} . *J. Biol. Chem.*, **1989**, 264, 20303-20308.
- lx. Kozikowski, A. P. ; Ognyanov, V. I. ; Fauq, A. H. ; Nahorski, S. R. ; Wilcox, R. A. Synthesis of 1D-3-deoxy-, 1D-2,3-dideoxy-, and 1D-2,3,6-trideoxy-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate from quebrachitol, their binding affinities, and calcium release activity. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115, 4429-4434.
- lxi. Safrany, S. T. ; Wilcox, R. A. ; Liu, C. S. ; Potter, B. V. L. ; Nahorski, S. R. 3-Position modification of *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate: consequences for intracellular Ca^{2+} mobilisation and enzyme recognition. *Eur. J. Pharmacol.*, **1992**, 226, 265-272.
- lxii. Wilcox, R. A. ; Safrany, S. T. ; Lampe, D. ; Mills, S. J. ; Nahorski, S. R. ; Potter, B. V. L. Modification at C2 of *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate produces inositol trisphosphates and tetrakisphosphates with potent biological activities. *Eur. J. Biochem.*, **1994**, 223, 115-124.
- lxiii. Lampe, D. ; Liu, C. S. ; Mahon, M. F. ; Potter, B. V. L. Synthesis of L-*scyllo*-inositol 1,2,4-trisphosphate, *scyllo*-inositol 1,2,4,5-tetrakisphosphate and phosphorothioate and DL-2-deoxy-2-fluoro-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate - optical resolution of DL1-O-allyl-3,6-di-O-benzyl-4,5-O-isopropylidene-*scyllo*-inositol. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1996**, 14, 1717-1727.
- lxiv. Wilcox, R. A. ; Challiss, R. A. ; Traynor, J. R. ; Fauq, A. H. ; Ognayanov, V. I. ; Kozikowski, A. P. ; Nahorski, S. R. Molecular recognition at the *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. 3-Position substituted *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate analogues reveal the binding and Ca^{2+} release requirements for high affinity interaction with the *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269 (43), 26815-26821.
- lxv. Riley, A. M. ; Murphy, C. T. ; Lindley, C. J. ; Westwick, J. ; Potter, B. V. L. 6-Deoxy-6-hydroxymethyl-*scyllo*-inositol 1,2,4-trisphosphate: a potent agonist at the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6 (18), 2197-2200.

- lxvi. Poirot, E. ; Bourdon, H. ; Chrétien, F. ; Chapleur, Y. ; Berthon, B. ; Hilly, M. ; Mauger J.-P. ; Guillon, G. Influence of the absolute configuration at C-4 in the binding of D-*myo*-inositol 1,4,5 trisphosphate analogues to IP₃ receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, 5 (6), 569-572.
- lxvii. Ballereau, S. Synthèse d'analogues d'inositol-phosphates études de leurs propriétés acido-basiques microscopiques corrélation avec leurs propriétés pharmacologiques. *Thèse de Doctorat*, Strasbourg I, **1998**, 220 p.
- lxviii. Irvine, R. F. ; Brown, K. D. ; Berridge, M. J. Specificity of inositol trisphosphate-induced calcium release from permeabilized Swiss-mouse 3T3 cells. *Biochem. J.*, **1984**, 222 (1), 269-272.
- lix. Nunn, D. L. ; Taylor, C. W. Liver inositol, 1,4,5-trisphosphate-binding sites are the Ca²⁺-mobilizing receptors. *Biochem. J.*, **1990**, 270 (1), 227-232.
- lxx. Hirata, M. ; Watanabe, Y. ; Yoshida, M. ; Koga, T. ; Ozaki, S. Roles for hydroxyl groups of D-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate in the recognition by its receptor and metabolic enzymes. *J. Biol. Chem.*, **1993**, 268, 19260-19266.
- lxxi. Mills, S. J. ; Potter, B. V. L. Synthesis of D- and L-*myo*-inositol 1,4,6-trisphosphate, regioisomers of a ubiquitous second messenger. *J. Org. Chem.*, **1996**, 61 (25), 8980-8987.
- lxxii. Irvine, R. F. ; Letcher, A. J. ; Lander, D. J. ; Berridge, M. J. Specificity of inositol phosphate-stimulated Ca²⁺ mobilization from Swiss-mouse 3T3 cells. *Biochem. J.*, **1986**, 240 (1), 301-304.
- lxxiii. Willcocks, A. L. ; Strupish, J. ; Irvine, R. F. ; Nahorski, S. R. Inositol 1:2-cyclic,4,5-trisphosphate is only a weak agonist at inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Biochem. J.*, **1989**, 257 (1), 297-300.
- lxxiv. Ballereau, S. ; Rehnberg, N. ; Spiess, B. ; Gigg, J. ; Gigg, R. ; Schlewer, G. Synthesis of alpha-trinositol related analogues - structure-activity (analgesic and anti-inflammatory) relationships. *Eur. J. Med. Chem.*, **1997**, 32, 535-540.
- lxxv. Schmitt, L. Synthèse et comportement physico-chimique d'inositol-phosphates et de composés apparentés. *Thèse de Doctorat*, Strasbourg I, **1993**, 178 p.
- lxxvi. Hirata, M. ; Narumoto, N. ; Watanabe, Y. ; Kanematsu, T. ; Koga, T. ; Ozaki, S. DL-*myo*-inositol 1,2,4,5-tetrakisphosphate, a potent analog of D-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate. *Mol. Pharmacol.*, **1994**, 45 (2), 271-276.
- lxxvii. Kozikowski, A. P. ; Fauq, A. H. ; Wilcox, R. A. ; Nahorski, S. R. Chemical synthesis and biological evaluation of 1D-1,2,4,5-InsP₄ and its 3-fluorinated counterpart 1D-3-F-1,2,4,5-InsP₄ potent 1D-1,4,5-InsP₃-like calcium mobilizing analogues. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1995**, 5 (12), 1295-1300.
- lxxviii. Riley, A. M. ; Guédât, P. ; Schlewer, G. ; Spiess, B. ; Potter, B. V. L. A conformationally restricted cyclic phosphate analogue of inositol trisphosphate: synthesis and physicochemical properties. *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 295-305.
- lxxix. Willems, H. A. M. ; Veeneman, G. H. ; Westerduin, P. Synthesis of racemic *myo*-inositol 1,4,5-trismethylphosphonate, *myo*-inositol 4,5-bismethylphosphonate and *myo*-inositol 5-methylphosphonate *via* a phosphinate approach. *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33 (15), 2075-2078.
- lxxx. Taylor, C. W. ; Berridge, M. J. ; Cooke, A. M. ; Potter, B. V. L. Inositol 1,4,5-trisphosphorothioate, a stable analogue of inositol trisphosphate which

- mobilizes intracellular calcium. *Biochem. J.*, **1989**, 259 (3), 645-650.
- lxxxi. Noble, N. J. ; Cooke, A. M. ; Potter, B. V. L. Synthesis of (\pm)-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate and the novel analogue (\pm)-*myo*-inositol 1,4-bisphosphate 5-phosphorothioate. *Carbohydr. Res.*, **1992**, 234, 177-187.
- lxxxii. Fauq, A. H. ; Zaidi, J. H. ; Wilcox, R. A. ; Varvel, G. ; Nahorski, S. R. ; Kozikowski, A. P. ; Erneux, C. Synthesis of novel metabolically stable analogues of D-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (12), 1917-1920.
- lxxxiii. Mills, S. J. ; Potter, B. V. L. Synthesis of potent Ins(1,4,5)P₃ 5-phosphatase inhibitors by modification of *myo*-inositol 1,3,4,6-tetrakisphosphate. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 4245-4253.
- lxxxiv. Watanabe, Y. ; Sofue, S. ; Ozaki, S. ; Hirata, M. Synthesis of phosphorofluoridate analogues of *myo*-inositol 1,4,5-tris(phosphate) and their biological activity. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **1996**, 15, 1815-1816.
- lxxxv. Yoshimura, K. ; Watanabe, Y. ; Erneux, C. ; Hirata, M. Use of phosphorofluoridate analogues of -*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate to assess the involvement of ionic interactions in its recognition by the receptor and metabolising enzymes. *Cell. Sign.*, **1999**, 11 (2), 117-125.
- lxxxvi. Westerduin, P. ; Willems, H. A. M. ; van Boeckel, C. A. A. Synthesis of 1,4,5-trissulphated and 1,4,5-trissulphamoylated *myo*-inositols: isosteric *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate analogues. *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31 (47), 6919-6922.
- lxxxvii. Westerduin, P. ; Willems, H. A. M. ; van Boeckel, C. A. A. Synthesis of analogues of *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate that contain sulfonamide, sulfate, ethylphosphonate, and carboxymethyl groups. *Carbohydr. Res.*, **1992**, 234, 131-140.
- lxxxviii. Kozikowski, A. P. ; Ognyanov, V. I. ; Chen, C. ; Kurian, P. ; Crews, F. T. Synthesis and binding studies of an optically pure hexadeoxy-1,4,5-tris(methylenesulfonic acid) analogue of IP₃. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34 (2), 219-222.
- lxxxix. Riley, A. M. ; Potter, B. V. L. Poly(ethylene glycol)-linked dimers of D-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate. *Chem. Commun.*, **2000**, 11, 983-984.
- xc. Riley, A. M. ; Morris, S. A. ; Nerou, E. P. ; Correa, V. ; Potter, B. V. L. ; Taylor, C. W. Interactions of inositol 1,4,5-trisphosphate (IP₃) receptors with synthetic poly(ethylene glycol)-linked dimers of IP₃ suggest close spacing of the IP₃-binding sites. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 40290-40295.
- xc. Kozikowski, A. P. ; Ognyanov, V. I. ; Chen, C. ; Fauq, A. H. ; Safrany, S. T. ; Wilcox, R. A. ; Nahorski, S. R. Deoxygenated inositol 1,4,5-trisphosphate analogs and their interaction with metabolic enzymes. (1R,2R,4R)-cyclohexane-1,2,4-tris(methylenesulfonate): a potent selective 5-phosphatase inhibitor. *J. Med. Chem.*, **1993**, 36 (20), 3035-3038.
- xcii. Moitessier, N. ; Chrétien, F. ; Chapleur, Y. ; Humeau, C. Synthesis and biological activities of inositol 1,4,5-trisphosphate mimics related to xylopyranosides. *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36 (44), 8023-8026.
- xciii. Jenkins, D. J. ; Riley, A. M. ; Potter, B. V. L. Chiral cyclopentane-based mimics of D-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate from D-glucose. *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 7719-7726.
- xciv. Moris, M.-A. ; Caron, A. Z. ; Guillemette, G. ; Schlewer, G. Synthesis and binding

- properties of cyclopentane analogues of *myo*-inositol 1,4,5-tris(phosphate). *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, *12*, 3995-4001.
- xcv. Bosanac, I. ; Alattia, J. R. ; Mal, T. K. ; Chan, J. ; Talarico, S. ; Tong, F. K. ; Tong, K. I. ; Yoshikawa, F. ; Furuichi, T. ; Iwai, M. ; Michikawa, T. ; Mikoshiba, K. ; Ikura, M. Structure of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor binding core in complex with its ligand. *Nature*, **2002**, *420*, 696-700.
- xcvi. Nakanishi, W. ; Kikuchi, K. ; Inoue, T. ; Hirose, K. ; Iino, M. ; Nagano, T. Hydrophobic modifications at 1-phosphate of inositol 1,4,5-trisphosphate analogues enhance receptor binding. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, *12* (6), 911-913.
- xcvii. Prestwich, G. D. ; Marecek, J. F. ; Mourey, R. J. ; Theibert, A. B. ; Ferris, C. D. ; Danoff, S. K. ; Snyder, S. H. Tethered IP₃. Synthesis and biological applications of the 1-O-(3-aminopropyl) ester of inositol 1,4,5-trisphosphate. *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 1822-1825.
- xcviii. Mourey, R. J. ; Estevez, V. A. ; Marecek, J. F. ; Barrow, R. K. ; Prestwich, G. D. ; Snyder, S. H. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptors: labeling the inositol 1,4,5-trisphosphate binding site with photoaffinity ligands. *Biochemistry*, **1993**, *32* (7), 1719-1726.
- xcix. Spiers, I. D. ; Schwalbe, C. H. ; Blake, A. J. ; Solomons, K. R. H. ; Freeman, S. Structure of (±)-1,2,4,5-di-O-cyclohexylidene *myo*-inositol and synthesis of *myo*-inositol 3-phosphate via its phosphorylation with (2R,4S,5R)-2-chloro-3,4-dimethyl-5-phenyl-1,3,2-oxazaphospholidin-2-one. *Carbohydr. Res.*, **1997**, *302*, 43-51.
- c. Patel, S. ; Martínez-Ripoll, M. ; Blundell, T. L. ; Albert, A. Structural enzymology of Li⁺-sensitive/Mg²⁺-dependent phosphatases. *J. Mol. Biol.*, **2002**, *320*, 1087-1094.
- ci. Morgan, A. J. ; Wang, Y. K. ; Roberts, M. F. ; Miller, S. J. Chemistry and biology of deoxy-*myo*-inositol phosphates: stereospecificity of substrate interactions within an archaeal and a bacterial IMPase. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, 15370-15371.
- cii. Bashir-Uddin Surfraz, M. ; Miller, D. J. ; Gani, D. ; Allemann, R. K. Product-like inhibitors of inositol monophosphatase. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 7677-7679.
- ciii. Cole, A. G. ; Gani, D. 'Active' conformation of the inositol monophosphatase substrate, adenosine 2'-phosphate: role of the ribofuranosyl O-atoms in chelating a second Mg²⁺ ion. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1995**, *21*, 2685-2694.
- civ. Gill, R. ; Mohammed, F. ; Badyal, R. ; Coates, L. ; Erskine, P. ; Thompson, D. ; Cooper, J. ; Gore, M. ; Wood, S. High-resolution structure of *myo*-inositol monophosphatase, the putative target of lithium therapy. *Acta Cryst.*, **2005**, *D61*, 545-555.
- cv. Shears, S. B. Metabolism of the inositol phosphates produced upon receptor activation. *Biochem. J.*, **1989**, *260*, 313-324.
- cvi. Irvine, R. F. ; Schell, M. J. Back in the water: the return of the inositol phosphates. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **2001**, *2* (5), 327-338.
- cvii. Skoglund, E. ; Lönnnerdal, B. ; Sandberg, A.-S. Inositol phosphates influence iron uptake in Caco-2 cells. *J. Agric. Food Chem.*, **1999**, *47*, 1109-1113.
- cviii. Pfeffer, W. Untersuchungen über die Proteinkörner und die Bedeu des Asparagin beim Keimen der Samen. *Pringsheim Jahrb. Wis. Bot.*, **1872**, *8*, 429-475.
- cix. Reddy, N. R. ; Pierson, M. D. ; Sathe, S. K. ; Salunkhe, D. K. *Phytates in cereals*

- R. Soc. Lond. Biol.*, **1981**, 296, 123-137.
- cxxvii. Cockcroft, S. Mammalian phosphatidylinositol transfer proteins: emerging roles in signal transduction and vesicular traffic. *Chemistry and Physics of Lipids*, **1999**, 98, 23-33.
- cxxviii. Takenawa, T. ; Itoh, T. Phosphoinositides, key molecules for regulation of actin cytoskeletal organization and membrane traffic from the plasma membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, **2001**, 1533, 190-206.
- cxxix. Dove, S. K. ; Cooke, F. T. ; Douglas, M. R. ; Sayers, L. G. ; Parker, P. J. ; Michell, R. H. Osmotic stress activates phosphatidylinositol-3,5-bisphosphate synthesis. *Nature*, **1997**, 390, 187-192.
- cxix. Hsuan, J. ; Cockcroft, S. The PITP family of phosphatidylinositol transfer proteins. *Genome Biology*, **2001**, 2 (9), 3011.1-3011.8.
- cxix. Maraldi, N. M. ; Zini, N. ; Santi, S. ; Riccio, M. ; Falconi, M. ; Capitani, S. ; Manzoli, F. A. Nuclear domains involved in inositol lipid signal transduction. *Advan. Enzyme Regul.*, **2000**, 40, 219-253.
- cxix. Arbuzova, A. ; Martushova, K. ; Hangyas-Mihalyné, G. ; Morris, A. J. ; Ozaki, S. ; Prestwich, G. D. ; McLaughlin S. Fluorescently labeled neomycin as a probe of phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate in membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, **2000**, 1464, 35-48.
- cxix. IUPAC recommendations. Nomenclature of glycolipids. *Pure & Appl. Chem.*, **1997**, 69 (12), 2475-2487. Reproduit dans *Carbohydr. Res.*, **1998**, 312, 167-175 et à l'adresse <http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/misc/glylp.html>, version en ligne préparée par G. P. Moss (dernière consultation le 23/09/05).
- cxix. Lindberg, J. ; Öhberg, L. ; Garegg, P. J. ; Konradsson, P. Efficient routes to glucosamine-*myo*-inositol derivatives, key building blocks in the synthesis of glycosylphosphatidylinositol anchor substances. *Tetrahedron*, **2002**, 58 (7), 1387-1398.
- cxix. Vilkas, E. ; Lederer, E. Sur la structure du phosphatidyl-inositol-dimmanoside de *Mycobacterium tuberculosis*. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **1961**, 42, 1013-1022.
- cxix. Ballou, C. E. ; Vilkas, E. ; Lederer, E. Structural studies on the *myo*-inositol phospholipids of *Mycobacterium tuberculosis* (var. *bovis*, strain BCG). *J. Biol. Chem.*, **1963**, 238 (1), 69-76.
- cxix. Ballou, C. E. My brief encounter with the phosphoinositides and IP₃. *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279 (53), 54975-54982.
- cxix. Lu, J. ; Jayaprakash, K. N. ; Schlueter, U. ; Fraser-Reid, B. Synthesis of a malaria candidate glycosylphosphatidylinositol (GPI) structure: a strategy for fully inositol acylated and phosphorylated GPIs. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 7540-7547.
- cxix. Takahashi, M. ; Kagasaki, T. ; Hosoya, T. ; Takahashi, S. Adenophostins A and B: potent agonists of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor produced by *Penicillium brevicompactum*. Taxonomy, fermentation, isolation, physicochemical and biological properties. *J. Antibiot. (Tokyo)*, **1993**, 46 (11), 1643-1647 (résumé sur Pubmed).
- cxix. Hirota, J. ; Michikawa, T. ; Miyawaki, T. ; Takahashi, M. ; Tanzawa, K. ; Okura, I. ; Furuichi, T. ; Mikoshiba, K. Adenophostin-mediated quantal Ca²⁺ release in the

- purified and reconstituted inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1. *FEBS Letters*, **1995**, 368, 248-252.
- cxli. Takahashi, M. ; Tanzawa, K. ; Takahashi, S. Adenophostins, newly discovered metabolites of *Penicillium brevicompactum*, act as potent agonists of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269, 369-372.
- cxlii. De Lisle, S. ; Marksberry, E. W. ; Bonnett, C. ; Jenkins, D. J. ; Potter, B. V. L. ; Takahashi, M. ; Tanzawa, K. Adenophostin A can stimulate Ca^{2+} influx without depleting the inositol 1,4,5-trisphosphate-sensitive Ca^{2+} stores in the *Xenopus* oocyte. *J. Biol. Chem.* **1997**, 272 (15), 9956-9961.
- cxliii. Machaca K. ; Hartzell, H. C. Adenophostin A and inositol 1,4,5-trisphosphate differentially activate Cl^- currents in *Xenopus* oocytes because of disparate Ca^{2+} release kinetics. *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274 (8), 4824-4831.
- cxliv. Venkatachalam, K. ; van Rossum, D. B. ; Patterson, R. L. ; Ma, H.-T. ; Gill, D. L. The cellular and molecular basis of store-operated calcium entry. *Nat. Cell Biol.*, **2002**, 4, E263-E273.
- cxlv. Van den Abeele, F. ; Lemonnier, L. ; Thébault, L. ; Lepage, G. ; Parys, J. B. ; Shuba, Y. ; Skryma, R. ; Prevarskaya, N. Two types of store-operated Ca^{2+} channels with different activation modes and molecular origin in LNCaP human prostate cancer epithelial cells. *J. Biol. Chem.*, **2004**, 279 (29), 30326-30337.
- cxlvi. Glouchankova, L. ; Krishna, U. M. ; Potter, B. V. L. ; Falck, J. R. ; Bezprozvanny, I. Association of the inositol (1,4,5)-trisphosphate receptor ligand binding site with phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate and adenophostin A. *Mol. Cell Biol. Res. Comm.*, **2000**, 3, 153-158.
- cxlvii. St. J. Bird, G. ; Takahashi, M. ; Tanzawa, K. ; Putney Jr, J. W. Adenophostin A induces spatially restricted calcium signaling in *Xenopus laevis* oocytes. *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274 (29), 20643-20649.
- cxlviii. Hotoda, H. ; Takahashi, M. ; Tanzawa, K. ; Takahashi, S. ; Kaneko, M. IP_3 receptor-ligand. 1 : synthesis of adenophostin A. *Tet. Lett.*, **1995**, 36, 5037.
- cxlix. Van Straten, N. C. R. ; van der Marel, G. A. ; van Boom, J. H. An expeditious route to the synthesis of adenophostin A. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37 (20), 3599-3602.
- cl. Van Straten, N. C. R. ; van der Marel, G. A. ; van Boom, J. H. An expeditious route to the synthesis of adenophostin A. *Tetrahedron*, **1997**, 53 (18), 6509-6522.
- cli. Marwood, R. D. ; Correa, V. ; Taylor, C. W. ; Potter, B. V. L. Synthesis of adenophostin A. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2000**, 11, 397-403.
- clii. Correa, V. ; Riley, A. M. ; Shuto, S. ; Horne, G. ; Nerou, E. P. ; Marwood, R. D. ; Potter, B. V. L. ; Taylor C. W. Structural determinants of adenophostin A activity at inositol trisphosphate receptors. *Mol. Pharmacol.*, **2001**, 59, 1206-1215.
- cliii. Riley, A. M. ; Correa, V. ; Mahon, M. F. ; Taylor, C. W. ; Potter, B. V. L. Bicyclic analogues of D-myoinositol 1,4,5-trisphosphate related to adenophostin A: synthesis and biological activity. *J. Med. Chem.*, **2001**, 44 (13), 2108-2117.
- cliv. Rosenberg, H. J. ; Riley, A. M. ; Laude, A. J. ; Taylor, C. W. ; Potter, B. V. L. Synthesis and Ca^{2+} -mobilizing activity of purine-modified mimics of adenophostin A: a model for the adenophostin-Ins(1,4,5) P_3 receptor interaction. *J. Med. Chem.*, **2003**, 46 (23), 4860-4871.
- clv. Roussel, F. ; Moitessier, N. ; Hilly, M. ; Chrétien, F. ; Mauger, J. P. ; Chapleur, Y.

- D-*myo*-Inositol-1,4,5-trisphosphate and adenophostin mimics: importance of the spatial orientation of a phosphate group on the biological activity. *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 759-768.
- clvi. Supattapone, S. ; Worley, P. F. ; Baraban, J. M. ; Snyder, S. H. Solubilization, purification, and characterization of an inositol trisphosphate receptor. *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263, 1530-1534.
- clvii. <http://www.rcsb.org/pdb/cgi/explore.cgi?pid=102601125404987&pdbId=1N4K>, base de données structurales de protéines en ligne (Protein Data Bank), structure référencée (PDB ID) : 1N4K (consultée la dernière fois le 30/08/2005).
- clviii. Bezprozvanny, I. The inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Cell Calcium*, **2005**, 38, 261-272.
- clix. Wojcikiewicz, R. J. ; Luo, S. G. Differences among type I, II, and III inositol-1,4,5-trisphosphate receptors in ligand-binding affinity influence the sensitivity of calcium stores to inositol-1,4,5-trisphosphate. *Mol Pharmacol.*, **1998**, 53 (4), 656-62.
- clx. Patel, S. ; Joseph, S. K. ; Thomas, A. P. Molecular properties of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors. *Cell Calcium*, **1999**, 25 (3), 247-264.
- clxi. Berridge, M. J. Inositol trisphosphate and calcium signalling. *Nature*, **1993**, 361, 315-325.
- clxii. Alexander, S. P. H. ; Mathie, A. ; Peters, J. A. guide to receptors and channels: ion channels. *Br. J. Pharmacol.*, **2005**, 144 (S1), S73-S94.
- clxiii. Michelangeli, F. ; Mezna, M. ; Tovey, S. ; Sayers, L. G. Pharmacological modulators of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *Neuropharmacology*, **1995**, 34 (9), 1111-1122.
- clxiv. Ando, H. ; Mizutani, A. ; Matsu-ura, T. ; Mikoshiba, K. IRBIT, a novel inositol 1,4,5-trisphosphate (IP₃) receptor-binding protein, is released from the IP₃ receptor upon IP₃ binding to the receptor. *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278 (12), 10602-10612.
- clxv. Galvan, D. L. ; Borrego-Diaz, E. ; Perez, P. J. ; Mignery, G. A. Subunit oligomerization, and topology of the inositol 1,4, 5-trisphosphate receptor. *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274 (41), 29483-29492.
- clxvi. Galvan, D. L. ; Mignery, G. A. Carboxyl-terminal sequences critical for inositol 1,4,5-trisphosphate receptor subunit assembly. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277 (50), 48248-48260.
- clxvii. Mackrill, J. J. ; Challiss, R. A. J. ; O'Connell, D. A. ; Lai, F. A. ; Nahorski, S. R. Differential expression and regulation of ryanodine receptor and *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate receptor Ca²⁺ release channels in mammalian tissues and cell lines. *Biochem. J.*, **1997**, 327, 251-258.
- clxviii. Sneyd, J. ; Falcke, M. Models of the inositol trisphosphate receptor. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, **2005**, 89, 207-245.
- clxix. Diaz, J. ; Baier, G. ; Martinez-Mekler, G. ; Pastor, N. Interaction of the IP₃-Ca²⁺ and the FGF-MAPK signaling pathways in the *Xenopus laevis* embryo a qualitative approach to the mesodermal induction problem. *Biophysical Chemistry*, **2002**, 97, 55-72.
- clxx. Michelangeli, F. ; Mezna, M. ; Tovey, S. ; Sayers, L. G. Pharmacological modulators of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *Neuropharmacology*, **1995**, 34 (9), 1111-1122.

- clxxi. Worley, P. F. ; Baraban, J. M. ; Supattapone, S. ; Wilson, V. S. ; Snyder, S. H. Characterization of inositol trisphosphate receptor binding in brain. Regulation by pH and calcium. *J. Biol. Chem.*, **1987**, 262 (25), 12132-12136.
- clxxii Ghosh, T. K. ; Eis, P. S. ; Mullaney, J. M. ; Ebert, C. L. ; Gill, D. L. Competitive, reversible, and potent antagonism of inositol 1,4,5-trisphosphate-activated calcium release by heparin. *J. Biol. Chem.*, **1988**, 263 (23), 11075-11079.
- clxxiii. Gafni, J. ; Munsch, J. A. ; Lam, T. H. ; Catlin, M. C. ; Costa, L. G. ; Molinski, T. F. ; Pessah, I. N. Xestospongins: potent membrane permeable blockers of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *Neuron.*, **1997**, 19, 723-733.
- clxxiv Bootman, M. D. ; Collins, T. J. ; Mackenzie, L. ; Roderick, H. L. ; Berridge, M. J. ; Peppiatt, C. M. 2-Aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) is a reliable blocker of store-operated Ca^{2+} entry but an inconsistent inhibitor of $InsP_3$ -induced Ca^{2+} release. *FASEB J.*, **2002**, 16 (10), 1145-1150.
- clxxv. Maruyama, T. ; Kanaji, T. ; Nakade, S. ; Kanno, T. ; Mikoshiba, K. 2APB, 2-aminoethoxydiphenyl borate, a membrane-penetrable modulator of $Ins(1,4,5)P_3$ -induced Ca^{2+} release. *Journal of Biochemistry*, **1997**, 122 (3), 498-505.
- clxxvi. Jiang, Q. X. ; Thrower, E. C. ; Chester, D. W. ; Ehrlich, B. E. ; Sigworth, F. J. Three-dimensional structure of the type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor at 24 Å resolution. *EMBO*, **2002**, 21 (14), 3575-3581.
- clxxvii. Da Fonseca, P. C. A. ; Morris, S. A. ; Nerou, E. P. ; Taylor, C. W. ; Morris, E. P. Domain organization of the type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor as revealed by single-particle analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2003**, 100, 3936-3941.
- clxxviii. Serysheva, I. I. ; Bare, D. J. ; Ludtke, S. J. ; Kettlun, C. S. ; Chiu, W. ; Mignery, G. A. Structure of the type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor revealed by electron cryomicroscopy. *J. Biol. Chem.*, **2003**, 278 (24), 21319-21322.
- clxxix. Hamada, K. ; Miyata, T. ; Mayanagi, K. ; Hirota, J. ; Mikoshiba, K. Two-state conformational changes in inositol 1,4,5-trisphosphate receptor regulated by calcium. *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277 (24), 21115-21118.
- clxxx. Morita, T. ; Tanimura, A. ; Nezu, A. ; Tojyo, Y. Visualization of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type III with green fluorescent protein in living cells. *Cell Calcium*, **2002**, 31 (2), 59-64.
- clxxx. Suhara, W. ; Kobayashi, M. ; Sagara, H. ; Hamada, K. ; Goto, T. ; Fujimoto, I. ; Torimitsu, K. ; Mikoshiba, K. Visualization of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor by atomic force microscopy. *Neurosci Lett.*, **2005**, publication en ligne le 26/09/05, référencement Pubmed constaté le 25/11/2005 (PMID: 16198054).
- clxxxii. Volpe, P. ; Krause, K. H. ; Sadamitsu, H. ; Zorsato, F. ; Pozzan, T. ; Meldolesi, J. ; Low, P. B. "Calciosome," a cytoplasmic organelle: the inositol 1,4,5-trisphosphate-sensitive Ca^{2+} store of nonmuscle cells? *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1988**, 85, 1091-1095.
- clxxxiii. Berridge, M. J. ; Bootman, M. D. ; Lipp, P. Calcium - a life and death signal. *Nature*, **1998**, 395, 645-648.
- clxxxiv. Berridge, M. J. Neuronal calcium signaling. *Neuron.*, **1998**, 21, 13-26.
- clxxxv. Berridge, M. J. Calcium signal transduction and cellular control mechanisms. *Bioch. Bioph. Acta*, **2004**, 1742, 3-7.

- clxxxvi. Lipp, P. ; Thomas, D. ; Berridge, M. J. ; Bootman, M. D. Nuclear calcium signalling by individual cytoplasmic calcium puffs. *EMBO*, **1997**, 16 (23), 7166-7173.
- clxxxvii. Shastry, B. S. Bipolar disorder: an update. *Neurochemistry International*, **2005**, 46, 273-279.
- clxxxviii. Cade, J. F. J. Lithium salts in the treatment of psychotic excitement. *Med. J. Aust.*, **1949**, 2, 349 (1^{ère} p).
- clxxxix. Schou, M. Lithium in psychiatric therapy and prophylaxis. *J. Psychiat. Res.*, **1968**, 6, 67 (1^{ère} p).
- cx. Samples, J. R. ; Starr, A. Neurology—Epitomes of progress: lithium toxicity in the central nervous system. *West. J. Med.*, **1977**, 127 (2), 132-133.
- cxci. Schou, M. ; Amdisen, A. ; Jensen, S. E. ; Olsen, T. Occurrence of goiter during lithium treatment. *Brit. Med. J.*, **1968**, 3, 710 (1^{ère} p).
- cxcii. Berens, S. C. ; Bernstein, R. S. ; Robbins, J. ; Wolff, J. Antithyroid effects of lithium. *J. Clin. Inv.*, **1970**, 49, 1357-1367.
- cxci. Belmaker, R. H. Bipolar Disorder. *N. Engl. J. Med.*, **2004**, 351, 476-86.
- cxci. Allison, J. H. ; Stewart, M. A. Reduced brain inositol in lithium-treated rats. *Nat. New Biol.*, **1971**, 233 (43), 267-268.
- cxci. Manji, H. K. ; Moore, G. J. ; Chen, G. Bipolar disorder: leads from the molecular and cellular mechanism of action of mood stabilisers. *Brit. J. Psychiatry*, **2001**, 178 (suppl. 41), s107-119.
- cxci. Harwood, A. J. Lithium and bipolar mood disorder: the inositol-depletion hypothesis revisited. *Molecular Psychiatry*, **2005**, 10, 117-126.
- cxci. Silverstone, P. H. ; McGrath, B. M. ; Hyeonjin, K. Bipolar disorder and *myo*-inositol: a review of the magnetic resonance spectroscopy findings. *Bipolar Disorders*, **2005**, 7, 1-10.
- cxci. Moore, G. J. ; Bebchuk, J. M. ; Parrish, J. K. ; Faulk, M. W. ; Arfken, C. L. ; Strahl-Bevacqua, J. ; Manji, H. K. Temporal dissociation between lithium-induced changes in frontal lobe *myo*-inositol and clinical response in manic-depressive illness. *Am. J. Psychiatry*, **1999**, 156, 1902-1908.
- cxci. Taylor, M. J. ; Wilder, H. ; Bhagwagar, Z. ; Geddes, J. Inositol for depressive disorders. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, **2004**, 1, 15 p.
- cc. Coupland, N. J. ; Ogilvie, C. J. ; Hegadoren, K. M. ; Seres, P. ; Hanstock, C. C. ; Allen, P. S. Decreased prefrontal *myo*-inositol in major depressive disorder. *Biol. Psychiatry*, **2005**, 57, 1526-1534.
- cci. Williams, R. S. B. ; Cheng, L. ; Mudge, A. W. ; Harwood, A. J. A common mechanism of action for three mood-stabilizing drugs. *Nature*, **2002**, 417, 292-295.
- ccii. Agama, G. ; Shamira, A. ; Shaltiela, G. ; Greenberg, M. L. *Myo*-inositol-1-phosphate (MIP) synthase: a possible new target for antibipolar drugs. *Bip. Dis.*, **2002**, 4 (1), 15-20.
- cciii. Stokes, C. E. ; Hawthorne, J. N. Reduced phosphoinositide concentrations in anterior temporal cortex of Alzheimer-diseased brains. *J. Neurochem.*, **1987**, 48, 1018-1021.
- cciv. Mc Laurin, J. ; Golomb, R. ; Jurewicz, A. ; Antel, J. P. ; Fraser, P. E. Inositol stereoisomers stabilize an oligomeric aggregate of Alzheimer amyloid β peptide

- and inhibit A β -induced toxicity. *J. Biol. Chem.*, **2000**, 275, 18495-18502.
- ccv. Pandya, J. D. ; Dave, K. R. ; Katyare, S. S. Effect of long-term aluminum feeding on lipid/phospholipid profiles of rat brain myelin. *Lipids Health Dis.*, **2004**, 3 (13), 6 p. (référencement PubMed (10/05) : Lipids Health Dis. 2004 Jun 22;3:13).
- ccvi. Eickholt, B. J. ; Williams, R. S. B. ; Harwood, A. J. Mood stabilizers and the cell biology of neuronal growth cones. *Clinical Neuroscience Research*, **2004**, 4, 189-199.
- ccvii. Levine, J. Controlled trials of inositol in psychiatry. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **1997**, 7 (2), 147-155.
- ccviii. Benjamin, J. ; Levine, J. ; Fux, M. ; Aviv, A. ; Levy, D. ; Belmaker, R. H. Double-blind, placebo-controlled, crossover trial of inositol treatment for panic disorder. *Am. J. Psychiatry.*, **1995**, 152 (7), 1084-1086.
- ccix. Palatnik, A. ; Frolov, K. ; Fux, M. ; Benjamin, J. Double-blind, controlled, crossover trial of inositol versus fluvoxamine for the treatment of panic disorder. *J. Clin. Psychopharmacol.*, **2001**, 21 (3), 335-339.
- ccx. Barak, Y. ; Levine, J. ; Glasman, A. ; Elizur, A. ; Belmaker, R. H. Inositol treatment of Alzheimer's disease: a double blind, cross-over placebo controlled trial. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. & Biol. Psychiat.*, **1996**, 20, 729-735.
- ccxi. Hallman, M. ; Bry, K. ; Hoppu, K. ; Lappi, M. ; Pohjavuori, M. Inositol supplementation in premature infants with respiratory distress syndrome. *N. Engl. J. Med.*, **1992**, 326 (19), 1233-1239.
- ccxii. Hyeonjin Kim, H. ; McGrath, B. M. ; Silverstone, P. H. A review of the possible relevance of inositol and the phosphatidylinositol second messenger system (PI-cycle) to psychiatric disorders-focus on magnetic resonance spectroscopy (MRS) studies. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.*, **2005**, 20, 309-326.
- ccxiii. Einat, H. ; Belmaker, R. H. ; Kopilov, M. ; Klein, E. ; Gazawi, H. ; Ben-Shachar, D. Rat brain monoamines after acute and chronic *myo*-inositol treatment. *European Neuropsychopharmacology*, **1999**, 10, 27-30.
- ccxiv. Einat H. ; Belmaker, R. H. The effects of inositol treatment in animal models of psychiatric disorders. *Journal of Affective Disorders*, **2001**, 62, 113-121.
- ccxv. Kaplan, Z. ; Amir, M. ; Swartz, M. ; Levine, J. Inositol treatment of post traumatic stress disorder. *Anxiety*, **1996**, 2 (1), 51-52.
- ccxvi. Levine, J. ; Aviram, A. ; Holan, A. ; Ring, A. ; Barak, Y. ; Belmaker, R. H. Inositol treatment of autism. *J. Neural. Transm.*, **1997**, 104, 307-310.
- ccxvii. Levine, J. ; Gonzalves, M. ; Barbam, I. ; Stier, S. ; Elizur, A. ; Kofman, O. ; Belmaker, R. H. Inositol 6 gm daily may be effective in depression but not in schizophrenia. *Hum. Psychopharmacol.*, **1993**, 8, 49-53.
- ccxviii. Wilcox, R. ; Primrose, W. U. ; Nahorski, S. R. ; Chaliss, R. A. J. TIPS Reviews: New developments in the molecular pharmacology of the *myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *Trends Pharmac. Sci.*, **1998**, 19, 467-475.
- ccxix. Razzini, G. ; Berrie, C. P. ; Vignati, S. ; Broggin, M. ; Mascetta, G. ; Brancaccio, A. ; Falasca, M. Novel functional PI 3-kinase antagonists inhibit cell growth and tumorigenicity in human cancer cell lines. *FASEB J.*, **2000**, 14 (9), 1179-1187.
- ccxx. Gurwitz, D. Molecular cancer target: PI-3-kinase. *Drug Disc. Today*, **1999**, 4 (2), 96.

- ccxxi. Vogt, P. K. PI 3-kinase, mTOR, protein synthesis and cancer. *TRENDS in Molecular Medicine*, **2001**, 7 (11), 482-484.
- ccxxii. Cui, X. ; Zhang, P. ; Deng, W. ; Oesterreich, S. ; Lu, Y. ; Mills, G. B. ; Lee, A. V. Insulin-like growth factor-I inhibits progesterone receptor expression in breast cancer cells via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin pathway: progesterone receptor as a potential indicator of growth factor activity in breast cancer. *Molecular Endocrinology*, **2003**, 17 (4), 575-588.
- ccxxiii. Jones, R. J. ; Brunton, V. G. ; Frame, M. C. Adhesion-linked kinases in cancer; emphasis on Src, focal adhesion kinase and PI 3-kinase. *Eur. J. of Cancer*, **2000**, 36, 1595-1606.
- ccxxiv. Stein, R. C. Prospects for phosphoinositide 3-kinase inhibition as a cancer treatment. *Endocrine-Related Cancer*, **2001**, 8, 237-248.
- ccxxv. Morimoto, A. M. ; Tomlinson, M. G. ; Nakatani, K. ; Bolen, J. B. ; Roth, R. A. ; Herbst, R. The MMAC1 tumor suppressor phosphatase inhibits phospholipase C and integrin-linked kinase activity. *Oncogene*, **2000**, 19, 200-209.
- ccxxvi. Parsons, R. Human cancer, PTEN and the PI-3 kinase pathway. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, **2004**, 15, 171-176.
- ccxxvii. Deleu, S. ; Choi, K. ; Pesesse, X. ; Cho, J. ; Sulis, M. L. ; Parsons, R. ; Shears, S. B. Physiological levels of PTEN control the size of the cellular Ins(1,3,4,5,6)P₅ pool. *Cell. Sign.*, exemplaire en ligne le 22/06/05 avant impression (*idem* 10/05).
- ccxxviii. Pendaries, C. ; Tronchère, H. ; Plantavid, M. ; Payrastra, B. Phosphoinositide signaling disorders in human diseases. *FEBS Letters*, **2003**, 546, 25-31.
- ccxxix. Kang, S. ; Bader, A. G. ; Vogt, P. K. Phosphatidylinositol 3-kinase mutations identified in human cancer are oncogenic. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2005**, 102 (3), 802-807.
- ccxxx. Grunicke, H. H. ; Maly, K. ; Uberall, F. ; Schubert, C. ; Kindler, E. ; Stekar, J. ; Brachwitz, H. Cellular signalling as a target in cancer chemotherapy. Phospholipid analogues as inhibitors of mitogenic signal transduction. *Advan. Enzyme Regul.*, **1996**, 36, 385-407.
- ccxxxi. Lin, W. ; Leung, L. W. ; Bae, Y. S. ; Bittman, R. ; Arthur, G. Effects of a water-soluble antitumor ether phosphoinositide, D-*myo*-inositol 4-(hexadecyloxy)-3(S)-methoxybutanephosphonate (C4-PI), on inositol lipid metabolism in breast epithelial cancer cell lines. *Biochemical Pharmacology*, **1999**, 57, 1153-1158.
- ccxxxii. Qiao, L. ; Nan, F. ; Kunkel, M. ; Gallegos, A. ; Powis, G. ; Kozikowski, A. P. 3-Deoxy-D-*myo*-inositol 1-phosphate, 1-phosphonate, and ether lipid analogues as inhibitors of phosphatidylinositol-3-kinase signaling and cancer cell growth. *J. Med. Chem.*, **1998**, 41 (18), 3303-3306.
- ccxxxiii. Hu, Y. ; Meillet, E. J. ; Berggren, M. ; Powis, G. ; Kozikowski, A. P. 3-Deoxy-3-substituted-D-*myo*-inositol imidazolyl ether lipid phosphates and carbonate as inhibitors of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway and cancer cell growth. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, 11, 173-176.
- ccxxxiv. Tabellini, G. ; Tazzari, P. L. ; Bortul, R. ; Billi, A. M. ; Conte, R. ; Manzoli, L. ;

- Cocco, L. ; Martelli, A. M. Novel 2'-substituted, 3'-deoxy-phosphatidyl-*myo*-inositol analogues reduce drug resistance in human leukæmia cell lines with an activated phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. *Br. J. Hæmatol.*, **2004**, 126 (4), 574-582.
- ccxxxv. Piccolo, E. ; Vignati, S. ; Maffucci, T. ; Innominato, P. F. ; Riley, A. M. ; Potter, B. V. L. ; Pandolfi, P. P. ; Broggin, M. ; Iacobelli, S. ; Innocenti, P. ; Falasca, M. Inositol pentakisphosphate promotes apoptosis through the PI3-K/Akt pathway. *Oncogene*, **2004**, 23, 1754-1765.
- ccxxxvi. Vlahos, C. J. ; Matter, W. F. ; Hui, K. Y. ; Brown, R. F. A specific inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase, 2-(4-morpholinyl)-8-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one (LY294002). *J. Biol. Chem.*, **1994**, 269 (7), 5241-5248.
- ccxxxvii. Prajda, N. ; Singhal, R. L. ; Yeh, Y. A. ; Olah, E. ; Look, K. Y. ; Weber, G. Linkage of reduction in 1-phosphatidylinositol 4-kinase activity and inositol 1,4,5-trisphosphate concentration in human ovarian carcinoma cells treated with quercetin. *Life Sci.*, **1995**, 56 (19), 1587-1593.
- ccxxxviii. Jyonouchi, H. ; Sun, S. ; Iijima, K. ; Wang, M. ; Hecht, S. S. Effects of anti-7,8-dihydroxy-9,10-epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[a]pyrene on human small airway epithelial cells and the protective effects of *myo*-inositol. *Carcinogenesis*, **1999**, 20 (1), 139-145.
- ccxxxix. Hecht, S. S. ; Kenney, P. M. J. ; Wang, M. ; Upadhyaya, P. Dose-response study of *myo*-inositol as an inhibitor of lung tumorigenesis induced in A/J mice by benzo[a]pyrene and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Letters*, **2001**, 167, 1-6.
- ccxl. Hecht, S. S. ; Upadhyaya, P. ; Wang, M. ; Bliss, R. L. ; Mc Intee, E. J. ; Kenney, P. M. J. Inhibition of lung tumorigenesis in A/J mice by *N*-acetyl-S-(*N*-2-phenethylthiocarbamoyl)-L-cysteine and *myo*-inositol, individually and in combination. *Carcinogenesis*, **2002**, 23 (9), 1455-1461.
- ccxli. Tsunoda, T. ; Koga, H. ; Yokomizo, A. ; Tatsugami, K. ; Eto, M. ; Inokuchi, J. ; Hirata, A. ; Masuda, K. ; Okumura, K. ; Naito, S. Inositol 1,4,5-trisphosphate (IP₃) receptor type1 (IP₃R1) modulates the acquisition of cisplatin resistance in bladder cancer cell lines. *Oncogene*, **2005**, 24 (8), 1396-1402.
- ccxlii. Layshock, S. G. Glucose metabolism, second messengers and insulin secretion. *Life sciences*, **1990**, 47, 2307-2316.
- ccxliii. Cancela, J. M. ; Petersen, O. H. Section 3: β -cell stimulus-secretion coupling: K⁺/ATP channels and Ca²⁺. Regulation of intracellular Ca²⁺ stores by multiple Ca²⁺-releasing messengers. *Diabetes*, **2002**, 51 (suppl. 3), s349-s357.
- ccxliv. Hansen, L. ; Jensen, J. N. ; Ekstrøm, C. T. ; Vestergaard, H. ; Hansen, T. ; Pedersen, O. Studies of variability in the PTEN gene among Danish caucasian patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia*, **2001**, 44 (2), 237-240.
- ccxlv. Attree, O. ; Olivos, I. M. ; Okabe, I. ; Bailey, L. C. ; Nelson, D. L. ; Lewis, R. A. ; McInnes, R. R. ; Nussbaum, R. L. The Lowe's oculocerebrorenal syndrome gene encodes a protein highly homologous to inositol polyphosphate-5-phosphatase. *Nature*, **1992**, 358, 239-242.
- ccxlvi. Pusl, T. ; Nathanson, M. H. The role of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in the regulation of bile secretion in health and disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2004**, 322, 1318-1325.

- ccxlvi. Berridge, M. J. The biology and medicine of calcium signalling. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **1994**, 98 (2), 119-24.
- ccxlviii. Emamian, E. S. ; Hall, D. ; Birnbaum, M. J. ; Karayiorgou, M. ; Gogos, J. A. Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3 β signaling in schizophrenia. *Nat. Genet.*, **2004**, 36 (2), 131-137.
- ccxlix. Przyklenk, K. ; Maynard, M. ; Darling, C. E. ; Whittaker, P. Pretreatment with D-*myo*-inositol trisphosphate reduces infarct size in rabbit hearts: role of inositol trisphosphate receptors and gap junctions in triggering protection. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2005**, 314 (3), 1386-1392.
- ccl. Fylaktakidou, K. C. ; Lehn, J.-M. ; Greferath, R. ; Nicolau, C. Inositol triphosphate: a new membrane permeant allosteric effector of hæmoglobin. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 1605-1608.
- ccli. recherche internet (11/2005), essentiellement dans la "Banque de Données Automatisée sur les Médicaments" <http://www.biam2.org/>.
- cclii. Sureshan, K. M. ; Ikeda, K. ; Asano, N. ; Watanabe, Y. Efficient routes to optically active azido-, amino-, di-azido- and di-amino-cyclitols with *chiro*- and *allo*-configuration from *myo*-inositol. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45 (45), 8367-8370.
- ccliii. Claxson, A. ; Morris, C. ; Blake, D. ; Siren, M. ; Halliwell, B. ; Gustafsson, T. ; Löfkvist, B. ; Bergelin, I. The anti-inflammatory effects of D-*myo*-inositol 1,2,6-trisphosphate (PP56) on animal models of inflammation. *Agents Actions*, **1990**, 29, 68-70.
- ccliv. Molecular Networks GmbH, D-91052 Erlangen, Allemagne.
- cclv. Elsevier MDL, San Leandro, CA 94577, États-Unis d'Amérique.
- cclvi. Exner, T. E. ; Keil, M. ; Moeckel, G. ; Brickmann, J. Identification of substrate channels and protein cavities. *J. Mol. Model.*, **1998**, 98, 440-443.
- cclvii. Verdonk, M. L. ; Cole, J. C. ; Hartshorn, M. J. ; Murray, C. W. ; Taylor, R. D. Improved protein ligand docking using GOLD. *Proteins*, **2003**, 52 (4), 609-623.
- cclviii. Ley, S. V. ; Parra, M. ; Redgrave, A. J. ; Sternfeld, F. Microbial oxidation in synthesis: preparation of *myo*-inositol phosphates and related cyclitol derivatives from benzene. *Tetrahedron*, **1990**, 46 (13-14), 4995-5026.
- cclix. Carless, H. A. J. ; Busia, K. Total synthesis of *myo*-inositol polyphosphates from benzene via conduritol B derivatives. *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 24, 3449-3452.
- cclx. Mandel, M. ; Hudlicky, T. General synthesis of inositols by hydrolysis of conduritol epoxides obtained biocatalytically from halogenobenzenes: (+)-D-*chiro*-inositol, *allo*-inositol, *muco*-inositol and *neo*-inositol. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1993**, 7, 741-743.
- cclxi. Conrad, R. M. ; Grogan, M. J. ; Bertozzi, C. R. Stereoselective synthesis of *myo*-inositol via ring-closing metathesis: a building block for glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor synthesis. *Org. Lett.*, **2002**, 4 (8), 1359-1361.
- cclxii. Kornienko, A. ; Turner, D. I. ; Jaworek, C. H. ; d'Alarcao, M. Practical synthesis of a differentially protected *myo*-inositol. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1998**, 9 (16), 2783-2786.
- cclxiii. Watanabe, Y. ; Mitani, M. ; Ozaki, S. Synthesis of optically active inositol derivatives starting from D-glucurono-6,3-lactone. *Chem. Lett.*, **1987**, 123-126.
- cclxiv. Prestwich, G. D. Touching all the bases - synthesis of inositol polyphosphate and

- phosphoinositide affinity probes from glucose. *Acc. Chem. Res.*, **1996**, *29*, 503-513.
- cclxv. Chiara, J. L. ; Martin-Lomas, M. A stereoselective route to enantiomerically pure *myo*-inositol derivatives starting from D-mannitol. *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 2969-2972.
- cclxvi. Ballou, C. E. ; Pizer, L. I. The absolute configuration of the *myo*-inositol 1-phosphates and a confirmation of the bornesitol configurations. *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, *82* (13), 3333-3335.
- cclxvii. Shvets, V. I. ; Klyashchitskii, B. A. ; Stepanov, A. E. ; Evstigneeva, R. P. Resolution of asymmetrically substituted *myo*-inositols into optical antipodes. *Tetrahedron*, **1973**, *29* (2), 331-340.
- cclxviii. Tegge, W. ; Ballou, C. E. Chiral syntheses of D- and L-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1989**, *86*, 94-98.
- cclxix. Falck, J. R. ; Yadagiri, P. Enantiospecific synthesis of D-*myo*-Inositol 1,4,5-trisphosphate from (-)-quinic acid. *J. Org. Chem.*, **1989**, *54*, 5851-5852.
- cclxx. Shashidhar, M. S. Regioselective protection of *myo*-inositol orthoesters - recent developments. *Arkivoc*, **2002**, *7*, 63-75.
- cclxxi. Sureshan, K. M. ; Shashidhar, M. S. ; Praveen, T. ; Das, T. Regioselective protection and deprotection of inositol hydroxyl groups. *Chem. Rev.*, **2003**, *103* (11), 4477-4503.
- cclxxii. Sureshan, K. M. ; Shashidhar, M. S. ; Praveen, T. ; Gonnade, R. G. ; Bhadbhade, M. M. Sulfonate protecting groups. Regioselective sulfonylation of *myo*-inositol orthoesters-improved synthesis of precursors of D- and L-*myo*-inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate, *myo*-inositol 1,3,4,5,6-pentakisphosphate and related derivatives. *Carbohydr. Res.*, **2002**, *337* (24), 2399-2410.
- cclxxiii. Sarmah, M. P. ; Shashidhar, M. S. Sulfonate protecting groups. Improved synthesis of *scyllo*-inositol and its orthoformate from *myo*-inositol. *Carbohydr. Res.*, **2003**, *338* (9), 999-1001.
- cclxxiv. Wagner, D. ; Verheyden, J. P. H. ; Moffatt, J. G. Preparation and synthetic utility of some organotin derivatives of nucleosides. *J. Org. Chem.*, **1974**, *39* (1), 24-30.
- cclxxv. David, S. ; Hanessian, S. Regioselective manipulation of hydroxyl groups via organotin derivatives. *Tetrahedron*, **1985**, *41* (4), 643-663.
- cclxxvi. Gigg, J. ; Gigg, R. ; Payne, S. ; Conant, R. The allyl group for protection in carbohydrate chemistry. Part 18. Allyl and benzyl ethers of *myo*-inositol. Intermediates for the synthesis of *myo*-inositol trisphosphates. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1987**, 423-429.
- cclxxvii. Kocięński, P. C. *Protecting Groups*. Éditeur : Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1994**.
- cclxxviii. Desai, T. ; Gigg, J. ; Gigg, R. ; Payne, S. The preparation, resolution, and phosphorylation of some benzyl ethers of *myo*-inositol: intermediates for the synthesis of *myo*-inositol phosphates of the phosphatidylinositol cycle. *Carbohydr. Res.*, **1992**, *225* (2), 209-228.
- cclxxix. Ozaki, S. ; Watanabe, Y. ; Ogasawara, T. ; Kondo, Y. ; Shiotani, N. ; Nishii, H. ; Matsuki, T. Total synthesis of optically active *myo*-inositol 1,4,5-

- tris(phosphate). *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27 (27), 3157-3160.
- cclxxx. Tae, J. ; Rogers, R. D. ; Paquette, L. A. Lithium ion-selective binding properties of a conformationally constrained tris(spirotetrahydrofuran) secured to an inositol orthoformate platform. *Org. Lett.*, **2000**, 2 (2), 139-142.
- cclxxxii. Mehta, G. ; Ramesh, S. S. Quest for inosito-inositols: synthesis of novel, annulated and conformationally locked inositols. *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44 (15), 3105-3108.
- cclxxxiii. Karaa, Y. ; Balci, M. A new and stereospecific synthesis of an inositol analogue : bis-homoinositol. *Tetrahedron*, **2003**, 59, 2063-2066.
- cclxxxiiii. Ogawa, S. ; Asada, M. ; Ooki, Y. ; Mori, M. ; Itoh, M. ; Korenaga, T. Design and synthesis of glycosidase inhibitor 5-amino-1,2,3,4-cyclohexanetetrol derivatives from (-)-vibo-quercitol. *Bioorg. Med. Chem.*, **2005**, 13, 4306-4314.
- cclxxxv. Praefcke, K. ; Blunk, D. ; Hempel, J. News on inositol liquid crystals. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **1994**, 243, 323-352.
- cclxxxvi. Schwäbisch, D. ; Wille, S. ; Hein, M. ; Miethchen, R. Amphiphilic and mesogenic carbohydrates XIII. Perfluoroalkylated amphiphilic liquid crystals with inositol and carbohydrate head groups. *Liquid Crystals*, **2004**, 31 (8), 1143-1150.
- cclxxxvii. Bui, V. P. ; Hudlicky, T. Synthesis of chiral ADMET polymers containing repeating -chiro-inositol units derived from a biocatalytically prepared diene diol. *Tetrahedron*, **2004**, 60 (3), 641-646.
- cclxxxviii. Watanabe, Y. ; Komoda, Y. ; Ebisuya, K. ; Ozaki, S. An efficient phosphorylation method using a new phosphitylating agent, 2-diethylamino-1,3,2-benzodioxaphosphane. *Tetrahedron Lett.*, **1990**, 31 (2), 255-256.
- cclxxxix. Yu, K.-L. ; Fraser-Reid, B. A novel reagent for the synthesis of *myo*-inositol phosphates: *N,N*-diisopropyl dibenzyl phosphoramidite. *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29 (9), 979-982.
- ccxc. Vacca, J. P. ; De Solms, S. J. ; Huff, J. R. ; Billington, D. C. ; Baker, R. ; Kulagowski, J. J. ; Mawer, I. M. The total synthesis of *myo*-inositol polyphosphates. *Tetrahedron*, **1989**, 45, 5679-5702.
- ccxci. Heimbach, T. ; Oh, D.-M. ; Li, L. Y. ; Rodríguez-Hornedo, N. ; Garcia, G. ; Fleisher, D. Enzyme-mediated precipitation of parent drugs from their phosphate prodrugs. *International Journal of Pharmaceutics*, **2003**, 261 (1-2), 81-92.
- ccxcii. Schultz, C. Prodrugs of biologically active phosphate esters. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11 (6), 885-898.
- ccxciii. Li, W. ; Schultz, C. ; Llopis, J. ; Tsien, R. Y. Membrane-permeant esters of inositol polyphosphates, chemical syntheses and biological applications. *Tetrahedron*, **1997**, 53 (35), 12017-12040.
- ccxciv. Brailoiu, E. ; Serban, D. N. ; Popescu, L. M. ; Slatineanu, S. ; Filipeanu, C. M. ; Branisteanu, D. D. Effects of liposome-entrapped D-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate and D-*myo*-inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate in the isolated rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.*, **1993**, 250 (3), 493-495.
- ccxcv. Leffingwell, J. C. Chirality & bioactivity I : pharmacology. *Leffingwell Reports*, **2003**, 3 (1), 1-27.
- ccxcvi. Matsumura, Y. ; Maki, T. ; Tsurumaki, K. ; Onomura, O. Kinetic resolution of D,L-*myo*-inositol derivatives catalyzed by chiral Cu(II) complex. *Tetrahedron Lett.*,

- 2004**, 45, 9131-9134.
- ccxcvi. Stepanov, A. E. ; Shvets, V. I. Synthetic studies of phosphoinositides. *Chem. Phys. Lipids*, **1979**, 25 (3), 247-263.
- ccxcvii. Bruzik, K. S. ; Salamończyk, C. Z. Synthesis of the enantiomeric 1,4,5,6-tetra-O-benzyl-*myo* inositols. *Carbohydr. Res.*, **1989**, 195 (1), 67-73.
- ccxcviii. Desai, T. ; Gigg, J. ; Gigg, R. ; Payne, S. ; Penades, S. The preparation of intermediates for the synthesis of 1-*myo*-inositol 1,4,5-trisphosphate, a second messenger for signal transduction in cells. *Carbohydr. Res.*, **1992**, 234, 1-21.
- ccxcix. Gigg, J. ; Gigg, R. ; Martin-Zamora, E. The alkylation of dibutylstannylene derivatives of 1,2-O-isopropylidene-*myo*-inositol. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34 (17), 2827-2830.
- ccc. Gigg, R. ; Warren, C. D. Derivatives of 2,3,4,5,6-penta-O-benzyl-*myo*-inositol. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1969**, 18, 2367-2371.
- ccci. Schnetz-Boutaud, N. Synthèse d'analogues aminés et soufrés d'inositol-phosphates. *Thèse de Doctorat*, Strasbourg I, **1994**, 157 p.
- cccii. Guédât, P. Synthèses et études physico-chimiques d'analogues d'inositol-phosphates et outils biologiques : corrélations avec les propriétés pharmacologiques. *Thèse de Doctorat*, Strasbourg I, **1995**, 172 p.
- ccciii. Massy, D. J. R. ; Wyss, P. The synthesis of DL-1-(hexadecanoyloxy)methyl- and 1-O-hexadecanoyl-inositols as potential inhibitors of phospholipase C. *Helv. Chim. Acta*, **1990**, 73, 1037-1057.
- ccciv. Gigg, J. ; Gigg, R. ; Payne, S. ; Conant, R. (\pm)-1,2:4,5-Di-O-isopropylidene-*myo*-inositol. *Carbohydr. Res.*, **1985**, 142, 132-134.
- cccv. D'Auria, M. ; Vantaggi, A. Photochemical reactivity of 9-vinyladenine with diethyl fumarate. *J. Heterocycl. Chem.*, **1994**, 31, 375-376.
- cccvi. Desaubry, L. Contribution à l'étude du mode d'action d'un nouvel anticonvulsivant dérivé de l'adénine. *Thèse de Doctorat*, Strasbourg I, **1992**, 168 p.
- cccvii. Rosenkranz, G. ; Mancera, O. ; Gatica, J. ; Djerassi, C. Steroids. IV. α -Iodoketones. A method for the conversion of *allosteroids* into Δ^4 -3-ketosteroids. *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72, 4077-4080.
- cccviii. Kocięński, P. C. *Protecting Groups*. Éditeur : Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1994**, p. 85.
- cccix. Rumbero, A. ; Borreguero, I. ; Sinisterra, J. V. ; Alcántara, A. R. Acyclic phenylalkanedioles as substrates for the study of enzyme recognition: synthesis of substrates and enzymatic resolution *via* hydrolysis and transesterification. *Tetrahedron*, **1999**, 55 (52), 14947-14960.
- cccx. Semmelhack, M. F. ; Chou, C. S. ; Cortes, D. A. Nitroxyl-mediated electrooxidation of alcohols to aldehydes and ketones. *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, 4492-4494.
- cccxi. Omura, K. ; Swern, D. Oxidation of alcohols by "activated" dimethyl sulfoxide. A preparative, steric and mechanistic study. *Tetrahedron*, **1978**, 34 (11), 1651-1660.
- cccxii. Mancuso, A. J. ; Huang, S. L. ; Swern, D. Oxidation of long-chain and related alcohols to carbonyls by dimethyl sulfoxide "activated" by oxalyl chloride. *J. Org. Chem.*, **1978**, 43 (12), 2480-2482.
- cccxiii. Mancuso, A. J. ; Swern, D. Activated dimethyl sulfoxide: useful reagents for

- synthesis. *Synthesis*, **1981**, 3, 165-185.
- cccxiv. Corey, E. J. ; Suggs, W. Pyridinium chlorochromate. An efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 16 (31), 2647-2650.
- ccc xv. Grignard, V. C. R. *Séances Hebd. Acad. Sci.*, **1900**, 130, 1322-1324.
- ccc xvi. Paquette, L. A. ; Tae, J. S. ; Branan, B. M. ; Eisenberg, S. W. E. ; Hofferberth, J. E. Synthesis and conformational properties of the sterically crowded D_{3d}-symmetric all-*trans* hexa(spirotetrahydrofuranyl)cyclohexane system. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, 38 (10), 1412-1414.
- ccc xvii. Cahiez, G. ; Alexakis, A. ; Normant, J. F. Dérivés organomagnésiens ω-alcoolates: préparation et propriétés. *Tetrahedron Lett.*, **1978**, 19 (33), 3013-3014.
- ccc xviii. Wittig, G. ; Rieber, M. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1949**, 562, 187-192.
- ccc xix. Dauben, W. G. ; Gerdes, J. M. ; Bunce, R. A. Organic reactions at high pressure. Preparation of Wittig phosphonium salts at ambient temperature. *J. Org. Chem.*, **1984**, 49 (22), 4293-4295.
- ccc xx. Fieser, M. *Fieser's Reagents for Organic Synthesis*. Methylene cyclohexane. 1. Procedure. A. Triphenylphosphonium bromide. B. Methylene cyclohexane. Éditeur : Wiley, **1967**, vol. I, pp. 751-752.
- ccc xxi. Paulsen, H., Röben, W. Cyclitol-reaktionen, IX. Synthesis von 1L-1-desoxy-1-C-hydroxymethyl-*myo*-inositol und 1L-1-desoxy-1-C-hydroxymethyl-*chiro*-inositol. *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1983**, 1073-1077.
- ccc xxii. Sugihara, J. M. ; Schmidt, D. L. ; Calbi, V. D. ; Dorrence, S. M. Displacement reactions of neopentyl-type sulfonate esters. *J. Org. Chem.*, **1963**, 28 (5), 1406-1409.
- ccc xxiii. Grouiller, A. ; Essadiq, H. ; Najib, B. ; Molière, P. Regioselective O-*p*-toluenesulfonylation of nucleosides under solid/liquid phase-transfer conditions. *Synthesis*, **1987**, 12, 1121-1122.
- ccc xxiv. Krishnamurthy, S. ; Brown, H. C. Facile reduction of alkyl tosylates with lithium triethylborohydride. An advantageous procedure for the deoxygenation of cyclic and acyclic alcohols. *J. Org. Chem.*, **1976**, 41 (18), 3064-3066.
- ccc xxv. Yu, J. ; Spencer, J. B. Stereoselective deoxygenation of *myo*-inositol monotosylates with lithium triethylborohydride. *J. Org. Chem.*, **1996**, 61 (10), 3234-3235.
- ccc xxvi. Lowe, G. ; McPhee, F. Synthesis of [H³]-labelled and unlabelled 2-deoxy-2-fluoro-*myo*-inositol and 1-deoxy-1-fluoro-*scyllo*-inositol for use in studies of phosphoinositide cycle. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1991**, 5, 1249-1253.
- ccc xxvii. Offer, J. L. ; Voorheis, H. P. ; Metcalfe, J. C. ; Smith, G. A. Synthesis and tritium radiolabelling of fluorinated analogues of *myo*-inositol. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1992**, 8, 953-960.
- ccc xxviii. Lee, H. W. ; Kishi, Y. Synthesis of mono and unsymmetrical bis ortho esters of *scyllo*-inositol. *J. Org. Chem.*, **1985**, 50, 4402-4404.
- ccc xxix. Baudin, G. ; Glänzer, B. I. ; Swaminathan, K. S. ; Vasella, A. A synthesis of 1D- and 1L-*myo*-inositol 1,3,4,5-tetraphosphate. *Helv. Chim. Acta*, **1988**, 71, 1367-1378.
- ccc xxx. Devaraj, S. ; Shashidhar, M. S. ; Dixit, S. S. Chelation controlled

- regiospecific O-substitution of *myo*-inositol orthoesters: convenient access to orthogonally protected *myo*-inositol derivatives. *Tetrahedron*, **2005**, 61 (3), 529-536.
- cccxxxi. Angyal, S. J. *myo*-Inositol 4,6-carbonate: an easily prepared small molecule with three syn-axial hydroxyl groups. *Carbohydr. Res.*, **2000**, 325 (4), 313-320.
- cccxxxii. Sasaki, M. ; Tsukano, C. ; Tachibana, K. studies toward the total synthesis of gymnocin A, a cytotoxic polyether: a highly convergent entry to the F-N ring fragment. *Org. Lett.*, **2002**, 4 (10), 1747-1750.
- cccxxxiii. Cramer, C. J. ; Harmata, M. ; Rashatasakhon, P. Intramolecular 4+3 cycloadditions. Theoretical and experimental evaluation of endo/exo preferences of a cyclopentenyl cation. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66 (16), 5641-5644.
- cccxxxiv. Francavilla, C. ; Drake, M. D. ; Bright, F. V. ; Detty, M. R. Dendrimeric organochalcogen catalysts for the activation of hydrogen peroxide: improved catalytic activity through statistical effects and cooperativity in successive generations. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123 (1), 57-67.
- cccxxxv. Mitsunobu, O. ; Yamada, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1967**, 40, 2380-2382.
- cccxxxvi. Mitsunobu, O. The use of diethyl azodicarboxylate and triphenylphosphine in synthesis and transformation of natural products. *Synthesis*, **1981**, 1-28.
- cccxxxvii. Gilbert, I. H. ; Holmes, A. B. ; Pestchanker, M. J. ; Young, R. Lewis acid-catalysed rearrangements of *myo*-inositol orthoformate derivatives. *Carbohydr. Res.*, **1992**, 234, 117-130.
- cccxxxviii. Marwood, R. D. ; Jenkins, D. J. ; Correa, V. ; Taylor, C. W. ; Potter, B. V. L. Contribution of the adenine base to the activity of adenophostin A investigated using a base replacement strategy. *J. Med. Chem.*, **2000**, 43 (22), 4278-4287.
- cccxxxix. Montgomery, J. A. ; Temple, C. Jr. Synthesis of potential anticancer agents. IX. 9-Ethyl-6-substituted-purines. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79 (19), 5238-5242.
- cccxl. Jardine, F. H. ; Osborn, J. A. ; Wilkinson, G. ; Young, G. F. *Chem. Ind. (London)*, **1965**, 560.
- cccxli. Corey, E. J. ; Suggs, W. Selective cleavage of allyl ethers under mild conditions by transition metal reagents. *J. Org. Chem.*, **1973**, 38, 3224.
- cccxlii. Cunningham, J. ; Gigg, R. ; Warren, C. D. The allyl ether as a protection group in carbohydrate chemistry. *Tetrahedron Lett.*, **1964**, 5 (19), 1191-1196.
- cccxlili. Äriens, E. J. ; Beld, A. J. ; Rodrigues de Miranda, J. F. ; Simonis, A. M. *The receptors: a comprehensive treatise*. Éditeur : O'Brien, R. D. Plenum, New York, **1979**, pp. 33-91, cité dans : Buck S. H. *The Tachykinin Receptors*. Éditeur : Humana Press, **1994**, 640 p.
- cccxliv. N'Goka, V. ; Schlewer, G. ; Linget, J.-M. ; Chambon, J.-P. ; Wermuth, C. G. GABA-uptake inhibitors: construction of a general pharmacophore model and successful prediction of a new representative. *J. Med. Chem.*, **1991**, 34 (8), 2547-2557.
- cccxlv. Bisel, P. ; Gies, J.-P. ; Schlewer, G. ; Wermuth, C. G. 6-(4-Phenylbenzyloxy-methyl) guvacine. Synthesis, GABA uptake inhibitor and muscarinic properties. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6 (24), 3025-3028.
- cccxlvi. Ghanem, A. ; Aboul-Enein, H. Y. Lipase-mediated chiral resolution of racemates in organic solvents. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15 (21), 3331-

3351.

- cccxlvii. Moris, M.-A. ; Caron, A. Z. ; Guillemette, G. ; Rognan, D. ; Schmitt, M. ; Schlewer, G. Synthesis of (\pm)-2-O-[4'-(N-9''-Puriny)butyl] *myo*-Inositol 1,4,5-Tris(phosphate), a Potent Full Agonist at the D-*myo*-Inositol 1,4,5-Tris(phosphate) Receptor. *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 1251-1255.
- cccxlviii. Fieser, M. *Fiesers' Reagents for Organic Synthesis*. N,N-Dimethylformamide. Purification. Éditeur : Wiley, **1977**, *vol. VI*, p. 247.